

# ПРОБЛЕМЫ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

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

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

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

**Выпуск 3**

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

Проблемы особо опасных инфекций.  
2024. Вып. 3. 188 с.

Подписано в печать 24.09.2024  
Дата выхода в свет 27.09.2024  
Формат 60×84 1/8  
Бумага мелованная  
Печать офсетная  
Усл. печ. л. 21,9  
Заказ № 4992-24

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 (Оболensk, Россия)  
*Куличенко А.Н.*, докт. мед. наук, академик РАН (Ставрополь, Россия)  
*Львов Д.К.*, докт. мед. наук, академик РАН (Москва, Россия)  
*Малеев В.В.*, докт. мед. наук, академик РАН (Москва, Россия)  
*Онищенко Г.Г.*, докт. мед. наук, академик РАН (Москва, Россия)  
*Рудаков Н.В.*, докт. мед. наук, профессор (Омск, Россия)  
*Сергиев В.П.*, докт. мед. наук, академик РАН (Москва, Россия)  
*Топорков А.В.*, докт. мед. наук (Волгоград, Россия)

## ИНОСТРАННЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА:

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

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

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

## ИНОСТРАННЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:

*Горбунов В.А.*, канд. мед. наук, доцент (Минск, Беларусь)  
*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 3

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

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

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

## Editorial Council

*Abdikarimov S.T.*, Doctor of Medical Science, Associate Professor (Bishkek, Kyrgyzstan)  
*Akimkin V.G.*, Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Moscow, Russia)  
*Balakhonov S.V.*, Doctor of Medical Science, Professor (Irkutsk, Russia)  
*Bondarev V.P.*, Doctor of Medical Science, Professor (Moscow, Russia)  
*Borisevich S.V.*, Doctor of Biological Science, Professor, Member of the RAS (Sergiev Possad, Russia)  
*Gintsburg A.L.*, Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Moscow, Russia)  
*Dyatlov I.A.*, Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Obolensk, Russia)  
*Kulichenko A.N.*, Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Stavropol, Russia)

*Lvov D.K.*, Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Moscow, Russia)  
*Maleev V.V.*, Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Moscow, Russia)  
*Motin V.L.*, Ph. D., Professor (Galveston, USA)  
*Onishchenko G.G.*, Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Moscow, Russia)  
*Rudakov N.V.*, Doctor of Medical Science, Professor (Omsk, Russia)  
*Sergiev V.P.*, Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Moscow, Russia)  
*Titov L.P.*, Doctor of Medical Science, Professor, Corresponding Member of the NAS of Belarus, Foreign Member of the RAS (Minsk, Belarus)  
*Toporkov A.V.*, Doctor of Medical Science (Volgograd, Russia)  
*Tsogbadrakh Namdorj*, Ph. D. (Ulaanbaatar, Mongolia)

## Editorial Board

*Alkhovsky S.V.*, Doctor of Biological Science, Corresponding Member of the RAS (Moscow, Russia)  
*Andaev E.I.*, Doctor of Medical Science (Irkutsk, Russia)  
*Bugorkova S.A.*, Doctor of Medical Science (Saratov, Russia)  
*Gorbunov V.A.*, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor (Minsk, Belarus)  
*Guliy O.I.*, Doctor of Biological Science (Saratov, Russia)  
*Eroshenko G.A.*, Doctor of Biological Science (Saratov, Russia)  
*Zharnikova I.V.*, Doctor of Biological Science (Stavropol, Russia)  
*Karpunina L.V.*, Doctor of Biological Science, Professor (Saratov, Russia)  
*Kras'ko A.G.*, Ph. D., Associate Professor (Minsk, Belarus)  
*Kruglikov V.D.*, Doctor of Medical Science (Rostov-on-Don, Russia)  
*Maletskaya O.V.*, Doctor of Medical Science, Professor (Stavropol, Russia)

*Meka-Mechenko T.V.*, Doctor of Medical Science (Almaty, Kazakhstan)  
*Mikerv A.N.*, Doctor of Biological Science (Saratov, Russia)  
*Pen'evskaya N.A.*, Doctor of Medical Science, Associate Professor (Omsk, Russia)  
*Popov N.V.*, Doctor of Biological Science, Professor (Saratov, Russia)  
*Sayapina L.V.*, Doctor of Medical Science (Moscow, Russia)  
*Smirnova N.I.*, Doctor of Biological Science, Professor (Saratov, Russia)  
*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](mailto:jour@microbe.ru)  
<http://journal.microbe.ru>

## СОДЕРЖАНИЕ

- Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Найденова Е.В., Щербаклова С.А., Сафронов В.А., Коломоец Е.В., Ицков Я.Ю., Konomou V., Boumbaly S., N'Faly M., Boiro M.Y., Traore M.S., Kutyrev V.V. Россия – Гвинея: исторические аспекты научного взаимодействия в области борьбы с опасными инфекционными болезнями ..... 6

### Обзоры

- Карцева А.С., Силкина М.В., Иващенко Т.А., Романенко Я.О., Саяпина Л.В., Фирстова В.В. Выявление иммунологических коррелятов протекции при формировании специфического иммунитета к *Francisella tularensis* ..... 15

- Крепостнова И.М., Гордеева М.В. Аварии в лабораториях, осуществляющих работы с патогенными биологическими агентами ..... 25

- Рязанова А.Г., Скударева О.Н., Герасименко Д.К., Головинская Т.М., Логвин Ф.В., Аксенова Л.Ю., Семенова О.В., Еременко Е.И., Печковский Г.А., Олейникова К.А., Никитина А.В., Куличенко А.Н. Анализ эпизоотолого-эпидемиологической обстановки по сибирской язве в 2023 г. в мире, прогноз на 2024 г. в Российской Федерации ..... 35

- Стовба Л.Ф., Чухралья О.В., Петров А.А., Мельников С.А., Павел'ев Д.И., Борисевич С.В. Противооспенная вакцина LC16m8: получение, свойства, перспективы ..... 42

- Транквилевский Д.В., Скударева О.Н., Игонина Е.П., Киселева Е.Ю., Корзун В.М., Вержуцкая Ю.А., Носков А.К., Куликалова Е.С., Бренёва Н.В., Будаева С.Е., Морозова И.В., Тришина А.В. Анализ эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по лептоспирозам в 2023 г. и прогноз на 2024 г. в Российской Федерации ..... 51

- Штрек С.В., Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Блох А.И., Транквилевский Д.В., Пен'евская Н.А., Кумпан Л.В., Санников А.В. Эпидемиологическая ситуация по риккетсиозам и лихорадке Ку в Российской Федерации за период 2010–2023 гг., прогноз на 2024 г. .... 63

### Оригинальные статьи

- Аронова Н.В., Павлович Н.В., Мелоян М.Г., Цимбалистова М.В., Носков А.К. Особенности везикуляции у вирулентных и авирулентных ЛПС-дефектных штаммов *Francisella tularensis* различной подвиговой принадлежности ..... 74

- Гончарова А.Ю., Бугоркова С.А., Абдрашитова А.С., Щербаклова Н.Е., Крассов Я.М., Германчук В.Г., Девдариани З.Л., Швиденко И.Г., Шуковская Т.Н. Влияние азоксимера бромида при добавлении в среду культивирования *Yersinia pestis* EV НИИЭГ на отдельные геномные и протеомные характеристики штамма ..... 81

- Евдокимова В.В., Алексеева Л.П., Якушева О.А., Левченко Д.А., Ренгач М.В. Получение и характеристика иммунных асцитических жидкостей к штаммам *Vibrio cholerae* R-варианта ..... 88

- Ерошенко Г.А., Джапарова А.К., Никифоров К.А., Сидорин А.С., Куклева Л.М., Червякова Н.С., Краснов Я.М. Филогения и свойства штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* из Аксайского высокогорного и Прибалхашского пустынного очагов чумы ..... 96

## CONTENTS

- Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Naidenova E.V., Shcherbakova S.A., Safronov V.A., Kolomoets E.V., Itskov Ya.Yu., Konomou V., Boumbaly S., N'Faly M., Boiro M.Y., Traore M.S., Kutyrev V.V. Russia – Guinea: Historical Aspects of Scientific Cooperation in the Fight against Dangerous Infectious Diseases ..... 6

### Reviews

- Kartseva A.S., Silkina M.V., Ivashchenko T.A., Romanenko Ya.O., Sayapina L.V., Firstova V.V. Identification of Immunological Correlates of Protection during Development of Specific Immunity to *Francisella tularensis* ..... 15

- Krepostnova I.M., Gordeeva M.V. Accidents in Laboratories Working with Pathogenic Biological Agents ..... 25

- Ryazanova A.G., Skudareva O.N., Gerasimenko D.K., Golovinskaya T.M., Logvin F.V., Aksenova L.Yu., Semenova O.V., Eremenko E.I., Pechkovsky G.A., Oleynikova K.A., Nikitina A.V., Kulichenko A.N. Analysis of the Epizootiological and Epidemiological Situation on Anthrax in the World in 2023, the Forecast for 2024 in the Russian Federation ..... 35

- Stovba L.F., Chukhralya O.V., Petrov A.A., Mel'nikov S.A., Pavel'ev D.I., Borisevich S.V. Smallpox Vaccine LC16m8: Production, Properties, and Prospects ..... 42

- Trankvilevsky D.V., Skudareva O.N., Igonina E.P., Kiseleva E.Yu., Korzun V.M., Verzhutskaya Yu.A., Noskov A.K., Kulikalova E.S., Breneva N.V., Budaeva S.E., Morozova I.V., Trishina A.V. Analysis of the Epizootic and Epidemiological Situation on Leptospirosis in 2023 and Forecast for 2024 in the Russian Federation ..... 51

- Shtrek S.V., Rudakov N.V., Shpynov S.N., Blokh A.I., Trankvilevsky D.V., Pen'evskaya N.A., Kumpan L.V., Sannikov A.V. Epidemiological Situation on Rickettsial Diseases and Q Fever in the Russian Federation over the Period of 2010–2023, Forecast for 2024 ..... 63

### Original articles

- Aronova N.V., Pavlovich N.V., Meloyan M.G., Tsimbalistova M.V., Noskov A.K. Peculiarities of Vesiculation in Virulent and Avirulent LPS-Defective Strains of *Francisella tularensis* of Various Subspecies ..... 74

- Goncharova A.Yu., Bugorkova S.A., Abdrashitova A.S., Shcherbakova N.E., Krasnov Ya.M., Germanchuk V.G., Devdariani Z.L., Shvidenko I.G., Shchukovskaya T.N. Effect of Azoximer Bromide on Individual Genomic and Proteomic Characteristics of the Strain during Cultivation of *Yersinia pestis* EV NIIEG ..... 81

- Evdokimova V.V., Alekseeva L.P., Yakusheva O.A., Levchenko D.A., Rengach M.V. Production and Characterization of Immune Ascitic Fluids to *Vibrio cholerae* R-Variant Strains ..... 88

- Eroshenko G.A., Dzhaparova A.K., Nikiforov K.A., Sidorin A.S., Kukleva L.M., Chervyakova N.S., Krasnov Ya.M. Phylogeny and Characteristics of *Yersinia pseudotuberculosis* Strains from the Aksai High-Mountain and Balkhash Desert Foci of Plague ..... 96



- Иванова А.В., Сафронов В.А.** Формирование объективной методической базы эпидемиологического прогнозирования заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом с использованием методов машинного обучения ..... 103
- Ивашенко Т.А., Романенко Я.О., Карцева А.С., Силкина М.В., Мар'ин М.А., Хлынцева А.Е., Зенинская Н.А., Шемякин И.Г., Фирстова В.В.** Моноклональные антитела, способные ингибировать взаимодействие рецептор-связывающего домена вируса SARS-CoV-2 с ангиотензинпревращающим рецептором 2 клеток человека ..... 111
- Кудрявцева О.М., Гончарова А.Ю., Кожевников В.А., Бугоркова С.А.** Комплексный подход к оценке и прогнозированию иммунного ответа на вакцинацию у привитых против чумы людей ..... 118
- Кузнецова Д.А., Водопьянов А.С., Трухачев А.Л., Рыкова В.А., Подладчикова О.Н.** Анализ генетических детерминантов сидерофора иерсиниачелина иерсиний ..... 126
- Лизинфельд И.А., Пшеничная Н.Ю., Найденова Е.В., Гуркин Г.А., Блинова К.Д., Абуова Г.Н., Leblebicioglu H., Mardani M., Akimkin V.G.** Оценка влияния климатических факторов на заболеваемость Крымской геморрагической лихорадкой: комплексный анализ данных по России, Казахстану, Турции и Ирану с 1999 по 2022 г. .... 133
- Подойницына О.А., Миронова Л.В., Кругликов В.Д., Федотова И.С., Галач'янц Ю.П., Водопьянов А.С., Левченко Д.А., Темякова С.Ю., Басов Е.А., Пономарева А.С., Носков А.К.** Генетическое разнообразие и филогенетическое родство штаммов *Vibrio cholerae* R-варианта ..... 144
- Полтавченко А.Г., Ерш А.В., Филатов П.В., Ушкаленко Н.Д., Шан'шин Д.В., Шчербаков Д.Н.** Рекомбинантный аналог домена III оболочечного гликопротеина вируса клещевого энцефалита и его применение для дифференциальной диагностики флавивирусных инфекций ..... 154
- Рябико Е.Г., Гречишкина Д.И., Баимова Р.Р., Кармоков И.А., Буц Л.В., Халилов Э.С., Лызенко И.С., Токарев Н.К.** Оценка распространенности лептоспирозов и геморрагической лихорадки с почечным синдромом в Ленинградской области ..... 163
- Яшина Л.Н., Сметанникова Н.А., Здановская Н.И., Полещук Д.Н., Лапин А.С., Ковальский А.Г.** Новый очаг хантавируса Сеул на Дальнем Востоке России ..... 170
- Краткие сообщения**
- Бугоркова С.А., Кудрявцева О.М., Щербакова С.А., Кутырев В.В.** Возможности мобильной лаборатории для обеспечения задач иммунологического мониторинга на территориях природных очагов чумы ..... 178
- Суфиев А.З., Назарова О.Д., Джафаров Н.Дж., Анварова Г.Б.** Сравнительный анализ нормативно-правовой базы Республики Таджикистан в соответствии с положениями Международных медико-санитарных правил (2005 г.) ..... 182
- Юбилеи**
- Ростовскому-на-Дону противочумному институту Роспотребнадзора – 90 лет ..... 186
- Иркутскому научно-исследовательскому противочумному институту Роспотребнадзора – 90 лет ..... 187
- Государственному научному центру прикладной микробиологии и биотехнологии – 50 лет ..... 188
- Ivanova A.V., Safronov V.A.** Formation of a Credible Methodological Framework for Epidemiological Forecasting of the Incidence of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome Using Machine Learning Techniques ..... 103
- Ivashchenko T.A., Romanenko Ya.O., Kartseva A.S., Silkina M.V., Mar'in M.A., Khlyntseva A.E., Zeninskaya N.A., Shemyakin I.G., Firstova V.V.** Monoclonal Antibodies Capable of Inhibiting the Interaction of the Receptor Binding Domain of SARS-CoV-2 Virus with the Angiotensin-Converting Receptor 2 of Human Cells ..... 111
- Kudryavtseva O.M., Goncharova A.Yu., Kozhevnikov V.A., Bugorkova S.A.** Multifaceted Approach to Assessing and Forecasting the Immune Response to Vaccination in Population Immunized against Plague ..... 118
- Kuznetsova D.A., Vodop'yanov A.S., Trukhachev A.L., Rykova V.A., Podladchikova O.N.** Analysis of the Genetic Determinants of Yersiniachelin Siderophore of *Yersinia* ..... 126
- Lizinfeld I.A., Pshenichnaya N.Yu., Naidenova E.V., Gurkin G.A., Blinova K.D., Abuova G.N., Leblebicioglu H., Mardani M., Akimkin V.G.** Assessment of the Influence of Climatic Factors on the Incidence of Crimean Hemorrhagic Fever: a Comprehensive Analysis of Data for Russia, Kazakhstan, Turkey and Iran between 1999 and 2022 ..... 133
- Podoinitsyna O.A., Mironova L.V., Kruglikov V.D., Fedotova I.S., Galach'yants Yu.P., Vodop'yanov A.S., Levchenko D.A., Temyakova S.Yu., Basov E.A., Ponomareva A.S., Noskov A.K.** Genetic Diversity and Phylogenetic Relatedness of R-Variant *Vibrio cholerae* Strains ..... 144
- Poltavchenko A.G., Ersh A.V., Filatov P.V., Ushkalenko N.D., Shan'shin D.V., Shcherbakov D.N.** Recombinant Analogue of Envelope Glycoprotein Domain III of the Tick-Borne Encephalitis Virus and its Application for the Differential Diagnosis of Flavivirus Infections ..... 154
- Riabiko E.G., Grechishkina D.I., Baimova R.R., Karmokov I.A., Buts L.V., Khalilov E.S., Lyzenko I.S., Tokarevich N.K.** Assessment of the Prevalence of Leptospiroses and Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the Leningrad Region ..... 163
- Yashina L.N., Smetannikova N.A., Zdanovskaya N.I., Poleshchuk D.N., Lapin A.S., Koval'sky A.G.** New Focus of Hantavirus Seoul in the Far East of Russia ..... 170
- Brief communications**
- Bugorkova S.A., Kudryavtseva O.M., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V.** Performance Capabilities of a Mobile Laboratory for Supporting Immunological Monitoring in Natural Plague Foci ..... 178
- Sufiev A.Z., Nazarova O.D., Dzhafarov N.Dzh., Anvarova G.B.** Comparative Analysis of the Legal Framework of the Republic of Tajikistan against the Provisions of the International Health Regulations (2005) ..... 182
- Anniversaries**
- Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor is 90 years old ..... 186
- Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Rospotrebnadzor is 90 years old ..... 187
- State Scientific Center for Applied Microbiology and Biotechnology is 50 years old ..... 188

А.Ю. Попова<sup>1,2</sup>, В.Ю. Смоленский<sup>1</sup>, Е.В. Найденова<sup>3</sup>, С.А. Щербакова<sup>3</sup>, В.А. Сафронов<sup>3</sup>,  
Е.В. Колomoец<sup>4</sup>, Я.Ю. Ицков<sup>4</sup>, V. Konomou<sup>4</sup>, S. Boumbaly<sup>5</sup>, M. N'Faly<sup>6</sup>, M.Y. Boiro<sup>7</sup>, M.S. Traore<sup>7</sup>,  
В.В. Кутырев<sup>3</sup>

## Россия – Гвинея: исторические аспекты научного взаимодействия в области борьбы с опасными инфекционными болезнями

<sup>1</sup>Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация;  
<sup>2</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», Москва, Российская Федерация;  
<sup>3</sup>ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;  
<sup>4</sup>Объединенная компания «РУСАЛ», Москва, Российская Федерация; <sup>5</sup>Лаборатория вирусных геморрагических лихорадок Гвинеи,  
Конакри, Гвинейская Республика; <sup>6</sup>Университет имени Гамаль Абдель Насера, Конакри, Гвинейская Республика;  
<sup>7</sup>Исследовательский институт прикладной биологии Гвинеи, Киндия, Гвинейская Республика

В обзоре приведены основные результаты научно-технического взаимодействия Российской Федерации и Гвинейской Республики за 10 лет совместной работы, с момента направления в августе 2014 г. группы российских специалистов и мобильных лабораторий из состава мобильного комплекса специализированной противоэпидемической бригады Роспотребнадзора для оказания практической и методической помощи при ликвидации эпидемии, вызванной вирусом Эбола. Основными составляющими сотрудничества являются укрепление лабораторной и госпитальной базы, проведение совместных исследований и подготовка специалистов профильных учреждений Гвинеи по вопросам биологической безопасности. В ходе реализации Российской Федерацией программ помощи Гвинейской Республике по противодействию инфекционным болезням задействованы механизмы государственно-частного партнерства с Объединенной компанией «РУСАЛ», позволившие сделать максимально эффективным участие России в ликвидации эпидемии болезни, вызванной вирусом Эбола, и последующем укреплении национального потенциала Гвинеи в борьбе с биологическими угрозами.

**Ключевые слова:** эпидемия, болезнь, вызванная вирусом Эбола, новая коронавирусная инфекция, пандемия COVID-19, Гвинейская Республика, российско-гвинейское сотрудничество.

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

Для цитирования: Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Найденова Е.В., Щербакова С.А., Сафронов В.А., Колomoец Е.В., Ицков Я.Ю., Konomou V., Boumbaly S., N'Faly M., Boiro M.Y., Traore M.S., Кутырев В.В. Россия – Гвинея: исторические аспекты научного взаимодействия в области борьбы с опасными инфекционными болезнями. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 3:6–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-6-14  
Поступила 23.08.2024. Принята к публ. 29.08.2024.

A.Yu. Popova<sup>1,2</sup>, V.Yu. Smolensky<sup>1</sup>, E.V. Naidenova<sup>3</sup>, S.A. Shcherbakova<sup>3</sup>, V.A. Safronov<sup>3</sup>,  
E.V. Kolomoets<sup>4</sup>, Ya.Yu. Itskov<sup>4</sup>, V. Konomou<sup>4</sup>, S. Boumbaly<sup>5</sup>, M. N'Faly<sup>6</sup>, M.Y. Boiro<sup>7</sup>, M.S. Traore<sup>7</sup>,  
V.V. Kutyrev<sup>3</sup>

## Russia – Guinea: Historical Aspects of Scientific Cooperation in the Fight against Dangerous Infectious Diseases

<sup>1</sup>Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being, Moscow, Russian Federation;  
<sup>2</sup>Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation;  
<sup>3</sup>Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;  
<sup>4</sup>UC "RUSAL", Moscow, Russian Federation;  
<sup>5</sup>Virology Research Center, Laboratory of Viral Hemorrhagic Fevers of Guinea, Conakry, Republic of Guinea;  
<sup>6</sup>Gamal Abdel Nasser University, Conakry, Republic of Guinea;  
<sup>7</sup>Research Institute of Applied Biology of Guinea, Kindia, Republic of Guinea

**Abstract.** The review presents the main results of scientific and technical cooperation between the Russian Federation and the Republic of Guinea over 10 years of joint work, since the deployment of a group of Russian specialists and mobile laboratories from the mobile complex of the specialized anti-epidemic team of the Rospotrebnadzor in August 2014 to provide practical and methodological assistance in eliminating the epidemic caused by the Ebola virus. The main areas of cooperation are the strengthening of laboratory and hospital facilities, joint research and training of specialists from specialized institutions in Guinea on biosafety issues. During the implementation of the Russian Federation programs of assistance to the Republic of Guinea in combating infectious diseases, public-private partnership mechanisms with UC "RUSAL" were involved, which made it possible to bring Russia's participation in eradicating the epidemic of Ebola virus disease and subsequently strengthening Guinea's national capacity to combat biological threats to the maximum effect.

**Key words:** epidemic, Ebola virus disease, new coronavirus infection, COVID-19 pandemic, Republic of Guinea, Russian-Guinean cooperation.

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

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

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

Citation: Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Naidenova E.V., Shcherbakova S.A., Safronov V.A., Kolomoets E.V., Itskov Ya.Yu., Konomou V., Boumbaly S., N'Faly M., Boiro M.Y., Traore M.S., Kuttyrev V.V. Russia – Guinea: Historical Aspects of Scientific Cooperation in the Fight against Dangerous Infectious Diseases. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 3:6–14. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-6-14

Received 23.08.2024. Accepted 29.08.2024.

Popova A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4315-5307>  
Naidenova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6474-3696>  
Shcherbakova S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1143-4069>  
Safronov V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9563-2833>

Boumbaly S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4506-6033>  
N'Faly M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3760-6642>  
Kuttyrev V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

Партнерские отношения между Российской Федерацией и странами Африки имеют давнюю историю. Советские специалисты принимали активное участие в реализации целого ряда крупных проектов в разных регионах континента. Одним из важнейших аспектов взаимного сотрудничества стало проведение совместных научных исследований и реализации образовательных программ.

Ярким примером такого двустороннего взаимодействия является научная и практическая работа в области противодействия инфекционным болезням специалистов из Российской Федерации и Гвинейской Республики, начавшаяся в прошлом веке и успешно продолжающаяся в настоящее время.

Началом этого партнерства стало подписание в 1971 г. в Москве Межправительственного соглашения между СССР и Гвинейской Народной Революционной Республикой об организации в г. Киндия Советско-Гвинейской научно-исследовательской вирусологической и микробиологической лаборатории (СГНИВИМЛ). На торжественном открытии, которое состоялось в 1977 г., присутствовали члены официальной делегации Гвинеи во главе с министром высшего образования и культуры Мамади Кейта, а также представители Министерства здравоохранения СССР во главе с заместителем министра, Главным государственным санитарным врачом, академиком Академии медицинских наук СССР Петром Николаевичем Бургасовым.

В работе лаборатории принимали участие советские и гвинейские ученые: вирусологи, эпидемиологи, клиницисты, паразитологи и зоологи. В период с 1978 по 1991 г. сотрудниками СГНИВИМЛ во всех регионах Гвинеи собрано большое количество материала для вирусологических и иммунологических исследований [1, 2].

Одно из основных направлений деятельности лаборатории – изучение распространения, экологии и роли эндемичных арбовирусов в инфекционной патологии жителей Гвинеи. Всего, по данным А.М. Бутенко и архивов Института Пастера Гвинеи (в настоящее время Институт прикладной биологии Гвинеи), за время работы исследовано более 77 тыс. проб комаров 25 видов, 10 тыс. суспензий клещей 6 родов, 3 тыс. образцов органов сельскохозяйственных и диких млекопитающих и 1,5 тыс. птиц, а также около 900 сывороток крови лихорадящих больных [2]. В результате работы выделено более 300 штаммов 20 разных арбовирусов, в том числе: денге 4-го типа, желтой лихорадки, Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), Западного Нила, Зика, лихорадки долины Рифт, чикунгунья и др. Пять вирусов, обнаруженных в те годы на

территории Гвинеи, оказались новыми для науки и идентифицированы впервые. Получены данные о видовом составе носителей и переносчиков возбудителей инфекций бактериальной, вирусной и риккетсиозной этиологии на территории Гвинейской Республики [3]. Но в 90-е гг. прошлого столетия, после распада Советского Союза, исследования на базе лаборатории были прекращены.

Началом возобновления отношений в рамках борьбы с особо опасными инфекционными болезнями стала ситуация, сложившаяся во время эпидемии болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ), которая охватила страны Западной Африки (Гвинея, Либерия и Сьерра-Леоне) в 2014–2016 гг. Эти события стали вызовом не только мировому здравоохранению, но и глобальному экономическому сообществу. Количество погибших среди населения стран, охваченных эпидемией, составило свыше 11 тыс. человек [4]. По оценкам специалистов Всемирного банка, ущерб от эпидемии, нанесенный как странам Африки, так и мировому сообществу, составил 7 млрд долларов.

Среди основных причин, вызвавших столь масштабные последствия, можно указать: неожиданное место возникновения эпидемии (все предыдущие вспышки лихорадки Эбола регистрировались в странах Центральной и Восточной Африки и не имели такого широкого распространения); отсутствие настороженности и готовности национальных систем здравоохранения к реагированию на эпидемические проявления этой особо опасной инфекционной болезни; запоздалая реакция на сложившуюся ситуацию со стороны Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) (первый случай зафиксирован в декабре 2013 г., но чрезвычайная ситуация международного значения в области общественного здравоохранения объявлена только 8 августа 2014 г.); занос возбудителя в крупные города и столицы всех трех государств, охваченных эпидемией, и последующее неконтролируемое его распространение за счет вовлечения в процесс населения городских трущоб [5]. Следует отметить, что для стран, затронутых эпидемией, характерен недостаточный уровень развития национальных систем здравоохранения, что потребовало международной помощи при ликвидации эпидемии [4].

Одной из первых стран, включившихся в борьбу с БВВЭ, стала Российская Федерация. Помощь, оказываемая со стороны России, носила многокомпонентный характер по следующим направлениям: укрепление лабораторной и госпитальной базы, оказание консультативно-методической помощи, финансовой и гуманитарной поддержки. Высокий



уровень организации и эффективность вклада Российской Федерации в ликвидацию эпидемии был обеспечен за счет межведомственного сотрудничества и скоординированных действий в проведении мероприятий между Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), Министерством иностранных дел РФ, Министерством обороны РФ, Министерством РФ по делам гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям и ликвидации последствий стихийных бедствий, а также Объединенной компанией «РУСАЛ» (ОК «РУСАЛ») [6].

На первом этапе, в разгар эпидемии, в Гвинейскую Республику были направлены группа специалистов Роспотребнадзора и две мобильные лаборатории (лаборатория индикации и бактериологическая лаборатория) из состава мобильного комплекса специализированной противоэпидемической бригады (МК СПЭБ), которые приступили к работе 22 августа 2014 г. на базе госпиталя Донка (г. Конакри).

Этому предшествовала большая аналитическая, консультативная и организационная работа, проведенная ведущими учеными Российской Федерации (академиком Российской академии наук, доктором медицинских наук, профессором В.В. Малеевым и доктором биологических наук М.Ю. Щелкановым), которая позволила оценить существующие на тот период проблемы по проведению противоэпидемических мероприятий, предложить конкретные программы помощи, а также перспективы взаимодействия. В результате установлено, что диагностические исследования проводились на недостаточном уровне, в результате чего только часть выявленных случаев БВВЭ получала лабораторное подтверждение, также отсутствовало плановое тестирование контактных лиц. В связи с этим актуальным направлением российской помощи стало укрепление лабораторной базы Гвинейской Республики. Подготовительная организационная работа позволила максимально оперативно интегрировать российские мобильные лаборатории в международную лабораторную сеть, осуществляющую выявление и диагностику случаев БВВЭ и объединяющую лаборатории различных стран и международных организаций, количество которых в период эпидемии на территории Западной Африки достигло 45, включая 26 мобильных [1, 6].

Работа российских специалистов осуществлялась вместе с сотрудниками Посольства Российской Федерации в Гвинейской Республике и Республике Сьерра-Леоне, ОК «РУСАЛ», органами здравоохранения и санитарного контроля Гвинейской Республики, а также с различными международными организациями (ВОЗ, ООН, «Международный Красный Крест», «Врачи без границ» и др.).

Высокая специфичность и достоверность результатов исследований, проводимых в лаборатории МК СПЭБ, подтверждены в августе 2014 г. после процедуры валидации властями Гвинейской Республики и ВОЗ. С августа 2014 по январь 2015 г. материал от больных и умерших людей с подозрени-

ем на БВВЭ поступал в лабораторию для исследования из обсервационного и изоляционного центра «Врачи без границ» (MSF), расположенного в столице Гвинейской Республики, г. Конакри, на территории Национального госпиталя Донка [1].

Во время эпидемии остро ощущалась нехватка стационаров, предназначенных для лечения больных БВВЭ. Специализированные лечебные центры функционировали только в двух городах страны – Конакри и Гекеду, и необходимость создания дополнительного медицинского учреждения, на базе которого можно проводить выявление и лечение больных, была очевидна. Это и стало еще одним из направлений российской помощи – укрепление национальной госпитальной базы. В январе 2015 г., в разгар эпидемии, компанией «РУСАЛ» при активном участии сотрудников Роспотребнадзора построен первый в стране стационарный госпиталь для лечения больных БВВЭ в г. Киндия, который получил название «Научный клинико-диагностический центр эпидемиологии и микробиологии» (НКДЦЭМ) (Clinical-Diagnostic Research Centre of Epidemiology and Microbiology – CREMS). Общий объем инвестиций составил более 10 млн долларов. Специалисты Роспотребнадзора методически сопровождали все этапы проектирования, строительства и ввода госпиталя в эксплуатацию, осуществляли надзор за соблюдением требований биологической безопасности и противоэпидемического режима во время работы [7]. При создании проекта и во время строительных работ были использованы современные российские инженерные и медицинские разработки, учтены условия и принципы проектирования и эксплуатации инфекционных госпиталей, а также требования отечественных и международных нормативных документов.

В январе 2015 г. лаборатории МК СПЭБ передислоцированы в г. Киндия на территорию госпиталя НКДЦЭМ, где продолжилась дальнейшая работа по проведению исследований материала от больных БВВЭ. Помимо госпиталя НКДЦЭМ, материал на исследование в лабораторию поступал из Дирекции здравоохранения префектуры Киндия (DPS), Общественного транзитного центра (STCom), региональных госпиталей г. Киндия, Телимеле, Маму, Пита. Открытие нового госпиталя и работа лаборатории в этом регионе сделала возможным проведение исследований материала от пациентов в более короткие сроки, появилась возможность доставки проб из отдаленных регионов, что значительно сократило время проведения этиологической расшифровки случаев лихорадочных заболеваний [1].

Специальная подготовка сотрудников госпиталя по вопросам биологической безопасности (правильное использование средств индивидуальной защиты, организация и соблюдение противоэпидемического режима работы) и жесткий контроль за выполнением их требований позволили избежать случаев внутрибольничного заражения медицинского персонала НКДЦЭМ, в то время как за период эпидемии

БВВЭ в Гвинее, Либерии и Сьерра-Леоне пострадал 881 медицинский работник, из которых 513 погибли (летальность среди данного контингента составила 58,2 %) [4]. Всего за время эпидемии в госпиталь поступили 104 пациента, у 32 из которых на основании клинических и лабораторных данных подтвержден диагноз «БВВЭ», в 12 случаях болезнь закончилась смертельным исходом. Летальность составила 35 % (ниже, чем в целом по Гвинее [53,7 %]) [6].

В лаборатории МК СПЭБ Роспотребнадзора в период эпидемии БВВЭ (с августа 2014 по январь 2016 г.) поступило 3077 образцов клинического материала, проведено 17 454 исследования, РНК вируса Эбола выявлена в 349 пробах (11,3 %). Кроме этого, проводилась дифференциальная диагностика с целью выявления возбудителей малярии, лихорадок денге и Западного Нила, а также гепатитов В, С, ВИЧ 1–2-го типов и др. [1, 6].

Помимо лечебной и диагностической работы, на базе госпиталя проводили и научные исследования, в результате которых показана возможность длительной персистенции жизнеспособного вируса Эбола в пробах грудного молока пациентки с подтвержденным диагнозом «БВВЭ» через 14 дней после полного клинического выздоровления и отрицательных результатов тестирования двух образцов сыворотки крови методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) с интервалом 48 ч [8], что дало основание пересмотреть протокол и критерии выписки больных БВВЭ.

Помощь Российской Федерации в ликвидации эпидемии БВВЭ высоко оценена Президентом и Правительством Гвинейской Республики. Более 60 специалистов Роспотребнадзора и подведомственных организаций награждены государственными наградами Российской Федерации и благодарностями Президента России [1].

Необходимо отметить, что в ходе работы в Гвинейской Республике специалисты Роспотребнадзора получили бесценный опыт практической работы в очаге особо опасной вирусной инфекционной болезни в странах дальнего зарубежья и в условиях тропического климата.

Результаты высокоэффективного российско-гвинейского взаимодействия послужили основой для продолжения научно-технического сотрудничества наших стран уже после завершения эпидемии БВВЭ. 15 февраля 2017 г. состоялось открытие Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней (далее – Центр), создание которого инициировано Роспотребнадзором при поддержке Правительства Российской Федерации на основе государственно-частного партнерства с ОК «РУСАЛ» (рисунок), и осуществлена поставка лабораторного оборудования, автотранспорта и микробиологической лаборатории экспресс-диагностики (МЛЭД) на базе автомобиля «ГАЗель» [9].

На базе лаборатории Центра проводится работа по индикации и идентификации возбудителей особо опасных инфекционных болезней, включая БВВЭ, болезнь, вызванную вирусом Марбург, лихорадок Ласса, Зика, чикунгунья, денге, Западного Нила, желтой лихорадки, холеры и других актуальных для Гвинейской Республики, с использованием современных диагностических технологий при мощности до 500 исследований в сутки.

Функционирование Центра осуществляется за счет работы специалистов ведущих научных организаций Роспотребнадзора, организованной вахтовым методом (Российский противочумный институт «Микроб» и Государственный научный центр вирусологии и битехнологии «Вектор») и командированием специалистов для решения отдельных задач



Церемония торжественного открытия Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней. 15 февраля 2017 г.



(Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии [ЦНИИЭ], Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера). Оснащение расходными материалами и диагностическими препаратами осуществляется на регулярной основе, что обеспечивает постоянную готовность к проведению исследований. Такая организация работы позволяет обеспечить постоянную оперативную готовность к проведению индикации и идентификации возбудителей особо опасных, природно-очаговых и социально значимых инфекционных болезней и реализации основных задач Центра [1, 9].

Во время эпидемии кори, охватившей в 2017–2018 гг. страны Африки, в том числе и Гвинею, сотрудники Роспотребнадзора проводили диагностические исследования с целью выявления серологических маркеров возбудителя данной инфекционной болезни в клиническом материале от больных с последующим их лечением. Медицинским учреждениям Гвинеи поставлено 40 тыс. доз коревой вакцины российского производства и в оперативном режиме обеспечена этиологическая диагностика заболеваний. В 2018 г., в связи с непрерывающейся регистрацией случаев кори, сотрудниками Роспотребнадзора проведена работа по изучению напряженности иммунитета к вирусу среди населения Гвинеи, результаты которой доказали необходимость проведения дополнительной иммунизации и позволили разработать программу по оценке эффективности вакцинации против данной инфекции [9]. В марте 2022 г. на территории стран Африки, в том числе и в Гвинеи, вновь зарегистрировано резкое увеличение количества случаев заболевания детей корью. Министерством здравоохранения Гвинеи принято решение о перепрофилировании госпиталя НКДЭЦМ для лечения больных этой вирусной инфекционной болезнью и проведении на базе Центра диагностических исследований для подтверждения диагноза. Всего с марта 2022 по июль 2024 г. поступило на исследование 357 сывороток крови больных с предварительным диагнозом «корь».

В 2015–2017 гг. Роспотребнадзор при участии российского бизнеса осуществил поставку в Гвинею 5 тыс. доз холерной вакцины и 20 тыс. доз вакцины для профилактики желтой лихорадки [6].

Во время пандемии COVID-19 Российская Федерация с самых первых дней начала оказывать помощь Гвинеи. Госпиталь НКДЭЦМ в г. Киндия еще на этапе планирования противоэпидемических мероприятий по недопущению распространения новой коронавирусной инфекции на национальном уровне был перепрофилирован и определен в качестве одного из центров лечения заболевших новой коронавирусной инфекцией. В качестве организаций, занимающихся диагностикой и подтверждением случаев заболевания, были утверждены лаборатории Национального института обществен-

ного здравоохранения (INSP, г. Конакри), Института Пастера Гвинеи (IPGui, г. Конакри), лаборатория вирусных геморрагических лихорадок (г. Конакри) и Российско-Гвинейский центр (г. Киндия).

Уже в феврале 2020 г. в Гвинею в срочном порядке доставлены наборы реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР российского производства. Всего в 2020–2024 гг. поставлено диагностических наборов для выявления РНК возбудителя COVID-19 отечественного производства на 250 тыс. определений. В начале февраля 2020 г. лаборатория Центра первая в Гвинеи получила аккредитацию на национальном уровне как учреждение, выполняющее диагностические исследования для выявления возбудителя COVID-19. Нужно отметить, что первые данные о выявлении РНК нового коронавируса в Гвинеи получены 3 февраля 2020 г. специалистами Роспотребнадзора, работающими в Центре. Оперативность и качество выполнения анализа высоко оценены органами здравоохранения Гвинеи и представителями международных медицинских организаций [9, 10].

Первоначально зоной охвата диагностическими исследованиями являлась префектура Киндия и вся внутренняя часть страны, однако по мере развития эпидемической ситуации география направления материала на исследования существенно расширилась. Помимо взаимодействия с медицинскими организациями Гвинеи, практическая и консультативно-методическая помощь оказывалась также сотрудникам Посольства Российской Федерации и представителям частного бизнеса.

В 2020 г., по инициативе ОК «РУСАЛ», в г. Фрия открыто дополнительное учреждение для лечения больных COVID-19 «Фригия» вместимостью 30 койко-мест, оснащенное в полном соответствии с современными требованиями. Для обеспечения своевременного лабораторного тестирования на территории госпиталя развернута мобильная лаборатория МЛЭД, передислоцированная из Центра (г. Киндия) и приступившая к работе с июля 2020 г. Это позволило расширить зону охвата медицинской помощью и лабораторными исследованиями внутренних территорий Гвинеи. С начала пандемии на базе стационаров госпиталей НКДЭЦМ и «Фригия» лечение получили более 1000 пациентов. Больные с подозрением на COVID-19 и пробы клинического материала поступали из региональных госпиталей городов Конакри, Боке, Боффа, Коя, Фрия, Маму, Киндия, Лабе, Н'Зерекоре, Канкан, Даболо, Далаба и других регионов Гвинеи.

Всего с начала пандемии COVID-19 специалистами Роспотребнадзора, работающими на территории Гвинеи, методом ОТ-ПЦР проведено более 26 тыс. исследований. Работа продолжается и в настоящее время. Помимо жителей Гвинеи, медицинская помощь оказана гражданам России, Украины, Беларуси, Казахстана, Китая, Индии, Сьерра-Леоне, Коморских островов [10].

Во время вспышки БВВЭ, зарегистрированной на территории Нижней Гвинеи в апреле 2021 г., на базе лаборатории Центра проводились исследования проб клинического материала от больных с целью подтверждения результатов, полученных в гвинейских лабораториях. В последующем проведен анализ полученных генетических последовательностей вируса Эбола. Установлено, что генетический профиль возбудителя, вызвавшего вспышку в 2021 г., практически не отличается от штаммов, обнаруженных в 2013–2016 гг., и находится с ними в одном филогенетическом кластере. Данный факт позволил сделать предположение о длительной персистенции вируса в органах реконвалесцентов [11].

Также одной из приоритетных задач, выполняемых в рамках двустороннего российско-гвинейского сотрудничества, является подготовка квалифицированных специалистов. Начиная с 2015 г. по вопросам биологической безопасности, эпидемиологии, методам индикации и идентификации инфекционных болезней, актуальных для Гвинейской Республики, прошли обучение более 1250 гвинейских специалистов, часть курсов проходили на базе ведущих научных учреждений Роспотребнадзора.

Важным направлением совместной деятельности также является укрепление научного потенциала страны путем подготовки кадров высшей квалификации. К настоящему времени сотрудниками медицинских, научных и ветеринарных учреждений Гвинеи по результатам совместных исследований подготовлено 25 магистерских работ, защищено четыре кандидатских диссертации на базе Университета им. Гамалея Абдель Насера (г. Конакри, Гвинея) и одна докторская – на базе ЦНИИЭ (г. Москва, Россия). В 2024 г. планируется защита еще одной докторской и трех кандидатских диссертаций на базе учреждений Роспотребнадзора.

Один из приоритетных вопросов, решаемый в ходе двустороннего взаимодействия, – создание системы раннего выявления ранее неизвестных возбудителей инфекционных болезней и проведение упреждающих профилактических мероприятий, что значительно снижает риски завоза и распространения таких инфекций на территорию Российской Федерации. Для этого проводятся совместные экспедиционные работы на территории различных регионов Гвинеи, а собранный материал исследуется с помощью современных методов, включая секвенирование [9].

В настоящее время на базе лаборатории Центра продолжаются научные исследования, начатые еще в период эпидемии БВВЭ, направленные на изучение распространения возбудителей природно-очаговых инфекционных болезней, в первую очередь вирусов Эбола, Ласса, Марбург, желтой лихорадки, возбудителей малярии на территории Гвинейской Республики, а также новых, ранее не выявленных патогенов. За время работы впервые на территории Гвинейской Республики установлены случаи заболевания людей лептоспирозами и лихорадкой Ку, определены гено-

типы их возбудителей, часть последовательностей депонирована в международные базы данных.

Выявлены генетические маркеры (РНК/ДНК) возбудителей природно-очаговых инфекционных болезней в пробах иксодовых клещей, собранных в Гвинейской Республике, и определен спектр патогенов, циркулирующих на территории различных ландшафтно-географических зон страны. Методами ПЦР и ОТ-ПЦР проведена детекция генетических маркеров вирусов ККГЛ и клещевого энцефалита, а также *Borrelia burgdorferi* s.l., *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia muris*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Coxiella burnetii*, риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки (КПЛ) и *Francisella tularensis*. В результате работы в суспензиях иксодовых клещей обнаружены: ДНК риккетсий группы КПЛ (25,6 % от всех исследуемых образцов), ДНК *C. burnetii* (6,2 %), кДНК *B. burgdorferi* s.l. (9,1 %) и РНК вируса ККГЛ (2,5 %). Генетические маркеры возбудителей туляремии, анаплазмозов, эрлихиозов и клещевого энцефалита не выявлены. При оценке распространения отдельных видов переносчиков отмечено, что наибольшее видовое богатство зарегистрировано в сборах из Нижней и Лесной Гвинеи (10 и 9 видов соответственно) [12, 13]. Перечисленный спектр возбудителей зарегистрирован во всех ландшафтно-географических зонах Гвинеи [12].

Также при проведении совместных исследований изучен уровень иммунной прослойки населения Гвинейской Республики к ряду арбовирусов: желтой лихорадки, денге, Западного Нила (ВЗН) (семейство *Flaviviridae*); ККГЛ, Батаи, Бханджа (семейство *Peribunyaviridae*); Чикунгунья и Синдбис (семейство *Togaviridae*), а также к вирусу Эбола (семейство *Filoviridae*), хантавирусам (семейство *Hantaviridae*) и поксвирусам (семейство *Poxviridae*). Иммуноглобулины класса IgG методом иммуноферментного анализа (ИФА) к вирусу Батаи выявлены в 5,5 % случаев, Бханджа – 2,2 %, ВЗН – 34 %, денге – 25,2 %, ККГЛ – 2,2 %, Чикунгунья – 12,9 %, желтой лихорадки – 28,5 %, Синдбис – 2,0 % [14], Эбола – 5,2 %, хантавирусам – 8,8 %, поксвирусам – 0,7 %. Полученные результаты подтверждают активную циркуляцию изучаемых патогенов на территории всех ландшафтно-географических зон Гвинеи.

Проведено исследование сывороток крови сельскохозяйственных животных, собранных на территории Гвинейской Республики, с целью изучения наличия специфических антител класса IgG к возбудителям зоонозных инфекционных болезней: коксиеллеза, бруцеллеза, сапа, Крымской геморрагической лихорадки, лихорадок Западного Нила и Рифт-Валли методом ИФА. Специфические антитела к *C. burnetii* выявлены в 16,0 %, *Brucella* spp. – 19,7 %, вирусам Рифт-Валли – 7,9 %, ККГЛ – 12,9 % и ВЗН – 8,6 %. Антитела к *Burkholderia mallei* в исследуемом материале не обнаружены. Положительные образцы зарегистрированы во всех ландшафтно-географических зонах [15]. Выявленный уровень иммунной прослойки среди сельскохозяйственных животных так-

же свидетельствует о циркуляции возбудителей на данной территории.

В 2021 г. на территории провинции Киндия выявлен новый, ранее неизвестный вирус, получивший название *Kindia tick virus* (KITV), который является первым сегментированным флавиподобным вирусом, обнаруженным на территории Западной Африки. Генетический материал KITV выявлен при исследовании 9 проб суспензий иксодовых клещей видов *Rhipicephalus geigyi*, *Rh. annulatus* и *Rh. decoloratus*, собранных с домашнего скота. В последующем для всех полученных изолятов определены частичные нуклеотидные последовательности каждого из сегментов. Все последовательности были консервативны, и существенных отличий, связанных с таксономической разницей эктопаразитов, не выявлено. Филогенетический анализ полученных изолятов позволил кластеризовать их в субкладу А JMTV-подобных вирусов. Частичные нуклеотидные последовательности сегментов изолятов KITV, выявленных в данной работе, были депонированы в международную базу данных GenBank под номерами OK345271 – OK345279 (для сегмента 1), OK345280 – OK345288 (для сегмента 2), OK345289 – OK345297 (для сегмента 3), OK345298 – OK345306 (для сегмента 4) [16].

Отдельного внимания заслуживает ситуация, складывающаяся в Гвинейской Республике в отношении социально значимых инфекций. Так, при обследовании доноров крови в г. Конакри установлена высокая встречаемость вирусного гепатита В (ГВ), включая его оккультную форму. Изучение структуры генома возбудителя заболевания, проведенное при скрининге донорской крови, доказало значимость определения не только HBsAg, но и анти-HBcIgG, наряду с ДНК вируса гепатита В (ВГВ), что снизит риск передачи вируса реципиентам от доноров с оккультной формой инфекции. В высокоэндемичных по ГВ странах следует проводить собственную оценку эффективности и экономической целесообразности внедрения высокотехнологичных методов скринирования доноров крови на основе информации о ресурсах государственного хранения и эпидемиологических данных [17].

Также в результате исследования образцов крови беременных женщин из разных регионов Гвинейской Республики впервые получены данные о циркуляции на территории страны сложных мутантов ВГВ, например сочетающих признаки иммунного ускользания и лекарственной устойчивости. Полученные сведения указывают на существование серьезной проблемы, требующей корректировки противовирусной терапии и профилактики инфицирования. При изучении генетических особенностей возбудителей ГВ, распространенных на территории Гвинейской Республики, получены и зарегистрированы в международных базах данных полногеномные последовательности 21 штамма ВГВ [18].

При изучении коллективного иммунитета жителей Гвинеи к возбудителю парвовирусной инфекции

в 66,1 % образцов выявлены антитела класса IgG, но наиболее активная трансмиссия вируса имела место в возрастной группе до 14 лет. При проведении молекулярно-генетических исследований установлено, что в Гвинейской Республике циркулируют изоляты 1A2 субгенотипа парвовируса В19. Выделенные последовательности сходны с образцами из стран Европы, а также из США, Китая, Кубы [19].

Благодаря тому, что территория Гвинейской Республики является эндемичной по многим опасным инфекционным болезням, существует возможность для проверки специфичности и чувствительности новых разработанных диагностических препаратов непосредственно в очагах инфекции. За время работы Центра апробацию прошли более 20 наборов реагентов для выявления возбудителей, актуальных для наших двух стран, в рамках обеспечения санитарной охраны территории и биологической безопасности, 11 из них прошли этапы регистрации в установленном порядке [20–24].

Проведено 42 совместных научно-исследовательских работы, основные результаты которых изложены в шести монографиях, практическом руководстве, а также опубликованы в 165 статьях в российских и зарубежных журналах.

Основные итоги российско-гвинейского научно-технического сотрудничества были представлены на саммите Россия – Африка (г. Сочи, 2019 г.). Президент Российской Федерации В.В. Путин в выступлении на пленарном заседании саммита дал высокую оценку работе Российско-Гвинейского центра: «...Успешно налажено сотрудничество в борьбе с опасными инфекционными заболеваниями. В частности, в Гвинее функционирует российский научный центр по исследованию... Да, это хорошая работа, правда, очень эффективная оказалась работа...» [19]. Во время второго саммита Россия – Африка (г. Санкт-Петербург, 2023 г.) В.В. Путин подчеркнул, что Российская Федерация «...будет наращивать взаимодействие и по такой насущной для Африке тематике, как медицина и здравоохранение, обеспечение эпидемической и биологической безопасности» [25].

Таким образом, 10-летнее сотрудничество между Российской Федерацией и Гвинейской Республикой в области противодействия инфекционным болезням позволило не только существенно повысить национальный потенциал Гвинеи по реагированию на современные биологические угрозы, но и создать устойчивую функционирующую модель взаимовыгодного партнерства на двусторонней основе. Опыт, полученный в результате настоящей работы, активно используется при планировании и осуществлении взаимодействия с другими странами Африканского региона.

**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. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Ликвидация эпидемии Эбола в Гвинейской Республике: опыт работы специализированной противозидемической бригады Роспотребнадзора. 2-е изд., перераб. и доп. Ижевск: ООО «Принт-2»; 2017. 388 с.
2. Бутенко А.М. Изучение циркуляции арбовирусов в Гвинейской Республике. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1996; 2:40–5.
3. Каливоги С., Буаро М.Е., Константинов О.К., Плотникова Л.Ф. Иммуная структура населения и домашних животных Гвинейской Республики в отношении риккетсиозов группы клещевой пятнистой лихорадки и лихорадки Ку. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2013; 1:28–30.
4. Health worker Ebola infections in Guinea, Liberia and Sierra Leone Preliminary report. WHO/EVD/SDS/REPORT/2015.1 [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-EVD-SDS-REPORT-2015.1> (дата обращения 09.06.2024).
5. Coltart C.E.M., Lindsey B., Ghinai I., Johnson A.M., Heymann D.L. The Ebola outbreak, 2013–2016: old lessons for new epidemics. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2017; 372(1721):20160297. DOI: 10.1098/rstb.2016.0297.
6. Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Демина Ю.В., Малеев В.В., Кутырев В.В., Щербакова С.А., Максюттов Р.А., Пьянков О.В., Keita S., Buaro M.Y., Magassouba N., Ицков Я.Ю., Коломоец Е.В. Вклад Российской Федерации в укрепление эпидемиологического надзора за опасными инфекционными болезнями на территории Гвинейской Республики. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 3:6–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-6-13.
7. Найденова Е.В., Лопатин А.А., Сафронов В.А., Коломоец Е.В., Левковский А.Е., Силла А.Л., Старшинов В.А., Щербакова С.А., Малеев В.В. Обеспечение биологической безопасности при проведении противозидемических мероприятий в период ликвидации эпидемии лихорадки Эбола в Гвинейской Республике. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2018; 7(3):102–8. DOI: 10.24411/2305-3496-2018-13015.
8. Лопатин А.А., Найденова Е.В., Сафронов В.А., Раздорский А.С., Уткин Д.В., Касьян Ж.А., Крицкий А.А., Терновой В.А., Нестеров А.Е., Сергеев А.А., Sylla A.L., Kanomou V., Boiro M.Y., Демина Ю.В., Хорошилов В.Ю., Попова А.Ю., Кутырев В.В. Изучение сохранения вируса Эбола в биологических жидкостях пациента на поздних стадиях выздоровления. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 3:73–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-3-73-76.
9. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Россия – Гвинея: итоги и перспективы сотрудничества в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Саратов: Амирит; 2020. 272 с.
10. Коломоец Е.В., Ицков Я.Ю., Найденова Е.В., Konomou V., Keita S., Lamah R. Создание и обеспечение функционирования госпитальной сети для лечения больных COVID-19 в Гвинейской Республике. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 3:66–71. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-66-71.
11. Kritsky A.A., Keita S., Magassouba N., Krasnov Ya.M., Safronov V.A., Naidenova E.V., Shevtsova A.P., Naryshkina E.A., Shcherbakova S.A., Popova A.Yu., Kutyrev V.V. Ebola virus disease outbreak in the Republic of Guinea 2021: hypotheses of origin. *bioRxiv Preprint*. 2021; April 23. DOI: 10.1101/2021.04.23.440924.
12. Найденова Е.В., Захаров К.С., Карташов М.Ю., Агафонов Д.А., Сеничкина А.М., Катышев А.Д., Diallo M.A., Bah M.B., Boumbaly S., Kutyrev V.B. Выявление генетических маркеров возбудителей природно-очаговых инфекционных болезней в пробах иксодовых клещей, собранных на территории Гвинейской Республики. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 4:115–24. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-115-124.
13. Makenov M.T., Toure A.H., Korneev M.G., Sacko N., Porshakov A.M., Yakovlev S.A., Radyuk E.V., Zakharov K.S., Shipovalov A.V., Boumbaly S., Zhurenkova O.B., Grigoreva Y.E., Morozkin E.S., Fyodorova M.V., Boiro M.Y., Karan L.S. *Rhipicephalus microplus* and its vector-borne haemoparasites in Guinea: further species expansion in West Africa. *Parasitol. Res.* 2021; 120(5):1563–70. DOI: 10.1007/s00436-021-07122-x.
14. Найденова Е.В., Карташов М.Ю., Захаров К.С., Шевцова А.П., Диалло М.Г., Нурдин И., Ба М.Б., Бумбали С., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Определение уровня иммунной прослойки населения Гвинейской Республики к некоторым арбовирусам. *Вопросы вирусологии*. 2021; 66(5):346–53. DOI: 10.36233/0507-4088-74.
15. Найденова Е.В., Карташов М.Ю., Шевцова А.П., Шиповалов А.В., Кабанов А.С., Болдырев Н.Д., Кривошеина Е.И., Diallo M.G., Nassou A.A., Bah M.B., Nouridine I., Keyra M., Kaba L., Camara S., Diallo M.T., Boumbaly S., Sidime Y., Кутырев В.В. Определение уровня иммунной прослойки сельскохозяйственных животных к возбудителям зоонозных инфекционных болезней в Гвинейской Республике. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 2:101–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-101-106.
16. Карташов М.Ю., Гладышева А.В., Найденова Е.В., Захаров К.С., Швалов А.Н., Кривошеина Е.И., Сеничкина А.М., Ба М.Б., Терновой В.А., Бумбали С., Локтев В.Б. Молекулярно-генетическая характеристика многокомпонентного флавиподобного вируса Kindia tick virus (Flaviviridae), обнаруженного в иксодовых клещах на территории Гвинейской Республики. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(6):487–95. DOI: 10.36233/0507-4088-145.
17. Бумбали С., Балде Т.А.Л., Семенов А.В., Останкова Ю.В., Серикова Е.Н., Найденова Е.В., Валути Д.Э., Щемелев А.Н., Зуева Е.Б., Эсауленко Е.В., Тотолян Арег А. Распространенность маркеров вирусного гепатита В среди доноров крови в Гвинейской Республике. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(1):59–68. DOI: 10.36233/0507-4088-92.
18. Балде Т.А.Л., Останкова Ю.В., Бумбали С., Найденова Е.В., Зуева Е.Б., Серикова Е.Н., Валути Д.Э., Щемелев А.Н., Давыденко В.С., Эсауленко Е.В., Тотолян Арег А. Частота встречаемости мутаций лекарственной устойчивости и ускользания от иммунного ответа в геноме вируса гепатита В, выявленного у беременных в Гвинейской Республике. *Вопросы вирусологии*. 2023; 68(3):228–41. DOI: 10.36233/0507-4088-175.
19. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Россия – Африка: опыт работы Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней. Элиста: ООО «Прогресс»; 2023. 244 с.
20. Дедков В.Г., Сафонова М.В., Боднев С.А., Кабанов А.С., Сафронов В.А., Лопатин А.А., Куклев В.Е., Уткин Д.В., Малеев В.В., Шипулин Г.А. Совершенствование диагностической системы в формате ОТ-ПЦР в реальном времени «Амплисепс EBOV (Zaire)-FL» для детекции РНК вируса Эбола Заир. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 3:55–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-3-55-57.
21. Dedkov V.G., Magassouba N.F., Safonova M.V., Naydenova E.V., Ayginin A.A., Soropogui B., Kourouma F., Camara A.B., Camara J., Kritziy A.A., Tuchkov I.V., Shchelkanov M.Y., Maleev V.V. Development and evaluation of a one-step quantitative RT-PCR assay for detection of Lassa virus. *J. Virol. Methods*. 2019; 271:113674. DOI: 10.1016/j.jviromet.2019.113674.
22. Пьянков С.А., Пьянков О.В., Найденова Е.В., Агафонов А.П., Boiro M.Y., Солodкий В.В., Зайковская А.В., Максимов Н.Л., Маренникова С.С., Бочаров Е.Ф., Офицеров В.И., Лопатин А.А., Щербакова С.А., Демина Ю.В., Кутырев В.В., Михеев В.Н. Опыт использования метода ИФА для выявления антител к вирусу Эбола при работе бригады СПЭБ в Гвинейской Республике. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 3:71–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-71-75.
23. Кривошеина Е.И., Карташов М.Ю., Найденова Е.В., Ушкаленко Н.Д., Пьянков С.А., Терновой В.А., Локтев В.Б. Разработка способа выявления специфических антител к белку Е вируса желтой лихорадки (Flaviviridae: Flavivirus) методом иммуноферментного анализа. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(4):341–50. DOI: 10.36233/0507-4088-123.
24. Найденова Е.В., Дедков В.Г., Агафонов Д.А., Сеничкина А.М., Сафонова М.В., Кутырев В.В. Разработка и апробация способа выявления РНК вируса Луи методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 1:110–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-110-115.
25. Выступление Президента РФ на Международной парламентской конференции «Россия – Африка в многополярном мире». [Электронный ресурс]. URL: <http://duma.gov.ru/news/56652/>.

## References

1. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Elimination of the Ebola Epidemic in the Republic of Guinea: Operational Experience of the Specialized Anti-Epidemic Team of the Rosпотребнадзор]. 2nd ed., revised and updated. Izhevsk: LLC "Print-2"; 2017. 388 p.
2. Butenko A.M. Study of arbovirus circulation in the Republic of Guinea. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]*. 1996; (2):40–5.
3. Kalivogi S., Boiro M.E., Konstantinov O.K., Plotnikova L.F. [The immune structure of the population and domestic animals of the Republic of Guinea in relation to rickettsioses of the tick-borne spotted fever and Q fever group]. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]*. 2013; (1):28–30.
4. Health worker Ebola infections in Guinea, Liberia and Sierra Leone. Preliminary report. WHO/EVD/SDS/REPORT/2015.1. (Cited 09 June 2024). [Internet]. Available from <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-EVD-SDS-REPORT-2015.1>.
5. Coltart C.E.M., Lindsey B., Ghinai I., Johnson A.M., Heymann D.L. The Ebola outbreak, 2013–2016: old lessons for new epidemics. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2017; 372(1721):20160297. DOI: 10.1098/rstb.2016.0297.

6. Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Demina Yu.V., Maleev V.V., Kuttyrev V.V., Shcherbakova S.A., Maksyutov R.A., P'yankov O.V., Keita S., Boiro M.Y., Magassouba N., Itskov Ya.Yu., Kolomoets E.V. Contribution of the Russian Federation to strengthening of epidemiological surveillance over dangerous infectious diseases in the Republic of Guinea. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (3):6-13. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-6-13.
7. Naidenova E.V., Lopatin A.A., Safronov V.A., Kolomoets E.V., Levkovsky A.E., Silla A.L., Starshinov V.A., Shcherbakova S.A., Maleev V.V. Ensuring biological safety when carrying out anti-epidemic measures during the elimination of Ebola fever epidemic in the Republic of Guinea. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]*. 2018; 7(3):102-8. DOI: 10.24411/2305-3496-2018-13015.
8. Lopatin A.A., Naidenova E.V., Safronov V.A., Razdorsky A.S., Utkin D.V., Kas'yan Zh.A., Kritsky A.A., Ternovoy V.A., Nesterov A.E., Sergeev A.A., Sylla A.L., Kanomou V., Boiro M.Y., Demina Yu.V., Khoroshilov V.Yu., Popova A.Yu., Kuttyrev V.V. Studies of Ebola virus persistence in the body fluids of a patient at advanced stages of convalescence. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2015; (3):73-6. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-3-73-76.
9. Popova A.Yu., Kuttyrev V.V., editors. Russia – Guinea: Results and Prospects of Cooperation in the Field of Ensuring Sanitary-Epidemiological Well-being of the Population. Saratov: "Amirif", 2020. 272 p.
10. Kolomoets E.V., Itskov Ya.Yu., Naidenova E.V., Konomou V., Keita S., Lamah R. Creation and functioning of a hospital network for the treatment of patients with COVID-19 in the Republic of Guinea. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (3):66-71. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-66-71.
11. Kritsky A.A., Keita S., Magassouba N., Krasnov Ya.M., Safronov V.A., Naidenova E.V., Shevtsova A.P., Naryshkina E.A., Shcherbakova S.A., Popova A.Yu., Kuttyrev V.V. Ebola virus disease outbreak in the Republic of Guinea 2021: hypotheses of origin. *bioRxiv Preprint*. 2021; April 23. DOI: 10.1101/2021.04.23.440924.
12. Naidenova E.V., Zakharov K.S., Kartashov M.Yu., Agafonov D.A., Senichkina A.M., Katyshev A.D., Diallo M.A., Bah M.B., Boumbaly S., Kuttyrev V.V. Detection of genetic markers of pathogens of natural-focal infectious diseases in samples of Ixodidae ticks collected in the territory of the Republic of Guinea. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (4):115-24. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-115-124.
13. Makenov M.T., Toure A.H., Korneev M.G., Sacko N., Porshakov A.M., Yakovlev S.A., Radyuk E.V., Zakharov K.S., Shipovalov A.V., Boumbaly S., Zhurenkova O.B., Grigoreva Y.E., Morozkin E.S., Fyodorova M.V., Boiro M.Y., Karan L.S. *Rhipicephalus microplus* and its vector-borne haemoparasites in Guinea: further species expansion in West Africa. *Parasitol. Res.* 2021; 120(5):1563-70. DOI: 10.1007/s00436-021-07122-x.
14. Naidenova E.V., Kartashov M.Yu., Zakharov K.S., Shevtsova A.P., Diallo M.G., Nurdin I., Bah M.B., Boumbaly S., Shcherbakova S.A., Kuttyrev V.V. Determination of the level of the immunity among the population of the Republic of Guinea to some arboviruses. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2021; 66(5):346-53. DOI: 10.36233/0507-4088-74.
15. Naidenova E.V., Kartashov M.Yu., Shevtsova A.P., Shipovalov A.V., Kabanov A.S., Boldyrev N.D., Krivosheina E.I., Diallo M.G., Nassour A.A., Bah M.B., Nouridine I., Keyra M., Kaba L., Camara S., Diallo M.T., Boumbaly S., Sidime Y., Kuttyrev V.V. Identification of the farm animals immune to pathogens of zoonotic infectious diseases in the Republic of Guinea. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (2):101-6. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-101-106.
16. Kartashov M.Yu., Gladysheva A.V., Naidenova E.V., Zakharov K.S., Shvalov A.N., Krivosheina E.I., Senichkina A.M., Bah M.B., Ternovoy V.A., Boumbaly S., Loktev V.B. Molecular-genetic characteristics of the multi-component flavi-like virus, Kindia tick virus (Flaviviridae), detected in Ixodidae ticks in the Republic of Guinea. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2022; 67(6):487-95. DOI: 10.36233/0507-4088-145.
17. Boumbaly S., Balde T.A.L., Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Naidenova E.V., Valutite D.E., Shchemelev A.N., Zueva E.B., Esaulenko E.V., Totolian Areg A. Prevalence of viral hepatitis B markers among blood donors in the Republic of Guinea. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2022; 67(1):59-68. DOI: 10.36233/0507-4088-92.
18. Balde T.A.L., Ostankova Yu.V., Boumbaly S., Naidenova E.V., Zueva E.B., Serikova E.N., Valutite D.E., Shchemelev A.N., Davydenko V.S., Esaulenko E.V., Totolian Areg A. Frequency of occurrence of mutations of drug resistance and immune escape in the genome of hepatitis B virus detected in pregnant women in the Republic of Guinea. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2023; 68(3):228-41. DOI: 10.36233/0507-4088-175.
19. Popova A.Yu., Kuttyrev V.V., editors. Russia – Africa: Accumulated Experience of the Russian-Guinean Research Center for Epidemiology and Prevention of Infectious Diseases. Elista: LLC "Protsvet", 2023. 244 p.
20. Dedkov V.G., Safronov M.V., Bodnev S.A., Kabanov A.S., Safronov V.A., Lopatin A.A., Kuklev V.E., Utkin D.V., Maleev V.V., Shipulin G.A. Improvement of diagnostic system in a real-time RT-PCR "AmpliSens EBOV (ZAIRES)-FL" format for Zaire ebolavirus RNA detection. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2015; (3):55-7. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-3-55-57.
21. Dedkov V.G., Magassouba N.F., Safronov M.V., Naidenova E.V., Ayginin A.A., Soropogui B., Kourouma F., Camara A.B., Camara J., Kritskiy A.A., Tuchkov I.V., Shchelkanov M.Y., Maleev V.V. Development and evaluation of a one-step quantitative RT-PCR assay for detection of Lassa virus. *J. Virol. Methods*. 2019; 271:113674. DOI: 10.1016/j.jviromet.2019.113674.
22. P'yankov S.A., P'yankov O.V., Naidenova E.V., Agafonov A.P., Boiro M.Y., Solodkiy V.V., Zaykovskaya A.V., Maksimov N.L., Marennikova S.S., Bocharov E.F., Ofitserov V.I., Lopatin A.A., Shcherbakova S.A., Demina Yu.V., Kuttyrev V.V., Mikheev V.N. Experience of application of the ELISA method for detection of antibodies to Ebola virus during the SAET Work in the Republic of Guinea. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; (3):71-5. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-71-75.
23. Krivosheina E.I., Kartashov M.Yu., Naidenova E.V., Ushkalenko N.D., P'yankov S.A., Ternovoy V.A., Loktev V.B. Development of a method for detecting specific antibodies to the E protein of Yellow fever virus (Flaviviridae: Flavivirus) by enzyme-linked immunosorbent assay. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2022; 67(4):341-50. DOI: 10.36233/0507-4088-123.
24. Naidenova E.V., Dedkov V.G., Agafonov D.A., Senichkina A.M., Safronov M.V., Kuttyrev V.V. Development and testing of a method for detecting Lujo virus RNA by reverse transcription and real time polymerase chain reaction. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (1):110-5. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-110-115.
25. Speech by the President of the Russian Federation at the International Parliamentary Conference "Russia – Africa in a Multi-polar World". [Internet]. Available from: <http://duma.gov.ru/news/56652/>.

# Authors:

- Popova A.Yu.** Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being; Bld. 5 and 7, 18, Vadkovsky Lane, Moscow, 127994, Russian Federation. Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; 2/1, Barrikadnaya St., Moscow, 125993, Russian Federation.
- Smolensky V.Yu.** Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being. 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Lane, Moscow, 127994, Russian Federation.
- Naidenova E.V., Shcherbakova S.A., Safronov V.A., Kuttyrev V.V.** Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru).
- Kolomoets E.V., Itskov Ya.Yu., Konomou V.** UC "RUSAL". 1, Vasilisy Kozhinoi St., Moscow, 121096, Russian Federation. E-mail: [documents@rusal.com](mailto:documents@rusal.com).
- Boumbaly S.** Virology Research Center, Laboratory of Viral Hemorrhagic Fevers of Guinea. Conakry, Republic of Guinea.
- N'Faly M.** Gamal Abdel Nasser University. Conakry, Republic of Guinea.
- Boiro M.Y., Traore M.S.** Research Institute of Applied Biology of Guinea. Kindia, Republic of Guinea.

# Об авторах:

- Попова А.Ю.** Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский пер., 18, стр. 5 и 7. Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования; Российская Федерация, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1.
- Смоленский В.Ю.** Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский пер., 18, стр. 5 и 7.
- Найденова Е.В., Щербак С.А., Сафронов В.А., Кутырев В.В.** Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru).
- Коломоец Е.В., Ицков Я.Ю., Кономов В.** Объединенная компания «РУСАЛ». Российская Федерация, 121096, Москва, ул. Василисы Кожиной, 1. E-mail: [documents@rusal.com](mailto:documents@rusal.com).
- Boumbaly S.** Лаборатория вирусных геморрагических лихорадок Гвинеи. Гвинейская Республика, Конакри.
- N'Faly M.** Университет им. Гамали Абдель Насера. Гвинейская Республика, Конакри.
- Boiro M.Y., Traore M.S.** Исследовательский институт прикладной биологии Гвинеи. Гвинейская Республика, Киндия.



DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-15-24

УДК 616.98:579.841.95

А.С. Карцева<sup>1</sup>, М.В. Силкина<sup>1</sup>, Т.А. Иващенко<sup>1</sup>, Я.О. Романенко<sup>1</sup>, Л.В. Саяпина<sup>2</sup>, В.В. Фирстова<sup>1</sup>**Выявление иммунологических коррелятов протекции при формировании специфического иммунитета к *Francisella tularensis***<sup>1</sup>ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», п. Оболensk, Российская Федерация;<sup>2</sup>ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация

Живая туляремиальная вакцина является одной из самых эффективных бактериальных вакцин, при этом обладает высокой остаточной вирулентностью для лабораторных животных, что коррелирует с ее высокой реактогенностью при иммунизации людей с иммунодефицитным состоянием. Прогресс в создании безопасной и эффективной вакцины для профилактики туляремии затруднен из-за недостатка знаний о коррелятах протекции. **Цель** работы – анализ литературы, посвященной изучению ключевых моментов формирования поствакцинального иммунного ответа на введение живых туляремиальных вакцин и рекомбинантных штаммов – кандидатов в вакцинные, а также определение иммунологических коррелятов протекции при формировании специфического иммунитета к *Francisella tularensis*. В обзоре рассматриваются основные аспекты формирования врожденного и адаптивного иммунных ответов на введение живых туляремиальных вакцин на основе аттенуированных штаммов *F. tularensis* 15 НИИЭГ и *F. tularensis* LVS у людей и при экспериментальной туляремиальной инфекции на мышинной модели. Изучение механизмов адаптивного иммунитета и выявление иммунологических коррелятов протекции при экспериментальной туляремии на мышинной модели является важным этапом в исследованиях по разработке новых вакцинных штаммов и совершенствованию лабораторных методов оценки Т-клеточного звена иммунитета. Основное внимание сосредоточено на изучении клеточных механизмов, лежащих в основе формирования протективного иммунитета при экспериментальной туляремии, определении иммунологических критериев его оценки и роли выявленных показателей в долгосрочной защите после окончания активной фазы иммунного ответа, индуцированного иммунизацией вакцинными препаратами на основе аттенуированных штаммов *F. tularensis*. Обсуждается влияние вакцинации на дифференцировку, функциональную активность и длительность циркулирования специфических центральных и эффекторных CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток памяти у людей и мышей.

**Ключевые слова:** туляремия, штаммы – кандидаты в вакцинные, иммунологические корреляты, Т-клетки памяти, критерии оценки иммунного ответа.

Корреспондирующий автор: Карцева Алена Сергеевна, e-mail: kartseva\_as@mail.ru.

Для цитирования: Карцева А.С., Силкина М.В., Иващенко Т.А., Романенко Я.О., Саяпина Л.В., Фирстова В.В. Выявление иммунологических коррелятов протекции при формировании специфического иммунитета к *Francisella tularensis*. Проблемы особо опасных инфекций. 2024; 3:15–24. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-15-24

Поступила 09.02.2024. Отправлена на доработку 01.03.2024. Принята к публ. 22.03.2024.

A.S. Kartseva<sup>1</sup>, M.V. Silkina<sup>1</sup>, T.A. Ivashchenko<sup>1</sup>, Ya.O. Romanenko<sup>1</sup>, L.V. Sayapina<sup>2</sup>, V.V. Firstova<sup>1</sup>**Identification of Immunological Correlates of Protection during Development of Specific Immunity to *Francisella tularensis***<sup>1</sup>State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russian Federation;<sup>2</sup>Scientific Center on Expertise of Medical Application Products, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** Live tularemia vaccine is one of the most effective bacterial vaccines. However, it also has high residual virulence for laboratory animals and may cause adverse reactions in individuals with compromised immune systems. The development of a safe and effective tularemia vaccine is impeded by insufficient understanding of the protection correlates. **The aim** of this work is to review the literature on the development of post-vaccinal immune responses to live tularemia vaccines and recombinant vaccine candidate strains and to determine the immunological correlates of protection in the formation of specific immunity to *Francisella tularensis*. This review describes the main aspects of the development of innate and adaptive immune responses to the administration of live tularemia vaccines based on attenuated strains of *F. tularensis* 15 NIEG and *F. tularensis* LVS in humans and in experimental tularemia infection in a mouse model. Studying the mechanisms of adaptive immunity and identifying immunological correlates of protection in experimental tularemia in a murine model is crucial for researching new vaccine strains and improving laboratory methods for assessing the T-cell component of immunity. The main focus is on the study of cellular mechanisms underlying the formation of protective immunity in experimental tularemia, the determination of immunological criteria for its evaluation and the role of identified indicators in long-term protection after the end of the active phase of the immune response induced by immunization with vaccines based on attenuated *F. tularensis* strains. We discuss the effects of vaccination on the differentiation, functional activity, and duration of specific central and effector CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> memory T-cells circulation in humans and mice.

**Key words:** tularemia, vaccine candidate strains, immunological correlates, memory T-cells, immune response evaluation criteria.

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

**Funding:** The work was carried out within the framework of the industry program of the Rospotrebnadzor for 2021–2025 “Study of immunopathogenesis mechanisms in agents of infectious diseases”.

**Corresponding author:** Alena S. Kartseva, e-mail: kartseva\_as@mail.ru.

**Citation:** Kartseva A.S., Silkina M.V., Ivashchenko T.A., Romanenko Ya.O., Sayapina L.V., Firstova V.V. Identification of Immunological Correlates of Protection during Development of Specific Immunity to *Francisella tularensis*. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2024; 3:15–24. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-15-24

Received 09.02.2024. Revised 01.03.2024. Accepted 22.03.2024.

Kartseva A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3159-6439>

Silkina M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5329-2807>

Ivashchenko T.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4908-2524>

Romanenko Ya.O., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1698-6516>

Sayapina L.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2272-2621>

Firstova V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9898-9894>

Повышенное внимание к туляремии в России определено существованием на ее территории большого количества природных очагов. Несмотря на проведение вакцинопрофилактики, в эндемичных районах ежегодно регистрируются спорадические случаи (реже эпидемические вспышки) туляремии среди населения [1].

В настоящее время эффективную защиту против туляремии обеспечивают живые вакцины, полученные на основе аттенуированных штаммов *Francisella tularensis*. В Российской Федерации используется зарегистрированная живая туляремиальная вакцина на основе штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ [2]. В США для производства экспериментальной вакцины используют штамм *F. tularensis* LVS [3]. Туляремиальная живая вакцина при введении индуцирует у привитых формирование напряженного противотуляремиального иммунитета [2].

Вакцины, полученные на основе живых штаммов *F. tularensis* 15 НИИЭГ и *F. tularensis* LVS, были разработаны эмпирически, с ограниченным пониманием механизмов формирования и поддержания эффективного противотуляремиального ответа, а также при отсутствии высокочувствительных иммунологических методов, позволяющих в полной мере оценить развитие протективного иммунитета на уровне взаимодействия клеток иммунной системы. Вместе с тем недостаточно изученный механизм аттенуации штаммов и относительно высокая реактогенность вакцины, в том числе для людей с иммунодефицитом, является актуальной задачей создания безопасной живой туляремиальной вакцины [3].

В настоящее время успешно разрабатываются экспериментальные штаммы туляремиального микроба, кандидаты в вакцины [3]. Для изучения новых штаммов основным условием является использование объективных иммунологических методов и критериев оценки, позволяющих всесторонне оценить развитие специфического иммунного ответа при их введении [4–7]. Вышеизложенные подходы особенно важно учитывать при разработке дизайна доклинических и клинических исследований иммунологической эффективности вакцинных препаратов.

В представленном обзоре приведен анализ литературных источников по основным аспектам формирования иммунного ответа на введение живых туляремиальных вакцин и рекомбинантных штам-

мов – кандидатов в вакцинные, а также современным представлениям о корреляции между иммунологическими показателями и защитой организма от туляремиальной инфекции.

**Врожденный иммунный ответ.** В состав клеточной стенки туляремиального микроба, как и любой грамотрицательной бактерии, в качестве доминирующего компонента входит липополисахарид (ЛПС), имеющий ряд структурных особенностей, препятствующих активации иммунных реакций врожденного иммунитета [8, 9]. Как правило, распознавание TLR4/MD2-рецепторами ЛПС грамотрицательных бактерий индуцирует синтез провоспалительных цитокинов. Однако установлено, что очищенный ЛПС *F. tularensis* обладает слабой биологической активностью, возможно, обусловленной отсутствием фосфатных фрагментов структурных свойств фрагмента липида А, а также числом и длиной заместителей ацильной цепи [9].

Вместе с тем другими исследователями показано, что с TLR4-рецептором могут связываться и другие компоненты *F. tularensis*. В работе A.R. Ashtekar *et al.* продемонстрировано, что рекомбинантный белок теплового шока DnaK индуцирует через TLR4 созревание дендритных клеток, выделенных из костного мозга мышей, посредством активации костимулирующих молекул (CD40, CD80 и CD86) и продукции цитокинов IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-12 p40 и IL-10 [10].

В течение первого десятилетия XXI в. появились сообщения о том, что TLR2-рецептор участвует в распознавании *F. tularensis*. Показано, что у мышей линии C57BL/6, нокаутных по TLR2-гену, по сравнению с мышами дикого типа при интраназальном введении сублетальной дозы штамма *F. tularensis* LVS наблюдается высокая бактериальная нагрузка, меньшая выживаемость животных и низкий уровень синтеза цитокинов IL-6 и TNF- $\alpha$  [11]. Результаты дальнейших исследований подтверждают важную роль TLR2-рецептора в активации антигенпрезентирующей функции мышиных макрофагов и дендритных клеток и контроле транскрипции генов провоспалительных цитокинов [9].

Установлено, что на ранних фазах взаимодействия *F. tularensis* с клетками врожденной иммунной системы важную роль играет присутствие белков опсопинов, предопределяющих внутриклеточную локализацию бактерий. Участие опсонофагоцитар-

ных рецепторов влияет на перемещение бактерий *F. tularensis* путем модуляции фагоцитарных путей, которые ограничивают выход бактерий из фагосомы и их внутриклеточное размножение. При этом поверхностные рецепторы маннозы, один из рецепторов лектина С-типа, рецепторы комплемента CR3 (CD11b/CD18) макрофагов, CR4 (CD11c/CD18) дендритных клеток, CR1/2 В-клеток и Fcγ-рецепторы участвуют в проникновении *F. tularensis* в клетку-хозяина [8, 9].

Проведенные экспериментальные работы Н. Geier *et al.* показали, что опсонизация сывороткой, содержащей антитела к *F. tularensis* SchuS4, переориентирует взаимодействие бактерий с макрофагами с рецептора маннозы на рецептор комплемента CR3, с рецептора-мусорщика А на FcγR-рецептор [12]. В свою очередь, CR3-опосредованный фагоцитоз *F. tularensis* снижает выход туляремиальных бактерий из фагосомы, а Fcγ-опосредованный фагоцитоз приводит к интенсивной продукции супероксида в ранней фагосоме, NADPH-оксидаз-зависимому окислительному взрыву и ограниченному выходу бактерий из фагосомы [13].

Таким образом, внедрение *F. tularensis* в клетки макроорганизма может осуществляться путем поглощения неопсонизированных либо опсонизированных бактерий. Достаточно сложная активация нескольких сигнальных путей влияет на результат взаимодействия бактерий *F. tularensis* и клеток врожденной иммунной системы.

По результатам изучения влияния *F. tularensis* на макрофаги и дендритные клетки установлено, что туляремиальный микроб находится внутри фагосомы, образовавшейся путем погружения и замыкания клеточной мембраны. При этом в фагосоме экспрессируются ранние и поздние эндосомные маркеры, такие как EEA-1, LAMP-1 и Rab-7, но не маркер катепсин D, который является индикатором слияния фагосомы с лизосомой [9]. Следующим шагом во внутриклеточном перемещении бактерии является активное разрушение мембраны фагосомы с последующим уходом в цитозоль, где она затем активно реплицируется. Нет единого мнения ученых о процессах подкисления фагосомы до разрушения мембраны бактериями *F. tularensis*. Проводились исследования, в которых продемонстрировано прогрессирующее закисление вакуоли за счет экспрессии V-АТФазы до разрушения мембраны фагосомы [14], в то же время имеются противоречивые данные, исключающие подкисление фагосомы [15]. До сих пор не выяснено, связано ли это несоответствие с разными экспериментальными условиями или разными штаммами *F. tularensis*.

Долгое время считали, что вирулентность *F. tularensis* зависит от способности бактерий реплицироваться в фагоцитарных клетках макроорганизма. Проведенные исследования по изучению способности штаммов *F. tularensis* размножаться в макрофагах и дендритных клетках различных тканей макро-

организма показали, что бактерии *F. tularensis* при заражении *in vitro* способны размножаться в перитонеальных, альвеолярных макрофагах, дендритных клетках крыс, мышей и морских свинок, а также в моноцитах периферической крови и дендритных клетках человека [2]. В экспериментах по заражению фагоцитов *in vitro* выявлено, что при отсутствии экзогенных факторов активации клеток, например INF-γ, внутриклеточная репликация штамма *F. tularensis* LVS продолжается неограниченно до гибели клетки-хозяина, а именно по каспазо-3-зависимому апоптозу клеток [16]. Известно, что вирулентный штамм *F. tularensis* SchuS4 подвиды *tularensis* также индуцирует каспазо-3-зависимый апоптоз резидентных макрофагов мыши. Полученные результаты подтверждают возможность неограниченного роста *F. tularensis*, вызывая апоптоз инфицированных клеток как *in vivo*, так и *in vitro* [17].

В исследовании на макрофагах продемонстрировано, что *F. tularensis* проникает в фагоциты и быстро покидает фагосому, размножаясь в цитозоле, тем самым избегая слияния фагосомы с лизосомой и связанных с этим последующих бактерицидных эффектов. В макрофагах, полученных из моноцитов периферической крови людей и обработанных INF-γ, наблюдался контроль роста штамма *F. novicida*, так как INF-γ нарушал способность бактерий уклоняться от слияния фагосомы с лизосомой. Полученные данные демонстрируют, что механизм предотвращения выхода *F. tularensis* из фагосомы является INF-γ-зависимым, присутствие данного цитокина приводит к ингибированию внутриклеточного роста бактерий [2]. Однако при изучении роста штаммов *F. tularensis* LVS и *F. tularensis* SchuS4 в макрофагах костного мозга мышей и в макрофагоподобной клеточной линии J774.1 установили, что INF-γ-опосредованная активация клеток не влияет на выход бактерий из фагосомы [15, 18]. Вероятнее всего, данные расхождения связаны с использованием в вышеупомянутых исследованиях макрофагов разного происхождения, а также штаммов *F. tularensis* различных подвидов.

Заслуживают внимания сообщения о том, что индуцированная INF-γ активация клеток, приводящая к предотвращению выхода бактерий *F. tularensis* из фагосомы, не является единственным механизмом, с помощью которого INF-γ ограничивает рост бактерий внутри фагоцитов. Данные проведенных исследований подтверждают наличие двух хорошо известных классических механизмов: генерация активных форм кислорода и азота, опосредованных INF-γ, которые могут подавлять внутриклеточное размножение штаммов *F. tularensis* SchuS4 и *F. tularensis* LVS как *in vitro*, так и *in vivo* [19, 20]. Полученные результаты показывают, что индуцированные INF-γ бактерицидные механизмы, участвующие в ингибировании роста вирулентного штамма *F. tularensis* SchuS4 в активированных макрофагах, еще предстоит определить, в то время как штамм



*F. tularensis* LVS оказался более чувствительным к бактерицидным эффектам.

Установлено, что вирулентные штаммы *F. tularensis* способны противодействовать активации фагоцитов и продукции ими провоспалительных цитокинов. Штамм *F. tularensis* SchuS4 подвида *tularensis* подавляет синтез IFN- $\gamma$  фагоцитами, индуцируя выработку простагландина- $E_2$  инфицированными клетками, который ингибирует синтез IFN- $\gamma$  [21]. Вирулентные штаммы *F. tularensis* также активно подавляют активацию дендритных клеток человека и мыши, нарушая синтез провоспалительных цитокинов. Это, по-видимому, обусловлено способностью вирулентного штамма *F. tularensis* SchuS4 увеличивать продукцию иммуносупрессивного цитокина TGF- $\beta$  (индикатор альтернативной активации макрофагов), а также подавлять экспрессию CD14 дендритными клетками легких [3].

Помимо этого, бактерии *F. tularensis* способны размножаться в нейтрофилах [22]. Показано, что истощение популяции нейтрофилов у мышей приводит к высокой восприимчивости к парентеральному заражению возбудителем туляремии [23]. Вместе с тем выявлено, что нейтрофилы играют неоднозначную роль при туляремийной инфекции. Несмотря на активное размножение бактерий *F. tularensis* в нейтрофилах, они сохраняют способность секретировать цитокины и хемокины, которые привлекают другие эффекторные клетки к очагу инфекции [2]. Истощение популяции нейтрофилов у мышей приводило лишь к незначительному увеличению бактериальной нагрузки в печени [23]. В другом исследовании показано, что нейтрофилы составляют до 50 % клеток, инфицированных *F. tularensis* в легких у мышей через трое суток после заражения штаммами *F. tularensis* LVS или *F. tularensis* SchuS4 [24].

В ряде работ выявлено активное участие тучных клеток и NK-клеток в иммунном ответе при инфицировании штаммами *F. tularensis*. Мыши, у которых была истощена популяция тучных клеток, оказались более восприимчивы к легочной инфекции, вызванной штаммом *F. tularensis* LVS, при этом у них наблюдалась сниженная продукция IL-4 в легких, в сравнении с мышами без иммунодефицита [25]. Показано, что NK-клетки играют роль в раннем периоде иммунного ответа, синтезируя IFN- $\gamma$  совместно с другими клетками врожденной иммунной системы [2]. S.M. Bokhari *et al.* выявили, что у мышей, дефицитных по NK-клеткам, во время интраназальной туляремийной инфекции наблюдалось снижение уровня IFN- $\gamma$  в сыворотке на 50 % по сравнению с мышами дикого типа [26].

**Адаптивный иммунный ответ.** Адаптивные иммунные реакции обычно развиваются в течение более длительного периода времени, чем врожденный иммунитет, так как для них изначально требуется активация и клональная экспансия антиген-специфических В- и Т-клеток. Активированные В- и Т-клетки памяти быстрее реагируют на повторное

воздействие специфического антигена, тем самым формируя основу протективного поствакцинального иммунитета.

Ранние методы изучения противотуляремийного иммунитета основывались на переносе иммунной сыворотки интактным животным. У мышей введение иммунной сыворотки обеспечивало некоторую защиту от легочной инфекции, вызванной штаммами *F. tularensis* LVS и *F. novicida* [27]. Вместе с тем введение сыворотки, полученной от животных, иммунизированных штаммом *F. tularensis* LVS, не обеспечивало защиты мышам линии BALB/c от легочной инфекции, вызванной штаммом *F. tularensis* SchuS4 [28]. В исследовании, проведенном G.R. Klimpel *et al.*, показано, что сыворотка, полученная от мышей BALB/c после введения им штамма *F. tularensis* LVS и вылеченных левофлоксацином, обладала протективным эффектом [29]. Другими группами исследователей установлено, что механизм защиты в результате переноса иммунной сыворотки обусловлен Fc $\gamma$ R-опосредованным фагоцитозом и антитело-зависимой цитотоксичностью NK-клеток [27, 30].

В-клетки хорошо известны своей способностью дифференцироваться в плазматические клетки, секретирующие антитела в ответ на чужеродные антигены. Туляремийная инфекция индуцирует синтез специфических антител против антигенов, в основном ЛПС *F. tularensis*, как у мышей, так и у человека [2]. Вместе с тем в литературе описаны и другие иммуногенные белки: ForA и OmpA внешней мембраны, а также внутриклеточные белки GroEL и KatG [27]. В ряде исследований установлено, что антитела к ЛПС *F. tularensis* обеспечивали протективный эффект при внутрикожном и внутрибрюшинном введении мышам летальной дозы штамма *F. tularensis* LVS [2, 31].

В свою очередь, D.D. Crane *et al.* обнаружили, что вирулентные штаммы *F. tularensis* subsp. *tularensis*, в частности штамм *F. tularensis* SchuS4, способны связывать плазмин-сериновую протеазу, которая обуславливает деградацию антител и приводит к ингибированию процесса опсонизации, а также к снижению эффективности процесса фагоцитоза бактерий данного подвида [32].

В некоторых работах продемонстрировано, что внутрикожная иммунизация штаммом *F. tularensis* LVS не обеспечивает защиты от интраназального заражения вирулентными штаммами *F. tularensis* FSC33/snMF и NMFTA1 подвида *tularensis*. В то же время интраназальная иммунизация штаммом *F. tularensis* LVS защищала мышей от подкожного и интраназального заражения вышеупомянутыми штаммами, что указывает на возможное участие IgA слизистой оболочки в формировании протективного противотуляремийного иммунитета [33]. Показано, что IgA обнаружены в сыворотке крови людей и мышей, а также в бронхолегочном лаваже иммунизированных мышей штаммом *F. tularensis* LVS [34, 35].

Таким образом, наличие специфических антител к антигенам *F. tularensis* является индикатором предшествующего вакцинального или инфекционного процессов. Бактерии *F. tularensis*, которые реплицируются внутриклеточно, могут быть недоступными для антител, но при временном нахождении вне инфицированной клетки антитела могут играть определенную роль в борьбе с туляремийной инфекцией посредством опсонизации и облегчения фагоцитоза [2].

В-клетки также способны регулировать специфические иммунные реакции с помощью дополнительных, независимых от антител механизмов [36]. S.J. Culkin *et al.* установили, что ранний протективный эффект, начиная с третьих суток после введения штамма *F. tularensis* LVS, зависит от наличия В-клеток и сопутствующего синтеза IFN- $\gamma$  [31]. В опытах на животных показано, что введение вакцинного *F. tularensis* 15 НИИЭГ и его производных уже на третьи сутки индуцирует у мышей в крови и селезенке увеличение В-клеток, экспрессирующих молекулу CD69 (маркер ранней активации [37]), которая участвует в регуляции эффекторной функции лимфоцитов, и ко-стимулирующую молекулу CD86, что отражает усиление межклеточных взаимодействий [38].

Показано, что важность участия В-клеток в формировании протективного иммунитета зависит от уровня вирулентности заражающего штамма *F. tularensis*, а именно: чем выше вирулентность, тем более востребовано проявление эффекторных функций данной субпопуляцией [2]. В результате изучения протективных свойств вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ и его производных (15/23-1 $\Delta$ recA и 15/23-1/sodB $\Delta$ recA) установлено, что у иммунизированных мышей наблюдалось антиген-индуцированное повышение процентного содержания В-клеток, синтезирующих IFN- $\gamma$ . В этом же исследовании [38] выявлено, что при стимуляции В-клеток *in vitro* туляремийным антигеном происходила их активация, о чем свидетельствовало увеличение пулов CD19<sup>+</sup> клеток, экспрессирующих молекулы CD69 и CD25 – лиганд IL-2, который при связывании усиливает пролиферативный потенциал клетки [39]. Исследование, направленное на определение критериев защиты от вирулентного штамма *F. tularensis* SchuS4, показало, что выживаемость мышей после первичного инфицирования коррелировала с наличием  $\alpha\beta$ - и  $\gamma\delta$ T-клеток, а также В-клеток [40], подтверждая возможность В-клеток модулировать иммунные реакции не только продукцией специфических антител, но и посредством прямых контактов с другими иммунокомпетентными клетками и синтезом цитокинов [41]. В связи с этим разработка критериев оценки иммунологической эффективности вакцинации должна быть сосредоточена на понимании механизмов реализации эффекторных функций В- и Т-клеток.

**Иммунологические корреляты протекции: Т-клетки и их эффекторные функции.** При внутриклеточных инфекциях ключевая роль в форми-

ровании протективного иммунитета и уничтожении патогенов отводится  $\alpha\beta$ T-клеткам [2, 4, 7]. В пуле  $\alpha\beta$ T-клеток выделяют две основных субпопуляции: CD4<sup>+</sup> (Т-хелперы) и CD8<sup>+</sup> (цитотоксические Т-лимфоциты). Согласно литературным данным, протективный поствакцинальный и постинфекционный иммунитет формируется при активном участии CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>  $\alpha\beta$ T-клеток. Истощение CD4<sup>+</sup> или CD8<sup>+</sup> субпопуляции  $\alpha\beta$ T-клеток у иммунных мышей линий BALB/c и C57BL/6 приводит к летальному исходу с небольшими различиями в продолжительности жизни [2, 33].

В литературе также встречаются данные о других малых субпопуляциях Т-клеток, которые вносят определенный вклад в формирование протективного иммунитета против *F. tularensis*. К таким субпопуляциям относятся  $\gamma\delta$ T-лимфоциты и дважды отрицательные (CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>)  $\alpha\beta$ T-клетки. В то время как CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>  $\alpha\beta$ T-клетки имеют ключевое значение при первичной и вторичной туляремийной инфекции у мышей и людей, участие  $\gamma\delta$ T-клеток не является обязательным, что было продемонстрировано в опытах на мышах при моделировании экспериментальной туляремии. Обнаружено, что  $\gamma\delta$ TCR<sup>-/-</sup> мыши восприимчивы к интраназальной сублетальной инфекции, вызванной штаммом *F. tularensis* LVS, в равной степени, как и мыши дикого типа [42]. Однако показано, что в крови переболевших туляремией людей значительно увеличивалось содержание субпопуляции  $\gamma\delta$ T-клеток через один месяц после инфицирования [43]. По-видимому, у переболевших людей  $\gamma\delta$ T-клетки периферической крови предотвращают развитие туляремийной инфекции посредством формирования IFN- $\gamma$ -зависимого механизма, приводящего к ослабеванию или задержке роста туляремийного микроба [44]. Таким образом, полученные результаты демонстрируют определенный вклад  $\gamma\delta$ T-клеток в формирование противотуляремийного иммунного ответа. Показано, что CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>  $\alpha\beta$ T-клетки принимают участие в формировании противотуляремийного иммунитета при интраназальной иммунизации, способствуя дифференцировке моноцитов в дендритные клетки и поддерживая иммунный ответ CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>  $\alpha\beta$ T-клеток [45].

Основной целью вакцинации против внутриклеточных инфекций является индукция Т-клеток памяти. Иммунологическая память – результат клональной экспансии и дифференцировки антиген-специфических Т-клеток, которые сохраняются длительное время или на протяжении всей жизни. После первичной встречи с *F. tularensis* и угасания эффекторной фазы иммунного ответа антиген-специфические CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-лимфоциты дифференцируются в клетки памяти, среди которых выделяют субпопуляции центральных (T<sub>CM</sub>) и эффекторных (T<sub>EM</sub>) Т-клеток памяти, участвующих в развитии иммунологических реакций при повторной встрече с антигенами *F. tularensis* [46].



Несмотря на важную роль Т-клеток памяти в формировании протективного иммунитета при туляремии, работ по изучению их субпопуляционного состава, функциональной активности и длительности сохранения после вакцинации немного. Основная часть опубликованных исследований проведена с использованием штамма *F. tularensis* LVS. Показано, что у людей, привитых препаратом, полученным из штамма *F. tularensis* LVS, индуцируется генерация  $T_{EM}$  [6] и  $T_{CM}$  [4]. К. Eneslätt *et al.* отмечают, что после введения добровольцам препарата, полученного на основе штамма *F. tularensis* LVS,  $CD4^+$  и  $CD8^+$   $T_{CM}$ -клетки, продуцирующие IFN- $\gamma$ , сохраняются более 25 лет [4].

Исследования на моделях лабораторных животных сосредоточены на изучении иммунологических реакций, отражающих поствакцинальную защиту против вирулентных штаммов *F. tularensis*, как правило, на 21–28-е сутки после вакцинации, т.е. временного интервала, когда происходит активное формирование специфического протективного иммунитета [27, 33]. Тем не менее при определении критериев иммунологической эффективности вакцинации живой туляремийной вакциной важно изучить их динамику после окончания активной фазы и оценить роль в обеспечении длительного протективного иммунитета. В работе по изучению длительности иммунитета показано, что иммунизация штаммом *F. tularensis* LVS индуцировала формирование протективного иммунитета у мышей, о чем свидетельствовало отсутствие гибели животных после их заражения вирулентным штаммом *F. tularensis* ShuS4 на 30-е и 90-е сутки. Протективный эффект иммунизации обусловлен генерацией  $CD4^+$  и  $CD8^+$  Т-клеток памяти в селезенке и легких и синтезом ими IFN- $\gamma$ . Однако в данном исследовании детально не изучены механизмы формирования Т-клеточной иммунологической памяти, а именно влияние вакцинации на дифференцировку  $T_{CM}$  и  $T_{EM}$  и их функциональную активность [47]. В другом исследовании показано, что бустерная интраназальная иммунизация штаммом *F. tularensis* LVS обеспечивает эффективную защиту от интраназального заражения через 30 суток вирулентным штаммом *F. tularensis* ShuS4 посредством индукции  $CD4^+$  и  $CD8^+$   $T_{EM}$  в легких и синтезом IL-17A и IFN- $\gamma$ . Вместе с тем при инфицировании животных через 60 суток по аналогичной схеме иммунизации все животные погибали. Авторы пришли к выводу, что через месяц после последней иммунизации наличие  $CD4^+$  и  $CD8^+$   $T_{EM}$  обеспечивает защитный иммунитет, однако через два месяца после последней иммунизации и окончания первичного иммунного ответа большая часть эффекторных клеток элиминируется и защиты не наблюдается [46]. Полученные данные подчеркивают важность генерации субпопуляции  $T_{CM}$  после вакцинации, индукция которых может опосредовать устойчивый длительный иммунитет.

Исследования, проведенные на мышах, иммунизированных штаммом *F. tularensis* 15 НИИЭГ,

также показали, что вакцинация индуцировала формирование антиген-специфичных  $CD4^+$  и  $CD8^+$  Т-клеток памяти, их дифференцировку на субпопуляции  $T_{EM}$  и  $T_{CM}$ , которые проявляли свою эффекторную функцию посредством экспрессии молекулы CD69 и продукции цитокинов IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  [48, 49]. Установлено, что снижение количества и угасание функциональной активности субпопуляций  $CD8^+$   $T_{CM}$  и  $T_{EM}$  в отдаленные сроки после вакцинации (60-е и 90-е сутки) штаммом *F. tularensis* 15 НИИЭГ приводило к ослаблению защиты после заражения мышей природным штаммом *F. tularensis* Schu subsp. *tularensis* [49]. Согласно литературным данным, одним из объяснений угасания протективного иммунитета против внутриклеточных инфекций с течением времени является снижение пула долгоживущих  $T_{CM}$  [50, 51]. Авторы предполагают, что истощение  $CD8^+$   $T_{CM}$ , являющихся предшественниками  $CD8^+$   $T_{EM}$ , с увеличением поствакцинального периода приводило к снижению количества и функциональной активности  $CD8^+$   $T_{EM}$  на 60-е и 90-е сутки после вакцинации мышей штаммом *F. tularensis* 15 НИИЭГ.

Одним из важных аспектов разработки вакцины является выявление эффекторных функций иммунокомпетентных клеток, необходимых для борьбы с инфекцией. В периферической крови людей, выздоравливающих от туляремийной инфекции, обнаруживаются цитокины IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-17 и IL-22, продуцирующиеся Т-клетками, что указывает на индуцирование инфекцией или вакцинацией синтеза данных цитокинов [2, 4, 5]. Из вышеизложенного следует заключить, что необходимо оценивать роль данных цитокинов в формировании защитного иммунитета у животных в экспериментах по изучению иммуногенных и протективных свойств новых вакцинных штаммов.

Предположения о том, что для формирования протективного иммунитета необходимо наличие классических Th1-цитокинов, подтверждены на мышинной модели несколькими группами исследователей, которые показали, что ключевыми цитокинами в реализации противотуляремийного иммунитета являются IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  [40, 52, 53]. IL-17A также продуцируется  $CD4^+$ , дважды отрицательными  $CD4^-CD8^-$  и  $\gamma\delta$ Т-клетками во время легочной инфекции мышей при введении им штамма *F. tularensis* LVS, но отсутствует при подкожном заражении животных [21, 42]. Несколькими группами ученых показано, что IL-17A имеет большое значение во время первичной респираторной инфекции, вызванной штаммом *F. tularensis* LVS: мыши, дефицитные по IL-17A, оказались более восприимчивы к легочной инфекции в сравнении с мышами дикого типа [21, 42, 52, 53]. Следовательно, для оценки протективности противотуляремийного Т-клеточного иммунитета одновременное определение продукции IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-17A является более информативным и указывает на то, что кандидат в вакцинный штамм

должен индуцировать генерацию полифункциональных Т-клеток [54].

Таким образом, анализ публикаций по проведенным исследованиям с применением современных информативных методов показал значительный прогресс в понимании участия различных субпопуляций Т-клеток в иммунном ответе на *F. tularensis*. Одновременное изучение экспрессии маркеров активации, рецепторов хоминга, хемокиновых рецепторов и спектра продуцируемых цитокинов Т-клеток позволит полнее понимать механизмы формирования Т-клеточной иммунологической памяти.

На сегодняшний день известно, что вид вакцины оказывает прямое влияние на тип запускаемых эффекторных лимфоцитов, которые опосредуют протективный иммунитет [55]. Для формирования протективного иммунитета против *F. tularensis* необходимо, чтобы вакцина индуцировала генерацию антиген-специфических В-клеток и CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> Т-клеток. В настоящий момент активацию эффекторных лимфоцитов обеспечивают только живые вакцины, полученные на основе аттенуированных штаммов *F. tularensis* [2].

Проводя поиск критериев оценки протективного иммунитета при туляремии, главным образом, необходимо изучать активацию и эффекторные функции CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток памяти с фенотипами в T<sub>EM</sub> и T<sub>CM</sub>, а также определять длительность их циркуляции после вакцинации [2]. Изучение маркеров активации и спектра продуцируемых цитокинов T<sub>EM</sub> и T<sub>CM</sub> позволит определить, какой тип Т-клеток памяти индуцирует исследуемая вакцина, и значительно расширит представление о функциональной активности этих субпопуляций и их роли в обеспечении эффективной защиты от туляремийной инфекции.

Выявленные критерии оценки противотуляремийного иммунитета будут способствовать более объективному подходу к отбору перспективных штаммов-кандидатов в вакцинные при экспериментальной туляремии на модели животных и, возможно, в дальнейшем будут служить критериями оценки иммунологической эффективности вакцинации у людей.

Таким образом, основной задачей вакцинологии в контексте туляремийной инфекции является изучение механизмов, с помощью которых реализуется защита и происходит формирование Т-клеточной иммунологической памяти. Знание клеточных механизмов и идентификация субпопуляций Т-клеток памяти, обеспечивающих протективность и длительность противотуляремийного иммунитета, может дать ключ к рациональному конструированию более эффективных вакцин.

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

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора на 2021–2025 гг. «Изучение механизмов иммунопатогенеза возбудителей инфекционных заболеваний».

## Список литературы

1. Кудрявцева Т.Ю., Попов В.П., Мокриевич А.Н., Куликалова Е.С., Холин А.В., Мазепа А.В., Транквиловский Д.В., Храмов М.В., Дятлов И.А. Генетическое разнообразие семейства *Francisellaceae*, анализ ситуации по заболеваемости туляремией на территории Российской Федерации в 2021 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:6–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-6-14.
2. Roberts L.M., Powell D.A., Frelinger J.A. Adaptive immunity to *Francisella tularensis* and considerations for vaccine development. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018; 8:115. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00115.
3. Jia Q., Horwitz M.A. Live attenuated tularemia vaccines for protection against respiratory challenge with virulent *F. tularensis* subsp. *tularensis*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018; 8:154. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00154.
4. Eneslätt K., Normark M., Björk R., Rietz C., Zingmark C., Wolfrim L.A., Stöven S., Sjöstedt A. Signatures of T cells as correlates of immunity to *Francisella tularensis*. *PLoS One*. 2012; 7(3): e32367. DOI: 10.1371/journal.pone.0032367.
5. Nicol M.J., Williamson D.R., Place D.E., Kirimanjeswara G.S. Differential immune response following intranasal and intradermal infection with *Francisella tularensis* implications for vaccine development. *Microorganisms*. 2021; 9(5):973. DOI: 10.3390/microorganisms9050973.
6. Salerno-Gonçalves R., Hepburn M.J., Bavari S., Szein M.B. Generation of heterogeneous memory T cells by live attenuated tularemia vaccine in humans. *Vaccine*. 2009; 28(1):195–206. DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.09.100.
7. Seder R.A., Darrah P.A., Roederer M. T-cell quality in memory and protection: implications for vaccine design. *Nat. Rev. Immunol.* 2008; 8(4):247–58. DOI: 10.1038/nri2274.
8. Kubelkova K., Macela A. Innate immune recognition: an issue more complex than expected. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019; 9:241. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00241.
9. Krocova Z., Macela A., Kubelkova K. Innate immune recognition: implications for the interaction of *Francisella tularensis* with the host immune system. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017; 7:446. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00446.
10. Ashtekar A.R., Zhang P., Katz J., Deivanayagam C.C., Rallabhandi P., Vogel S.N., Michalek S.M. TLR4-mediated activation of dendritic cells by the heat shock protein DnaK from *Francisella tularensis*. *J. Leukoc. Biol.* 2008; 84(6):1434–46. DOI: 10.1189/jlb.0308215.
11. Malik M., Bakshi C.S., Sahay B., Shah A., Lotz S.A., Sellati T.J. Toll-like receptor 2 is required for control of pulmonary infection with *Francisella tularensis*. *Infect. Immun.* 2006; 74(6):3657–62. DOI: 10.1128/IAI.02030-05.
12. Geier H., Celli J. Phagocytic receptors dictate phagosomal escape and intracellular proliferation of *Francisella tularensis*. *Infect. Immun.* 2011; 79(6):2204–14. DOI: 10.1128/IAI.01382-10.
13. Clay C.D., Soni S., Gunn J.S., Schlesinger L.S. Evasion of complement-mediated lysis and complement C3 deposition are regulated by *Francisella tularensis* lipopolysaccharide O antigen. *J. Immunol.* 2008; 181(8):5568–78. DOI: 10.4049/jimmunol.181.8.5568.
14. Chong A., Wehrly T.D., Nair V., Fischer E.R., Barker J.R., Klose K.E., Celli J. The early phagosomal stage of *Francisella tularensis* determines optimal phagosomal escape and *Francisella* pathogenicity island protein expression. *Infect. Immun.* 2008; 76(12):5488–99. DOI: 10.1128/IAI.00682-08.
15. Bönquist L., Lindgren H., Golovliov I., Guina T., Sjöstedt A. MglA and Igl proteins contribute to the modulation of *Francisella tularensis* live vaccine strain-containing phagosomes in murine macrophages. *Infect. Immun.* 2008; 76(8):3502–10. DOI: 10.1128/IAI.00226-08.
16. Lai X.H., Sjöstedt A. Delineation of the molecular mechanisms of *Francisella tularensis*-induced apoptosis in murine macrophages. *Infect. Immun.* 2003; 71(8):4642–6. DOI: 10.1128/IAI.71.8.4642-4646.2003.
17. Wickstrum J.R., Bokhari S.M., Fischer J.L., Pinson D.M., Yeh H.W., Horvat R.T., Parmely M.J. *Francisella tularensis* induces extensive caspase-3 activation and apoptotic cell death in the tissues of infected mice. *Infect. Immun.* 2009; 77(11):4827–36. DOI: 10.1128/IAI.00246-09.
18. Edwards J.A., Rockx-Brouwer D., Nair V., Celli J. Restricted cytosolic growth of *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* by IFN- $\gamma$  activation of macrophages. *Microbiology (Reading)*. 2010; 156(Pt. 2):327–39. DOI: 10.1099/mic.0.031716-0.
19. Lindgren H., Stenman L., Tärnvik A., Sjöstedt A. The contribution of reactive nitrogen and oxygen species to the killing of *Francisella tularensis* LVS by murine macrophages. *Microbes Infect.* 2005; 7(3):467–75. DOI: 10.1016/j.micinf.2004.11.020.
20. Lindgren H., Shen H., Zingmark C., Golovliov I., Conlan W., Sjöstedt A. Resistance of *Francisella tularensis* strains against reactive nitrogen and oxygen species with special reference to the role of KatG. *Infect. Immun.* 2007; 75(3):1303–9. DOI: 10.1128/IAI.01717-06.



21. Woolard M.D., Hensley L.L., Kawula T.H., Frelinger J.A. Respiratory *Francisella tularensis* live vaccine strain infection induces Th17 cells and prostaglandin E2, which inhibits generation of gamma interferon-positive T cells. *Infect. Immun.* 2008; 76(6):2651–9. DOI: 10.1128/IAI.01412-07.
22. McCaffrey R.L., Allen L.A. *Francisella tularensis* LVS evades killing by human neutrophils via inhibition of the respiratory burst and phagosome escape. *J. Leukoc. Biol.* 2006; 80(6):1224–30. DOI: 10.1189/jlb.0406287.
23. Conlan J.W., KuoLee R., Shen H., Webb A. Different host defences are required to protect mice from primary systemic vs pulmonary infection with the facultative intracellular bacterial pathogen, *Francisella tularensis* LVS. *Microb. Pathog.* 2012; 32(3):127–34. DOI: 10.1006/mpat.2001.0489.
24. Guo Y., Sun X., Shibata K., Yamada H., Muta H., Podack E.R., Yoshikai Y. CD30 is required for activation of a unique subset of interleukin-17A-producing  $\gamma\delta$  T cells in innate immunity against *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guerin infection. *Infect. Immun.* 2013; 81(10):3923–34. DOI: 10.1128/IAI.00887-13.
25. Keating S.M., Bejon P., Berthoud T., Vuola J.M., Todryk S., Webster D.P., Dunachie S.J., Moorthy V.S., McConkey S.J., Gilbert S.C., Hill A.V. Durable human memory T cells quantifiable by cultured enzyme-linked immunospot assays are induced by heterologous prime boost immunization and correlate with protection against malaria. *J. Immunol.* 2005; 175(9):5675–80. DOI: 10.4049/jimmunol.175.9.5675.
26. Bokhari S.M., Kim K.J., Pinson D.M., Slusser J., Yeh H.W., Parmely M.J. NK cells and gamma interferon coordinate the formation and function of hepatic granulomas in mice infected with the *Francisella tularensis* live vaccine strain. *Infect. Immune.* 2008; 76(4):1379–89. DOI: 10.1128/IAI.00745-07.
27. Kirimanjeswara G.S., Olmos S., Bakshi C.S., Metzger D.W. Humoral and cell-mediated immunity to the intracellular pathogen *Francisella tularensis*. *Immunol. Rev.* 2008; 225:244–55. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00689.x.
28. Kinkead L.C., Allen L.A. Multifaceted effects of *Francisella tularensis* on human neutrophil function and lifespan. *Immunol. Rev.* 2016; 273(1):266–81. DOI: 10.1111/imr.12445.
29. Klimpel G.R., Eaves-Pyles T., Moen S.T., Taormina J., Peterson J.W., Chopra A.K., Niesel D.W., Carness P., Haitcoat J.L., Kirtley M., Nasr A.B. Levofloxacin rescues mice from lethal intranasal infections with virulent *Francisella tularensis* and induces immunity and production of protective antibody. *Vaccine.* 2008; 26(52):6874–82. DOI: 10.1016/j.vaccine.2008.09.077.
30. Sanapala S., Yu J.J., Murthy A.K., Li W., Guentzel M.N., Chambers J.P., Klose K.E., Arulanandam B.P. Perforin- and granzyme-mediated cytotoxic effector functions are essential for protection against *Francisella tularensis* following vaccination by the defined *F. tularensis* subsp. *novicida*  $\Delta$ fopC vaccine strain. *Infect. Immun.* 2012; 80(6):2177–85. DOI: 10.1128/IAI.00036-12.
31. Cullin S.J., Rhinehart-Jones T., Elkins K.L. A novel role for B cells in early protective immunity to an intracellular pathogen, *Francisella tularensis* strain LVS. *J. Immunol.* 1997; 158(7):3277–84.
32. Crane D.D., Warner S.L., Bosio C.M. A novel role for plasmin-mediated degradation of opsonizing antibody in the evasion of host immunity by virulent, but not attenuated, *Francisella tularensis*. *J. Immunol.* 2009; 183(7):4593–600. DOI: 10.4049/jimmunol.0901655.
33. Wayne Conlan J., Shen H., Kuolee R., Zhao X., Chen W. Aerosol-, but not intradermal-immunization with the live vaccine strain of *Francisella tularensis* protects mice against subsequent aerosol challenge with a highly virulent type A strain of the pathogen by an alpha beta T cell- and interferon gamma- dependent mechanism. *Vaccine.* 2005; 23(19):2477–85. DOI: 10.1016/j.vaccine.2004.10.034.
34. Lavine C.L., Clinton S.R., Angelova-Fischer I., Marion T.N., Bina X.R., Bina J.E., Whitt M.A., Miller M.A. Immunization with heat-killed *Francisella tularensis* LVS elicits protective antibody-mediated immunity. *Eur. J. Immunol.* 2007; 37(11):3007–20. DOI: 10.1002/eji.200737620.
35. Rawool D.B., Bitsaktsis C., Li Y., Gosselin D.R., Lin Y., Kurkure N.V., Metzger D.W., Gosselin E.J. Utilization of Fc receptors as a mucosal vaccine strategy against an intracellular bacterium, *Francisella tularensis*. *J. Immunol.* 2008; 180(8):5548–57. DOI: 10.4049/jimmunol.180.8.5548.
36. Elkins K.L., Bosio C.M., Rhinehart-Jones T.R. Importance of B cells, but not specific antibodies, in primary and secondary protective immunity to the intracellular bacterium *Francisella tularensis* live vaccine strain. *Infect. Immun.* 1999; 67(11):6002–7. DOI: 10.1128/IAI.67.11.6002-6007.1999.
37. Vega-Ramos J., Alari-Pahissa E., Valle J.D., Carrasco-Marín E., Esplughes E., Borrás M., Martínez-A C., Lauzurica P. CD69 limits early inflammatory diseases associated with immune response to *Listeria monocytogenes* infection. *Immunol. Cell Biol.* 2010; 88(7):707–15. DOI: 10.1038/icb.2010.62.
38. Карцева А.С., Калмантаева О.В., Силкина М.В., Комбарова Т.И., Павлов В.М., Мокриевич А.Н., Фирстова В.В. Характеристика иммуногенных и протективных свойств модифицированных вариантов штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 3:62–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-62-69.
39. Amu S., Gjertsson I., Brisselt M. Functional characterization of murine CD25 expressing B cells. *Scand. J. Immunol.* 2010; 71(4):275–82. DOI: 10.1111/j.1365-3083.2010.02380.x.
40. Crane D.D., Scott D.P., Bosio C.M. Generation of a convalescent model of virulent *Francisella tularensis* infection for assessment of host requirements for survival of tularemia. *PLoS One.* 2012; 7(3):e33349. DOI: 10.1371/journal.pone.0033349.
41. Vascotto F., Le Roux D., Lankar D., Faure-André G., Vargas P., Guernonprez P., Lennon-Duménil A.M. Antigen presentation by B lymphocytes: how receptor signaling directs membrane trafficking. *Curr. Opin. Immunol.* 2007; 19(1):93–8. DOI: 10.1016/j.coi.2006.11.011.
42. Poquet Y., Kroca M., Halary F., Stenmark S., Peyrat M.A., Bonneville M., Fournié J.J., Sjöstedt A. Expansion of Vgamma9 Vdelta2 T cells is triggered by *Francisella tularensis*-derived phosphoantigens in tularemia but not after tularemia vaccination. *Infect. Immun.* 1998; 66(5):2107–14. DOI: 10.1128/IAI.66.5.2107-2114.1998.
43. Rowland C.A., Hartley M.G., Flick-Smith H., Laws T.R., Eyles J.E., Oyston P.C. Peripheral human  $\gamma\delta$  T cells control growth of both avirulent and highly virulent strains of *Francisella tularensis* in vitro. *Microbes Infect.* 2012; 14(7-8):584–9. DOI: 10.1016/j.micinf.2012.02.001.
44. Meierovics A., Yankelovich W.J., Cowley S.C. MAIT cells are critical for optimal mucosal immune responses during in vivo pulmonary bacterial infection. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2013; 110(33):E3119–28. DOI: 10.1073/pnas.1302799110.
45. Meierovics A.I., Cowley S.C. MAIT cells promote inflammatory monocyte differentiation into dendritic cells during pulmonary intracellular infection. *J. Exp. Med.* 2016; 213(12):2793–809. DOI: 10.1084/jem.20160637.
46. Bar-On L., Cohen H., Elia U., Rotem S., Bercovich-Kinori A., Bar-Haim E., Chitlaru T., Cohen O. Protection of vaccinated mice against pneumonic tularemia is associated with an early memory sentinel-response in the lung. *Vaccine.* 2017; 35(50):7001–9. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.10.053.
47. Anderson R.V., Crane D.D., Bosio C.M. Long lived protection against pneumonic tularemia is correlated with cellular immunity in peripheral, not pulmonary, organs. *Vaccine.* 2010; 28(40):6562–72. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.07.072.
48. Карцева А.С., Силкина М.В., Титарева Г.М., Вахрамеева Г.М., Комбарова Т.И., Миронова Р.И., Павлов В.М., Мокриевич А.Н., Фирстова В.В. Влияние вакцинации штаммом *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ и его производными на генерацию и функциональную активность Т-клеток памяти у мышей. *Биотехнология.* 2022; 38(3):49–61. DOI: 10.56304/S0234275822030024.
49. Карцева А.С., Силкина М.В., Титарева Г.М., Комбарова Т.И., Миронова Р.И., Фирстова В.В. Оценка длительности сохранения Т-клеток памяти у мышей после иммунизации живой туляремийной вакциной. *Медицинская иммунология.* 2023; 25(3):673–8. DOI: 10.15789/1563-0625-EOT-2746.
50. Hena-Tamayo M.I., Ordway D.J., Irwin S.M., Shang S., Shanley C., Orme I.M. Phenotypic definition of effector and memory T-lymphocyte subsets in mice chronically infected with *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin. Vaccine Immunol.* 2010; 17(4):618–25. DOI: 10.1128/CI.00368-09.
51. Ericsson M., Sandström G., Sjöstedt A., Tärnvik A. Persistence of cell-mediated immunity and decline of humoral immunity to the intracellular bacterium *Francisella tularensis* 25 years after natural infection. *J. Infect. Dis.* 1994; 170(1):110–4. DOI: 10.1093/infdis/170.1.110.
52. Roberts L.M., Davies J.S., Sempowski G.D., Frelinger J.A. IFN- $\gamma$ , but not IL-17A, is required for survival during secondary pulmonary *Francisella tularensis* live vaccine strain infection. *Vaccine.* 2014; 32(29):3595–603. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.05.013.
53. Cowley S.C., Meierovics A.I., Frelinger J.A., Iwakura Y., Elkins K.L. Lung CD4-CD8- double-negative T cells are prominent producers of IL-17A and IFN-gamma during primary respiratory murine infection with *Francisella tularensis* live vaccine strain. 2010; 184(10):5791–801. DOI: 10.4049/jimmunol.1000362.
54. Abel B., Tameris M., Mansoor N., Gelderbloem S., Hughes J., Abrahams D., Makhethle L., Erasmus M., de Kock M., van der Merwe L., Hawkrigge A., Veldsman A., Hatherill M., Schirru G., Pau M.G., Hendriks J., Weverling G.J., Goudsmit J., Sizemore D., McClain J.B., Goetz M., Gearhart J., Mahomed H., Hussey G.D., Sadoff J.C., Hanekom W.A. The novel tuberculosis vaccine, AERAS-402, induces robust and polyfunctional CD4+ and CD8+ T cells in adults. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2010; 181(12):1407–17. DOI: 10.1164/rccm.200910-1484OC.
55. Seder R.A., Hill A.V. Vaccines against intracellular infections requiring cellular immunity. *Nature.* 2000; 406(6797):793–8. DOI: 10.1038/35021239.

## References

- Kudryavtseva T.Yu., Popov V.P., Mokrievich A.N., Kulikalova E.S., Kholin A.V., Mazepa A.V., Trankvilevsky D.V., Khranov M.V., Dyatlov I.A. [Genetic diversity of the family *Francisellaceae*, analysis of the situation on tularemia incidence in the Russian Federation in 2021, and forecast for 2022]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (1):6–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-6-14.
- Roberts L.M., Powell D.A., Frelinger J.A. Adaptive immunity to *Francisella tularensis* and considerations for vaccine development. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018; 8:115. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00115.
- Jia Q., Horwitz M.A. Live attenuated tularemia vaccines for protection against respiratory challenge with virulent *F. tularensis* subsp. *tularensis*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018; 8:154. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00154.
- Eneslätt K., Normark M., Bj  rk R., Rietz C., Zingmark C., Wolfr  m L.A., St  ven S., S  jstedt A. Signatures of T cells as correlates of immunity to *Francisella tularensis*. *PLoS One*. 2012; 7(3): e32367. DOI: 10.1371/journal.pone.0032367.
- Nicol M.J., Williamson D.R., Place D.E., Kirimanjeswara G.S. Differential immune response following intranasal and intradermal infection with *Francisella tularensis* implications for vaccine development. *Microorganisms*. 2021; 9(5):973. DOI: 10.3390/microorganisms9050973.
- Salerno-Gonçalves R., Hepburn M.J., Bavari S., Szein M.B. Generation of heterogeneous memory T cells by live attenuated tularemia vaccine in humans. *Vaccine*. 2009; 28(1):195–206. DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.09.100.
- Seder R.A., Darrah P.A., Roederer M. T-cell quality in memory and protection: implications for vaccine design. *Nat. Rev. Immunol.* 2008; 8(4):247–58. DOI: 10.1038/nri2274.
- Kubelkova K., Macela A. Innate immune recognition: an issue more complex than expected. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019; 9:241. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00241.
- Krocova Z., Macela A., Kubelkova K. Innate immune recognition: implications for the interaction of *Francisella tularensis* with the host immune system. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017; 7:446. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00446.
- Ashtekar A.R., Zhang P., Katz J., Deivanayagam C.C., Rallabhandi P., Vogel S.N., Michalek S.M. TLR4-mediated activation of dendritic cells by the heat shock protein DnaK from *Francisella tularensis*. *J. Leukoc. Biol.* 2008; 84(6):1434–46. DOI: 10.1189/jlb.0308215.
- Malik M., Bakshi C.S., Sahay B., Shah A., Lotz S.A., Sellati T.J. Toll-like receptor 2 is required for control of pulmonary infection with *Francisella tularensis*. *Infect. Immun.* 2006; 74(6):3657–62. DOI: 10.1128/IAI.02030-05.
- Geier H., Celli J. Phagocytic receptors dictate phagosomal escape and intracellular proliferation of *Francisella tularensis*. *Infect. Immun.* 2011; 79(6):2204–14. DOI: 10.1128/IAI.01382-10.
- Clay C.D., Soni S., Gunn J.S., Schlesinger L.S. Evasion of complement-mediated lysis and complement C3 deposition are regulated by *Francisella tularensis* lipopolysaccharide O antigen. *J. Immunol.* 2008; 181(8):5568–78. DOI: 10.4049/jimmunol.181.8.5568.
- Chong A., Wehrly T.D., Nair V., Fischer E.R., Barker J.R., Klose K.E., Celli J. The early phagosomal stage of *Francisella tularensis* determines optimal phagosomal escape and *Francisella* pathogenicity island protein expression. *Infect. Immun.* 2008; 76(12):5488–99. DOI: 10.1128/IAI.00682-08.
- B  nquist L., Lindgren H., Golovliov I., Guina T., S  jstedt A. MglA and Igl proteins contribute to the modulation of *Francisella tularensis* live vaccine strain-containing phagosomes in murine macrophages. *Infect. Immun.* 2008; 76(8):3502–10. DOI: 10.1128/IAI.00226-08.
- Lai X.H., S  jstedt A. Delineation of the molecular mechanisms of *Francisella tularensis*-induced apoptosis in murine macrophages. *Infect. Immun.* 2003; 71(8):4642–6. DOI: 10.1128/IAI.71.8.4642-4646.2003.
- Wickstr  m J.R., Bokhari S.M., Fischer J.L., Pinson D.M., Yeh H.W., Horvat R.T., Parmely M.J. *Francisella tularensis* induces extensive caspase-3 activation and apoptotic cell death in the tissues of infected mice. *Infect. Immun.* 2009; 77(11):4827–36. DOI: 10.1128/IAI.00246-09.
- Edwards J.A., Rockx-Brouwer D., Nair V., Celli J. Restricted cytosolic growth of *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* by IFN-   gamma activation of macrophages. *Microbiology (Reading)*. 2010; 156(Pt. 2):327–39. DOI: 10.1099/mic.0.031716-0.
- Lindgren H., Stenman L., Tärnvik A., S  jstedt A. The contribution of reactive nitrogen and oxygen species to the killing of *Francisella tularensis* LVS by murine macrophages. *Microbes Infect.* 2005; 7(3):467–75. DOI: 10.1016/j.micinf.2004.11.020.
- Lindgren H., Shen H., Zingmark C., Golovliov I., Conlan W., S  jstedt A. Resistance of *Francisella tularensis* strains against reactive nitrogen and oxygen species with special reference to the role of KatG. *Infect. Immun.* 2007; 75(3):1303–9. DOI: 10.1128/IAI.01717-06.
- Woolard M.D., Hensley L.L., Kawula T.H., Frelinger J.A. Respiratory *Francisella tularensis* live vaccine strain infection induces Th17 cells and prostaglandin E2, which inhibits generation of gamma interferon-positive T cells. *Infect. Immun.* 2008; 76(6):2651–9. DOI: 10.1128/IAI.01412-07.
- McCaffrey R.L., Allen L.A. *Francisella tularensis* LVS evades killing by human neutrophils via inhibition of the respiratory burst and phagosome escape. *J. Leukoc. Biol.* 2006; 80(6):1224–30. DOI: 10.1189/jlb.0406287.
- Conlan J.W., KuoLee R., Shen H., Webb A. Different host defences are required to protect mice from primary systemic vs pulmonary infection with the facultative intracellular bacterial pathogen, *Francisella tularensis* LVS. *Microb. Pathog.* 2012; 32(3):127–34. DOI: 10.1006/mpat.2001.0489.
- Guo Y., Sun X., Shibata K., Yamada H., Muta H., Podack E.R., Yoshikai Y. CD30 is required for activation of a unique subset of interleukin-17A-producing    T cells in innate immunity against *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin infection. *Infect. Immun.* 2013; 81(10):3923–34. DOI: 10.1128/IAI.00887-13.
- Keating S.M., Bejon P., Berthoud T., Vuola J.M., Todryk S., Webster D.P., Dunachie S.J., Moorthy V.S., McConkey S.J., Gilbert S.C., Hill A.V. Durable human memory T cells quantifiable by cultured enzyme-linked immunospot assays are induced by heterologous prime boost immunization and correlate with protection against malaria. *J. Immunol.* 2005; 175(9):5675–80. DOI: 10.4049/jimmunol.175.9.5675.
- Bokhari S.M., Kim K.J., Pinson D.M., Slusser J., Yeh H.W., Parmely M.J. NK cells and gamma interferon coordinate the formation and function of hepatic granulomas in mice infected with the *Francisella tularensis* live vaccine strain. *Infect. Immun.* 2008; 76(4):1379–89. DOI: 10.1128/IAI.00745-07.
- Kirimanjeswara G.S., Olmos S., Bakshi C.S., Metzger D.W. Humoral and cell-mediated immunity to the intracellular pathogen *Francisella tularensis*. *Immunol. Rev.* 2008; 225:244–55. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00689.x.
- Kinkead L.C., Allen L.A. Multifaceted effects of *Francisella tularensis* on human neutrophil function and lifespan. *Immunol. Rev.* 2016; 273(1):266–81. DOI: 10.1111/imr.12445.
- Klimpel G.R., Eaves-Pyles T., Moen S.T., Taormina J., Peterson J.W., Chopra A.K., Niesel D.W., Carness P., Haitcoat J.L., Kirtley M., Nasr A.B. Levofloxacin rescues mice from lethal intranasal infections with virulent *Francisella tularensis* and induces immunity and production of protective antibody. *Vaccine*. 2008; 26(52):6874–82. DOI: 10.1016/j.vaccine.2008.09.077.
- Sanapala S., Yu J.J., Murthy A.K., Li W., Guentzel M.N., Chambers J.P., Klose K.E., Arulanandam B.P. Perforin- and granzyme-mediated cytotoxic effector functions are essential for protection against *Francisella tularensis* following vaccination by the defined *F. tularensis* subsp. *novicida*   fopC vaccine strain. *Infect. Immun.* 2012; 80(6):2177–85. DOI: 10.1128/IAI.00036-12.
- Culkin S.J., Rhinehart-Jones T., Elkins K.L. A novel role for B cells in early protective immunity to an intracellular pathogen, *Francisella tularensis* strain LVS. *J. Immunol.* 1997; 158(7):3277–84.
- Crane D.D., Warner S.L., Bosio C.M. A novel role for plasmin-mediated degradation of opsonizing antibody in the evasion of host immunity by virulent, but not attenuated, *Francisella tularensis*. *J. Immunol.* 2009; 183(7):4593–600. DOI: 10.4049/jimmunol.0901655.
- Wayne Conlan J., Shen H., Kuolee R., Zhao X., Chen W. Aerosol-, but not intradermal-immunization with the live vaccine strain of *Francisella tularensis* protects mice against subsequent aerosol challenge with a highly virulent type A strain of the pathogen by an alpha beta T cell- and interferon gamma- dependent mechanism. *Vaccine*. 2005; 23(19):2477–85. DOI: 10.1016/j.vaccine.2004.10.034.
- Lavine C.L., Clinton S.R., Angelova-Fischer I., Marion T.N., Bina X.R., Bina J.E., Whitt M.A., Miller M.A. Immunization with heat-killed *Francisella tularensis* LVS elicits protective antibody-mediated immunity. *Eur. J. Immunol.* 2007; 37(11):3007–20. DOI: 10.1002/eji.200737620.
- Rawool D.B., Bitsaktsis C., Li Y., Gosselin D.R., Lin Y., Kurkure N.V., Metzger D.W., Gosselin E.J. Utilization of Fc receptors as a mucosal vaccine strategy against an intracellular bacterium, *Francisella tularensis*. *J. Immunol.* 2008; 180(8):5548–57. DOI: 10.4049/jimmunol.180.8.5548.
- Elkins K.L., Bosio C.M., Rhinehart-Jones T.R. Importance of B cells, but not specific antibodies, in primary and secondary protective immunity to the intracellular bacterium *Francisella tularensis* live vaccine strain. *Infect. Immun.* 1999; 67(11):6002–7. DOI: 10.1128/IAI.67.11.6002-6007.1999.
- Vega-Ramos J., Alari-Pahissa E., Valle J.D., Carrasco-Marín E., Espl  gu  s E., Borr  s M., Martínez-A. C., Lauzurico P. CD69 limits early inflammatory diseases associated with immune response to *Listeria monocytogenes* infection. *Immunol. Cell Biol.* 2010; 88(7):707–15. DOI: 10.1038/icb.2010.62.
- Kartseva A.S., Kalmantaeva O.V., Silkina M.V., Kombarova T.I., Pavlov V.M., Mokrievich A.N., Firstova V.V. [Characterization



of immunogenic and protective properties of the modified variants of the strain *Francisella tularensis* 15 NIEG]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2020; (3):62–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-62-69.

39. Amu S., Gjertsson I., Brissler M. Functional characterization of murine CD25 expressing B cells. *Scand. J. Immunol.* 2010; 71(4):275–82. DOI: 10.1111/j.1365-3083.2010.02380.x.

40. Crane D.D., Scott D.P., Bosio C.M. Generation of a convalescent model of virulent *Francisella tularensis* infection for assessment of host requirements for survival of tularemia. *PLoS One.* 2012; 7(3):e33349. DOI: 10.1371/journal.pone.0033349.

41. Vascotto F., Le Roux D., Lankar D., Faure-André G., Vargas P., Guernonprez P., Lennon-Duménil A.M. Antigen presentation by B lymphocytes: how receptor signaling directs membrane trafficking. *Curr. Opin. Immunol.* 2007; 19(1):93–8. DOI: 10.1016/j.coi.2006.11.011.

42. Poquet Y., Kroca M., Halary F., Stenmark S., Peyrat M.A., Bonneville M., Fournié J.J., Sjöstedt A. Expansion of Vgamma9 Vdelta2 T cells is triggered by *Francisella tularensis*-derived phosphoantigens in tularemia but not after tularemia vaccination. *Infect. Immun.* 1998; 66(5):2107–14. DOI: 10.1128/IAI.66.5.2107-2114.1998.

43. Rowland C.A., Hartley M.G., Flick-Smith H., Laws T.R., Eyles J.E., Oyston P.C. Peripheral human  $\gamma\delta$  T cells control growth of both avirulent and highly virulent strains of *Francisella tularensis* in vitro. *Microbes Infect.* 2012; 14(7-8):584–9. DOI: 10.1016/j.micinf.2012.02.001.

44. Meierovics A., Yankelevich W.J., Cowley S.C. MAIT cells are critical for optimal mucosal immune responses during in vivo pulmonary bacterial infection. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2013; 110(33):E3119–28. DOI: 10.1073/pnas.1302799110.

45. Meierovics A.I., Cowley S.C. MAIT cells promote inflammatory monocyte differentiation into dendritic cells during pulmonary intracellular infection. *J. Exp. Med.* 2016; 213(12):2793–809. DOI: 10.1084/jem.20160637.

46. Bar-On L., Cohen H., Elia U., Rotem S., Bercovich-Kinori A., Bar-Haim E., Chitlaru T., Cohen O. Protection of vaccinated mice against pneumonic tularemia is associated with an early memory sentinel-response in the lung. *Vaccine.* 2017; 35(50):7001–9. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.10.053.

47. Anderson R.V., Crane D.D., Bosio C.M. Long lived protection against pneumonic tularemia is correlated with cellular immunity in peripheral, not pulmonary, organs. *Vaccine.* 2010; 28(40):6562–72. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.07.072.

48. Kartseva A.S., Silkina M.V., Titareva G.M., Vakhrameeva G.M., Kombarova T.I., Mironova R.I., Pavlov V.M., Mokrievich A.N., Firstova V.V. [Effect of vaccination with strain of *Francisella tularensis* 15 NIEG and its derivatives on the generation and functional activity of memory T-cells in mice]. *Biotechnologiya* [Biotechnology]. 2022; 38(3):49–61. DOI: 10.56304/S0234275822030024.

49. Kartseva A.S., Silkina M.V., Titareva G.M., Kombarova T.I., Mironova R.I., Firstova V.V. [Evaluation of the long-term memory T cell in mice after immunization with a live tularemia vac-

cine]. *Meditsinskaya Immunologiya* [Medical Immunology (Russia)]. 2023; 25(3):673–8. DOI: 10.15789/1563-0625-EOT-2746.

50. Henao-Tamayo M.I., Ordway D.J., Irwin S.M., Shang S., Shanley C., Orme I.M. Phenotypic definition of effector and memory T-lymphocyte subsets in mice chronically infected with *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin. Vaccine Immunol.* 2010; 17(4):618–25. DOI: 10.1128/CVI.00368-09.

51. Ericsson M., Sandström G., Sjöstedt A., Tärnvik A. Persistence of cell-mediated immunity and decline of humoral immunity to the intracellular bacterium *Francisella tularensis* 25 years after natural infection. *J. Infect. Dis.* 1994; 170(1):110–4. DOI: 10.1093/infdis/170.1.110.

52. Roberts L.M., Davies J.S., Sempowski G.D., Frelinger J.A. IFN- $\gamma$ , but not IL-17A, is required for survival during secondary pulmonary *Francisella tularensis* live vaccine stain infection. *Vaccine.* 2014; 32(29):3595–603. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.05.013.

53. Cowley S.C., Meierovics A.I., Frelinger J.A., Iwakura Y., Elkins K.L. Lung CD4-CD8- double-negative T cells are prominent producers of IL-17A and IFN- $\gamma$  during primary respiratory murine infection with *Francisella tularensis* live vaccine strain. 2010; 184(10):5791–801. DOI: 10.4049/jimmunol.1000362.

54. Abel B., Tameris M., Mansoor N., Gelderbloem S., Hughes J., Abrahams D., Makhetha L., Erasmus M., de Kock M., van der Merwe L., Hawkridge A., Veldsman A., Hatherill M., Schirru G., Pau M.G., Hendriks J., Weverling G.J., Goudsmit J., Sizemore D., McClain J.B., Goetz M., Gearhart J., Mahomed H., Hussey G.D., Sadoff J.C., Hanekom W.A. The novel tuberculosis vaccine, AERAS-402, induces robust and polyfunctional CD4+ and CD8+ T cells in adults. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2010; 181(12):1407–17. DOI: 10.1164/rccm.200910-1484OC.

55. Seder R.A., Hill A.V. Vaccines against intracellular infections requiring cellular immunity. *Nature.* 2000; 406(6797):793–8. DOI: 10.1038/35021239.

#### Authors:

Kartseva A.S., Silkina M.V., Ivashchenko T.A., Romanenko Ya.O., Firstova V.V. State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology. 24, "Block A" Territory, Obolensk, urban district Serpukhov, Moscow Region, 142279, Russian Federation. E-mail: info@obvolensk.org.

Sayapina L.V. Scientific Center on Expertise of Medical Application Products. Building 2, 8, Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation. E-mail: general@expmed.ru.

#### Об авторах:

Карцева А.С., Силкина М.В., Иващенко Т.А., Романенко Я.О., Фирстова В.В. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. Российская Федерация, 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24. E-mail: info@obvolensk.org.

Саяпина Л.В. Научный центр экспертизы средств медицинского применения. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2. E-mail: general@expmed.ru.



DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-25-34

УДК 614.8:62-78

И.М. Крепостнова, М.В. Гордеева

**Аварии в лабораториях, осуществляющих работы с патогенными биологическими агентами***ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация*

Аварии при работе с возбудителями инфекционных болезней являются одним из ведущих факторов биологического риска для сотрудников, населения и окружающей среды. Специалистам в области биологической безопасности следует проводить мониторинг и анализ информации по авариям при работе с патогенными биологическими агентами с целью применения результатов для формирования устойчивой системы обеспечения биобезопасности как на объектовом, так и федеральном уровне. Для получения информации, необходимой для анализа причин и условий возникновения аварий, проведен поиск открытых данных в интернете. Обнаружено, что более обширно и доступно соответствующие сведения представлены в зарубежных источниках. Изучена информация об авариях, произошедших за рубежом с 2010 по 2023 г. Аварии, связанные с нарушением кожных покровов, наиболее часто являются очевидной причиной лабораторного заражения. Преобладают сообщения о подобных авариях, вызванных уколom инъекционной иглы. Аварии, связанные с нарушением средств индивидуальной защиты (разрыв перчаток), явились потенциальной причиной заражения при сопряженном нарушении целостности кожных покровов или в случае имеющихся на момент аварии поражений кожи. Описаны случаи нарушения целостности изолирующих средств индивидуальной защиты. Сообщения, описывающие аварии «с разбрызгиванием» и «без разбрызгивания» (в интерпретации российских нормативов), не обнаружены. Среди описанных случаев большая часть связана с нарушением различных требований биологической безопасности.

**Ключевые слова:** патогенные биологические агенты, авария в микробиологической лаборатории, лабораторные заражения, профессиональное воздействие.

*Корреспондирующий автор:* Крепостнова Ирина Михайловна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

*Для цитирования:* Крепостнова И.М., Гордеева М.В. Аварии в лабораториях, осуществляющих работы с патогенными биологическими агентами. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 3:25–34. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-25-34

*Поступила 12.03.2024. Принята к публ. 13.05.2024.*

**I.M. Krepostnova, M.V. Gordeeva****Accidents in Laboratories Working with Pathogenic Biological Agents***Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation*

**Abstract.** Accidents during the work with infectious disease agents are one of the leading biological risk factors for employees, the public and the environment. Specialists in the field of biological safety should monitor and analyze information on these accidents in order to use the findings and implications to form a sustainable biosafety system both, at the facility and at the federal levels. To obtain the necessary information to analyze the causes and conditions of accidents, we have carried out a search of open data on the Internet. It has been found that the relevant information is more extensively and accessibly presented in foreign sources. Information on accidents that occurred abroad between 2010 and 2023 has been studied. Accidents associated with skin penetration and lesions were most often the obvious cause of laboratory acquired infection. Reports of similar accidents caused by injection needle sticks predominated. Accidents associated with breach of personal protective equipment (torn gloves) were a potential cause of infection when there was a concurrent violation of the skin integrity or in the case of skin lesions existing at the time of the accident. Cases of violation of the integrity of insulating personal protective equipment were described. Reports on accidents “with spillage” and “without spillage” (as stated in the Russian normative documents) have not been found. Among the investigated cases, most are associated with violations of various biological safety requirements.

**Key words:** pathogenic biological agents, accident in a microbiological laboratory, laboratory acquired infections, occupational exposure.

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

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

*Corresponding author:* Irina M. Krepostnova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

*Citation:* Krepostnova I.M., Gordeeva M.V. Accidents in Laboratories Working with Pathogenic Biological Agents. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 3:25–34. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-25-34

*Received 12.03.2024. Accepted 13.05.2024.*

Gordeeva M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3726-810X>

Krepostnova I.M., ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-7100-9088>

Аварии при проведении манипуляций с патогенными биологическими агентами (ПБА) – это нештатные ситуации, которые в большей или меньшей степени связаны с риском лабораторного инфициро-

вания работников, что может привести к развитию инфекционной болезни, в том числе имеющей тяжелое течение, а в некоторых случаях – к инвалидности или летальному исходу. Кроме того, в отдельных

случаях имеется риск эпидемического распространения среди населения. Среди мероприятий по снижению риска инфекционной заболеваемости рассматриваются мероприятия, направленные на снижение возникновения аварий и риска заражения персонала и населения при их совершении. Российскими санитарными правилами регламентированы мероприятия по действиям в случае аварии при работе с ПБА, а также обязательность разработки плана действий по ликвидации аварий в зависимости от конкретных условий подразделения и проведение периодических тренировок персонала. При этом в федеральных нормативно-методических документах мало внимания уделено непосредственно мероприятиям по выявлению конкретных причин возникновения аварий при работе с ПБА [1]. Необходимость мониторинга специальной информации обусловлена тем, что подобные ситуации встречаются редко, статистика по аварийности при работе с ПБА недоступна для анализа, но вместе с тем специалистам в области биологической безопасности следует проводить мониторинг и анализ информации по авариям при работе с ПБА, как одного из ведущих факторов потенциального биологического риска, с целью применения результатов для формирования устойчивой системы обеспечения биобезопасности как на объектовом, так и федеральном уровне.

Подобной точки зрения придерживаются и зарубежные ученые. Так, в рамках оценки рисков исследовательского центра в Форт-Детрике (США) Национальным исследовательским советом проведен обзор случаев аварий и лабораторно-ассоциированных инфекций (ЛАИ), произошедших в правительственных лабораториях США в период с 2003 по 2009 г. [2]. С целью разработки и совершенствования мер по предупреждению лабораторных заражений и их неблагоприятных последствий (развитие инфекционной болезни, летальный исход) проводился сбор и анализ соответствующей информации как по отдельным нозологиям [3–7], так и в целом по авариям и ЛАИ [8–12]. Американская ассоциация биобезопасности (ABSA), стремясь сделать информацию более доступной, разработала онлайн-базу данных рецензируемых публикаций о ЛАИ с возможностью поиска в интернете [13]. На проблему унификации сбора данных указывают не только российские, но и зарубежные ученые [11].

Поиск специальной информации, необходимой для анализа аварий при работе с ПБА, проводился в базах данных eLIBRARY.RU, PubMed, Google и других интернет-источниках по ключевым словам: авария в микробиологической лаборатории, лабораторные заражения, laboratory-acquired infection (LAI), incident, accident, occupational exposure.

Поиск основывался на принципах полезности, доступности, достоверности [14].

Глубина поиска публикаций составила не более 13 лет (2010–2023 гг.). С учетом высокой скорости научно-технического прогресса в области медицин-

ских технологий и технологий обеспечения биологической безопасности в последние два десятилетия, изучение более старой информации является не столь полезным для оценки и анализа риска работ с ПБА в настоящих условиях, использования современного оборудования, средств защиты, требований и подходов к обеспечению биологической безопасности в лабораториях.

Достоверность определялась выбором для обзора материалов рейтинговых журналов и средств массовой информации, ведущих организаций в области изучения и контроля инфекционной заболеваемости, биологической безопасности.

В ходе поиска оказалось, что более обширной и доступной является информация об авариях при работе с ПБА в микробиологических лабораториях в зарубежных источниках, обзор которых представлен в статье.

Аварии при работе с возбудителями инфекционных болезней в микробиологических лабораториях рассматривали согласно классификации СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»: аварии, связанные с нарушением целостности кожных покровов; аварии, связанные с нарушением целостности средств индивидуальной защиты (СИЗ); аварии с разбрызгиванием и без разбрызгивания.

**Аварии, связанные с нарушением целостности кожных покровов.** Бостонская комиссия общественного здравоохранения 26 ноября 2013 г. уведомила лабораторию поксвирусов Центра по контролю заболеваний США о непреднамеренной инокуляции недавно вакцинированного (противооспенная вакцина ACAM2000) лабораторного работника вирусом коревой оспы дикого типа. Сотрудник во время иммунизации лабораторной мыши вирусом осповакцины дикого типа уколол большой палец левой руки иглой. После укола он немедленно обработал перчатки хлорсодержащим дезинфицирующим раствором, снял перчатки и вымыл руку водой с мылом в течение примерно 10 минут, сцезивая кровь из раны. Отчет о происшествии был подан главному исследователю проекта в этот же день. Впоследствии главный исследователь связался с врачом-инфекционистом, который посоветовал пациенту немедленно обратиться в отделение неотложной помощи больницы, если появятся признаки инфекции. Несмотря на принятые меры, у сотрудника развилась ортопоксвирусная инфекция. Расследование показало, что сотрудник получил травму, когда надевал колпачок на иглу 25-го калибра. Во время процедуры мышью подвергали наркозу, а эксперимент проводили в боксе микробиологической безопасности II класса защиты. Пациент сообщил, что, когда он выполнял процедуру скарификации на анестезированной мыши, его отвлекла мышь в соседней клетке. В ходе расследования также рассмотрены лабораторные протоколы и выяснено, что повторное использование игл явилось отклонением от стандартной лабораторной процедуры.

Из дополнительных сведений в ходе расследования установлено, что условия лаборатории в целом отвечают требованиям биобезопасности. Сотрудник, совершивший аварию, начал работу в лаборатории недавно – с января 2013 г., а с вирусом коровьей оспы дикого типа – с марта 2013 г. В январе 2013 г. он прошел обучение по технике безопасности для новых сотрудников и обучение использованию животных, которое включало вопросы биобезопасности животных. В марте он прошел индивидуальное специальное обучение работе с вирусом коровьей оспы дикого типа, включая специфичные методы работы и процедуры. В ходе этого тренинга были рассмотрены потенциальные пути заражения, вакцинация, мониторинг реакции на вакцинацию, действия в чрезвычайных ситуациях и отчетность о происшествиях. Сотрудник также изучил установленные в лаборатории процедуры ухода за животными. В качестве мер, направленных на снижение риска аварий, связанных с нарушением целостности кожных покровов, лаборатория уже в январе 2014 г. утвердила использование безопасных шприцев и игл в будущих экспериментах, запрет на повторное надевание колпачка на иглу. Также была пересмотрена требуемая подготовка для всех главных исследователей с акцентом на их обязанности по информированию о происшествиях и травмах персонала, работающего с биологическими материалами [15].

В 2014 г. опубликован отчет о заболевании лихорадкой денге женщины – лаборанта исследовательской лаборатории уровня биобезопасности 2 (bio-safety level 2, далее – BSL-2) в Южной Корее. Укол иглой произошел во время набора вирусосодержащей жидкости из пробирки в шприц. Лаборант осуществляла набор жидкости шприцем без иглы. При повторении процедуры женщина решила надеть иглу на шприц, чтобы набрать оставшуюся на дне пробирки жидкость. Она уколола палец при попытке надеть колпачок на иглу. Сразу после укола лаборант промыла рану проточной водой в течение 10 минут в соответствии с принятыми лабораторными мерами биобезопасности и правилами оказания первой помощи. Необходимых материалов для дезинфекции не оказалось под рукой. Она обратилась в ближайшую больницу, где рану продезинфицировали, и отправилась домой. После аварии она продолжала работать в лаборатории. Женщина проводила ежедневные самотестирования с использованием экспресс-теста. Через десять дней после ранения тест показал положительный результат. Симптомы болезни появились за день до положительной реакции. После появления симптомов и положительного теста женщина обратилась за медицинской помощью. Ей было проведено симптоматическое лечение в стационарных условиях, больная выздоровела. Авторы отчета отмечают, что в данном случае был организован правильный пост-менеджмент, направленный на раннюю диагностику заболевания. В результате своевременного обращения за медицинской помощью и быстро

начатого лечения больная выздоровела и вернулась к работе. В данном сообщении кроме невнимательности исследователя рассматривается более важная причина аварии. По мнению авторов, это отсутствие подробных рекомендаций по использованию игл в руководстве по управлению биобезопасностью в лаборатории Корейского центра по контролю и профилактике заболеваний в сравнении с аналогичными рекомендациями Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ). Авторы, учитывая широкую распространенность подобных аварий во всем мире, считают, что в последующих редакциях руководства ВОЗ необходимо изменить рекомендацию «минимизировать использование шприцев и игл» на «шприцы и иглы не должны использоваться в ситуации, когда их использование не указано прямо» как более точную и способствующую устранению любого потенциального риска травм от уколов иглой. Кроме того, в руководство ВОЗ предлагается включить рассмотрение проведения оценки пригодности к дальнейшей работе и распределения задач для ранее инфицированных лабораторных работников, что особенно важно для тех сотрудников, которые переболели лихорадкой денге. В качестве причин аварии рассматриваются также недостаточный контроль соблюдения руководящих принципов. В данном случае лаборант оказалась в ситуации, когда ей пришлось воспользоваться иглой, но отдельного контейнера для сбора игл в лаборатории не было, поэтому она была вынуждена надеть колпачок на иглу. Кроме того, в лаборатории не оказалось аптечки, содержащей специальные материалы и средства для обработки раны. Хотя отсутствие аптечки не является причиной аварии, данное обстоятельство также очень важно для снижения риска возникновения таких неблагоприятных потенциальных последствий аварии, как инфекционная болезнь и летальный исход [16].

В ноябре 2013 г. исследователь Висконсинского университета в Мадисоне (США) проколол руку в перчатке иглой, инфицированной высокопатогенным вирусом птичьего гриппа H5N1. Не более чем через пять минут после прокола исследователь выдавил кровь, обработал место укола дезинфицирующим средством и промыл водой. В то время как исследователь проводил необходимые поставочные мероприятия и осуществлял выход из лаборатории с принятием душа, администрация лаборатории уже была уведомлена об аварии. Также были проведены консультации с врачами-инфекционистами. Официальные лица штата уведомлены о случившемся в ночь аварии. Из лаборатории, находящейся за пределами университетского кампуса, исследователя отвезли в его пустой дом (семью оперативно переселили в гостиницу), надев новую перчатку на раненую руку и респиратор N-95 в качестве меры предосторожности. В последующие дни у совершившего аварию сотрудника проводились забор материала для лабораторного исследования и термометрия. Согласно внутренним отчетам о происше-



ствии, исследователю назначили противовирусные препараты и поместили на карантин на семь дней. Позже представители лаборатории заявили, что исследователь находился под пристальным наблюдением и не заболел. После аварии все работники лаборатории прошли переподготовку, а протоколы были пересмотрены. Тем не менее представители Национального института здравоохранения США заявили, что данный случай вызывает ряд вопросов о процедурах в лабораториях, а именно, что применение конкретной иглы нарушало политику университета, запрещающую ее использование в лаборатории. Национальный институт здравоохранения также выступил против использования дома исследователя для изоляции [17].

В 2015 г. в исследовательской лаборатории BSL-2 Лозанны (Швейцария) 27-летний биолог при работе с культурой клеток вируса лимфоцитарного хориоменингита проколол безымянный палец правой руки иглой, соединенной со шприцем, используемым для набора высококонцентрированной вирусосодержащей жидкости. Несчастный случай произошел, когда после аспирации материала он держал шприц в одной руке и пробирку с вирусосодержащей жидкостью – в другой и пытался сбросить шприц в контейнер для сбора острых предметов. Исследователь использовал нитриловые перчатки. Он немедленно промыл и продезинфицировал поврежденный палец и обратился за медицинской помощью. Поскольку рекомендаций по постконтактной профилактике лимфоцитарного хориоменингита не существует, было рекомендовано регулярное тщательное наблюдение в клинике гигиены труда. Через одиннадцать дней после воздействия у пострадавшего развился гриппоподобный синдром с лихорадкой, головной болью, фарингитом и болью в спине, впоследствии развился перикардит и менингоэнцефалит. После лечения сотрудник выздоровел. В настоящее время не существует профилактических вакцин или специфических методов лечения данной инфекции, лечение является симптоматическим, что делает особенно важным принятие мер, направленных на предотвращение лабораторного инфицирования при работе с данным возбудителем. Ретроспективный анализ аварии показал, что требования биобезопасности соблюдались. После этого инцидента всем сотрудникам было роздано напоминание о процедурах безопасности в лаборатории, в котором подчеркнута важность таких мер, как использование защитного оборудования, отказ от повторного использования игл, а также рассмотрены необходимые поставочные процедуры [18, 19].

В 2015 г. сообщено, что команда исследователей из Вашингтонского университета, штат Миссури (США), изучала вирус Чикунгунья в эксперименте, нацеленном на поиск эффективных схем лечения и разработку вакцины. Аспирантка этой команды после извлечения иглы из живота мыши, зараженной рекомбинантным штаммом вируса Чикунгунья, заде-

ла палец на левой руке и проколола его. Эксперимент проводился в лаборатории BSL-3, на исследователя были надеты две пары перчаток. Особенность состояла в том, что она находилась в лаборатории одна и проводила эксперимент в субботу. В конце рабочего дня, не увидев крови, аспирантка вымыла руки, сняла средства защиты и покинула лабораторию, никому не сказав, что произошло. Через четыре дня у нее развились симптомы лихорадки. Только заболев, студентка рассказала своему руководителю о соскользнувшей игле и уколе пальца [20].

Таким образом, неоднократно повторяются случаи, когда укол происходит при повторном надевании колпачка на иглу, при планировании повторного использования иглы, несмотря на то, что подобная манипуляция является нарушением рекомендаций ВОЗ, Центра по контролю и профилактике заболеваний США (CDC) [21–24], на основе которых разработаны нормативы и протоколы биологической безопасности во многих странах, в том числе и в России. Наряду с уколами иглой, причиной которых стало повторное надевание колпачка на иглу, найдены сообщения об авариях с нарушением кожных покровов вследствие иных воздействий.

В мае 2010 г. 24-летняя женщина – лаборант отдела вирусологии и молекулярной иммунологии Национального научно-исследовательского института сельского хозяйства, продовольствия и защиты окружающей среды (Франция) при работе с замороженными срезами мозга трансгенных мышей, инфицированных адаптированной к овцам формой прионного белка, проткнула двойную пару латексных перчаток острыми концами изогнутых щипцов, используемых для работы с образцами. В месте прокола – на большом пальце – отмечено кровотечение. Через 7,5 лет у нее диагностировали вариант болезни Крейтцфельда – Якоба. Лаборант погибла. При расследовании оказалось, что она не прошла инструктаж по надлежащему обращению с прионами, работы проводились в перчатках, не устойчивых к проколам и порезам. В публикации также отмечено, что на протяжении последнего десятилетия в лабораториях Франции зарегистрировано еще 17 случаев заражения сотрудников трансмиссивной губчатой энцефалопатией, пять из которых связаны с повреждением кожных покровов скальпелями [25].

В 2014 г. сообщено, что в исследовательской лаборатории в Хисаре (Индия) 28-летний мужчина – сотрудник лаборатории, занимавшийся сублимационной сушкой изолятов вируса оспы буйволов (вариант вируса коровьей оспы), получил порез правой ладони через нитриловые перчатки в результате прокола осколками ампулы. Поврежденный участок немедленно промыли 70 % этанолом и обработали повидон-йодом. На третий день после аварии в месте травмы начали появляться специфические кожные элементы. На девятый день после травмы состояние сотрудника ухудшилось, и он обратился за медицинской помощью. Мужчина получал дли-

тельное лечение. Исследование клинического материала больного подтвердило наличие вируса оспы буйволов. Сотрудник не был вакцинирован против оспы. В ходе расследования установлено, что сушка вымораживанием стеклянной ампулы до температуры  $-80^{\circ}\text{C}$  привела к образованию микротрещины в стекле. Ампула сломалась при введении в коллектор для лиофилизации и пронзила ладонь исследователя. С целью предотвращения последующих аварий процедура сублимационной сушки пересмотрена, температура предварительного замораживания снижена до  $-60^{\circ}\text{C}$ . Приняты меры по обеспечению использования ампул более высокого качества. Персонал лабораторий и больниц проинформирован о риске, связанном с передачей вируса оспы буйволов [26].

Также аварии с нарушением целостности кожных покровов происходили вследствие укусов лабораторных животных.

В феврале 2016 г. в лаборатории BSL-3 Университета Северной Каролины (США) ученый, держа за хвост свисающую вниз мышь, зараженную модифицированным в лаборатории вариантом коронавируса, вызывающего тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС), переносил ее в контейнер для взвешивания. Мышь извернулась и укусила сотрудника за средний палец руки через две пары перчаток. Согласно полученным позже записям, после аварии обсуждался вопрос об изоляции сотрудника, но принято решение не помещать его на карантин. Он мог продолжать обычный образ жизни, но в течение 10 дней должен был носить хирургическую маску в общественных местах и сообщать о температуре тела два раза в день. Примечательно, что в апреле 2020 г. в лаборатории этого же университета произошла подобная авария – исследователь был укушен за указательный палец во время взвешивания мыши, зараженной генетически измененной формой вируса SARS-CoV-2, адаптированной к росту на мышах. Но в этот раз пострадавшему было предписано находиться на карантине по месту жительства в течение 14 дней. Университет отказался публично раскрывать ключевые подробности произошедших аварий [27].

Сотрудница лаборатории уровня биобезопасности 3 Института биомедицинских наук Академии Синика, г. Тайбэй (Тайвань), 20 лет, подтвердила, что ее дважды укусила лабораторная мышь, зараженная возбудителем COVID-19, после чего у нее появились симптомы заболевания. ПЦР-тест подтвердил наличие маркеров возбудителя. Проведенное расследование установило факт лабораторного инфицирования дельта-вариантом. Интересно, что женщина получила две дозы вакцины Moderna, причем последняя вакцинация проведена за четыре месяца до заболевания. Органы здравоохранения выявили 94 человека, которые контактировали с сотрудницей лаборатории после того, как она заразилась, и поместили их на карантин. Представители министерства здравоохранения Тайваня заявили, что заражение работника лаборатории вряд ли вызовет новую широкомасштаб-

ную вспышку, поскольку у большинства контактов (80 человек) тесты оказались отрицательными [28, 29]. Подобный случай показывает, что такая значимая мера профилактики инфекционных болезней, как вакцинация, может быть неэффективна в случае аварии с нарушением кожных покровов, и требуется реализация комплекса мер, направленных на предотвращение подобных аварий.

В Бразилии в 2017 г. в ходе проведения экспериментальных работ аспирант, женщина 30 лет, была случайно укушена мышью, инфицированной 106 бляшкообразующими единицами бразильского штамма вируса Зика. Через 12 дней (срок инкубационного периода, характерный для болезни, вызываемой вирусом Зика) у нее появились симптомы инфекции. Секвенирование генома вируса подтвердило лабораторное инфицирование. Авторы публикации подчеркивают, что данный случай указывает на альтернативный путь передачи инфекции через укус инфицированного животного и подтверждает важность соблюдения практики биобезопасности при обращении с животными, инфицированными вирусом Зика [30].

Интересен случай, когда нарушения целостности кожи в ходе проведения работ с ПБА не случилось, но заражение произошло через имеющиеся поврежденные участки кожи при контакте с инфицированными объектами.

В августе 2018 г. Департамент здравоохранения и социальных служб Северной Каролины, США, получил уведомление о лабораторном инфицировании сотрудника лаборатории BSL-2 вирусом денге. Работник лаборатории сообщил о начале заболевания 18 июля 2018 г. Представители департамента и CDC провели расследование, в ходе которого изучили протоколы лабораторной безопасности, а также выяснили, какие манипуляции и с каким материалом проводил заболевший работник в последнее время, опросили пострадавшего. Больной сообщил, что за две недели до начала заболевания проводил работы по выращиванию, очистке и концентрации вируса денге, выполнял анализы нейтрализации и ИФА. В качестве СИЗ использовал одну пару нитриловых перчаток, средства защиты глаз, лабораторный халат и обувь с закрытым носом. Работы проводились в боксе микробиологической безопасности. Пациент сообщил, что во время выращивания и очистки вируса часто возникали небольшие брызги. Он не менял перчатки при возникновении брызг, но время от времени проводил обеззараживание поверхности перчаток и бокса микробиологической безопасности (БМБ) 70 % этиловым спиртом. По словам пострадавшего, он проводил работы внутри рабочей камеры БМБ 6–8 раз в день в течение большинства дней исследования, но не всегда мыл руки после снятия перчаток. Работник сообщил, что при поступлении в лабораторию прошел онлайн- и практическое обучение работе в лаборатории BSL-2 и ежегодно пересматривал планы и процеду-

ры лабораторной безопасности. Заболевший сотрудник сообщил, что приблизительно за месяц до случая лабораторного заражения получил компрессионную рану на безымянном пальце левой руки, позже рана стала мокнущей. Пациент сообщил, что не накладывал повязку перед надеванием перчаток для работы с вирусом. Он продемонстрировал технику снятия перчаток – край краги перчатки левой руки защемлял большим и указательным пальцами правой руки и снимал перчатку, вывернув ее наизнанку, после чего край краги перчатки на правой руке зажимал большим и указательным пальцами левой руки, уже без перчатки. Признано, что рана на безымянном пальце левой руки могла контактировать с потенциально зараженной перчаткой на правой руке. Пациент также упомянул, что потенциально касался слизистых оболочек носа или рта рукавом лабораторного халата во время работы с инфекционным вирусом в БМБ. Наличие открытой раны пальца во время работы с высоким титром вируса денге в сочетании с неправильным снятием перчаток позволяет предположить, что лабораторное заражение через кожу оказалось наиболее вероятным путем заражения в этом случае. Однако нельзя исключать и попадание на слизистые оболочки. Отмечено, что, согласно действующему руководству CDC по биобезопасности в лаборатории, работы с вирусом денге проводят в лаборатории BSL-2, но при исследовании больших объемов или материала, содержащего высокий титр вируса, рекомендуются повышенные меры безопасности, включая использование двух пар перчаток [31].

Как видно из представленных сообщений, последствием аварий с нарушением целостности кожных покровов практически всегда становится инфекционная болезнь у пострадавшего. Подобные факты указывают на необходимость более пристально изучать причины аварий, связанных с нарушением целостности кожных покровов, и осуществлять поиск мер предотвращения риска их возникновения.

Кроме укусов лабораторных животных случаются аварии, связанные с укусом лабораторных насекомых.

В 2011 г. ученый из исследовательской лаборатории в Австралии заразился лихорадкой денге после проведения эксперимента по первичному заражению колонии комаров вирусом DENV 2-го типа через аппарат для кормления с искусственной мембраной. Во время процедуры сотрудник использовал СИЗ (халат, перчатки, защитные очки), соответствующие требованиям, предъявляемым к СИЗ при работе с DENV в лабораториях Австралии. Травму иглой отрицал. Расследование показало, что заражение сотрудника произошло через укус инфицированного комара. После проведенного лечения сотрудник выздоровел [32].

**Аварии, связанные с нарушением целостности СИЗ.** Такие аварии заключаются в нарушении защиты кожи и слизистых, органов дыхания от контакта с возбудителями инфекций.

Разрыв перчаток является потенциальной причиной заражения при сопряженном нарушении целостности кожных покровов или в случае имеющихся на момент аварии поражений кожи, как показывают случаи, описанные выше. Описание аварий и последующих лабораторных заражений, связанных только с нарушением целостности перчаток, не обнаружено.

Представлены случаи аварий, связанных с нарушением средств индивидуальной защиты органов дыхания (СИЗОД).

В 2014 г. неисправность шланга респиратора в экспериментах с использованием штамма птичьего гриппа H5N1 стала фактором потенциального риска для сотрудников лаборатории уровня биобезопасности 3 в исследовательских лабораториях Министерства сельского хозяйства США. Сотрудникам назначена противовирусная терапия, заражения не произошло. В одном случае смотритель лаборатории заметил снижение притока воздуха к своему респиратору и обнаружил, что шланг отсоединился. Представители лаборатории заявили, что риск заражения работника был низким, поскольку инфицированные цыплята находились в оборудовании для изоляции животных с HEPA-фильтром и клетках с отрицательным давлением воздуха. В другом случае сотрудник почувствовал снижение потока воздуха через респиратор во время взятия проб у уток. В шланге обнаружен разрыв. Данный случай представлял собой низкий риск заражения отчасти потому, что он произошел на девятый день эксперимента, когда практически завершилась элиминация вируса из организма уток. Весь персонал лаборатории прошел переподготовку по правильной сборке и проверке СИЗ. Кроме того, в лаборатории добавили прозрачную оболочку для шлангов на трубки для дополнительной защиты, а защелки на птичьих клетках заменили после того, как проверили возможность зацепления [8].

Аварии, связанные с нарушением изолирующих средств индивидуальной защиты (ИСИЗ) в ходе экспериментов с патогенами высокого риска, осуществляемых в условиях максимальной изоляции лабораторий уровня биобезопасности 4, представляют наибольший потенциальный риск для персонала и населения.

Так, с 2013 по 2014 г. в Научно-исследовательском институте инфекционных заболеваний армии США (USAMRIID) в Форт-Детрике в лабораториях BSL-4 зафиксировано 37 случаев нарушения целостности ИСИЗ. В некоторых случаях указывается на дефекты костюмов, в других отмечается, что костюмы оказались старыми и изношенными. «Очевидный дефект многократного использования костюма десятилетней давности, который разошелся из-за многократного сгибания/складывания, что привело к повреждению материала», – говорится о причинах в одном из отчетов. В ряде случаев повреждения замечены после проведения работ при обработке в дезинфекционном душе. Следует отметить, что при



использовании ИСИЗ, в частности пневмокостюмов, потенциальный риск для сотрудника при разрыве снижается за счет положительного давления воздуха внутри костюма, предотвращающего попадание патогенных микроорганизмов [8].

В ноябре 2016 г. в лаборатории BLS-4 Национального центра по борьбе с болезнями животных, г. Виннипег (Канада), сотрудник заметил разрыв защитного костюма во время стандартных процедур обеззараживания после проведения манипуляций с животными (свиньями), зараженными вирусом Эбола. Были соблюдены все надлежащие процедуры в случае аварии, а также проведена изоляция сотрудника. Заражения не произошло [33].

**Аварии с разбрызгиванием и аварии без разбрызгивания.** Сообщения об авариях с разбрызгиванием (т.е. события, сопровождающиеся непреднамеренным образованием аэрозоля: бой пробирок, флаконов или колб с жидкой культурой; бой чашек и пробирок с культурами на агаре с конденсатом; разбрызгивание бактериальной суспензии из пипетки или шприца; разбрызгивание тканевой жидкости при вскрытии трупов зараженных животных или больных людей; аварии на вакуумной установке в процессе сушки вирулентных культур, аварии при работе на центрифуге, а также другие аварии, ведущие к контаминации воздуха или окружающих предметов, в том числе авария при транспортировании ПБА), произошедших отдельно и не сопряженных с другими видами аварий, за период, определенный нами для поиска, практически отсутствуют. Найдена одна публикация, описывающая случай, когда в начале 2020 г. в лаборатории Университета Тафтса (США) при проведении экспериментов с вирусом гриппа H3N2 один из студентов разбил пробирку с небольшим количеством культуры, содержащей вирус, в результате чего подверг риску заражения пять человек. В условиях дефицита респираторов и масок, вызванного пандемией COVID-19, студенты не применяли респираторы [34].

Тем не менее сообщения, описывающие случаи, которые могут характеризоваться как аварии с разбрызгиванием, имеются, но опубликованы ранее 2010 г. и их сравнительно мало. В результате поиска в базе данных лабораторных инфекций Американской ассоциации биобезопасности к периоду с 1971 по 2008 г. относится около 25 публикаций, описывающих случаи лабораторного заражения вследствие аварий с разбрызгиванием из 600 внесенных в базу данных (4,2 %) [12].

Сообщения, описывающие аварии без разбрызгивания (трещина на чашке Петри, пробирке, флаконе с биологическим материалом, падение на стол твердой частицы при обжигании петли после посева, касание поверхности посева на твердой питательной среде) не обнаружены. Возможно, это объясняется тем, что персонал не акцентирует внимание на их совершении. Тем не менее некоторые случаи, которые квалифицируют как аварии без разбрызгивания,

необходимо тщательно дифференцировать от аварий с разбрызгиванием, которые несут в себе гораздо больший риск для совершившего и попавших в зону аварии и требуют более широкого объема мероприятий по локализации и ликвидации. Особенно в результате падения частицы при обжиге, появления трещины на лабораторной посуде. В подобном случае квалификацию следует осуществлять не только сотруднику, совершившему аварию, но и руководителю, а также членам комиссии по биологической безопасности после получения и анализа информации о случившемся «на месте».

Встречается значительная часть сообщений о лабораторно-ассоциированных инфекциях, когда аварии не были фиксированы и причину установить не удалось. По сообщению исследователей, проводивших анализ лабораторных заражений в период 2011–2020 гг., среди причин, приведших к ЛАИ, оказались: укол иглой (6 %), случайные брызги (3 %) и другие человеческие ошибки (6 %), неизвестные инциденты составляли большинство случаев (84 %) [11]. Исследование, проведенное в Бельгии в 2007–2012 гг., показало, что только 40 % ЛАИ возникли после известного случая заражения; окончательную причину заражения не удалось установить почти в трети случаев [31]. Так, например, научный сотрудник Центра оценки и исследования биологических препаратов Управления по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств в Силвер-Спринг (США) заразился после работы со штаммом метициллинрезистентного золотистого стафилококка. Исследователь не смог вспомнить никаких причин, которые могли бы привести к инфицированию, что, по мнению экспертов, является обычной ситуацией при лабораторных заражениях [34].

Кроме как последствие аварии при работе с ПБА, инфицирование персонала происходило также по причине неиспользования адекватного защитного оборудования и СИЗ вследствие нарушения утвержденных требований биобезопасности либо из-за отсутствия осведомленности о реальной опасности исследуемого материала, ненадлежащего обращения с биологически опасными материалами и ненадлежащей техники выполнения работ с заразным материалом, а также нарушения правил поведения на рабочем месте при работе с возбудителями инфекций: прием пищи или употребление воды рядом с рабочим местом, где осуществлялись манипуляции по подготовке культур микроорганизмов, касание рукой в перчатке или иной частью защитного костюма кожи лица и слизистой глаз [5, 35–43].

Таким образом, наиболее часто в зарубежных публикациях встречаются сообщения об авариях, связанных с нарушением целостности кожных покровов: вызванных уколом инъекционной иглы (в преобладающей доле случаев), острым хирургическим инструментом, осколками лабораторной посуды, укусами лабораторных животных и насекомых, инфицирование через имевшуюся раневую поверх-

ность кожи. Аварии при работе с ПБА, связанные с нарушением целостности кожных покровов, наиболее часто являются очевидной причиной лабораторного заражения. Среди описанных случаев подобных аварий большая часть связана с нарушением различных требований биологической безопасности.

Описание аварий с разбрызгиванием (в интерпретации российских санитарно-эпидемиологических правил) в зарубежных публикациях с 2010 по 2023 г. не выявлено. Возможно, это связано с тем, что объем разбрызгивания (разлития), требующего особых мер по локализации и ликвидации, отличается от описываемых в российских нормативах, а также с более широким использованием защитного оборудования (БМБ, ЗБУ – защитное боксирующее устройство) и СИЗ (халаты, комбинезоны), выполненных из гидрофобных материалов с высокими защитными свойствами, что, по мнению зарубежных исследователей, несомненно, снижает риск инфицирования и не требует незамедлительных и масштабных мероприятий по локализации и ликвидации, как это регламентировано санитарными правилами в России.

Аварии, лабораторно-ассоциированные инфекции, а также иные случаи, повышающие вероятность лабораторного заражения, происходят в научно-исследовательских лабораториях, в клинических, ветеринарных, производственных лабораториях, в микробиологических лабораториях институтов, университетов и в других организациях, проводящих работы с ПБА. Совершают аварии и попадают в ситуации высокого потенциального риска заражения сотрудники разных возрастных категорий, с различным опытом работы, уровнем подготовки и занимаемой должностью.

Полученная информация имеет различный уровень детализации, что может быть связано как с запретом на представление специальных фактов в открытой печати, так и с отсутствием инструментов систематизированного сбора информации, использование которых делает более доступным ее последующий глубокий анализ. Детализация специальной информации, несомненно, позволит более глубоко изучить ситуацию, выявить факторы риска и причину аварий, разработать обоснованные меры по предотвращению аварий и ситуаций, характеризующихся высоким потенциальным риском лабораторного заражения.

**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. Малюкова Т.А., Бойко А.В., Панин Ю.А., Безсмертный В.Е., Кутырев В.В. Вероятность реализации биорисков при проведении работ с ПБА I–II группы. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2016; 21(3):136–45. DOI: 10.18821/1560-9529-2016-21-3-136-145.

2. Harmon K. Nearly 400 accidents with dangerous pathogens and biotoxins reported in U.S. labs over 7 years. 2011. [Электронный ресурс]. URL: <https://blogs.scientificamerican.com/observations/nearly-400-accidents-with-dangerous-pathogens-and-bio-toxins-reported-in-u-s-labs-over-seven-years/>.
3. Hills S.L., Morrison A., Stuck S., Sandhu K., Mason K.L., Stanek D., Gabel J., Osborne M.A., Schroeder B.A., Rico E., Drenzek C.L., Gallagher G.R., Fiddner J., Heberlein-Larson L.A., Brown C.M., Fischer M. Case series of laboratory-associated Zika virus disease, United States, 2016–2019. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(5):1296–300. DOI: 10.3201/eid2705.203602.
4. Traxler R.M., Lehman M.W., Bosserman E.A., Guerra M.A., Smith T.L. A literature review of laboratory-acquired brucellosis. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51(9):3055–62. DOI: 10.1128/JCM.00135-13.
5. Ergönül O., Celikbaş A., Tezere D., Güvener E., Dokuzoğuz B. Analysis of risk factors for laboratory-acquired brucella infections. *J. Hosp. Infect.* 2004; 56(3):223–7. DOI: 10.1016/j.jhin.2003.12.020.
6. Guignani H.C., Randhawa H.S. Laboratory-acquired fungal infections, a review. *Arch. Microbiol. Immunology*. 2020; 4(2):51–6. DOI: 10.26502/ami.93650044.
7. Blacksell S.D., Robinson M.T., Newton P.N., Day N.P.J. Laboratory-acquired scrub typhus and murine typhus infections: the argument for a risk-based approach to biosafety requirements for *Orientia tsutsugamushi* and *Rickettsia typhi* laboratory activities. *Clin. Infect. Dis.* 2019; 68(8):1413–9. DOI: 10.1093/cid/ciy675.
8. Young A., Penzenstadler N. 10 incidents discovered at the nation's biolabs. *USA TODAY*. 2015. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.usatoday.com/story/news/2015/05/29/some-recent-us-lab-incidents/25258237/>.
9. Byers K.B., Harding A.L. Laboratory-associated infections. In: *Biological Safety*. 2016. Chapte 4. P. 59–92. DOI: 10.1128/9781555819637.ch4.
10. Singh K. Laboratory-acquired infections. *Clin. Infect. Dis.* 2009; 49(1):142–7. DOI: 10.1086/599104.
11. Bang E., Oh S., Chang H.E., Shin I.S., Park K.U., Kim E.S. Zika virus infection during research vaccine development: investigation of the laboratory-acquired infection via nanopore whole-genome sequencing. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022; 12:819829. DOI: 10.3389/fcimb.2022.819829.
12. Laboratory-Acquired Infection (LAI) Database. [Электронный ресурс]. URL: <https://my.alsa.org/LAI>.
13. Gillum D., Partha K., Byers K. A searchable laboratory-acquired infection database. *Applied Biosafety*. 2016; 21(4):203–7. DOI: 10.1177/15355676016683194.
14. Чернова Г.В., Кудрявцев А.А. Управление рисками. М.: ТК Велби, Изд-во «Проспект»; 2005. 160 с.
15. Hsu C.H., Farland J., Winters T., Gunn J., Caron D., Evans J., Osadebe L., Bethune L., McCollum A.M., Patel N., Wilkins K., Davidson W., Petersen B., Barry M.A., Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Laboratory-acquired vaccinia virus infection in a recently immunized person – Massachusetts, 2013. *MMWR. Morb. Mortal. Weekly Rep.* 2015; 64(16):435–8.
16. Lee C., Jang E.J., Kwon D., Choi H., Park J.W., Bae G.R. Laboratory-acquired dengue virus infection by needlestick injury: a case report, South Korea, 2014. *Ann. Occup. Environ. Med.* 2016; 28:16. DOI: 10.1186/s40557-016-0104-5.
17. Penzenstadler N. State incidents highlight bioterror lab concerns. *USA TODAY*. 2015. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.posterscient.com/story/news/investigations/2015/05/28/state-incidents-highlight-bioterror-lab-concerns/28089943/>.
18. Aebischer O., Meylan P., Kunz S., Lazor-Blanchet C. Lymphocytic choriomeningitis virus infection induced by percutaneous exposure. *Occup. Med. (Lond)*. 2016; 66(2):171–3. DOI: 10.1093/occmed/kqv156.
19. Dräger S., Marx A.F., Pigny F., Cherpillod P., Eisermann P., Sendi P., Widmer A.F. Lymphocytic choriomeningitis virus meningitis after needlestick injury: a case report. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2019; 8:77. DOI: 10.1186/s13756-019-0524-4.
20. Hvistendahl M. Bent over in pain. Student infected with debilitation virus in undisclosed biolab accident. 2022. [Электронный ресурс]. URL: <https://theintercept.com/2022/11/01/biosafety-lab-accident-chikungunya-virus/>.
21. Laboratory Biosafety Manual. 4th Edition. WHO; 2022. 124 p.
22. Laboratory Biosafety Manual. 3rd Edition. WHO; 2004. 181 p.
23. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th Edition. 2009.
24. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL). 6th Edition. 2021.
25. Brandel J.-P., Vlaicu M.B., Culeux A., Belondrade M., Bougard D., Grznarova K., Denouel A., Plu I., Bouaziz-Amar E., Seilhean D., Levasseur M., Haik S. Variant Creutzfeldt – Jakob disease diagnosed 7.5 years after occupational exposure. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383(1):83–5. DOI: 10.1056/NEJMc2000687.



26. Riyesh T., Karuppusamy S., Bera B.S., Barua S., Virmani N., Yadav S., Vaid R.K., Anand T., Bansal M., Malik P., Pahuja I., Singh R.K. Laboratory-acquired buffalopox virus infection. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(2):324–6. DOI: 10.3201/eid2002.130358.
27. Near Misses at UNC's BSL-3 Lab Illustrate Risk of Accidents With Coronaviruses. *Laboratory Equipment*. 2020. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.laboratoryequipment.com/567317-Near-Misses-at-UNC-s-BSL-3-Lab-Illustrate-Risk-of-Accidents-With-Coronaviruses/>.
28. Samson Ellis, Chi-Hua Chien, Kanoko Matsuyama, Bloomberg. Taiwan investigates possible COVID lab leak as scientist tests positive after bites from infected mouse. [Электронный ресурс]. URL: <https://fortune.com/2021/12/10/taiwan-investigates-covid-lab-leak-scientist-tests-positive-bite-infected-mouse/>.
29. Everington K. Scientist bitten by mouse in Taipei lab before testing positive for COVID. *Taiwan News*. 2021. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.taiwannews.com.tw/en/news/4371212>.
30. Talon de Menezes M., Rilo Christoff R., Higa L.M., Pezzuto P., Rabello Moreira F.R., Ribeiro L.J., Maia R.A., Ferreira Júnior O.D.C., Tanuri A., Pestana Garcez P., Santana Aguiar R. Laboratory acquired Zika virus infection through mouse bite: a case report. *Open Forum Infect. Dis.* 2020; 7(11):ofaa259. DOI: 10.1093/ofid/ofaa259.
31. Sharp T.M., Fisher T.G., Long K., Coulson G., Medina F.A., Herzog C., Koza M.B., Muñoz-Jordan J., Paz-Bailey G., Moore Z., Williams C. Laboratory-acquired dengue virus infection, United States, 2018. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(7):1534–7. DOI: 10.3201/eid2607.191598.
32. Britton S., van den Hurk A.F., Simmons R.J., Pyke A.T., Northill J.A., McCarthy J., McCormack J. Laboratory-acquired dengue virus infection – a case report. *PLOS Negl. Trop. Dis.* 2011; 5(11):e1324. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001324.
33. Canadian lab worker released after Ebola infection scare. *CIDRAP*. 2016. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.reuters.com/article/canada-us-health-ebola-canada-idCAKBN13N2BO>.
34. Hvistendahl M. America's bioweapons labs: bent over in pain (why COVID exists). *Intel Drop*. 2022. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.theinteldrop.org/2022/11/04/americas-bioweapons-labs-bent-over-in-pain-why-covid-exists/>.
35. Dentinger C.M., Jacob K., Lee L.V., Mendez H.A., Chotikanatis K., McDonough P.L., Chico D.M., De B.K., Tiller R.V., Traxler R.M., Campagnolo E.R., Schmitt D., Guerra M.A., Slavinski S.A. Human *Brucella canis* infection and subsequent laboratory exposures associated with a puppy, New York City, 2012. *Zoonoses Public Health*. 2015; 62(5):407–14. DOI: 10.1111/zph.12163.
36. Sam I.C., Karunakaran R., Kamarulzaman A., Ponnampalavanar S., Syed Omar S.F., Ng K.P., Mohd Yusof M.Y., Hooi P.S., Jafar F.L., Abubakar S. A large exposure to *Brucella melitensis* in a diagnostic laboratory. *J. Hosp. Infect.* 2012; 80(4):321–5. DOI: 10.1016/j.jhim.2011.12.004.
37. Sturmer J. Fears CSIRO staff exposed to 'low risk' toxic bacteria at Canberra lab. *ABC News*. 2016. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.abc.net.au/news/2016-09-05/fears-csiro-staff-exposed-to-toxic-bacteria-at-csiro-lab/7815922>.
38. Wong C., Ng S.Y., Tan S.H. An accidental laboratory exposure to *Brucella melitensis*: the prospective post-exposure management and a detailed investigation into the nature of the exposure. *J. Med. Microbiol.* 2018; 67(7):1012–6. DOI: 10.1099/jmm.0.000772.
39. Boodman C., Richert Q., Lother S., Kasper K., Fanella S., Lagacé-Wiens P., Keynan Y. Inguinal ulceroglandular tularemia caused by *Francisella tularensis* subspecies *holarctica*, Canada. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(4):1228–9. DOI: 10.3201/eid2704.203262.
40. Fukuchi T., Yanagihara N., Imaoka K., Sugawara H. Imported brucellosis in the era of dramatically increasing immigrants and foreign travelers from endemic areas: occupational hazards of secondary infection among laboratory technicians in a nonendemic country. *Int. Med. Case Rep. J.* 2019; 12:313–7. DOI: 10.2147/IMCRJ.S224831.
41. CDC. Human *Salmonella* typhimurium infections associated with exposure to clinical and teaching microbiology laboratories (final update). Outbreaks. *Salmonella*. 2012. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cdc.gov/salmonella/2011/lab-exposure-1-17-2012.html>.
42. Song L., Gao J., Wu Z. Laboratory-acquired infections with *Brucella* bacteria in China. *Biosafety and Health*. 2020; 3(2):101–4. DOI: 10.1016/j.bsheat.2020.07.010.
43. Human *Salmonella* Typhimurium infections linked to exposure to clinical and teaching microbiology laboratories (final update). 2014. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cdc.gov/salmonella/typhimurium-labs-06-14/index.htm>.
44. Harmon K. Nearly 400 accidents with dangerous pathogens and biotoxins reported in U.S. labs over 7 years. 2011. [Internet]. Available from: <https://blogs.scientificamerican.com/observations/nearly-400-accidents-with-dangerous-pathogens-and-bio-toxins-reported-in-u-s-labs-over-seven-years/>.
45. Hills S.L., Morrison A., Stuck S., Sandhu K., Mason K.L., Stanek D., Gabel J., Osborne M.A., Schroeder B.A., Rico E., Drenzek C.L., Gallagher G.R., Fiddner J., Heberlein-Larson L.A., Brown C.M., Fischer M. Case series of laboratory-associated Zika virus disease, United States, 2016–2019. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(5):1296–300. DOI: 10.3201/eid2705.203602.
46. Traxler R.M., Lehman M.W., Bosserman E.A., Guerra M.A., Smith T.L. A literature review of laboratory-acquired brucellosis. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51(9):3055–62. DOI: 10.1128/JCM.00135-13.
47. Ergönül O., Celikbaş A., Tezere D., Güvener E., Dokuzoğuz B. Analysis of risk factors for laboratory-acquired brucella infections. *J. Hosp. Infect.* 2004; 56(3):223–7. DOI: 10.1016/j.jhin.2003.12.020.
48. Gugnani H.C., Randhawa H.S. Laboratory-acquired fungal infections, a review. *Arch. Microbiol. Immunology*. 2020; 4(2):51–6. DOI: 10.26502/ami.93650044.
49. Blacksell S.D., Robinson M.T., Newton P.N., Day N.P.J. Laboratory-acquired scrub typhus and murine typhus infections: the argument for a risk-based approach to biosafety requirements for *Orientia tsutsugamushi* and *Rickettsia typhi* laboratory activities. *Clin. Infect. Dis.* 2019; 68(8):1413–9. DOI: 10.1093/cid/ciy675.
50. Young A., Penzenstadler N. 10 incidents discovered at the nation's biolabs. *USA TODAY*. 2015. [Internet]. Available from: <https://www.usatoday.com/story/news/2015/05/29/some-recent-us-lab-incidents/25258237/>.
51. Byers K.B., Harding A.L. Laboratory-associated infections. In: *Biological Safety*. 2016. Chapte 4. P. 59–92. DOI: 10.1128/9781555819637.ch4.
52. Singh K. Laboratory-acquired infections. *Clin. Infect. Dis.* 2009; 49(1):142–7. DOI: 10.1086/599104.
53. Bang E., Oh S., Chang H.E., Shin I.S., Park K.U., Kim E.S. Zika virus infection during research vaccine development: investigation of the laboratory-acquired infection via nanopore whole-genome sequencing. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022; 12:819829. DOI: 10.3389/fcimb.2022.819829.
54. Laboratory-Acquired Infection (LAI) Database. [Internet]. Available from: <https://my.absa.org/LAI>.
55. Gillum D., Partha K., Byers K. A searchable laboratory-acquired infection database. *Applied Biosafety*. 2016; 21(4):203–7. DOI: 10.1177/1535676016683194.
56. Chernova G.V., Kudryavtsev A.A. [Management of Risks]. Moscow: TC Welby, "Prospekt" Publishing House; 2005. 160 p.
57. Hsu C.H., Farland J., Winters T., Gunn J., Caron D., Evans J., Osadebe L., Bethune L., McCollum A.M., Patel N., Wilkins K., Davidson W., Petersen B., Barry M.A.; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Laboratory-acquired vaccinia virus infection in a recently immunized person – Massachusetts, 2013. *MMWR. Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2015; 64(16):435–8.
58. Lee C., Jang E.J., Kwon D., Choi H., Park J.W., Bae G.R. Laboratory-acquired dengue virus infection by needlestick injury: a case report, South Korea, 2014. *Ann. Occup. Environ. Med.* 2016; 28:16. DOI: 10.1186/s40557-016-0104-5.
59. Penzenstadler N. State incidents highlight bioterror lab concerns. *USA TODAY*. 2015. [Internet]. Available from: <https://www.posterscient.com/story/news/investigations/2015/05/28/state-incidents-highlight-bioterror-lab-concerns/28089943/>.
60. Aebischer O., Meylan P., Kunz S., Lazor-Blanchet C. Lymphocytic choriomeningitis virus infection induced by percutaneous exposure. *Occup. Med. (Lond)*. 2016; 66(2):171–3. DOI: 10.1093/occmed/kqv156.
61. Dräger S., Marx A.F., Pigny F., Cherpillod P., Eisermann P., Sendi P., Widmer A.F. Lymphocytic choriomeningitis virus meningitis after needlestick injury: a case report. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2019; 8:77. DOI: 10.1186/s13756-019-0524-4.
62. Hvistendahl M. Bent over in pain. Student infected with debilitating virus in undisclosed biolab accident. 2022. [Internet]. Available from: <https://theintercept.com/2022/11/01/biosafety-lab-accident-chikungunya-virus/>.
63. Laboratory Biosafety Manual. 4th Edition. WHO; 2022. 124 p.
64. Laboratory Biosafety Manual. 3rd Edition. WHO; 2004. 181 p.
65. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th Edition. 2009.
66. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL). 6th Edition. 2021.
67. Brandel J.-P., Vlaicu M.B., Culeux A., Belondrade M., Bougard D., Grznarova K., Denouel A., Plu I., Bouaziz-Amar E., Seilhean D., Levasseur M., Haik S. Variant Creutzfeldt – Jakob disease diagnosed 7.5 years after occupational exposure. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383(1):83–5. DOI: 10.1056/NEJMc2000687.
68. Riyesh T., Karuppusamy S., Bera B.S., Barua S., Virmani N., Yadav S., Vaid R.K., Anand T., Bansal M., Malik P., Pahuja I.,

## References

1. Malyukova T.A., Boiko A.V., Panin Yu.A., Bezsmertny V.E., Kutyr V.V. [Probability of biorisks occurring attached to the performance of work with pathogenic biological agents of the I–II groups of hazard]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Boznyi [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2016; 21(3):136–45 DOI: 10.18821/1560-9529-2016-21-3-136-145.



- Singh R.K. Laboratory-acquired buffalopox virus infection. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(2):324–6. DOI: 10.3201/eid2002.130358.
27. Near Misses at UNC's BSL-3 Lab Illustrate Risk of Accidents With Coronaviruses. *Laboratory Equipment*. 2020. [Internet]. Available from: <https://www.laboratoryequipment.com/567317-Near-Misses-at-UNC-s-BSL-3-Lab-Illustrate-Risk-of-Accidents-With-Coronaviruses/>.
28. Samson Ellis, Chi-Hua Chien, Kanoko Matsuyama, Bloomberg. Taiwan investigates possible COVID lab leak as scientist tests positive after bites from infected mouse. [Internet]. Available from: <https://fortune.com/2021/12/10/taiwan-investigates-covid-lab-leak-scientist-tests-positive-bite-infected-mouse/>.
29. Everington K. Scientist bitten by mouse in Taipei lab before testing positive for COVID. *Taiwan News*. 2021. [Internet]. Available from: <https://www.taiwannews.com.tw/en/news/4371212>.
30. Talon de Menezes M., Rilo Christoff R., Higa L.M., Pezzuto P., Rabello Moreira F.R., Ribeiro L.J., Maia R.A., Ferreira Júnior O.D.C., Tanuri A., Pestana Garcez P., Santana Aguiar R. Laboratory acquired Zika virus infection through mouse bite: a case report. *Open Forum Infect. Dis.* 2020; 7(11):ofaa259. DOI: 10.1093/ofid/ofaa259.
31. Sharp T.M., Fisher T.G., Long K., Coulson G., Medina F.A., Herzig C., Koza M.B., Muñoz-Jordan J., Paz-Bailey G., Moore Z., Williams C. Laboratory-acquired dengue virus infection, United States, 2018. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(7):1534–7. DOI: 10.3201/eid2607.191598.
32. Britton S., van den Hurk A.F., Simmons R.J., Pyke A.T., Northill J.A., McCarthy J., McCormack J. Laboratory-acquired dengue virus infection – a case report. *PLOS Negl. Trop. Dis.* 2011; 5(11):e1324. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001324.
33. Canadian lab worker released after Ebola infection scare. *CIDRAP*. 2016. [Internet]. Available from: <https://www.reuters.com/article/canada-us-health-ebola-canada-idCAKBN13N2BO>.
34. Hvistendahl M. America's bioweapons labs: bent over in pain (why COVID exists). *Intel Drop*. 2022. [Internet]. Available from: <https://www.theinteldrop.org/2022/11/04/americas-bioweapons-labs-bent-over-in-pain-why-covid-exists/>.
35. Dentinger C.M., Jacob K., Lee L.V., Mendez H.A., Chotikanatis K., McDonough P.L., Chico D.M., De B.K., Tiller R.V., Traxler R.M., Campagnolo E.R., Schmitt D., Guerra M.A., Slavinski S.A. Human *Brucella canis* infection and subsequent laboratory exposures associated with a puppy, New York City, 2012. *Zoonoses Public Health*. 2015; 62(5):407–14. DOI: 10.1111/zph.12163.
36. Sam I.C., Karunakaran R., Kamarulzaman A., Ponnampalavanar S., Syed Omar S.F., Ng K.P., Mohd Yusof M.Y., Hooi P.S., Jafar F.L., Abubakar S. A large exposure to *Brucella melitensis* in a diagnostic laboratory. *J. Hosp. Infect.* 2012; 80(4):321–5. DOI: 10.1016/j.jhim.2011.12.004.
37. Sturmer J. Fears CSIRO staff exposed to 'low risk' toxic bacteria at Canberra lab. *ABC News*. 2016. [Internet]. Available from: <https://www.abc.net.au/news/2016-09-05/fears-csiro-staff-exposed-to-toxic-bacteria-at-csiro-lab/7815922>.
38. Wong C., Ng S.Y., Tan S.H. An accidental laboratory exposure to *Brucella melitensis*: the prospective post-exposure management and a detailed investigation into the nature of the exposure. *J. Med. Microbiol.* 2018; 67(7):1012–6. DOI: 10.1099/jmm.0.000772.
39. Boodman C., Richert Q., Lothar S., Kasper K., Fanella S., Lagacé-Wiens P., Keynan Y. Inguinal ulceroglandular tularemia caused by *Francisella tularensis* subspecies *holarctica*, Canada. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(4):1228–9. DOI:10.3201/eid2704.203262.
40. Fukuchi T., Yanagihara N., Imaoka K., Sugawara H. Imported brucellosis in the era of dramatically increasing immigrants and foreign travelers from endemic areas: occupational hazards of secondary infection among laboratory technicians in a nonendemic country. *Int. Med. Case Rep. J.* 2019; 12:313–7. DOI: 10.2147/IMCRJ.S224831.
41. CDC. Human *Salmonella* typhimurium infections associated with exposure to clinical and teaching microbiology laboratories (final update). Outbreaks. *Salmonella*. 2012. [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/salmonella/2011/lab-exposure-1-17-2012.html>.
42. Song L., Gao J., Wu Z. Laboratory-acquired infections with *Brucella* bacteria in China. *Biosafety and Health*. 2020; 3(2):101–4. DOI:10.1016/j.bsheal.2020.07.010.
43. Human *Salmonella* Typhimurium infections linked to exposure to clinical and teaching microbiology laboratories (final update). 2014. [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/salmonella/typhimurium-labs-06-14/index.htm>.

#### Authors:

Krepostnova I.M., Gordeeva M.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru).

#### Об авторах:

Крепостнова И.М., Гордеева М.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru).

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-35-41

УДК 616.98:579.852.11(470)

А.Г. Рязанова<sup>1</sup>, О.Н. Скударева<sup>2</sup>, Д.К. Герасименко<sup>1</sup>, Т.М. Головинская<sup>1</sup>, Ф.В. Логвин<sup>3</sup>,  
Л.Ю. Аксенова<sup>1</sup>, О.В. Семенова<sup>1</sup>, Е.И. Еременко<sup>1</sup>, Г.А. Печковский<sup>1</sup>, К.А. Олейникова<sup>1</sup>,  
А.В. Никитина<sup>1</sup>, А.Н. Куличенко<sup>1</sup>

## Анализ эпизоотолого-эпидемиологической обстановки по сибирской язве в 2023 г. в мире, прогноз на 2024 г. в Российской Федерации

<sup>1</sup>ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация;

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

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Представлены результаты обзора эпизоотологической и эпидемиологической обстановки по сибирской язве в 2023 г. в мире, приведен прогноз заболеваемости на 2024 г. в Российской Федерации. В 2023 г. в России отмечено осложнение эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по этой инфекции. В пяти субъектах трех федеральных округов (Приволжского, Сибирского, Центрального) зарегистрировано семь вспышек сибирской язвы с заражением 14 сельскохозяйственных животных и 19 человек. Эпизоотолого-эпидемиологическое неблагополучие в отношении сибиреязвенной инфекции имело место в четырех государствах ближнего зарубежья: Азербайджане, Казахстане, Кыргызстане и Таджикистане. Сибирская язва среди сельскохозяйственных и диких животных зафиксирована в странах Африки, Азии, Европы и Северной Америки. Случаи заболевания людей зарегистрированы в Африке, Азии и Европе. Инфицирование людей происходило при контакте с зараженными животными, продуктами животного происхождения, в ходе употребления в пищу мяса больных/павших сельскохозяйственных и диких животных. Уровень заболеваемости сибирской язвой животных и людей в 2024 г. в России будет коррелировать с полнотой учета и охвата специфической иммунизацией восприимчивых животных и лиц из групп высокого профессионального риска заражения. При надлежащем исполнении всех мер профилактики, эффективном надзоре за инфекцией заболеваемость сибирской язвой в субъектах Российской Федерации будет на уровне спорадической.

**Ключевые слова:** сибирская язва, *Bacillus anthracis*, вспышка, заболеваемость.

Корреспондирующий автор: Рязанова Алла Геннадьевна, e-mail: anthraxlab.stv@mail.ru.

Для цитирования: Рязанова А.Г., Скударева О.Н., Герасименко Д.К., Головинская Т.М., Логвин Ф.В., Аксенова Л.Ю., Семенова О.В., Еременко Е.И., Печковский Г.А., Олейникова К.А., Никитина А.В., Куличенко А.Н. Анализ эпизоотолого-эпидемиологической обстановки по сибирской язве в 2023 г. в мире, прогноз на 2024 г. в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 3:35–41. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-35-41

Поступила 22.05.2024. Отправлена на доработку 11.06.2024. Принята к публ. 04.07.2024.

A.G. Ryazanova<sup>1</sup>, O.N. Skudareva<sup>2</sup>, D.K. Gerasimenko<sup>1</sup>, T.M. Golovinskaya<sup>1</sup>, F.V. Logvin<sup>3</sup>,  
L.Yu. Aksenova<sup>1</sup>, O.V. Semenova<sup>1</sup>, E.I. Eremenko<sup>1</sup>, G.A. Pechkovsky<sup>1</sup>, K.A. Oleynikova<sup>1</sup>,  
A.V. Nikitina<sup>1</sup>, A.N. Kulichenko<sup>1</sup>

## Analysis of the Epizootiological and Epidemiological Situation on Anthrax in the World in 2023, the Forecast for 2024 in the Russian Federation

<sup>1</sup>Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation;

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

<sup>3</sup>Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Abstract.** The results of a review of the epizootiological and epidemiological situation on anthrax around the world in 2023 and the forecast of morbidity in the Russian Federation in 2024 are presented. In 2023, a complication of the epizootiological and epidemiological situation on this infection was recorded in Russia. Seven outbreaks of anthrax with infection of 14 farm animals and 19 humans were registered in five constituent entities of three federal districts (Volga, Siberian, and Central Federal Districts). Epizootiological and epidemiological instability due to the anthrax was detected in four neighboring countries: Azerbaijan, Kazakhstan, Kyrgyzstan, and Tajikistan. Anthrax among farm and wild animals was recorded in Africa, Asia, Europe, and North America. Cases of human disease were reported in Africa, Asia and Europe. Human infections occurred during contact with infected animals, products of animal origin, consumption of meat from sick/fallen livestock and wild animals. The incidence rate of anthrax in animals and humans in Russia in 2024 will correlate with the completeness of registration and specific immunization coverage of susceptible animals and persons from groups with high occupational risk of infection. With proper implementation of all preventive measures and effective surveillance of infection, anthrax incidence in the entities of the Russian Federation will amount to isolated cases.

**Key words:** anthrax, *Bacillus anthracis*, outbreak, morbidity.

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

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

Corresponding author: Alla G. Ryazanova, e-mail: anthraxlab.stv@mail.ru.

Citation: Ryazanova A.G., Skudareva O.N., Gerasimenko D.K., Golovinskaya T.M., Logvin F.V., Aksenova L.Yu., Semenova O.V., Eremenko E.I., Pechkovsky G.A., Oleynikova K.A., Nikitina A.V., Kulichenko A.N. Analysis of the Epizootiological and Epidemiological Situation on Anthrax in the World in 2023, the Forecast for 2024 in the Russian Federation. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 3:35–41. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-35-41

Received 22.05.2024. Revised 11.06.2024. Accepted 04.07.2024.

Ryazanova A.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5196-784X>  
 Gerasimenko D.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8636-6585>  
 Golovinskaya T.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6475-4512>  
 Logvin F.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4410-1677>  
 Aksenova L.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7744-3112>  
 Semenova O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0274-898X>

Eremenko E.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1117-1185>  
 Pechkovsky G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7033-9972>  
 Oleynikova K.A., ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-3479-9434>  
 Nikitina A.V., ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-4544-7860>  
 Kulichenko A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>

**Ситуация в Российской Федерации.** В 2023 г. в Российской Федерации отмечено осложнение эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по сибирской язве. В пяти субъектах трех федеральных округов (Приволжского, Сибирского, Центрального) зарегистрировано семь вспышек инфекции с заболеванием по меньшей мере 14 сельскохозяйственных животных (СХЖ) (12 голов [гол.] крупного рогатого скота [КРС] и 2 лошадей) и 19 человек (рисунок).

В марте 2023 г. очаг сибирской язвы зафиксирован в Приволжском федеральном округе (Чувашская Республика), где кожная форма инфекции выявлена у двух жителей д. Старое Акташево (Цивильский район). Один из заболевших заразился при вынужденном убое больного бычка, не подвергнутого обязательному предубойному ветеринарному осмотру, второй – в процессе кулинарной обработки полученных от КРС субпродуктов. Известно, что данное животное не прививалось против сибирской язвы.

В Сибирском федеральном округе вспышка инфекции отмечена в июне 2023 г. в Барун-Хемчикском районе Республики Тыва. Сибирская язва диагностирована у двух лошадей и пяти человек. Инфицирование людей произошло в ходе осуществления вблизи с. Бижиктиг-Хая вынужденного убоя одной больной лошади (вторая лошадь пала), употребления в пищу полусырой печени лошади, при транспортировке этой туши и разделке мяса. Среди всех заболевших кожная форма сибиреязвенной инфекции лабораторно подтверждена у трех человек, а одновременно орофарингеальная и кожная формы – у двух больных.

В период с июня по сентябрь 2023 г. в Центральном федеральном округе (Тамбовская область – 1 очаг, Рязанская область – 1, Воронежская область – 3) во время пяти вспышек сибирской язвы всего заболело 10 гол. СХЖ и 12 человек. В пределах Тамбовской области (Бондарский район, окрестности д. Шача Молоканская) случай заболевания КРС

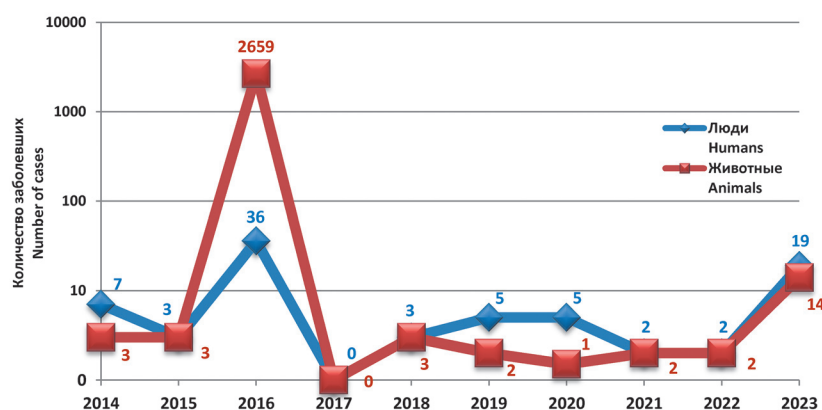
подтвержден результатами лабораторных исследований на базе ТОГБУ «Тамбовоблветлаборатория».

В Рязанской области (Захаровский район) в июле установлен падеж содержащихся в ООО «Путь Ленина» (с. Старое Зимино) 6 гол. КРС, привитых против сибирской язвы. После контакта с больным скотом кожная форма инфекции диагностирована у невакцинированного скотника.

На территории Воронежской области сибирская язва регистрировалась в Панинском, Богучарском и Новоусманском районах. Так, в августе в Панинском районе житель с. Красные Холмы заразился при проведении в личном подсобном хозяйстве вынужденного убоя 1 гол. КРС, не вакцинированной против сибирской язвы и не прошедшей перед убоем ветеринарное освидетельствование. В сентябре в Богучарском районе в процессе вспышки заболело 2 гол. КРС. В результате вынужденного убоя в с. Лебединка не привитого против сибиреязвенной инфекции больного КРС, при контакте с этой тушей и мясом, реализованным без ветеринарной экспертизы, заболели девять человек. В Новоусманском районе сибирская язва выявлена у работника совхоза «Крыловский» после контакта с павшим КРС.

Согласно сведениям Россельхознадзора, в России за I–III кварталы 2023 г. учтено пять очагов сибиреязвенной инфекции, в которых заболело 10 гол. КРС (Чувашская Республика – 1 очаг, Тамбовская область – 1, Рязанская область – 1, Воронежская область – 2), и 1 очаг – в Республике Тыва, где инфицировалась лошадь [1].

В 2023 г. в 70 субъектах Российской Федерации против сибирской язвы вакцинировано 10275 человек (10119 взрослых, 156 детей), что составило 111,95 % от запланированного (9178 человек). План ревакцинации против данной инфекции выполнен в целом на 94,03 % (34771 человек) – иммунизировано в 69 субъектах 32696 человек (32571 взрослый, 125 детей).



Количество зарегистрированных случаев заболевания сибирской язвой животных и людей в Российской Федерации в период с 2014–2023 гг.

The number of reported cases of anthrax in animals and humans in the Russian Federation in the period of 2014–2023



Вакцинация в полном объеме осуществлена в 10 субъектах: в республиках Бурятия, Мордовия и Кабардино-Балкарской Республике, Астраханской, Воронежской, Курганской, Курской, Рязанской, Самарской и Смоленской областях. План вакцинации реализован более чем на 100 % в 36 субъектах, в 10 из которых объемы были превышены в 2,3–24,2 раза: в Пензенской (230,3 %), Иркутской (234,6 %), Челябинской (241,5 %), Тульской (256 %), Ярославской (286,7 %) областях, Республике Саха (Якутия) (290 %), Новосибирской (350 %), Тюменской (395 %), Орловской (589,5 %) областях, Чувашской Республике (2423,8 %). Вакцинация в объеме более 80 % от запланированного проведена в 10 субъектах: в республиках Башкортостан, Ингушетия и Калмыкия, Алтайском и Приморском краях, Амурской, Волгоградской, Кировской и Тверской областях, Ямало-Ненецком автономном округе.

Вакцинация менее 80 % от намеченного плана состоялась в 10 субъектах: в Хабаровском крае (10 %), Костромской области (23 %), Забайкальском крае (48,8 %), Ульяновской (58,1 %), Новгородской (66,7 %), Томской (66,7 %) областях, г. Санкт-Петербурге (68,2 %), Брянской области (69,6 %), Республике Крым (71,4 %), Калужской области (77,8 %).

Специфическая иммунизация людей против сибирской язвы не планировалась, но была реализована на территории Липецкой области (1 человек), г. Москвы (2), Красноярского края (6), Ханты-Мансийского автономного округа – Югры (8).

Вакцинация не выполнялась при наличии планов в пяти субъектах: в Республике Северная Осетия – Алания, Чеченской Республике, Калининградской, Ленинградской и Псковской областях. Вакцинация не проводилась и не планировалась в 10 субъектах: республиках Адыгея, Карелия, Карачаево-Черкесской Республике, Архангельской, Магаданской, Мурманской и Сахалинской областях, г. Севастополе, Еврейской автономной области, Чукотском автономном округе.

План ревакцинации против сибирской язвы выполнен в полном объеме в 10 субъектах: в республиках Алтай, Бурятия и Мордовия, Астраханской, Воронежской, Кировской, Курганской, Курской, Рязанской и Свердловской областях.

Охват ревакцинацией превысил 100 % от намеченного в 27 субъектах: в Челябинской области (257,1 %), Ставропольском крае (233,3 %), Республике Тыва (187,3 %), Тюменской (185 %), Владимирской (175 %), Магаданской (150 %) областях и др. Ревакцинация проведена при отсутствии плана в Красноярском крае (12 привитых). Ревакцинация в объеме более 80 % от плана осуществлена в 20 субъектах: в республиках Башкортостан, Ингушетия, Калмыкия, Татарстан, Кабардино-Балкарской Республике, Алтайском и Краснодарском краях, Амурской, Волгоградской, Вологодской,

Липецкой, Нижегородской, Новгородской, Омской, Оренбургской, Самарской, Саратовской и Тверской областях, г. Санкт-Петербурге, Ямало-Ненецком автономном округе.

Реализация плана ревакцинации составила менее 80 % в 11 субъектах: в Ярославской области (78,2 %), Приморском крае (76,9 %), Республике Коми (74,8 %), Удмуртской Республике (62,1 %), Ульяновской области (62,1 %), Ростовской области (56,3 %), Республике Саха (Якутия) (52,9 %), Калужской области (50,3 %), Брянской области (49,7 %), Хабаровском крае (37,5 %), Костромской области (31,5 %). Ревакцинация планировалась, но не осуществлялась в Республике Крым, Ленинградской и Смоленской областях. Ревакцинация не планировалась и не выполнялась в 13 субъектах, среди которых Карачаево-Черкесская Республика, Республика Карелия, Республика Северная Осетия – Алания, Чеченская Республика, Камчатский край, Архангельская, Калининградская, Мурманская, Псковская и Сахалинская области, г. Севастополь, Еврейская автономная область, Чукотский автономный округ.

В 2024 г. в Российской Федерации планируется охватить вакцинацией против сибирской язвы 10394 человека (10110 взрослых, 284 ребенка) в 74 субъектах, ревакцинировать – 36534 человека (35758 взрослых, 776 детей) в 73 субъектах. Вакцинация не запланирована в 11 субъектах: Республике Карелия, Красноярском крае, Архангельской, Калининградской, Магаданской, Мурманской, Сахалинской и Смоленской областях, городах Москва и Севастополь, Чукотском автономном округе. Проведение ревакцинации не планируется в 12 субъектах: Карачаево-Черкесской Республике, Республике Карелия, Республике Северная Осетия – Алания, Чеченской Республике, Камчатском крае, Архангельской, Калининградской, Мурманской, Сахалинской и Смоленской областях, г. Севастополе, Чукотском автономном округе. Однако в соответствии с п. 1098–1099 главы XI СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» (утверждены постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2021 № 4), вакцинации против сибирской язвы в плановом порядке подлежат лица, подвергающиеся профессиональному риску заражения. В первую очередь это работники животноводческих хозяйств, предприятий по переработке сырья и производству продукции животного происхождения, которые имеются на территории всех субъектов. Плановой специфической иммунизации также подлежат лица, выполняющие работы, связанные с выемкой и перемещением грунта на угрожаемых территориях (сельскохозяйственные, строительные, гидромелиоративные, геологические и пр.), специалисты, работающие с материалом, подозрительным на содержание возбудителя сибирской язвы, и культурами сибиреязвенного микроба [2, 3].

По данным Департамента ветеринарии Минсельхоза России, в 2023 г. в Российской Федерации объемы профилактической иммунизации животных против сибирской язвы в целом составили 46576,682 тыс. головообработок (г/о), среди которых 22813,888 тыс. г/о КРС; 20918,819 тыс. г/о мелкого рогатого скота (МРС); 1107,543 тыс. г/о лошадей; 1062,761 тыс. г/о оленей; 667,786 тыс. г/о свиней; 5,885 тыс. г/о животных прочих видов (4,467 тыс. г/о верблюдов; 0,397 тыс. г/о диких животных; 0,336 тыс. г/о маралов; 0,253 тыс. г/о зоопарковых животных; 0,189 тыс. г/о пони; 0,132 тыс. г/о ослов; 0,060 тыс. г/о лам; 0,043 тыс. г/о буйволов; 0,007 тыс. г/о яков; 0,001 тыс. г/о цирковых животных) [3].

В 2024 г. планируется охватить вакцинацией:

- 14429,429 тыс. гол. КРС (23130,867 тыс. г/о);
- 13736,929 тыс. гол. МРС (21205,923 тыс. г/о);
- 1147,908 тыс. гол. оленей (1148,328 тыс. г/о);
- 1063,390 тыс. гол. лошадей (1065,208 тыс. г/о);
- 476,655 тыс. гол. свиней (836,789 тыс. г/о);
- 4,417 тыс. гол. верблюдов (4,419 тыс. г/о);
- 0,020 тыс. гол. диких животных (0,020 тыс. г/о).

Несмотря на высокие объемы вакцинации против сибирской язвы поголовья СХЖ, в 2023 г. в России зафиксированы случаи заболевания не привитого против этой инфекции скота, что в первую очередь свидетельствует о недостоверном учете восприимчивых животных, повлекшем невключение этих СХЖ в план вакцинации.

#### ***Ситуация в странах ближнего зарубежья.***

В 2023 г. в четырех странах ближнего зарубежья сибирской язвой инфицировалось по меньшей мере 38 СХЖ и 137 человек.

Наиболее неблагоприятная эпидемическая ситуация сложилась в Таджикистане, где, по информации Министерства здравоохранения и социальной защиты населения республики, в 2023 г. зафиксировано 80 больных сибирской язвой людей, среди которых в районах республиканского подчинения отмечено 45 заболевших, в г. Душанбе – 19, Хатлонской области – 15 (Кулябский район – 8, Курган-Тюбинская зона – 7), Согдинской области – 1. В 2022 г. в Таджикистане сибиреязвенная инфекция была диагностирована у 8 человек.

В 2023 г. в пределах трех областей Казахстана сибирская язва регистрировалась как минимум у 34 КРС и 37 человек, для одного из которых заболевание закончилось летально. Так, в Жамбылской области заразилось в совокупности 19 человек с наибольшим их числом в Жуалынском (9 человек) и Таласском (6) районах, по одному больному зафиксировано в Байзакском и Сасыуском районах, в г. Тараз заболели два человека [4]. В Акмолинской области (Жаркаинский район) в одном из животноводческих хозяйств зарегистрировано 32 случая заболевания КРС и 15 – работников хозяйства, имевших контакт с инфицированным скотом. В Абайском районе Карагандинской области после вынужденно-

го убоя зараженного КРС сибирская язва выявлена у трех человек с одним летальным исходом в связи с генерализацией инфекции [5].

В Кыргызстане в 2023 г. в двух районах Ошской области при контакте с заболевшим КРС произошло заражение 20 человек (в Кара-Сууском районе – 16 человек, в Узгенском районе – 4 человека, включая 7-месячного ребенка) [6, 7].

В Азербайджане на одной из ферм с. Алигуллар (Имишлинский район) в сентябре сибирская язва стала причиной падежа 4 гол. МРС [8].

***Ситуация в странах дальнего зарубежья.*** По информации ОIE, в 2023 г. эпизоотологическое неблагополучие по сибирской язве СХЖ фиксировалось в двух странах Африки: в Замбии (4 очага в 2 провинциях – 139 КРС, 3 МРС), Нигерии (4 вспышки в 2 штатах – 23 КРС, 24 МРС, 6 СХЖ); в трех странах Европы: в Испании (2 очага в 1 провинции – 15 КРС), Италии (1 очаг – 5 МРС), Румынии (3 вспышки в 2 областях – 11 КРС, 1 МРС) [9].

В соответствии с данными Россельхознадзора, в 2023 г. сибиреязвенная инфекция СХЖ отмечалась в Либерии (1 очаг – 36 КРС), Турции (1 КРС) [10]. Согласно сведениям ProMED-mail, эпизоотии сибирской язвы имели место в Африке: в Замбии (неопределенное количество очагов в 9 из 10 провинций – СХЖ), Гане (более 15 вспышек – 35 КРС, 58 МРС, 2 свиньи), Зимбабве (более 30 очагов – как минимум 36 КРС), Кении (более 15 вспышек – свыше 20 КРС и 2 МРС, а также 3 собаки, 2 кошки), Уганде (неопределенное количество очагов – не менее 25 СХЖ); в Азии: в Индии (3 вспышки – КРС), Индонезии (3 вспышки – 2 КРС, МРС), Монголии (1 очаг, вид СХЖ не указан); в Северной Америке: в Канаде (1 очаг – 3 КРС), США (как минимум 7 вспышек в 3 штатах – свыше 25 КРС, 1 МРС, 1 лошадь); в Европе: в Болгарии (1 очаг – 1 МРС).

Случаи заболевания сибирской язвой СХЖ и диких животных выявлены во Вьетнаме, где с мая по июнь 2023 г. имели место пять очагов инфекции на территории трех провинций: Дьенбьен (3 очага – КРС, буйволы), Лайтяу (1 очаг – буйволы), Хазянг (1 очаг – КРС) [11, 12]. В Южной провинции Замбии (округ Синазонгве) сибирская язва выявлена у трех павших гиппопотамов в июне, а на Северо-Западных территориях Канады (низменность Невольничьей реки) в июне – июле от сибирской язвы пало 30 бизонов [13].

В Кении в январе 2023 г. в пределах округа Ваджир зафиксирована вспышка инфекции среди верблюдов и КРС. Активизации сибиреязвенных почвенных очагов способствовали благоприятные условия, установившиеся с декабря 2022 г., в виде проливных дождей, сменявшихся жаркой погодой [14]. Случай сибирской язвы одного верблюда зарегистрирован также в июле в Нигерии (штат Лагос, район Апапа).

В течение 2023 г. в дальнем зарубежье сибирская язва у людей отмечалась в странах Африки, Азии и

Европы. Заболевания людей происходили в результате контакта с зараженными животными, продуктами животного происхождения, употребления в пищу мяса больных/павших СХЖ и диких животных.

В мае – июне 2023 г. в Гане (Верхний Восточный регион) инфекция проявилась у 13 человек (один летальный исход) по причине контакта с павшим КРС и употреблением в пищу его мяса [15].

Согласно данным WHO Africa, в период с ноября 2023 по январь 2024 г. в провинции Северное Киву Демократической Республики Конго учтено 20 предположительных случаев сибирской язвы среди людей с летальными исходами у 4 заболевших [16].

В Замбии зафиксирована крупнейшая с 2011 г. вспышка сибирской язвы, начавшаяся в 2022 г. Всего с октября 2022 по ноябрь 2023 г. в девяти провинциях страны насчитывалось 895 случаев заражения людей с 4 летальными исходами, в том числе в результате употребления в пищу мяса СХЖ и диких животных [17].

Согласно сообщениям WHO Africa, на территории Зимбабве (провинция Мидлендс) в январе – ноябре 2023 г. сибирская язва была отмечена у 412 человек, среди которых в районе Северное Гокве учтено 285 больных, а в районе Южное Гокве – 127. По информации ProMED-mail, в Зимбабве очаги инфекции фиксировались в пределах 31 района из 60 с заражением 518 человек. Случаи заболевания людей связаны со вспышками сибирской язвы среди СХЖ (более 36 КРС) и диких животных (в том числе гиппопотамов), обитающих на границе Зимбабве и Замбии.

В округах Кисии, Муранга, Нарок и Эмбу (Кения) сибирской язвой заразилось не менее 75 человек (8 летальных исходов) вследствие контакта с больным КРС и употреблением в пищу зараженного мяса.

В ноябре в Республике Малави (округ Мзимба) кожная форма инфекции выявлена у 6-летнего ребенка [18].

В 2023 г. по причине контакта с больными и павшими СХЖ, употребления в пищу их мяса в трех округах Уганды зарегистрировано по меньшей мере 60 случаев сибирской язвы среди людей с 19 летальными исходами: Квин (5 человек), Ибанда (16 человек, 2 летальных исхода), Киотера (как минимум 39 человек, 17 летальных исходов).

На территории Вьетнама с мая по июнь 2023 г. сибирской язвой заболело 17 человек в трех провинциях: Дьенбьен (13 человек), Лайтяу (3), Хазянг (1). Все случаи инфекции у людей связаны с участием в убойе больных буйволов и КРС и употреблением в пищу их мяса.

В Индии после употребления в пищу мяса КРС в штате Одиша в мае зафиксировано 12 случаев сибирской язвы среди людей с одним летальным исходом [19].

Сибирская язва диагностирована у 86 человек (1 летальный исход) в особом регионе Джокьякарта в Индонезии. Заболевание людей обусловлено кон-

тактом с тушей павшего КРС при ее разделке, а также употреблением в пищу зараженного мяса. В регистре Гунунг Кидул после убоя больного МРС отмечено два предположительных случая инфекции у людей [20].

В августе 2023 г. в Монголии в пределах сомона Монгонморьт сибирская язва выявлена у жителя аймака Туве, предположительно имевшего контакт с больным скотом [21].

В Республике Филиппины, на острове Лусон провинции Калинга, в октябре зарегистрировано пять случаев сибирской язвы у местных жителей, употреблявших в пищу мясо павшего водяного буйвола (карабао) [22].

Известно об инфицировании человека после осуществления вынужденного убоя одной головы МРС в феврале 2023 г. в Добричской области Болгарии (Северо-Восточный регион) [23].

Два случая подозрения на кожную форму сибирской язвы зарегистрировано в июле и сентябре в двух уездах Румынии: Яссы (10 КРС, 3 человека) и Муреш (2 человека) [24, 25].

**Прогноз ситуации по сибирской язве в Российской Федерации на 2024 г.** Заболеваемость сибирской язвой СХЖ и людей в Российской Федерации в 2024 г. будет коррелировать с полнотой учета скота и реализации запланированных объемов специфической иммунизации восприимчивых животных, а также лиц из групп высокого профессионального риска заражения, эффективностью проведения разъяснительной работы с населением о недопустимости осуществления вынужденного убоя больного скота без уведомления ветеринарных служб. Потенциальная угроза возникновения вспышек сибирской язвы в России также обусловлена эпизоотическим неблагополучием в ближнем зарубежье, преимущественно в среднеазиатских государствах, что создает реальную угрозу завоза на территорию страны больных животных и продуктов/сырья животного происхождения, контаминированных *Bacillus anthracis*. При надлежащем исполнении всех мер профилактики сибирской язвы, эффективным надзоре за инфекцией заболеваемость будет на уровне спорадической.

**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. Эпизоотическая ситуация в Российской Федерации. 2023 год (III квартал). Официальный сайт Россельхознадзора. [Электронный ресурс]. URL: [https://fsvps.gov.ru/wp-content/uploads/2023/09/3\\_kv.-2023-g.pdf](https://fsvps.gov.ru/wp-content/uploads/2023/09/3_kv.-2023-g.pdf) (дата обращения 20.03.2024).
2. Рязанова А.Г., Скударева О.Н., Герасименко Д.К., Логвин Ф.В., Аксенова Л.Ю., Семенова О.В., Еременко Е.И., Головинская Т.М., Печковский Г.А., Куличенко А.Н. Анализ ситуации по сибирской язве в 2022 г. в мире, прогноз на 2023 г. в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 2:88–94. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-88-94.



3. Рязанова А.Г., Скударева О.Н., Герасименко Д.К., Чмеренко Д.К., Семенова О.В., Аксенова Л.Ю., Еременко Е.И., Буравцева Н.П., Головинская Т.М., Печковский Г.А., Куличенко А.Н. Обзор эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по сибирской язве в 2020 г. в мире и прогноз на 2021 г. в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 1:81–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-81-86.

4. Anthrax – Kazakhstan (07): (ZM) human, RFI. [Электронный ресурс]. 18 Oct 2023. URL: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20231018.8712692 (дата обращения 18.10.2023).

5. Anthrax – Kazakhstan (09): (QG) human. [Электронный ресурс]. 04 Nov 2023. URL: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20231104.8712983 (дата обращения 04.11.2023).

6. Обзор инфекционной и паразитарной заболеваемости за январь – декабрь 2022–2023 гг. в разрезе областей и городов Кыргызской Республики. Официальный сайт Департамента профилактики заболеваний и госсанэпиднадзора Министерства здравоохранения Кыргызской Республики. [Электронный ресурс]. URL: <https://dgsen.kg/deyatelnost/upravlenie-profilaktiki-infekcionnyy/ezhemesjachnyj-bjulleten-sjesizn-2.html> (дата обращения 02.05.2024).

7. Anthrax – Kyrgyzstan (03): (OH) human, cattle. [Электронный ресурс]. 08 Aug 2023. URL: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230807.8711605 (дата обращения 08.08.2023).

8. Anthrax – Azerbaijan (01): (IM) sheep, WOH. [Электронный ресурс]. 21 Sep 2023. URL: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230921.8712247 (дата обращения 21.09.2023).

9. Anthrax. World Organisation for Animal Health (OIE). [Электронный ресурс]. URL: <https://wahis.woah.org/#/event-management> (дата обращения 15.01.2024).

10. Оперативные сообщения Информационно-аналитического центра Управления ветнадзора об эпизоотической ситуации в Российской Федерации и в мире на основании данных Всемирной организации здравоохранения животных (ОИЕ/МЭБ) и средств массовой информации. Официальный сайт Россельхознадзора. [Электронный ресурс]. URL: <https://fsvps.gov.ru/ru/iac/messages> (дата обращения 16.01.2024).

11. Anthrax – Viet Nam (04): (DB, HG) livestock, human, locations, vaccination, alert. [Электронный ресурс]. 11 Jun 2023. URL: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230611.8710526 (дата обращения 11.06.2023).

12. Anthrax – Viet Nam (05): (LI) buffalo, human, control response. [Электронный ресурс]. 19 Jun 2023. URL: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230619.8710667 (дата обращения 19.06.2023).

13. Anthrax – Canada (06): (SK) cattle. [Электронный ресурс]. 21 Oct 2023. URL: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20231021.8712741 (дата обращения 21.10.2023).

14. Anthrax – Kenya (06): (WJ, NK) camel, cattle, human. [Электронный ресурс]. 11 Jan 2023. URL: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230111.8707745 (дата обращения 11.01.2023).

15. Anthrax – Ghana (02): (UE) human, cattle, conf. movement controls. [Электронный ресурс]. 07 Jun 2023. URL: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230607.8710467 (дата обращения 07.06.2023).

16. Anthrax. WHO. Regional Office for Africa. [Электронный ресурс]. URL: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376439/OEW11-1117032024.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (дата обращения 02.05.2024).

17. Anthrax. WHO. Regional Office for Africa. [Электронный ресурс]. URL: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376440/OEW12-1824032024.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (дата обращения 02.05.2024).

18. Anthrax. WHO. Regional Office for Africa. [Электронный ресурс]. URL: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376599/OEW13-2531032024.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (дата обращения 02.05.2024).

19. Anthrax – India (09): (OR) cow, multiple human cases. [Электронный ресурс]. 09 May 2023. URL: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230508.8709935 (дата обращения 09.05.2023).

20. Anthrax – Indonesia (02): (YO) human, bovine. [Электронный ресурс]. 05 Jul 2023. URL: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230705.8710957 (дата обращения 05.07.2023).

21. Anthrax – Mongolia: (TO) RFI. [Электронный ресурс]. 24 Aug 2023. URL: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230824.8711821 (дата обращения 24.08.2023).

22. Оперативные сообщения Информационно-аналитического центра Управления ветнадзора об эпизоотической ситуации в Российской Федерации и в мире на основании данных Всемирной организации здравоохранения животных

(ОИЕ/МЭБ) и средств массовой информации. Официальный сайт Россельхознадзора. [Электронный ресурс]. URL: [https://fsvps.gov.ru/wp-content/uploads/2023/11/265-ASF\\_HPAI\\_LSD\\_EHD\\_WNF\\_21-11-2023\\_ALERT\\_265.pdf](https://fsvps.gov.ru/wp-content/uploads/2023/11/265-ASF_HPAI_LSD_EHD_WNF_21-11-2023_ALERT_265.pdf) (дата обращения 16.01.2024).

23. Anthrax – Bulgaria (02): (DO) human, goat conf. [Электронный ресурс]. 15 Feb 2023. URL: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230214.8708391 (дата обращения 15.02.2023).

24. Anthrax – Romania (02): (IS) cattle, human, cutaneous lesions, still unconfirmed. [Электронный ресурс]. 12 Jul 2023. URL: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230712.8711093 (дата обращения 12.07.2023).

25. Anthrax – Romania (06): (MS) bovine case confirmed. [Электронный ресурс]. 27 Aug 2023. URL: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230826.8711847 (дата обращения 27.08.2023).

## References

1. [Epizootic situation in the Russian Federation. 2023, 3rd quarter. Official Web-Site of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance]. (Cited 20 Mar 2024). [Internet]. Available from: [https://fsvps.gov.ru/wp-content/uploads/2023/09/3\\_kv.-2023-r..pdf](https://fsvps.gov.ru/wp-content/uploads/2023/09/3_kv.-2023-r..pdf).

2. Ryazanova A.G., Skudareva O.N., Gerasimenko D.K., Logvin F.V., Aksanova L.Yu., Semenova O.V., Eremenko E.I., Golovinskaya T.M., Pechkovsky G.A., Kulichenko A.N. [Analysis of the situation on anthrax in the world in 2022, the forecast for the Russian Federation for 2023]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (2):88–94. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-88-94.

3. Ryazanova A.G., Skudareva O.N., Gerasimenko D.K., Chmerenko D.K., Semenova O.V., Aksanova L.Yu., Eremenko E.I., Buravtseva N.P., Golovinskaya T.M., Pechkovsky G.A., Kulichenko A.N. [Review of the epizootiological and epidemiological situation on anthrax around the world in 2020 and the forecast for 2021 in the Russian Federation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (1):81–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-81-86.

4. Anthrax – Kazakhstan (07): (ZM) human, RFI. 18 Oct 2023. (Cited 18 Oct 2023). [Internet]. Available from: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20231018.8712692.

5. Anthrax – Kazakhstan (09): (QG) human. 04 Nov 2023. (Cited 05 Nov 2023). [Internet]. Available from: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20231104.8712983.

6. [Review of infectious and parasitic disease morbidity over January – December 2022–2023 in the context of regions and cities of the Kyrgyz Republic. Official Web-Site of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic]. (Cited 02 May 2024). [Internet]. Available from: <https://dgsen.kg/deyatelnost/upravlenie-profilaktiki-infekcionnyy/ezhemesjachnyj-bjulleten-sjesizn-2.html>.

7. Anthrax – Kyrgyzstan (03): (OH) human, cattle. 08 Aug 2023. (Cited 08 Aug 2023). [Internet]. Available from: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230807.8711605.

8. Anthrax – Azerbaijan (01): (IM) sheep, WOH. 21 Sep 2023. (Cited 21 Sep 2023). [Internet]. Available from: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230921.8712247.

9. [Anthrax. World Organization for Animal Health (OIE)]. (Cited 15 Jan 2024). [Internet]. Available from: <https://wahis.woah.org/#/event-management>.

10. [Operational reports of the Information and Analytical Center of the Veterinary Surveillance Department on the epizootic situation in the Russian Federation and in the world based on data from the World Organization for Animal Health (OIE/OIE) and the mass media. Official Web-Site of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance]. (Cited 16 Jan 2024). [Internet]. Available from: <https://fsvps.gov.ru/ru/iac/messages>.

11. Anthrax – Viet Nam (04): (DB, HG) livestock, human, locations, vaccination, alert. 11 Jun 2023. (Cited 11 Jun 2023). [Internet]. Available from: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230611.8710526.

12. Anthrax – Viet Nam (05): (LI) buffalo, human, control response. 19 Jun 2023. (Cited 19 Jun 2023). [Internet]. Available from: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230619.8710667.

13. Anthrax – Canada (06): (SK) cattle. 21 Oct 2023. (Cited 21 Oct 2023). [Internet]. Available from: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20231021.8712741.

14. Anthrax – Kenya (06): (WJ, NK) camel, cattle, human. 11 Jan 2023. (Cited 11 Jan 2023). [Internet]. Available from: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230111.8707745.

15. Anthrax – Ghana (02): (UE) human, cattle, conf. movement controls. 07 Jun 2023. (Cited 07 Jun 2023). [Internet]. Available from: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230607.8710467.

16. [Anthrax. World Health Organization (WHO). Regional Office for Africa]. (Cited 02 May 2024). [Internet]. Available from: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376439/OEW11-1117032024.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
17. [Anthrax. World Health Organization (WHO). Regional Office for Africa]. (Cited 02 May 2024). [Internet]. Available from: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376440/OEW12-1824032024.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
18. [Anthrax. World Health Organization (WHO). Regional Office for Africa]. (Cited 02 May 2024). [Internet]. Available from: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376599/OEW13-2531032024.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
19. Anthrax – India (09): (OR) cow, multiple human cases. 09 May 2023. (Cited 09 May 2023). [Internet]. Available from: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230508.8709935.
20. Anthrax – Indonesia (02): (YO) human, bovine. 05 Jul 2023. (Cited 05 Jul 2023). [Internet]. Available from: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230705.8710957.
21. Anthrax – Mongolia: (TO) RFI. 24 Aug 2023. (Cited 24 Aug 2023). [Internet]. Available from: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230824.8711821.
22. [Operational reports of the Information and Analytical Center of the Veterinary Surveillance Department on the epizootic situation in the Russian Federation and in the world based on data from the World Organization for Animal Health (OIE/OIE) and the mass media. Official Web-Site of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance]. (Cited 16 Jan 2024). [Internet]. Available from: [https://fsvps.gov.ru/wp-content/uploads/2023/11/265-ASF\\_HPAI\\_LSD\\_EHD\\_WNF\\_21-11-2023\\_ALERT\\_265.pdf](https://fsvps.gov.ru/wp-content/uploads/2023/11/265-ASF_HPAI_LSD_EHD_WNF_21-11-2023_ALERT_265.pdf).
23. Anthrax – Bulgaria (02): (DO) human, goat conf. 15 Feb 2023 (Cited 15 Feb 2023). [Internet]. Available from: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230214.8708391.
24. Anthrax – Romania (02): (IS) cattle, human, cutaneous lesions, still unconfirmed. 12 Jul 2023. (Cited 12 Jul 2023). [Internet]. Available from: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230712.8711093.
25. Anthrax – Romania (06): (MS) bovine case confirmed. 27 Aug 2023. (Cited 27 Aug 2023). [Internet]. Available from: <http://promedmail.promedmail.org/ru>. Archive Number: 20230826.8711847.

#### Authors:

*Ryazanova A.G., Gerasimenko D.K., Golovinskaya T.M., Aksenova L.Yu., Semenova O.V., Eremenko E.I., Pechkovsky G.A., Oleynikova K.A., Nikitina A.V., Kulichenko A.N.* Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

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

*Logvin F.V.* Rostov State Medical University. 29, Nakhichevansky Lane, Rostov-on-Don, 344022, Russian Federation. E-mail: okt@rostgmu.ru.

#### Об авторах:

*Рязанова А.Г., Герасименко Д.К., Головинская Т.М., Аксенова Л.Ю., Семенова О.В., Еременко Е.И., Печковский Г.А., Олейникова К.А., Никитина А.В., Куличенко А.Н.* Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

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

*Логвин Ф.В.* Ростовский государственный медицинский университет. Российская Федерация, 344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29. E-mail: okt@rostgmu.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-42-50

УДК 616.912:615.371

Л.Ф. Стомба, О.В. Чухраля, А.А. Петров, С.А. Мельников, Д.И. Павельев, С.В. Борисевич

**Противооспенная вакцина LC16m8: получение, свойства, перспективы***ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад, Российская Федерация*

Отмена обязательного оспопрививания привела к падению коллективного иммунитета, и человечество стало уязвимым к таким давно известным инфекциям, как оспа обезьян (мпок), коров, буйволов, верблюдов и вновь появившимся, вызываемым вирусами Аляска и Ахмета. Поэтому необходимы безопасные оспенные вакцины, иммуногенность которых сравнима с иммуногенностью вакцин, применяемых в период ликвидации натуральной оспы. **Цель** обзора – анализ исследований японских ученых по получению и изучению свойств противооспенной вакцины LC16m8 и оценка дальнейших перспектив применения штамма LC16m8. На основе одного из клонов *Lister* получена вакцина LC16m8, которая лицензирована в Японии с 1975 г. При полногеномном секвенировании выявлено, что основным ее отличием от генома исходного штамма является мутация в гене *B5R*, которая определяет его безопасность для лабораторных животных и человека. Иммуногенность вакцины на основе штамма сопоставима с иммуногенностью вакцин I поколения: *Lister*, *Dryvax*, *Ikeda*. По рекомендации ВОЗ вакцины II поколения ACAM 2000 и III поколения на основе штамма LC16m8 являются препаратами резерва. Однако установленная способность штамма LC16m8 при пассировании в культуре клеток спонтанно ревертировать к исходному варианту штамма *Lister* обусловила проведение генно-инженерных работ по делетированию гена *B5R* для получения мутанта LC16m8Δ, не способного к реверсии. Вакцина на основе штамма LC16m8Δ формально могла бы быть отнесена к препаратам IV поколения, а с учетом высокой иммуногенности и относительной безопасности этого штамма по результатам доклинических исследований возможна реальная перспектива получения на его основе современного и эффективного препарата резерва. Таким образом, анализ многолетних данных по изучению вакцины LC16m8 свидетельствует о том, что данный препарат по показателям эффективности и безопасности превосходит другие аналоги I, II и III поколений. Дальнейшие генно-инженерные работы с этим штаммом, позволившие получить безопасный, но иммуногенный геновариант штамма LC16m8Δ, – наглядный пример продуктивного движения к разработке безопасных и эффективных вакцин IV поколения.

**Ключевые слова:** оспенная вакцина, праймирование/бустирование, уровень сероконверсии, безопасность/иммуногенность.

*Корреспондирующий автор:* Борисевич Сергей Владимирович, e-mail: 48cnii@mail.ru.

*Для цитирования:* Стомба Л.Ф., Чухраля О.В., Петров А.А., Мельников С.А., Павельев Д.И., Борисевич С.В. Противооспенная вакцина LC16m8: получение, свойства, перспективы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 3:42–50. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-42-50  
Поступила 03.04.2024. Отправлена на доработку 12.04.2024. Принята к публ. 30.05.2024.

**L.F. Stovba, O.V. Chukhralya, A.A. Petrov, S.A. Mel'nikov, D.I. Pavel'ev, S.V. Borisevich****Smallpox Vaccine LC16m8: Production, Properties, and Prospects***48<sup>th</sup> Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Possad, Russian Federation*

**Abstract.** Abrogation of obligatory vaccination against smallpox has led to degradation of herd immunity and humanity has become vulnerable to long known infections, such as monkeypox (mpox), cowpox, camelpox, buffalopox and emerging ones, caused by viruses Alaska and Akhmeta. This situation demands availability of safe smallpox vaccines, the immunogenicity of which is comparable to vaccines used in the period of smallpox elimination. **The aim** of this review is to analyze the research of Japanese scientists on the production and investigation of properties of the smallpox vaccine LC16m8 and to assess further prospects for the use of the LC16m8 strain. The LC16m8 vaccine was obtained based on one of the *Lister* clones and has been licensed in Japan since 1975. Whole-genome sequencing revealed that its main difference from the genome of the original strain is a mutation in the *B5R* gene, which determines its safety for laboratory animals and humans. The immunogenicity of the vaccine based on this strain is comparable to the immunogenicity of the first generation vaccines: *Lister*, *Dryvax*, *Ikeda*. According to WHO recommendations, second generation vaccines ACAM 2000 and third generation vaccines based on the LC16m8 strain are reserve drugs. However, the established fact that the LC16m8 strain, when passaged in cell culture, spontaneously reverts to the original variant of the *Lister* strain led to genetic engineering work to delete the *B5R* gene to obtain the LC16m8Δ mutant, which is not capable of reversion. A vaccine based on the LC16m8Δ strain could technically be classified as a fourth generation drug, and taking into account the high immunogenicity and relative safety of this strain based on the results of preclinical studies, there is a real prospect of producing an advanced and effective reserve drug based on it. Thus, analysis of long-term data on the study of the LC16m8 vaccine indicates that this drug is superior to other analogues of the 1st, 2nd and 3rd generation in terms of effectiveness and safety. Further genetic engineering work with this strain, which made it possible to obtain a safe but immunogenic genovariant of the LC16m8Δ strain, is a clear example of a productive movement towards the development of safe and effective fourth generation vaccines.

**Key words:** vaccines against smallpox, priming/boosting, rate of seroconversion, safety and immunogenicity.



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

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

*Corresponding author:* Sergey V. Borisevich, e-mail: 48cnii@mail.ru.

*Citation:* Stovba L.F., Chukhraya O.V., Petrov A.A., Mel'nikov S.A., Pavel'ev D.I., Borisevich S.V. Smallpox Vaccine LC16m8: Production, Properties, and Prospects. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 3:42–50. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-42-50

*Received* 03.04.2024. *Revised* 12.04.2024. *Accepted* 30.05.2024.

Stovba L.F., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7985-5516>  
Chukhraya O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2603-0860>  
Petrov A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9714-2085>

Mel'nikov S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3487-5829>  
Pavel'ev D.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3204-1897>  
Borisevich S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

На протяжении XIX столетия для противооспенной иммунизации использовались вирусы оспы коров и лошадей [1]. Производственные штаммы вакцин на протяжении XIX в. могли содержать смеси этих двух вирусов, что приводило к различным генетическим модификациям, в результате которых образовались естественно эволюционировавшие современные штаммы вируса вакцины [2], представляющие собой препараты первого поколения, которые получали размножением возбудителя на коже телят. Вакцины, наработанные с помощью более безопасного субстрата накопления – культур клеток и использовавшие клонированные вакцинные вирусы первого поколения, представляли собой вакцины второго поколения [3].

Аттенуированные противооспенные вакцины третьего поколения получены в процессе множественных пассажей определенного штамма вируса вакцины в культуре клеток гетерологичного хозяина, что индуцирует спонтанные мутации, приводящие порой к непредсказуемым изменениям [4].

Вакцины четвертого поколения создаются с использованием генно-инженерных технологий [5].

#### **Получение вируса вакцины, штамм LC16m8.**

В 1960-х гг. в Японии для противооспенной вакцинации применялась вакцина на основе штамма Ikeda, которая обладала высокой реактогенностью по сравнению со штаммом Lister, рекомендованным для иммунизации Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ). Штамм Ikeda вызывал энцефалиты с частотой около 20 человек на миллион. Наивысший риск смертельных исходов отмечен у первично вакцинированных, особенно детей [6, 7]. В связи с этим для рутинной противооспенной иммунизации в 1970-х гг. вакцины, основанные на штамме Ikeda, заменили на вакцины, основанные на штамме Lister [8].

Однако смертельные исходы продолжались. Поэтому в 1966 г. правительством Японии была сформирована группа исследователей (Smallpox Vaccine Research Group – SVRG) для создания новой противооспенной вакцины с низкой реактогенностью. К этому времени в Германии уже был получен штамм MVA вируса вакцины [9], который относился к вакцинам третьего поколения благодаря своей низкой реактогенности, но обладал недостаточной иммуногенностью и применялся только при двукратном введении. Другой аттенуированный штамм, CV-I, применялся в США. В то же время данный штамм проявлял такую нейротоксичность, которая превосходила проявляемую неаттенуированными

вакцинами Ikeda, Lister, NYC3ВН. Индуцированный им гуморальный иммунный ответ был значительно ниже, чем у вакцин Lister и Ikeda [10].

С целью получения нового вакцинного штамма группа SVRG, возглавляемая Dr. Hazhizume, поставила задачу, пользуясь новейшими технологиями того времени, получить такой вариант вируса Lister, который бы не обладал нейропатогенностью, но при однократном введении индуцировал сравнимый уровень нейтрализующих антител [11].

Для получения вакцинного препарата штамм Lister был сначала пассирован на первичных клетках почки кролика (PRK) при температуре 30 °С. Проводился отбор 25 клонов, которые оценивались по способности репродуцироваться в культуре клеток Vero. Был отобран клон с наименьшими титрами репродукции (обозначен LC16), который проверяли по его способности к росту на коже кролика и нейропатогенности для кроликов и обезьян при сравнении со штаммом Lister, а затем оценивали на детях. Это первое небольшое клиническое испытание изолята LC16 по сравнению со штаммом Lister, проведенное на 34 детях [12]. Изолят хорошо переносился, вызывая низкий уровень лихорадки.

Далее клон LC16 пассировали 6 раз в PRK-клетках при температуре 30 °С и вносили на хорион-аллантоисные оболочки развивающихся куриных эмбрионов (ХАО РКЭ). Были отобраны оспины средних размеров (2–3 мм), которые обозначили как LC16mO. Далее клоны LC16mO трижды пассировались в PRK-клетках и затем на ХАО РКЭ, с которых отбирали оспины еще меньших размеров (0,5–1,0 мм). Финальный аттенуированный клон обозначили как LC16m8.

**Изучение свойств вируса вакцины, штамм LC16m8.** Изучение свойств этого клона проводилось по сравнению с клонами LC16 и LC16mO и штаммами Lister и CVI. Было показано, что в отличие от них он не способен репродуцироваться при температуре 40,5 °С, обладает меньшей нейропатогенностью, которая определялась по способности вызывать энцефалит при интрацеребральном заражении кроликов [12]. Кроме того, проведена клиническая оценка нейропатогенности на 56 детях в возрасте 6–8 лет, которым были сделаны энцефалограммы до вакцинации сравниваемыми штаммами и после нее. Изменения в энцефалограммах обнаружены у детей, вакцинированных штаммом Lister (у 26,3 %), CVI – (у 3,3 %), у вакцинированных клоном LC16m8 изменений не было [6].

Клон LC16m8 вызывал более слабые побочные реакции у обезьян, кроликов, иммунокомпромиссных мышей, причем не только среди указанных вирусов, но и среди вакцинных штаммов NYBH и EM-63 [13].

Защитная эффективность и безопасность штамма LC16m8 после дермального введения соответствовали таковым для вакцины на основе штамма Lister, причем определялись не только на животных, но и в клинических испытаниях. Результаты вакцинации 50 тыс. японских детей в 1973–1974 гг. свидетельствовали об отсутствии серьезных побочных реакций [12].

В 1974 г. проведено большое клиническое испытание вакцин на основе штаммов LC16m8 и LC16m0 в 29 префектурах Японии на 50 тыс. взрослых и 3 тыс. детей в возрасте 2–5 лет [6]. Из числа иммунизируемых были исключены люди с сердечными нарушениями, «влажной» экземой, лекарственной аллергией, печеночной и почечной недостаточностью, эпилепсией, иммуносупрессией [6, 14]. Иммунизируемым волонтерам предоставлялось право выбора вакцины: на основе штаммов LC16m8, LC16m0 или стандартного Lister. После иммунизации оценивались такие симптомы, как лихорадка, локальное покраснение, лимфаденопатия, уплотнения.

Введение вакцины на основе штамма LC16m8 вызывало те же побочные эффекты (локальные уплотнения в месте введения вакцины, лихорадка), что и другие вакцины, однако на значительно меньших уровнях, чем вакцина на основе штамма Lister. Из 8544 иммунизированных вакциной LC16m8 отмечены 8 случаев крапивницы, 1 – вакцинальной экземы, 9 – аутоинокуляции, 28 случаев локальной сыпи вокруг места введения и 3 мягкие лихорадочные реакции невыясненной этиологии [6, 14]. Для определения интервала, достаточного для формирования защитного иммунитета, исследовались сроки от 10 суток до 13 месяцев. Выявлено, что кросс-защита против других ортопоксвирусов, таких как натуральная оспа, формируется достаточно быстро и поддерживается в течение года, что соответствует таковой при иммунизации вакцинами Ikeda/Dairen [6].

Гуморальный иммунный ответ, индуцируемый к 1–6 месяцам после вакцинации вакцинным штаммом LC16m8 незначительно отличался от формируемого штаммами Lister и CV78 [6].

Таким образом, данные клинических исследований показывали, что штамм LC16m8, полученный группой SVRG, вызывает побочные реакции, но с меньшей частотой, чем все известные к тому времени вакцинные штаммы, и не обладает нейротоксичностью. В 1974 и 1975 гг. были использованы 90 тыс. доз для иммунизации детей и взрослых, без серьезных побочных реакций.

Поскольку штамм LC16m8 реплицируется в клетках млекопитающих, то может применяться при однократном введении, что выгодно отличает его от лицензированной вакцины на основе штам-

ма MVA. Поэтому на основе данного штамма может быть изготовлена безопасная и эффективная противооспенная вакцина [15]. Вакцина на основе штамма LC16m8 лицензирована в Японии в 1975 г. как противооспенная вакцина. Однако она никогда не применялась в районах, эндемичных по натуральной оспе, поскольку это заболевание было практически искоренено к моменту ее получения и лицензирования. Эффективность этой вакцины против натуральной оспы не была испытана на людях [15, 16].

**Изучение молекулярно-биологических свойств вируса вакцины, штамм LC16m8.** В 2005 г. определены полногеномные последовательности штамма LC16m8, родительского штамма LC16m0 и прародительского штамма Lister [17]. Геном штамма LC16m8 содержит 189 157 нуклеотидов, а геномы LC16m0 и Lister – по 189 158 нуклеотидов. Структурные организации этих геномов одинаковы и соответствуют таковым для всех ортопоксвирусов [18]. Они представлены линейной двуцепочечной ДНК, в центральной части которой содержатся гены, относительно консервативные между всеми ортопоксвирусными видами. Гены этой области кодируют структурные компоненты вириона и ферменты, необходимые для транскрипции, репликации и упаковки вирусной ДНК в цитоплазме хозяйской клетки. Весь цикл репродукции ортопоксвирусов проходит в цитоплазме хозяйской клетки. Гены по концам вирусного генома более разнообразны, не существенны для репродукции вируса в культуре клеток, но оказывают большое влияние на патогенность вируса для животных. В геноме штамма LC16m8, по сравнению с геномом штамма Lister, имелось только 6 точечных мутаций, однако наиболее значительным изменением была мутация со сдвигом рамки в гене, соответствующем гену *B5R* в штамме Копенгаген. F. Takahashi-Nishimaki *et al.* [19] впервые идентифицировали ген *B5R* вируса вакцины как ответственный за крупнобляшечный фенотип и способность репродуцироваться в клетках Vero. Полноразмерный ген кодирует белок B5 размером 42 kDa, который индуцирует выработку нейтрализующих антител у внеклеточной формы вируса. Внеклеточные вирусы – это свободные вирионы, которые высвобождаются из инфицированных клеток и способствуют диссеминации инфекции. Разрушение гена *B5R* уменьшает образование внеклеточного вируса в 5–10 раз.

Хотя внеклеточная форма вируса составляет менее 1 % от общей вирусной популяции, в дальнейшем были проведены исследования по изучению безопасности и уровней иммунных ответов, индуцированных вакцинными штаммами, имеющими интактный ген *B5R*, и LC16m8 с мутацией в этом гене.

Отсутствие полноразмерного гена *B5R* в вакцинном штамме LC16m8 подтверждено результатами однократной иммунизации им мышей линии BALB/c. Спектр индуцированных антител не содержал антитела к белку B5 [17]. Проведение сравнительной оценки иммуноглобулинов G в сыворотках

крови мышей BALB/c, иммунизированных вакцинами LC16m8 и Dryvax [20], выявило, что обе вакцины индуцировали выработку иммуноглобулинов класса G, которые достигали максимальных значений к 6-й неделе после вакцинации и сохранялись на том же уровне к 12-й неделе. Иммуноглобулины нейтрализовали и вне-, и внутриклеточный вирус и вызывали клеточно-опосредованный иммунитет, включая активацию клеток CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>. К усеченной форме белка B5 (~8 kDa) также вырабатывались иммуноглобулины, хотя на белок B5 при иммунизации вакциной на основе штамма LC16m8 антитела практически не вырабатывались.

Необходимо отметить, что вследствие ликвидации натуральной оспы невозможно было определить эффективность новых вакцин в отношении естественного заболевания. Поэтому вакцины должны были тестироваться и сравниваться с ранее используемыми в период ликвидации натуральной оспы традиционными противооспенными вакцинами на суррогатных животных – моделях натуральной оспы [21].

Имеется несколько исследований, которые приводят данные о вкладе антител против белка B5 в иммунный ответ [22], однако результаты экспериментов об иммунном ответе, индуцированном вакциной LC16m8, дефицитной по гену B5R, свидетельствуют о формировании иммунитета, подобного таковому у вакцин, которые интенсивно использовались в кампании по искоренению натуральной оспы в мире.

**Доклиническая оценка вакцины LC16m8.** Однократная иммунизация вакциной LC16m8, так же как и вакциной Lister, защищала обезьян (*synomolgus monkeys*) от интраназального или подкожного заражения летальной дозой вируса оспы обезьян [16, 17]. При интраназальном заражении у иммунизированных обезьян не проявлялось никаких симптомов заболевания. При подкожном заражении появлялись мягкие язвы в месте введения вируса, других симптомов не наблюдалось.

Длительность и защитная эффективность индуцированного иммунного ответа на введение вакцины LC16m8 по сравнению с вакциной Lister также оценивались на обезьянах *synomolgus monkeys* при подкожном и интраназальном заражении летальной дозой вируса оспы обезьян на 6-й и 12-й месяцы после вакцинации [23]. Гуморальный иммунный ответ у всех обезьян достигал максимума к 28-м суткам. Однако у животных, иммунизированных вакциной LC16m8, он был ниже, чем у иммунизированных вакциной Lister. У обезьян, иммунизированных вакциной Lister, он почти не изменялся во все сроки наблюдения, в то время как у вакцинированных вакциной LC16m8 он медленно понижался, но оставался достаточным для защиты животных от летальной дозы вируса оспы обезьян через 6 и 12 месяцев после иммунизации. У всех вакцинированных животных после инфицирования вирусом оспы обезьян не отмечалось никаких симптомов заболевания, в отли-

чие от контрольных животных, которые все погибли. Полученные результаты дают основание предполагать, что вакцинация человека вакциной LC16m8 будет индуцировать длительную защиту против заражения вирусом оспы обезьян [23].

Безопасность вакцины на основе штамма LC16m8 также показана на макаках-резус, у которых проводилось истощение Т- или В-клеток, при последующей иммунизации этой вакциной и Dryvax [24]. Истощение CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток не оказывало неблагоприятного воздействия на животных, вакцинированных вакциной LC16m8, в то время как у макак, иммунизированных вакциной Dryvax, оно вызывало прогрессирующую реакцию на вакцинацию. Обезьяны *synomolgus monkeys*, будучи вакцинированы обеими вакцинами, индуцировали иммунный ответ, который защищал их от заражения летальной дозой оспы обезьян через 60 суток после иммунизации. Эти данные подтверждают безопасность вакцины LC16m8 по сравнению с вакциной Dryvax в условиях моделирования ослабления иммунитета при доклинической оценке вакцин.

Определение LD<sub>50</sub> вируса вакцины для штамма LC16m8 для макак выявило, что этот показатель значительно превышает таковой у всех других вакцин, за исключением вакцинного штамма DIs, который отнесен к вакцинам третьего поколения, так же как и MVA [25, 26].

Проверялась защитная эффективность иммунных ответов, индуцируемых вакцинами LC16m8 и Dryvax, у кроликов [15]. Обе вакцины формировали схожие уровни иммунитета, достаточного для защиты животных от заражения летальной дозой вируса оспы кроликов.

Мыши BALB/c, иммунизированные вакцинами Lister, LC16m0 и LC16m8, были на 100 % защищены от гибели при инфицировании летальной дозой специально полученного вирулентного для мышей вируса вакцины, штамм WR, к 3-й неделе после вакцинации [17].

Определялась способность вакцины LC16m8 индуцировать иммунный ответ у беспородных белых мышей и иммунодефицитных мышей (дефектных по клеткам CD4<sup>+</sup>, по антигенам гистосовместимости класса I, класса II, классов I и II), сравнивая его с таковым для вакцины Lister [27]. Полученные результаты показали, что у мышей дикого типа иммунные ответы, индуцированные обеими вакцинами, были примерно на одном уровне и начинали формироваться уже на вторые сутки, полная защита против инфицирования летальной дозой нейропатогенного штамма WR сохранялась в течение года. У иммунодефицитных мышей иммунный ответ формировался на вторую или третью недели и не отличался от такового у беспородных белых мышей. Индуцирование иммунного ответа активировало факторы гуморального и клеточного иммунитета, включая продуцирование интерферонов, воспалительных цитокинов, хемокинов и NK-клеток.



Безопасность вакцины оценивалась на трех моделях иммунодефицитных мышей. Одна модель включала мышей-сосунков, вторая – с тяжелой комбинированной иммунодефицитностью (SCID), третья – беспородных белых мышей, обработанных циклоспорином [28]. Полученные результаты подтвердили безопасность вакцины для всех трех типов мышей. Эти исследования являются доказательством возможности использования данной вакцины для лиц с иммунодефицитностью.

Итак, на трех модельных животных было показано, что вакцина LC16m8 вызывает защитный иммунный ответ, сравнимый с таковым вакцин первого поколения, и предохраняет от заражения летальной дозой соответствующего вируса (табл. 1). Таким образом, мутация в гене *B5R* не оказывала значительного влияния на выработку полноценного иммунного ответа.

Результаты экспериментов свидетельствовали также о том, что в формировании защитного иммунитета принимают участие антитела и специфические Т-клетки ко многим вирусным антигенам. Это подтверждено исследованием спектра антител, полученных из сывороток 200 первично вакцинированных вакциной LC16m8 и бустированных ею взрослых людей.

Спектры индуцированных антител были подобны таковым, вызываемым при иммунизации другими оспенными вакцинами, что также свидетельствует об иммуногенности и защитной эффективности вакцины LC16m8 [29, 30]. Кроме того, как показано ранее [16, 23, 24], иммунизация вакциной на основе штамма LC16m8 защищает обезьян от оспы обезьян.

**Клиническая оценка вакцины LC16m8.** Безопасность и иммуногенность вакцины LC16m8 оценивалась и в клинических испытаниях. Так, в испытании,

проведенном в Японии, при иммунизации 3221 здорового волонтера в возрасте 18–55 лет, из которых 1529 ранее не были вакцинированы против оспенной вакциной [31], получены следующие результаты. Установлено, что побочные реакции представлены 2 случаями аллергического дерматита и мультиформной эритемой, 2 случаями боли в паху, вызванными бактериальной инфекцией, и опуханием подмышечных лимфоузлов у 15,5 % волонтеров, ранее не вакцинированных против оспенной вакциной, и 3,5 % – ревакцинированных, лихорадкой – у 2,6 % ранее не вакцинированных и 1,4 % – ревакцинированных. Побочные реакции начинались раньше у ревакцинированных волонтеров и не зависели от их возраста. Сероконверсия, основанная на определении уровня нейтрализующих антител, была выше у первично вакцинированных и составляла 90,2 %, а у ревакцинированных – 60,0 %. Геометрические значения титров не различались между двумя группами.

Дальнейшее испытание вакцины LC16m8 проведено в 2005 г. на 267 волонтерах в возрасте 19–52 лет, из которых 196 не были ранее вакцинированы оспенной вакциной. При этом серьезных побочных реакций не установлено, однако кожные побочные реакции наблюдались у 94,4 % ранее не вакцинированных волонтеров и 81,7 % – ранее вакцинированных. Сероконверсия отмечалась через 1 месяц после иммунизации у 84,2 % ранее не вакцинированных волонтеров [22].

Клиническое испытание фазы I/II двух вакцин на основе штаммов LC16m8 и Dryvax проводилось в США [32]. В испытании участвовали 154 здоровых, ранее не вакцинированных волонтеров в возрасте 18–34 лет. Сравнительная характеристика обеих вакцин показала, что в месте их введения иногда наблюдались эритема и припухлость, размеры ко-

Таблица 1 / Table 1

Результаты оценки иммунного ответа, индуцированного вакциной LC16m8 у лабораторных животных  
The results of assessment of immune response induced by the vaccine LC16m8 in laboratory animals

Лабораторное животное Laboratory animal	Вакцина сравнения Compared vaccine	Результат иммунизации The result of immunization	Источники литературы References
Обезьяны Cynomolgus monkeys	Lister	Защита от заражения летальной дозой вируса оспы обезьян – для обеих вакцин Protection from infection with lethal dose of monkeypox virus for both vaccines	[16, 23]
		Защита от заражения летальной дозой вируса оспы обезьян через 6 и 12 месяцев – для обеих вакцин Protection from infection with lethal dose of monkeypox virus in 6 and 12 months for both vaccines	
Обезьяны макаки-резус Macaque rhesus	Dryvax	Защита от заражения летальной дозой вируса оспы обезьян через 60 суток – для обеих вакцин Protection from infection with lethal dose of monkeypox virus in 60 days for both vaccines	[24]
Кролики Rabbits		Защита от заражения летальной дозой вируса оспы кроликов – для обеих вакцин Protection from infection with lethal dose of rabbitpox virus for both vaccines	[15]
Мыши BALB/c Mice, BALB/c	Lister, LC16m0	Защита от заражения летальной дозой вируса вакцины, штамм WR, – для всех вакцин Protection from infection with lethal dose of vaccinia virus, strain WR for all vaccines	[17]
Мыши дикого типа и иммунодефицитные Mice of wild-type and immune deficient	Lister	Защита от заражения летальной дозой вируса вакцины, штамм WR, – для обеих вакцин Protection from infection with lethal dose of vaccinia virus, strain WR, for both vaccines	[27]

торых были больше вызываемых вакциной Dryvax. У 75 % волонтеров, вакцинированных Dryvax, и 74 %, вакцинированных вакциной на основе штамма LC16m8, наблюдалось увеличение подмышечных узлов. Виремия отмечалась только у вакцинированных Dryvax. Серьезных побочных реакций, как то генерализованная вакцинная, вакцинальная экзема и поражения сердца, не отмечалось.

Результаты оценки иммуногенности обеих вакцин показали, что они вызывают титры выше 1:40 в реакции нейтрализации против вируса оспы обезьян. К 30-м суткам после вакцинации титры понижались, причем более значительно у вакцины LC16m8. Титры, индуцированные вакциной Dryvax, были выше, чем для вакцины LC16m8, однако защитная эффективность против натуральной оспы являлась достаточной для обеих вакцин [32, 33]. Кинетика формирования клеточного иммунного ответа одинакова. Он формировался к 13-м суткам и повышался к 180-м суткам. Обе вакцины стимулировали появление интерферона и формировали длительную иммунологическую память. Следовательно, вакцина LC16m8 безопасна и индуцирует специфический иммунный ответ, достаточный для защиты от натуральной оспы при однократном введении [32].

При оценке эффективности вакцины LC16m8 в Центральном госпитале Сил самообороны Японии с 2002 по 2005 г. в испытании участвовал 3221 волонтер, из которых 47,5 % никогда не вакцинировались оспенной вакциной [34]. На протяжении всего периода наблюдения (30 суток) не зафиксировано ни одной тяжелой побочной реакции, а именно: вакцинной экземы, генерализованной вакцинной, поствакцинального энцефалита и миокардита. Не наблюдалось никаких отклонений от нормы в ЭКГ. Среди незначительных побочных реакций регистрировался отек подмышечных лимфоузлов, который был значительно меньше у ревакцинируемых, чем у первично вакцинируемых. У одного волонтера наблюдался аллергический дерматит, у другого – мультиформная эритема. Все побочные реакции самокупировались в течение нескольких суток. У волонтеров с atopическим дерматитом (наличие сухих и стабильных кожных поражений) не наблюдалось никаких других кожных поражений.

Перед вакцинацией титры нейтрализующих антител были выше у ревакцинированных, чем у первично вакцинированных, что свидетельствует о том, что нейтрализующие антитела сохраняются у лиц, иммунизированных более 30 лет назад. Оценка иммуногенности вакцины выявила, что у первично вакцинированных волонтеров сероконверсия составила 90,2 %, у ревакцинированных – более высокий поствакцинальный титр в реакции нейтрализации наблюдался у лиц с отсутствием сероконверсии. После первичной иммунизации вакциной LC16m8 значительно эффективнее оказалась бустерная вакцинация, характеризовавшаяся существенным повышением титра нейтрализующих антител. Обобщенные

данные о результатах клинических испытаний вакцины LC16m8 представлены в табл. 2.

Согласно способу получения и оценке результатов безопасности и иммуногенности на лабораторных животных и в клинических испытаниях, сохраняемости в лиофилизированном состоянии, вакцина на основе штамма LC16m8 отнесена к вакцинам третьего поколения, а по заключению Стратегической консультативной группы экспертов ВОЗ в ноябре 2013 г. лицензированные вакцины ACAM 2000 (второе поколение) и LC16m8 (третье поколение) рекомендовано использовать как вакцины резерва [34].

**Получение и оценка свойств вакцины на основе штамма LC16m8Δ.** Дальнейшая оценка стабильности вакцинного штамма LC16m8 при последующих пассажах в культуре клеток PRK показала, что он может спонтанно ревертировать к крупнобляшечному фенотипу, причем при возрастании количества пассажей количество ревертантов увеличивается. Поэтому ген *B5R* был делетирован из генома вакцинного штамма LC16m8, в результате чего получен штамм LC16m8Δ [35]. Он генетически стабилен и не ревертировал к крупнобляшечному фенотипу при многочисленных пассажах в культурах клеток даже в условиях, при которых большинство популяций штамма LC16m8 заменялось ревертантами. Он был не патогенен для модельных животных, даже для иммунодефицитных (SCID) мышей, и в клинических испытаниях [35–37].

Помимо безопасности, определялась способность штамма LC16m8Δ индуцировать иммунный ответ в сравнении с таковыми, вызываемыми вирусом вакцины, штаммами MVA и Dryvax при одних и тех же дозах при интрацеребральном введении мышам. Показано, что уровни иммунного ответа для штаммов LC16m8Δ и Dryvax схожи [38], а ответ на LC16m8Δ превышал более чем в 500 раз таковой, индуцированный штаммом MVA [36, 37]. Вакцинный штамм LC16m8Δ индуцировал иммунный ответ, достаточный для защиты обезьян от заражения летальной дозой вируса оспы обезьян [38].

Учитывая репликативно-компетентный фенотип, данный штамм LC16m8 высоко аттенуирован для лабораторных животных и человека. Его иммуногенность подобна родительскому штамму LC16m8 и вакцине первого поколения Dryvax. Поскольку штамм LC16m8Δ создан с применением генно-инженерных методов, вакцина на его основе может быть отнесена к препаратам четвертого поколения, но на настоящий момент нет лицензированного препарата на основе штамма LC16m8Δ.

Проведенный анализ трудного пути создания и изучения вакцины LC16m8 свидетельствует о том, что, несмотря на доказанную безопасность препарата, защитная эффективность этой вакцины против натуральной оспы никогда не была определена в реальных условиях распространения вируса. Тем не менее собранная информация представляет интерес для специалистов, планирующих работы по кон-

Таблица 2 / Table 2

Результаты исследований иммуногенности вакцины LC16m8 в клинических испытаниях  
The results of LC16m8 vaccine immunogenicity testing in clinical trials

Место испытания Place setting of the trial	Количество волонтеров Number of volunteers	Возраст волонтеров, лет Age of volunteers, years	Предварительная вакцин- ация ослепной вакциной, Preliminary smallpox vaccination, number of volunteers		Побочные реакции Adverse events	Вакцина сравнения Compared vaccine	Иммуногенность, определенная методом Immunogenicity, determined by method				Источники литературы References
							Иммуноферментный анализ, % волонтеров Enzyme-linked immunosorbent assay, % of volunteers		Реакция нейтрализации, титр Neutralization reaction, titer		
			вакциниро- ванные vaccinated	не вакцини- рованные not vaccinated			вакциниро- ванные vaccinated	не вакциниро- ванные not vaccinated			
Япония Japan	3221	18–55	1692	1529	Аллергический дерматит, мульти- формная эритема, боль в паху, опуха- ние подмышечных узлов, лихорадка Allergic dermatitis, erythema multi- forme, groin pain, swollen axillary lymph nodes, fever	–	60,0	90,2	Нет данных No data	Нет данных No data	[31]
	268	19–52	71	196	Кожные реакции Cutaneous reactions	Нет No	Нет данных No data	84,2	Нет данных No data	Нет данных No data	[22]
США USA	154	18–4	Нет	154	Эритема, припухлость, увеличение подмышечных узлов Erythema, swollen axillary lymph node	Других	Нет данных No data	Нет данных No data	Нет данных No data	>(1:40) против вируса оспы обезьян для обеих вакцин against monkeypox virus for both vaccines	[32]
Япония Japan	3221	18–34	52,5 %	47,5 %	Лимфаденит, аллергический дерматит, мультиформная эритема Lymphadenitis, allergic dermatitis, erythema multiforme	–	Нет данных No data	90,2	Титр выше у волонтеров без сероконвер- сии – для обеих вакцин Titer is higher among volunteers without seroconversion	Нет данных No data	[31]



струированию современных вакцин против оспы, так как LC16m8, как и рекомендуемый ВОЗ препарат IMVAMUNE® [35], отнесены к вакцинам III поколения, но при этом вакцина LC16m8 более иммуногенна и способна индуцировать достаточный уровень иммунного ответа даже при однократной прививке. Современные генно-инженерные возможности открывают перспективы для создания вакцин IV поколения.

Таким образом, анализ многолетних данных по изучению вакцины LC16m8 свидетельствует о том, что данный препарат по показателям эффективности и безопасности превосходит другие аналоги I, II и III поколений. Дальнейшие генно-инженерные работы с этим штаммом, позволившие получить безопасный, но иммуногенный геновариант штамма LC16m8Δ, – наглядный пример продуктивного движения к разработке безопасных и эффективных вакцин IV поколения.

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

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

## References / Список литературы

- Duggan A.T., Klunk J., Porter A.F., Dhody A.N., Hicks R., Smith G.L., Humphreys M., McCollum A.M., Davidson W.B., Wilkins K., Li Y., Burke A., Polasky H., Flanders L., Poinar D., Raphenya A.R., Lau T.T.Y., Alcock B., McArthur A.G., Golding G.B., Holmes E.C., Poinar H.N. The origins and genomic diversity of American Civil War Era smallpox vaccine strains. *Genome Biol.* 2020; 21(1):175. DOI: 10.1186/s13059-020-02079-z.
- Esparza J., Schrick L., Damaso C.D., Nitsche A. Equination (inoculation of horsepox): An early alternative to vaccination (inoculation of cowpox) and the potential role of horsepox virus in the origin of the smallpox vaccine. *Vaccine.* 2017; 35(52):7222–30. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.11.003.
- Nalca A., Zumbum E.E. Acam2000: the new small vaccine for United States Strategic National Stockpile. *Drug Des. Devel. Ther.* 2010; 4:71–9. DOI: 10.2147/dddt.s3687.
- Melamed S., Israely T., Paran N. Challenges and achievements in prevention and treatment of smallpox. *Vaccines.* 2018; 6(1):8. DOI: 10.3390/vaccines6010008.
- Jacobs B.L., Langland J.O., Kibler K.V., Denzler K.L., White S.D., Holechek S.A., Wong S., Huynh T., Baskin C.R. Vaccinia virus vaccines: past, present and future. *Antiviral Res.* 2009; 84(1):1–13. DOI: 10.1016/j.antiviral.2009.06.006.
- Yamaguchi M., Kimura M., Hirayama M. Vaccination research group research report: Ministry of Health and Welfare special research: postvaccination side effects and research regarding treatment of complications. *Rinsho to Uirusu [Clin Virus]*. 1975; 3:269–79.
- Marennikova S.S., Chimishkyan K.L., Maltseva N.N., Shelukhina E.M., Fedopov V.V. Characteristics of virus strains for production of smallpox vaccines. In: Gusic B., editor. *Proceedings of the Symposium on Smallpox*. Zagreb: Yugoslav Academy of Sciences and Arts; 1969. P. 65–79.
- Kimura M., Sakai H. Vaccination in Japan. *Rinsho to Uirusu [Clin. Virus]*. 1996; 24:30–40.
- McCurdy L.H., Larkin B.D., Martin J.E., Graham B.S. Modified vaccinia Ankara: potential as an alternative smallpox vaccine. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 38(12):1749–53. DOI: 10.1086/421266.
- Tint H. The rationale for elective prevaccination with attenuated vaccinia (CVI-78) in preventing some vaccination complications. *Proceedings of the Symposia Series in Immunobiological Standardization.* 1973; 19:281–92.
- Hashizume S. Chiba Serum Institute. Special edition future of vaccination: everything about attenuated vaccines. Basics of new attenuated vaccine strain LC16m8. *Clin. Virus.* 1975; 3:229–35.
- Hashizume S., Yoshizawa N., Morita M., Suzuki K. Properties of attenuated mutant of vaccinia virus, LC16m8, derived

from Lister strain. In: Quinnan G., editor. *Vaccinia Virus as Vectors for Vaccine Antigens*. New York: Elsevier Science Publishing; 1985. P. 87–99.

- Morita M., Suzuki K., Yasuda A., Kojima A., Sugimoto M., Watanabe K., Kobayashi H., Kajima K., Hashizume S. Recombinant vaccinia virus LC16m0 or LC16m8 that expresses hepatitis B surface antigen while preserving the attenuation of the parental virus strain. *Vaccine.* 1987; 5(1):65–70. DOI: 10.1016/0264-410x(87)90012-0.
- Takeuchi K., Kawakami K., Akagi N., Kawanishi K. Results of experimental inoculation of attenuated LC16m8 reducing effect of LC16m8 strain pre-treatment. *Shonika Shinryo [Pediatr. Diagn.]*. 1976; 39:1208–19. [Translated from Japanese].
- Kenner J., Cameron F., Empig C., Jobes D.V., Gurwith M. LC16m8: an attenuated smallpox vaccine. *Vaccine.* 2006; 24(47–48):7009–22. DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.03.087.
- Saijo M., Ami Y., Suzuki Y., Nagata N., Iwata N., Hasegawa H., Ogata M., Fukushima S., Mizutani T., Sata T., Kurata T., Kurane I., Morikawa S. LC16m8, a highly attenuated vaccinia virus vaccine lacking expression of the membrane protein B5R, protects monkeys from monkeypox. *J. Virol.* 2006; 80(11):5179–88. DOI: 10.1128/JVI.02642-05.
- Morikawa S., Sakiyama T., Hasegawa H., Saijo M., Maeda A., Kurane I., Maeno G., Kimura J., Hirama C., Yoshida T., Asahi-Ozaki Y., Sata T., Kurata T., Kojima A. An attenuated LC16m8 smallpox vaccine: analysis of full-genome sequence and induction of immune protections. *J. Virol.* 2005; 79(18):11873–91. DOI: 10.1128/JVI.79.18.11873-11891.2005.
- Silva N.I.O., de Oliveira J.S., Kroon E.G., Trindade G.S., Drumond B.P. Here, there, and everywhere: the wide host range and geographic distribution of zoonotic orthopoxviruses. *Viruses.* 2021; 13(1):43. DOI: 10.3390/v13010043.
- Takahashi-Nishimaki F., Funahashi S., Miki K., Hashizume S., Sugimoto M. Regulation of plaque size and host range by a vaccinia virus gene related to complement system proteins. *Virology.* 1991; 181(1):158–64. DOI: 10.1016/0042-6822(91)90480-y.
- Meseda C.A., Mayer A.E., Kumar A., Garcia A.D., Campbell J., Listrani P., Manischewitz J., King L.R., Golding H., Merchinsky M., Weir J.P. Comparative evaluation of the immune responses and protection engendered by LC16m8 and Dryvax smallpox vaccines in a mouse model. *Clin. Vaccine Immunol.* 2009; 16(9):1261–71. DOI: 10.1128/CI.00040-09.
- Moss B. Smallpox vaccine: targets of protective immunity. *Immunol. Rev.* 2011; 239(1):8–26. DOI: 10.1111/j.1600-065-X.2010.00975.x.
- Eto A., Saito T., Yokote H., Kurane I., Kanatani Y. Recent advances in the study of live attenuated cell-cultured smallpox vaccine LC16m8. *Vaccine.* 2015; 33(45):6106–11. DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.07.111.
- Iizuka I., Ami Y., Suzuki Y., Nagata N., Fukushima S., Ogata M., Morikawa S., Hasegawa H., Mizuguchi M., Kurane I., Saijo M. A single vaccination of nonhuman primates with highly attenuated smallpox vaccine, LC16m8, provides long-term protection against monkeypox. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2017; 70(4):408–15. DOI: 10.7883/joken.JIID.2016.417.
- Gordon S.N., Cecchinato V., Andresen V., Heraud J.M., Hryniewicz A., Parks R.W., Venzon D., Chung H.K., Karpova T., McNally J., Silvera P., Reimann K.A., Matsui H., Kanehara T., Shinmura Y., Yokote H., Franchini G. Smallpox vaccine safety is dependent on T cells and not B cells. *Infect. Dis.* 2011; 203(8):1043–53. DOI: 10.1093/infdis/jig162.
- Tagaya I., Kitamura T., Sano Y. A new mutant of dermo-vaccinia virus. *Nature.* 1961; 192:381–2. DOI: 10.1038/192381a0.
- Ishii K., Ueda Y., Matsuo K., Matsuura Y., Kitamura T., Kato K., Izumi Y., Someya K., Ohsu T., Honda M., Miyamura T. Structural analysis of vaccinia virus DIs strain: application as a new replication-deficient viral vector. *Virology.* 2002; 302(2):433–44. DOI: 10.1006/viro.2002.1622.
- Yokote H., Shinmura Y., Kanehara T., Maruno S., Kuranaga M., Matsui H., Hashizume S. Vaccinia virus strain LC16m8 defective in the B5R gene keeps strong protection comparable to its parental strain Lister in immunodeficient mice. *Vaccine.* 2015; 33(45):6112–9. DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.07.076.
- Yokote H., Shinmura Y., Kanehara T., Maruno S., Kuranaga M., Matsui H., Hashizume S. Safety of attenuated smallpox vaccine LC16m8 in immunodeficient mice. *Clin. Vaccine Immunol.* 2014; 21(9):1261–6. DOI: 10.1128/CI.00199-14.
- Eto A., Fujita M., Nishiyama Y., Saito T., Molina D.M., Morikawa S., Saijo M., Shinmura Y., Kanatani Y. Profiling of the antibody response to attenuated LC16m8 smallpox vaccine using protein array analysis. *Vaccine.* 2019; 37(44):6588–93. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.09.006.
- Eto A., Yamamoto N., Kanatani Y. Effect of serial passage on the pathogenicity and immunogenicity of vaccinia virus LC16m8 strain. *Biology (Basel).* 2021; 10(11):1158. DOI: 10.3390/biology10111158.
- Saito T., Fujii T., Kanatani Y., Saijo M., Morikawa S., Yokote H., Takeuchi T., Kuwabara N. Clinical and immunological

response to attenuated tissue-cultured mallpox vaccine LC16m8. *JAMA*. 2009; 301(10):1025–33. DOI: 10.1001/jama.2009.289.

32. Kennedy J.S., Gurwith M., Dekker C.L., Frey S.E., Edwards K.M., Kenner J., Lock M., Empig C., Morikawa S., Saijo M., Yokote H., Karem K., Damon I., Perloth M., Greenberg R.N. Safety and immunogenicity of LC16m8, an attenuated smallpox vaccine in vaccinia-naïve adults. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(9):1395–402. DOI: 10.1093/infdis/jir527.

33. Sarkar J.K., Mitra A.C., Mukherjee M.K. The minimum protective level of antibodies in smallpox. *Bull. World Health Organ.* 1975; 52(3):307–11.

34. Meeting of the Strategic Advisory Group of Experts on immunization, November 2013 – conclusions and recommendations. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2014; 89(1):1–19. PMID: 24466571.

35. Kidokoro M., Tashiro M., Shida H. Genetically stable and fully effective smallpox vaccine train constructed from highly attenuated vaccinia LC16m8. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2005; 102(11):4152–7. DOI: 10.1073/pnas.0406671102.

36. Kidokoro M., Shida H. Vaccinia virus LC16m8Δ as a vaccine vector for clinical applications. *Vaccines (Basel)*. 2014; 2(4):755–71. DOI: 10.3390/vaccines2040755.

37. Empig C., Kenner J.R., Perret-Gentil M., Youree B.E., Bell E., Chen A., Gurwith M., Higgins K., Lock M., Rice A.D., Schriewer J., Sinangil F., White E., Buller R.M., Dermody T.S., Isaacs S.N.,

Moyer R.W. Highly attenuated smallpox vaccine protects rabbits and mice against pathogenic orthopoxvirus challenge. *Vaccine*. 2006; 24(17):3686–94. DOI: 10.1016/j.vaccine.2005.03.029.

38. Kidokoro M.S.S., Ami Y., Suzaki Y., Nagata N., Iwata N., Hasegawa H., Ogata M., Fukushi H., Mizutani T., Shida H. Protective effects of improved smallpox vaccine LC16m8Δ against a lethal monkeypox challenge in cynomolgus monkeys. In: Proceedings of the 54th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Nagoya, Japan, 19–21 November 2006.

#### Authors:

Stovba L.F., Chukhraya O.V., Petrov A.A., Mel'nikov S.A., Pavel'ev D.I., Borisevich S.V. 48<sup>th</sup> Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation. 11, Oktyabrskaya St., Sergiev Possad-6, Moscow Region, 141306, Russian Federation. E-mail: 48cnii@mil.ru.

#### Об авторах:

Стовба Л.Ф., Чухраля О.В., Петров А.А., Мельников С.А., Павельев Д.И., Борисевич С.В. 48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны РФ. Российская Федерация, 141306, Московская обл., Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, 11. E-mail: 48cnii@mil.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-51-62

УДК 616.98:579.834.115(470)

Д.В. Транквилевский<sup>1,2</sup>, О.Н. Скударева<sup>3</sup>, Е.П. Игонина<sup>3</sup>, Е.Ю. Киселева<sup>4</sup>, В.М. Корзун<sup>4</sup>,  
Ю.А. Вержуцкая<sup>4</sup>, А.К. Носков<sup>5</sup>, Е.С. Куликалова<sup>4</sup>, Н.В. Бренёва<sup>4</sup>, С.Е. Будаева<sup>4</sup>, И.В. Морозова<sup>5</sup>,  
А.В. Тришина<sup>5</sup>

### Анализ эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по лептоспирозам в 2023 г. и прогноз на 2024 г. в Российской Федерации

<sup>1</sup>ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии», Москва, Российская Федерация; <sup>2</sup>ФБУН «Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана», Москва, Российская Федерация; <sup>3</sup>Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; <sup>4</sup>ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; <sup>5</sup>ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация

**Цель работы** – проанализировать эпизоотолого-эпидемиологическую ситуацию по лептоспирозам на территории Российской Федерации в 2023 г. и дать прогноз ее развития на 2024 г. В России в период с 2000 по 2023 г. многолетняя динамика заболеваемости имеет тенденцию к снижению. Заболеваемость лептоспирозами имела в основном спорадический характер. В 2023 г. случаи этой инфекции у людей зарегистрированы во всех федеральных округах, за исключением Северо-Кавказского. Наиболее высокие показатели инцидентности отмечены в Южном и Центральном федеральных округах. Результаты исследования материала от мелких млекопитающих бактериологическими, иммунологическими и молекулярно-биологическими методами подтвердили циркуляцию патогенных лептоспир в 50 субъектах Российской Федерации во всех федеральных округах. Проведены мероприятия по специфической профилактике – вакцинировано 20 114 человек в 27 субъектах. Вероятность инфицирования людей выше на территориях Южного, Центрального, Северо-Западного, Приволжского и Уральского федеральных округов. Не исключены завозные случаи инфекции из регионов с субэкваториальным и экваториальным климатом, активно посещаемых туристами.

**Ключевые слова:** лептоспирозы, резервуарные хозяева, мелкие млекопитающие, источники инфекции, заболеваемость, природные и антропоургические очаги, прогноз.

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

Для цитирования: Транквилевский Д.В., Скударева О.Н., Игонина Е.П., Киселева Е.Ю., Корзун В.М., Вержуцкая Ю.А., Носков А.К., Куликалова Е.С., Бренёва Н.В., Будаева С.Е., Морозова И.В., Тришина А.В. Анализ эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по лептоспирозам в 2023 г. и прогноз на 2024 г. в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 3:51–62. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-51-62

Поступила 23.05.2024. Отправлена на доработку 11.06.2024. Принята к публ. 14.06.2024.

D.V. Trankvilevsky<sup>1,2</sup>, O.N. Skudareva<sup>3</sup>, E.P. Igonina<sup>3</sup>, E.Yu. Kiseleva<sup>4</sup>, V.M. Korzun<sup>4</sup>, Yu.A. Verzhutskaya<sup>4</sup>,  
A.K. Noskov<sup>5</sup>, E.S. Kulikalova<sup>4</sup>, N.V. Breneva<sup>4</sup>, S.E. Budaeva<sup>4</sup>, I.V. Morozova<sup>5</sup>, A.V. Trishina<sup>5</sup>

### Analysis of the Epizootic and Epidemiological Situation on Leptospirosis in 2023 and Forecast for 2024 in the Russian Federation

<sup>1</sup>Federal Center of Hygiene and Epidemiology, Moscow, Russian Federation;

<sup>2</sup>Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Moscow, Russian Federation;

<sup>3</sup>Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being, Moscow, Russian Federation;

<sup>4</sup>Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and the Far East, Irkutsk, Russian Federation;

<sup>5</sup>Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Abstract.** The aim of the work was to analyze the epizootic and epidemiological situation on leptospirosis in the territory of the Russian Federation in 2023 and to forecast its development for 2024. In the period between 2000 and 2023, the long-term dynamics of morbidity in Russia tended to decrease. Leptospirosis incidence was mainly sporadic. In 2023, cases of this infection in humans were reported in all federal districts, with the exception of the North Caucasian one. The highest incidence rates were recorded in the Southern and Central Federal Districts. The results of testing material from small mammals using bacteriological, immunological and molecular-biological methods confirmed the circulation of pathogenic *Leptospira* in 50 constituent entities of the Russian Federation in all federal districts. Specific prevention measures were carried out: 20,114 people were vaccinated in 27 entities. The probability of human infection is higher in the territories of the Southern, Central, Northwestern, Volga and Ural Federal Districts. Imported cases of infection from regions with subequatorial and equatorial climates, which are actively visited by tourists, are not excluded.

**Key words:** leptospirosis, reservoir hosts, small mammals, sources of infection, morbidity, natural and anthropourgic foci, prognosis.

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

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

Corresponding author: Evgenia Yu. Kiseleva, e-mail: e.kiseleva.2010@mail.ru.

Citation: Trankvilevsky D.V., Skudareva O.N., Igonina E.P., Kiseleva E.Yu., Korzun V.M., Verzhutskaya Yu.A., Noskov A.K., Kulikalova E.S., Breneva N.V., Budaeva S.E., Morozova I.V., Trishina A.V. Analysis of the Epizootic and Epidemiological Situation on Leptospirosis in 2023 and Forecast for 2024 in the Russian Federation. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 3:51–62. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-51-62

Received 23.05.2024. Revised 11.06.2024. Accepted 14.06.2024.



Trankvilevsky D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4896-9369>  
Kiseleva E.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3965-9801>  
Korzun V.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1947-5252>  
Verzhutskaya Yu.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9573-4696>  
Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Kulikalova E.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7034-5125>  
Breneva N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9207-7536>  
Budaeva S.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3588-8145>  
Morozova I.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0781-0394>  
Trishina A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8249-6577>

Лептоспирозы представляют серьезную проблему для здравоохранения всего мира [1–8], в том числе на территории Российской Федерации [1–4, 9]. Они относятся к группе зоонозных природно-очаговых инфекционных болезней с широким распространением среди многих видов диких и домашних животных. Млекопитающие – носители и резервуарные хозяева патогенных лептоспир [1–9]. Инфекционный процесс у животных зачастую протекает в легкой форме, без гибели, в местах обитания больных животных формируются и поддерживаются очаги инфекции. Восприимчивость людей к лептоспирозу высокая.

По информации Европейского центра профилактики и контроля заболеваний (ECDC), в странах – членах Евросоюза с 2014 г. стабильно регистрируются невысокие показатели инцидентности [10]. Ежегодно около 5 % всех выявленных случаев лептоспирозов заканчиваются летальным исходом [6]. Наблюдается летне-осенняя сезонность заболевания и преобладание мужчин в структуре заболевших. Самые высокие показатели заболеваемости отмечены в последние годы в материковой части Франции (676 случаев в 2019 г., 450 – в 2020 г., 708 – в 2021 г.) [7]. Групповые заболевания были зарегистрированы в Германии в 2006 г. среди участников триатлона, в 2007 и 2014 гг. – среди сезонных рабочих на клубничных полях [6]. Резкие подъемы показателей заболеваемости лептоспирозами, как правило, связаны с погодными условиями – повышением температуры воздуха и воды, увеличением количества осадков, наводнениями [6, 11–18].

Начиная с 2000-х гг. в Китае отмечаются sporadические случаи лептоспирозов, чаще болеют мужчины, при этом уровень заболеваемости с 2005 г. постепенно снижается [17–19]. По меньшей мере около 75 % больных переносят болезнь в легкой форме, но среди тех, у кого развивается тяжелая форма течения, – высокий показатель смертности (40–60 %) [19]. По результатам исследования материала от мелких млекопитающих выявлено, что в границах Южного Китая инфицированность животных выше, а зоной повышенного риска заражения лептоспирозом является бассейн реки Янцзы [18].

На Американском континенте случаи лептоспирозов чаще регистрируются в США, Колумбии, Бразилии. По частоте встречаемости определены серогруппы патогенных лептоспир, циркулирующих на территории этих стран: *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Pomona*, *Grippotyphosa* (в порядке убывания) [20, 21].

С 2006 по 2021 г. в Японии средний показатель инцидентности был невысоким – за этот период зарегистрировано 543 случая лептоспирозов; прослеживался рост количества случаев летом и в сезон тайфунов. Эндемичным регионом страны является

Окинава, где показатели заболеваемости превышают таковые в других регионах в 20–200 раз. Среди больных преобладали мужчины. В анамнезе больных, выявленных за пределами Окинавы, указываются поездки за границу [22].

Низкий уровень диагностики заболеваний, приводящий к занижению показателей инцидентности, снижение эффективности расследования причин возникновения инфекционных болезней, неоптимальное выделение ресурсов и недостаточное внимание к организации и проведению противоэпидемических и профилактических мероприятий могут привести к увеличению количества летальных исходов, в том числе и при лептоспирозах. В 2020 г. в Шри-Ланке выявлено 8579 случаев лептоспироза у людей, в результате которого погибло более 800 человек [14]. Констатируется, что одной из причин ситуации по лептоспирозам в Шри-Ланке было пренебрежительное отношение к организации и проведению противоэпидемических и профилактических мероприятий в период развития пандемии коронавирусной инфекции (COVID-19) [14].

**Цель работы** – проанализировать эпизоотолого-эпидемиологическую ситуацию по лептоспирозам на территории Российской Федерации в 2023 г. и дать прогноз ее развития на 2024 г.

Проанализированы данные формы федерального статистического наблюдения № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», форм отраслевого статистического наблюдения № 2-22 «Сведения о деятельности лабораторий санитарно-гигиенического и микробиологического профиля федеральных бюджетных учреждений здравоохранения – центров гигиены и эпидемиологии» и № 29-23 «Результаты зоолого-энтомологического, эпизоотологического мониторинга в природных очагах инфекционных болезней», а также материалы, обобщенные в соответствии с приказом Роспотребнадзора от 14.01.2013 № 6 «Об утверждении инструкции по оформлению обзора и прогноза численности мелких млекопитающих и членистоногих».

Видовое разнообразие исследованных животных определяли в соответствии с современной классификацией по А.А. Лисовскому и соавт. [23].

Статистическая обработка материалов выполнена стандартными методами вариационной статистики в программе Microsoft Excel 2016. При анализе использованы показатель средней арифметической и величины ее ошибки ( $M \pm m$ ) [24]. Значение показателя инцидентности определено числом больных в расчете на 100 тыс. населения. Среднегодовое значение показателя (СМП) заболеваемости рассчитывался для 85 субъектов России за период с 2012 по 2023 г. без учета 2020, 2021 гг. Дифференциацию субъектов проводили используя интервал значений между доверительными границами медианы [24, 25].

**Эпидемиологическая ситуация в Российской Федерации.** С 2000 г. по настоящее время на территории России выявлено 13 010 случаев лептоспирозов. Показатель заболеваемости на 100 тыс. населения в этот период варьировал от 0,06 до 1,70. Наибольшее количество случаев зарегистрировано в 2004 г. (2459 больных), наименьшее – в 2020–2022 гг. (90–94). Среднегодовой уровень заболеваемости составил  $(0,40 \pm 0,087)$  на 100 тыс. населения (без учета данных за 2020 и 2021 гг. – период противоэпидемических мер по профилактике COVID-19). Значительная доля от всех выявленных случаев инфекции у людей зарегистрирована в Центральном, Приволжском и Южном федеральных округах (рис. 1).

Многолетняя динамика заболеваемости лептоспирозами в Российской Федерации имеет тенденцию к снижению [26]. По результатам проведенного анализа, число случаев инфекции у людей за десятилетний период – 1721; определено, что показатель заболеваемости на 100 тыс. населения в этот временной промежуток колебался в диапазоне от 0,06 до 0,18. Клинические случаи лептоспирозов с 2012 г. выявлялись в 61 из 89 субъектов нашей страны, во всех федеральных округах, в том числе в Донецкой Народной Республике (ДНР) и Херсонской области. Более 97 % от числа всех заболевших зарегистриро-

ваны в границах европейской части России (рис. 1). Эпидемические проявления лептоспирозов носили в основном спорадический характер.

С целью ранжирования субъектов Российской Федерации по СМП заболеваемости лептоспирозами за последнее десятилетие (без учета 2020 и 2021 гг.) использовали статистический метод медианы. Выделены четыре группы территорий: I – с низкими показателями инцидентности, II – средними, III – высокими, в отдельной группе – 26 территорий, где случаи не регистрировались (рис. 2, таблица).

В I группе – 21 субъект, СМП заболеваемости находится в диапазоне 0,003–0,047 (средний показатель составил  $(0,022 \pm 0,0026)$  на 100 тыс. населения). Во II группу вошли 16 субъектов с показателями от 0,048 до 0,109 (средний –  $(0,077 \pm 0,0045)$  на 100 тыс. населения). В III группе представлены 22 субъекта с показателями от 0,110 до 0,925 (средний –  $(0,351 \pm 0,0532)$  на 100 тыс. населения).

**Результаты эпидемиологического мониторинга за лептоспирозами в Российской Федерации в 2023 г.** Всего зарегистрировано 107 случаев заболеваний у людей (0,07 на 100 тыс. населения) (рис. 1) в 24 субъектах России (в 2022 г. – 90 случаев в 15 территориях): в Краснодарском крае – 28 случаев (0,48 на 100 тыс. населения), Санкт-Петербурге и Москве – по 10 (соответственно 0,18 и 0,08),

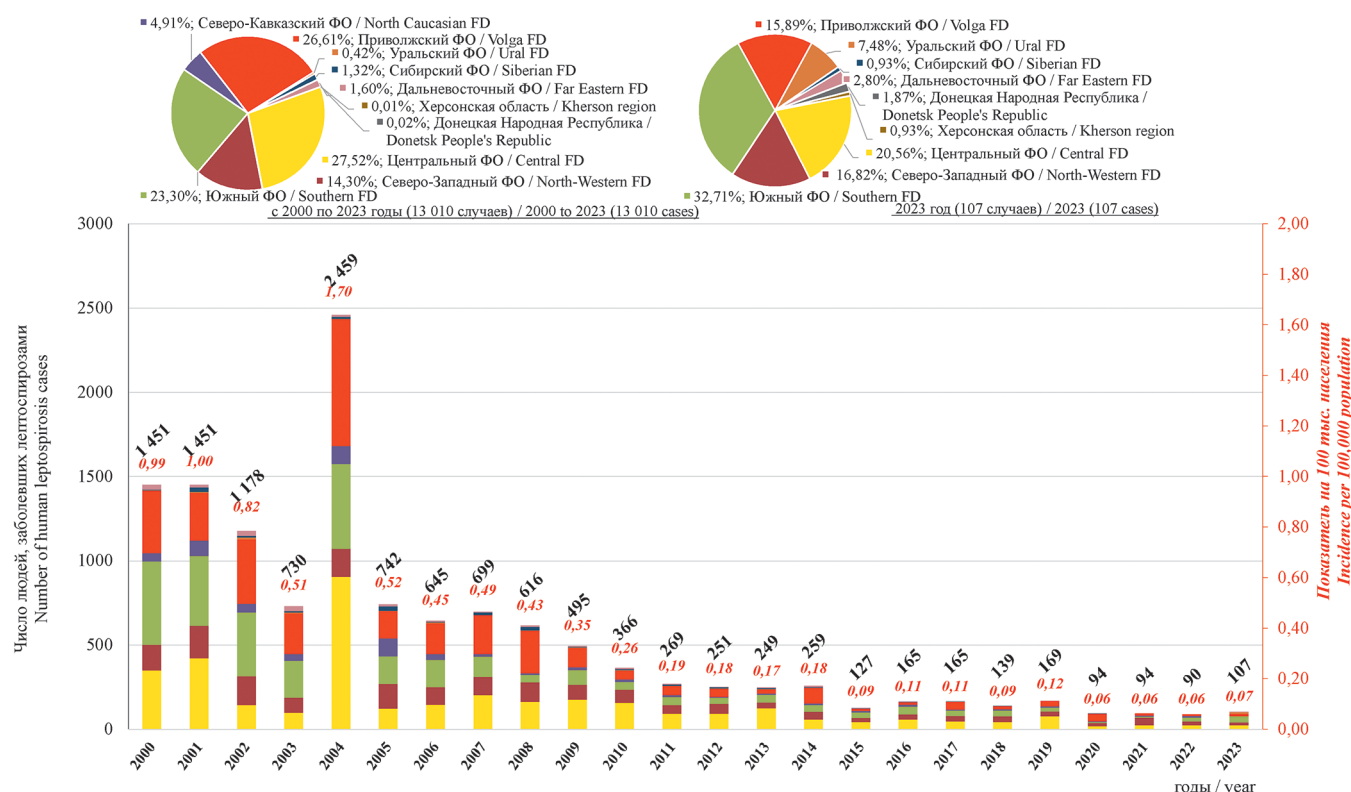


Рис. 1. Число случаев лептоспирозов с 2000 по 2023 г. в территориях Российской Федерации (данные формы федерального статистического наблюдения № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», в том числе по Республике Крым – с 2014 г., по Донецкой [ДНР] и Луганской [ЛНР] народным республикам, Запорожской и Херсонской областям – с 2023 г.; относительный показатель за 2023 г. представлен без учета данных по ДНР и ЛНР, Запорожской и Херсонской областям)

Fig. 1. The number of cases of leptospirosis in 2000–2023 in the territories of the Russian Federation (data from the federal statistical observation form No. 2 “Information on infectious and parasitic diseases”, including for the Republic of Crimea – since 2014, for the Donetsk and Lugansk People’s Republics, Zaporozhye and Kherson Regions – since 2023; the relative indicator for 2023 is presented without taking into account the data for the Donetsk and Lugansk People’s Republics, Zaporozhye and Kherson Regions)

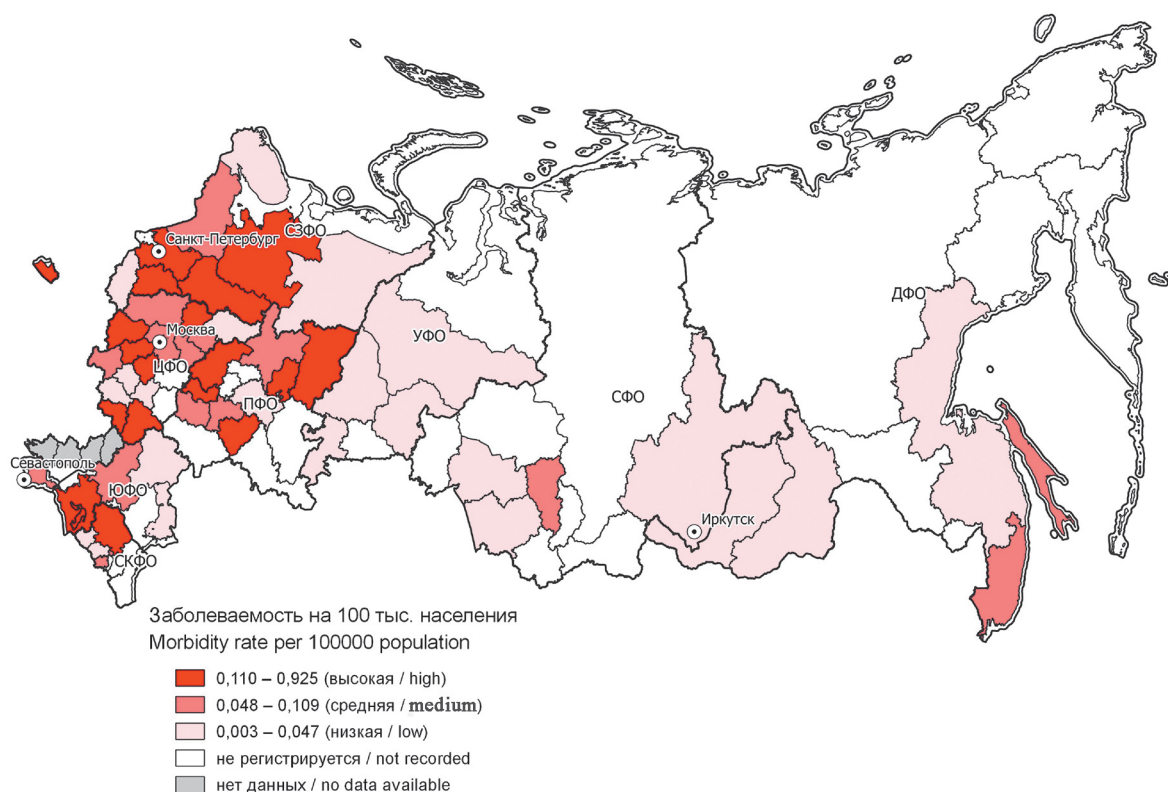


Рис. 2. Ранжирование субъектов Российской Федерации по среднемуголетним показателям заболеваемости лептоспирозами в 2012–2023 гг. (без учета 2020 и 2021 гг. и данных по ДНР и ЛНР, Запорожской и Херсонской областям)

Fig. 2. Ranking of the constituent entities of the Russian Federation according to the long-term average annual indicators of the leptospirosis incidence in 2012–2023 (excluding 2020 and 2021 and the data on the Donetsk and Lugansk People's Republics, Zaporozhye and Kherson Regions)

в Самарской области – 9 (0,29), Нижегородской области – 8 (0,26), Ханты-Мансийском автономном округе (ХМАО) – 7 (0,41), Ростовской области – 6 (0,14), Ленинградской области – 4 (0,20), Республике Карелия и Белгородской области – по 3 (0,57 и 0,20), в Забайкальском крае, Брянской, Тульской и Московской областях, ДНР – по 2, в Новгородской, Смоленской, Ярославской, Тверской, Иркутской, Свердловской и Херсонской областях, Приморском крае и Республике Крым – по 1 случаю. В структуре заболеваемости преобладало городское население (70,1 %), у детей в возрасте до 17 лет выявлено 5 случаев (0,02 на 100 тыс. населения).

Исследование материала от людей проводили в 41 субъекте России. Всего за 2023 г. бактериологическими методами исследовано 95 проб, молекулярно-биологическими – 641, иммунологическими (в том числе серологическим) – 5403.

Лептоспирозы отмечены во всех федеральных округах, за исключением СКФО. Наибольшее количество случаев зарегистрировано в ЮФО – 32,71 %, значительная доля в ЦФО – 20,56 % (рис. 1). В трех федеральных округах (СЗФО, ЦФО, ПФО) показатели заболеваемости, зарегистрированные в 2023 г., значительно ниже среднемуголетних показателей, в трех (ЮФО, ДФО, СФО) – примерно на среднемуголетнем уровне, на территории УФО показатель инцидентности увеличился. В сравнении с данными за 2022 г. показатели заболеваемости лептоспироза-

ми в России увеличились незначительно [26], однако обращает на себя внимание увеличение летальности. В 2023 г. летальность от лептоспирозов составила 8,41 % (в 2022 г. – 3,33 %).

Летальным исходом закончились 9 случаев лептоспироза (в 2022 г. – 3), из них в ЮФО – 4 случая, ЦФО – 3 и по 1 – в СЗФО и УФО. Среди умерших – 6 мужчин и 3 женщины, никто из них не вакцинировался. Все случаи характеризовались тяжелым течением на фоне серьезных поражений печени и нарушений функций почек вплоть до анурии. В двух случаях зарегистрированы поражения головного мозга. Заключительный диагноз основывался на результате серологического исследования (РМА) в 8 случаях, на ИФА – в одном (ХМАО). В 8 инцидентах наблюдалась желтушная форма лептоспироза. Во всех случаях установлено позднее обращение за медицинской помощью (от 4 до 17 дней с момента появления симптомов заболевания), что могло способствовать развитию инфекционного процесса и необратимости патологических изменений.

В рамках календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям в 2023 г. от лептоспирозов привито 20 114 человек, что составило 104,4 % от запланированного количества.

В 2023 г. наибольшие показатели заболеваемости зарегистрированы в ЮФО – 0,21 на 100 тыс. населения (в 2022 г. – 0,13 на 100 тыс. населения). За исследуемые 10 лет (без учета 2020 и 2021 гг.)



Среднегодовые показатели заболеваемости лептоспирозом в России\*  
Long-term average annual incidence rates of leptospirosis in Russia\*

Территория Territory	Показатель заболеваемости в 2023 г. (абс. / на 100 тыс. населения) Incidence rates in 2023 (abs./per 100 thousand population)	СМП* заболеваемости с 2012 по 2023 г. (на 100 тыс. населения) Long-term average annual morbidity rates between 2013 and 2022 (per 100 thousand population)	Субъекты по группам ранжирования Constituent entities by ranking groups			
			Случаи не зарегистрированы Cases are not registered	I группа Group I 0,003–0,047	II группа Group II 0,048–0,109	III группа Group III 0,110–0,925
1	2	3	4	5	6	7
Центральный федеральный округ (ЦФО) Central Federal District (CFD)	22/0,05	0,15±0,026	2: Рязанская, Тамбовская области 2: Ryazan, Tambov Regions	4: Орловская, Костромская, Курская, Липецкая области 4: Oryol, Kostroma, Kursk, Lipetsk Regions	5: Брянская, Тверская, Московская, Владимирская, Ивановская области 5: Bryansk, Tver, Moscow, Vladimir, Ivanovo Regions	7: Смоленская, Калужская, Ярославская, Белгородская, Воронежская, Тульская области, г. Москва 7: Smolensk, Kaluga, Yaroslavl, Belgorod, Voronezh, Tula Regions, Moscow
Северо-Западный федеральный округ (СЗФО) North-Western Federal District (NWFD)	18/0,13	0,24±0,027	1: Ненецкий автономный округ 1: Nenets Autonomous District	3: Республика Коми, Псковская, Мурманская области 3: Komi Republic, Pskov, Murmansk Regions	1: Республика Карелия 1: Republic of Karelia	6: Вологодская, Ленинградская, Калининградская, Новгородская, Архангельская области, г. Санкт-Петербург 6: Vologda, Leningrad, Kaliningrad, Novgorod, Arkhangelsk Regions, St. Petersburg
Южный федеральный округ (ЮФО) Southern Federal District (SFD)	35/0,21	0,22±0,019	1: Республика Калмыкия 1: Republic of Kalmykia	2: Астраханская, Волгоградская области 2: Astrakhan, Volgograd Regions	2: Ростовская область, Республика Крым 2: Rostov Region, Republic of Crimea	3: Краснодарский край, Республика Адыгея, г. Севастополь 3: Krasnodar Region, Republic of Adygea, Sevastopol
Северо-Кавказский федеральный округ (СКФО) North Caucasian Federal District (NCFD)	0	0,07±0,011	3: республики Дагестан, Ингушетия, Чеченская Республика 3: Republics of Dagestan, Ingushetia, Chechen Republic	1: Кабардино-Балкарская Республика 1: Kabardino-Balkarian Republic	2: Карачаево-Черкесская Республика, Республика Северная Осетия – Алания 2: Karachay-Cherkess Republic, Republic of North Ossetia – Alania	1: Ставропольский край 1: Stavropol Territory
Приволжский федеральный округ (ПФО) Volga Federal District (VFD)	17/0,06	0,11±0,027	5: Оренбургская, Саратовская области, республики Башкортостан, Марий Эл, Чувашская Республика 5: Orenburg, Saratov Regions, Republics of Bashkortostan, Mari El, Chuvash Republic	1: Республика Татарстан 1: Republic of Tatarstan	3: Пензенская, Кировская, Ульяновская области 3: Penza, Kirov, Ulyanovsk Regions	5: Республика Мордовия, Удмуртская Республика, Пермский край, Самарская, Нижегородская области 5: Republic of Mordovia, Udmurt Republic, Perm Territory, Samara, Nizhny Novgorod Regions

Окончание таблицы / Ending of the table

1	2	3	4	5	6	7
Уральский федеральный округ (УФО) Ural Federal District (UFD)	8/0,07	0,01±0,006	2: Курганская область, Ямало-Ненецкий автономный округ 2: Kurgan Region, Yamal-Nenets Autonomous District	4: Ханты-Мансийский автономный округ, Тюменская, Свердловская, Челябинская области 4: Khanty-Mansi Autonomous District, Tyumen, Sverdlovsk, Chelyabinsk Regions	0	0
Сибирский федеральный округ (СФО) Siberian Federal District (SibFD)	1/0,01	0,02±0,004	6: республики Алтай, Тыва, Хакасия, Красноярский край, Омская, Томская области 6: Republics of Altai, Tuva, Khakassia, Krasnoyarsk Territory, Omsk, Tomsk Regions	3: Иркутская, Новосибирская области, Алтайский край 3: Irkutsk, Novosibirsk Regions, Altai Territory	1: Кемеровская область 1: Kemerovo Region	0
Дальневосточный федеральный округ (ДФО) Far Eastern Federal District (FEFD)	3/0,04	0,05±0,016	6: Республика Саха (Якутия), Камчатский край, Амурская, Магаданская области, Еврейская автономная область, Чукотский автономный округ 6: Republic of Sakha (Yakutia), Kamchatka Territory, Amur, Magadan Regions, Jewish Autonomous Region, Chukotka Autonomous District	3: Забайкальский, Хабаровский край, Республика Бурятия 3: Transbaikali, Khabarovsk Territories, Republic of Buryatia	2: Сахалинская область, Приморский край 2: Sakhalin Region, Primorsky Territory	0
Итого Total	107/0,07	0,12±0,014	26	21	16	22

Примечание: \* с 2012 по 2023 г., без учета 2020 и 2021 гг., расчет проведен с учетом информации по Республике Крым с 2014 г., по ДНР и ЛНР, Запорожской и Херсонской областям – с 2023 г.; относительный показатель за 2023 г. представлен без учета данных по ДНР и ЛНР, Запорожской и Херсонской областям.

Note: \* between 2012 and 2023, excluding the years 2020 and 2021, the calculation was carried out taking into account the information on the Republic of Crimea since 2014, on Donetsk and Lugansk People's Republics, Zaporozhye and Kherson Regions – since 2023, the relative indicator for 2023 is presented without taking into account the data on Donetsk and Lugansk People's Republics, Zaporozhye and Kherson Regions.

СМП инцидентности – 0,22 на 100 тыс. населения. Максимальное количество случаев инфекции зарегистрировано в Краснодарском крае, что составило 80 % от всех выявленных случаев в округе; в структуре заболевших количество городских и сельских жителей различается незначительно. В ЮФО вакцинировали 13 517 человек, в том числе в Краснодарском крае – 9383, Ростовской области – 3592, Республике Адыгея – 375, г. Севастополе – 146.

В СЗФО инцидентность составила 0,13 на 100 тыс. населения (в 2022 г. – 0,17 на 100 тыс. населения). СМП – 0,24 на 100 тыс. населения. Большинство случаев зарегистрированы в Санкт-Петербурге, Ленинградской области и Республике Карелия; 89 % из них пришлось на городское население. В СЗФО привито 399 человек (Санкт-Петербург – 325, Ленинградская область – 74).

Показатель заболеваемости лептоспирозом в ЦФО в 2023 г. равен 0,05 на 100 тыс. населения (в 2022 г. – 0,06 на 100 тыс. населения). Случаи зарегистрированы в 8 субъектах округа. СМП инцидентности – 0,15 на 100 тыс. населения. Наибольшие значения показателя выявлены в Белгородской области. Городские жители составили 82 % среди всех заболевших. В ЦФО в 2023 г. иммунизировано 590 человек, в том числе в Тульской области – 352, Воронежской – 113, Ярославской – 60, Липецкой – 43.

В ПФО показатель инцидентности на 100 тыс. человек – 0,06 (в 2022 г. – 0,04 на 100 тыс. населения). СМП – 0,11 на 100 тыс. населения. Больные выявлены в Нижегородской и Самарской областях; 59 % случаев зарегистрировано у жителей городов. В ПФО вакцинировали 1105 человек, в том числе в Республике Мордовия – 580, Удмуртской Республике – 350, Пермском крае – 109.

На территории УФО показатель заболеваемости за последние 10 лет составлял в среднем 0,01 на 100 тыс. населения, однако в 2023 г. его значение увеличилось до 0,07 на 100 тыс. населения. Случаи зарегистрированы в двух субъектах (Свердловская область – 1 больной, ХМАО – 7), 7 из 8 случаев выявлены у жителей городов. Привито 64 человека (Свердловская область).

В ДФО заболеваемость составила 0,04 на 100 тыс. населения, случаи зарегистрированы в двух субъектах (в Забайкальском и Приморском краях). СМП заболеваемости – 0,05 на 100 тыс. населения. Иммунизировали 34 человека (Амурская область).

В границах СФО показатель заболеваемости составил 0,01 на 100 тыс. населения (в 2022 г. больных не выявлено), СМП заболеваемости в округе – 0,02 на 100 тыс. населения. Привито 120 человек (Кемеровская область).

В 2023 г. в СКФО больные не зарегистрированы (в 2022 г. – 0,10 на 100 тыс. населения), СМП за последние 10 лет, без учета 2020 и 2021 гг., составил 0,07 на 100 тыс. населения. Привито 4285 человек, в том числе в Ставропольском крае – 4086, Чеченской Республике – 178.

В новых субъектах Российской Федерации в 2023 г. выявлено 3 случая заболеваний лептоспирозом – в ДНР (2) и Херсонской области (1), Луганской Народной Республике (ЛНР) и Запорожской области больных не зарегистрировано.

**Результаты эпизоотологического мониторинга за лептоспирозами в природных очагах на территории Российской Федерации.** Ключевым разделом эпидемиологического надзора за природно-очаговыми инфекциями, в том числе за лептоспирозами, является эпизоотологический мониторинг [9, 26, 27]. С целью анализа эпизоотологической ситуации по лептоспирозам в природных очагах инфекционных болезней, зоолого-энтомологическими подразделениями учреждений Роспотребнадзора проводились учеты численности и отлов мелких млекопитающих (далее – ММ), сбор и исследование павших животных. В соответствии с информацией, отраженной в форме отраслевого статистического наблюдения № 29-23 «Результаты зоолого-энтомологического, эпизоотологического мониторинга в природных очагах инфекционных болезней» (далее – форма № 29-23) в 2023 г. всего отловлено более 95 тыс. особей, из которых методом ловушко-линий в открытых и закрытых луго-полевых, лесостепных и околоводных станциях, постройках человека – 99,1 %. Также зоологические работы осуществлялись в ДНР и ЛНР, Запорожской и Херсонской областях.

В 2023 г. лабораторные исследования материала от ММ на инфицированность лептоспирами выполнили в 82 субъектах Российской Федерации, в том числе в ДНР, ЛНР, Запорожской и Херсонской областях. По данным формы, всего изучено 32 409 проб от ММ (38 843 – в 2022 г., 32 053 – в 2021 г.). Исследования не проводились в границах 6 субъектов (в Ненецком автономном округе, республиках Дагестан, Ингушетия, Карачаево-Черкесской и Чеченской республиках, Курганской области) (в 8 субъектах – в 2022 и 2021 гг.).

В 50 субъектах Российской Федерации, в том числе в ДНР, ЛНР, Запорожской и Херсонской областях, получены положительные результаты исследований проб органов ММ; в границах 32 территорий (г. Москва, Липецкая, Орловская, Тамбовская, Мурманская, Псковская, Ростовская, Кировская, Оренбургская, Ульяновская, Тюменская, Челябинская, Кемеровская, Новосибирская, Магаданская и Сахалинская области, республики Калмыкия, Кабардино-Балкария, Северная Осетия – Алания, Башкортостан, Марий Эл, Мордовия, Чувашия, Алтай, Тыва, Хакасия, Бурятия и Саха (Якутия), Красноярский и Камчатский края, Еврейская автономная область, Чукотский автономный округ) – отрицательные результаты лабораторных исследований (в 24 субъектах – в 2022 г., в 35 – в 2021 г.). На протяжении последнего десятилетия в 7 субъектах (Ростовская, Челябинская и Сахалинская области, республики Калмыкия, Кабардино-Балкария и Марий Эл, Красноярский край) при исследовании материала от ММ не выявляли положительных проб [26].



При изучении проб воды получены отрицательные результаты, исследования проводили на 7 территориях (9 – в 2022 г., 7 – в 2021 г., 8 – в 2020 г.).

В Республике Коми и Удмуртской Республике, Архангельской и Иркутской областях исследовались единичные пробы от ММ, видовую принадлежность которых определить не удалось.

Исследовали материал от 70 представителей млекопитающих разных таксономических групп (от 66 – в 2022 г., от 69 – в 2021 г.). Основную долю среди исследованных образцов составлял материал от рыжей полевки (20,9 %), малой лесной (14,1 %), полевой (3,4 %) и домовый (9,2 %) мышей (рис. 3).

Исследование проб от млекопитающих проводили бактериологическими, иммунологическими и молекулярно-биологическими методами. Инфицированные лептоспирами особи, как и в 2021–2022 гг., выявлены среди 31 представителя животных [26]. В структуре инфицированных мелких млекопитающих на долю полевой мыши приходится 22,2 % от всех положительных зверьков, рыжей полевки – 19,8 %, малой лесной мыши – 9,8 % (рис. 4). В 2023 г. в Российской Федерации инфицирование ММ выявлено в 2,2 % от исследованных проб (2,0 % – в 2022 г., 2,3 % – в 2021 г.). Также единичные ММ-лептоспираносители выявлены в ДНР, ЛНР, Запорожской и Херсонской областях при исследовании материала от домовый, курганчиковый, степной

и малой лесной мышей, общественной полевки и обыкновенной полевки, не определенной до вида.

Осуществление рациональных противоэпидемических мероприятий возможно только с учетом понимания этиологической структуры лептоспирозов и экологических особенностей резервуарных хозяйств лептоспир. Сведения об этиологической структуре и ее динамике – ключевая часть мониторинга эпидемиологической и эпизоотологической ситуации, необходимая для подбора антигенной композиции вакцинных и диагностических препаратов, соответствующей разнообразию циркулирующих на данной территории возбудителей [26].

Бактериологические исследования осуществляли только в 11 территориях (13 – в 2022 г., 11 – в 2021 г.), при этом культуры лептоспир выделили только в Архангельской и Иркутской областях (культуры выделяли в 2022 и 2021 гг. в Архангельской области и г. Санкт-Петербурге) [26]. В Архангельской области из материала от обыкновенной бурозубки изолировали лептоспир серогруппы *Icterohaemorrhagiae* и *Grippytyphosa*, рыжей полевки – *Icterohaemorrhagiae* и *Canicola*, водяной полевки, полевки-экономки и домовый мыши – *Icterohaemorrhagiae*; в Иркутской области – *Grippytyphosa*, при этом вид млекопитающего не определяли.

Серологические исследования материала от животных проводили в 44 субъектах (в 38 – в 2022 г.,

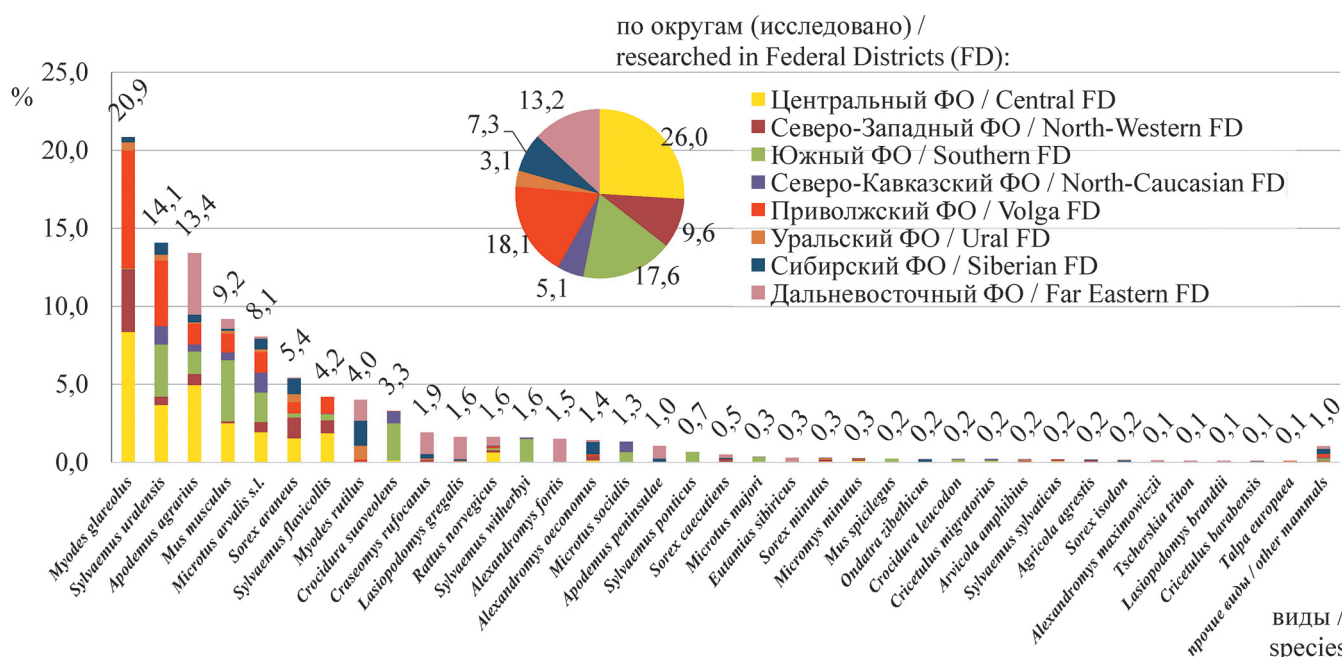


Рис. 3. Структура исследованных проб от млекопитающих, отловленных разными методами в Российской Федерации в 2023 г. (в соответствии с формой № 29-23). Прочие млекопитающие: крошечная бурозубка, крупнозубая бурозубка, лесная соня, уссурийская белозубка, полуденная песчанка, тонконогая бурозубка, обыкновенная кутора, обыкновенный хомяк, лесная мышовка, тундрная бурозубка, бурозубка Волнухина, камчатская бурозубка, ласка, длиннохвостый суслик, тушканчик-прыгун, гудайская полевка, белогрудый еж, полчок, заяц-беляк, колонок, кавказский крот, сибирский лемминг, подземная полевка, заяц-русак, корсак, кавказская бурозубка, заяц-толай, европейский еж, малая кутора, лесной (черный) хорь, обыкновенная белка, лесной лемминг, черная крыса, енот-полоскун

Fig. 3. The structure of the studied samples from mammals captured by various methods in the Russian Federation in 2023 (in accordance with Form No. 29-23). Other mammals: tiny red-toothed shrew, large-toothed shrew, forest dormouse, Ussuri white-toothed shrew, midday gerbil, thin-nosed shrew, common hamster, forest mouse, tundra brown-toothed shrew, Volnukhin's brown-toothed shrew, Kamchatka brown-toothed shrew, weasel, long-tailed ground squirrel, jerboa jumper, Gudaaur vole, white-breasted hedgehog, polchok, white hare, columns, Caucasian mole, Siberian lemming, underground vole, hare rusak, korsak, Caucasian brown-toothed shrew, tolai hare, European hedgehog, small cutura, forest (black) polecat, common squirrel, forest lemming, black rat, raccoon

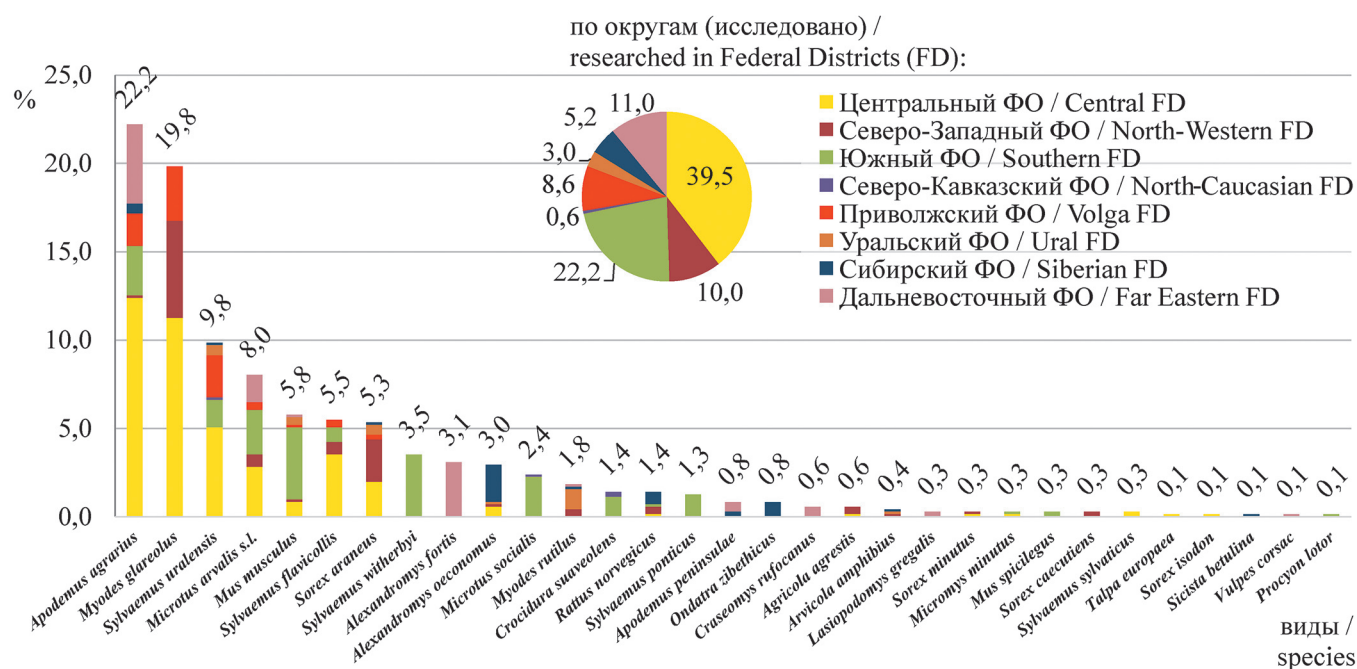


Рис. 4. Структура инфицированных лептоспирами млекопитающих в Российской Федерации, отловленных разными методами в 2023 г. (в соответствии с формой № 29-23)

Fig. 4. The structure of mammals infected with leptospira in the Russian Federation, captured by various methods in 2023 (in accordance with form No. 29-23)

в 42 – в 2021 г.). Всего изучено 17 693 пробы, из них 270 положительных результатов (1,5 %) в 21 территории (в 26 – в 2022 г., в 23 – в 2021 г.).

Молекулярно-биологическим методом (ПЦР) исследована 17 371 проба в 57 субъектах (в 49 – в 2022 г., в 37 – в 2021 г.), положительный результат обнаружен в 477 пробах (2,7 %) в 34 субъектах (в 30 – в 2022 г., в 17 – в 2021 г.), последующую идентификацию выявленных возбудителей не удалось провести в 27 субъектах (в 29 – в 2022 г., в 17 – в 2021 г.): в Белгородской, Владимирской, Воронежской, Ивановской, Калужской, Костромской, Курской, Московской, Калининградской, Астраханской, Волгоградской, Нижегородской, Свердловской, Омской, Томской и Амурской областях, в республиках Карелия, Коми, Крым и Татарстан, в Пермском, Алтайском, Забайкальском, Приморском и Хабаровском краях, в Ханты-Мансийском и Ямало-Ненецком автономных округах [26].

Таксономическая принадлежность животных с положительными результатами исследований в 2023 г. представлена разнообразными видами ММ и отличается в зависимости от стадий, в которых проводились отловы (рис. 5). Процентное соотношение лептоспираносителей, отловленных методом ловушко-линий:

– в лесостаричных станциях – 34,6 % от всех исследованных проб, установлено 245 особей 19 видов в 35 субъектах (19 видов в 36 субъектах – в 2022 г., 21 в 31 – в 2021 г.). Основную долю лептоспираносителей составляли рыжая полевка – 31,8 % (44,6 % – в 2022 г.) и полевая мышь – 16,3 % (9,6 % – в 2022 г.);

– в открытых луго-полевых станциях – 30,2 %, выявлено 214 особей 22 видов в 32 субъектах (24 видов в 24 субъектах – в 2022 г., 23 в 23 – в 2021 г.). Среди лептоспираносителей основную долю составляли полевая мышь – 19,6 % (21,2 % – в 2022 г.) и обыкновенная полевка, неопределенная до вида, – 14,0 % (11,6 % – в 2022 г.);

– в околородных станциях – 18,3 %, определено 130 особей 18 видов в 21 субъекте (13 видов в 18 субъектах – в 2022 г., 15 в 18 – в 2021 г.). Существенную долю положительных проб выявили у полевой мыши – 33,8 % (21,5 % – в 2022 г.) и малой лесной мыши – 12,3 % (8,3 % – в 2022 г.);

– в постройках человека – 12,3 %, установлено 87 особей 9 видов в 18 территориях (10 видов в 13 субъектах – в 2022 г., 7 в 10 – в 2021 г.). Среди лептоспираносителей преобладали рыжая полевка – 33,3 % (11,6 % – в 2022 г.) и домовая мышь – 21,8 % (20,9 % – в 2022 г.);

– в закрытых луго-полевых станциях (скирдах, стогах, ометах) – 4,7 %, выявлено 33 особи 8 видов, в том числе полевая, малая лесная и желтогорлая мыши, рыжая полевка, мышь-малютка, обыкновенная полевка, не определенная до вида, восточная полевка, полевка-экономка, в 8 субъектах (7 видов в 7 субъектах – в 2022 г., 3 в 3 – в 2021 г.).

Носители лептоспир среди ММ в различных станциях в 2023 г. (рис. 4, 5), так же как и в 2022 г. [26], имели принадлежность к разным формам синантропии и обладали разной степенью эвритопности, однако все-таки могут возникать отличия в различных ландшафтных зонах и трансформации в направлении от оптимума к периферии ареала. Преобладающие

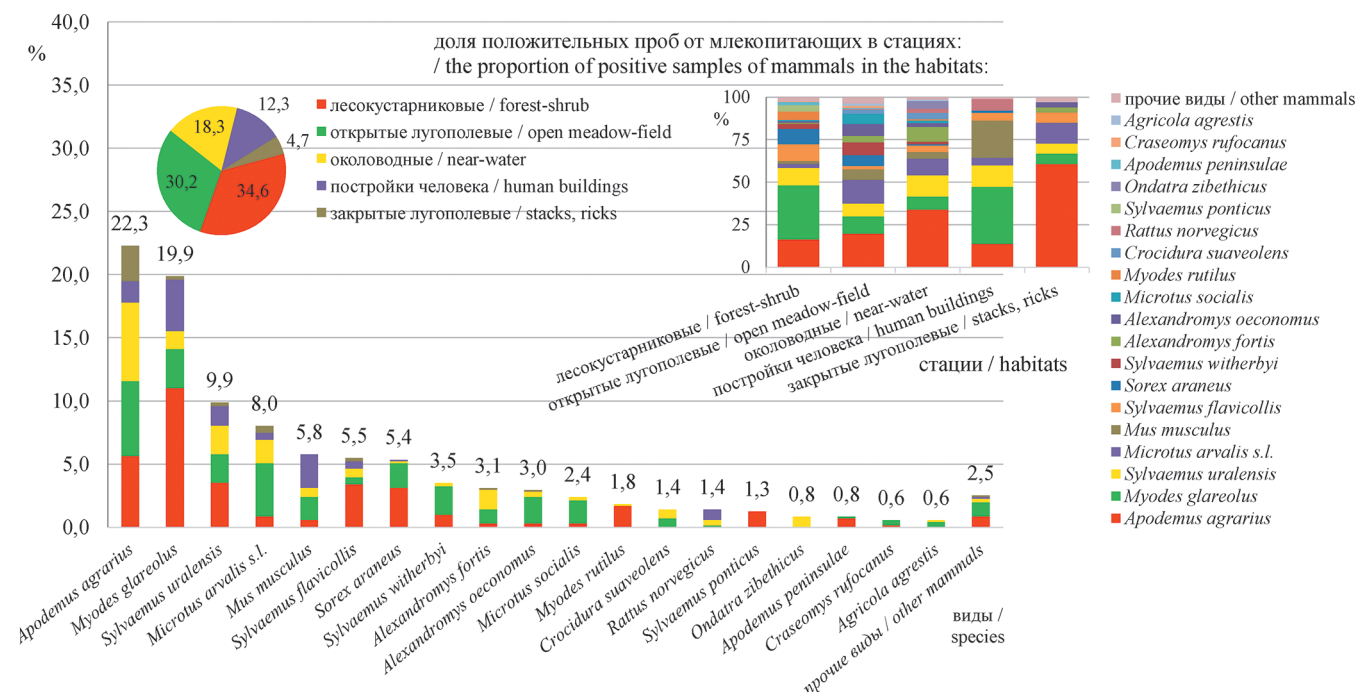


Рис. 5. Структура инфицированных лептоспирами ММ, отловленных в 2023 г. методом ловушко-линий в различных станциях (в соответствии с формой № 29-23). Прочие виды: водяная полевка, средняя бурозубка, малая бурозубка, узкочерепная полевка, мышь-малютка, европейская лесная мышь, курганчиковая мышь, европейский крот, равнозубая бурозубка, лесная мышовка

Fig. 5. The structure of small mammals infected with leptospira, captured in 2023 using the trap-line method in various stations (in accordance with form No. 29-23). Other species: water vole, medium brown-toothed shrew, small brown-toothed vole, narrow-crusted vole, baby mouse, European forest mouse, barrow mouse, European mole, equidistant brown-toothed shrew, birch mouse

виды среди животных-лептоспироситителей – это полевая мышь и рыжая полевка (рис. 4, 5).

Полевая мышь, инфицированная лептоспирами, зарегистрирована во всех станциях в 6 федеральных округах. Наибольший процент положительных проб от полевой мыши в 2023 г. получен в ЦФО – 12,1 (4,4 – в 2022 г.), в ДФО – 4,4 (9,1 – в 2022 г.) (рис. 4). Этот вид был доминирующим при проведении отловов в скирдах и ометах, а также в околородных станциях (рис. 5). Среди полевых мышей, отловленных в Иркутской и Смоленской областях, выявили лептоспираносителей *Icterohaemorrhagiae*; в Брянской и Тверской областях – *Javanica*; в Брянской и Пензенской областях – *Canicola*; в Брянской области – *Autumnalis*; в Брянской и Самарской областях – *Australis*; в Брянской, Пензенской и Саратовской областях, Краснодарском крае – *Pomona*; в Брянской и Тульской областях – *Grippytyphosa*; в Брянской, Ярославской и Самарской областях – *Sejroe*; в Краснодарском крае и Иркутской области – *Bataviae*; в Брянской и Иркутской областях – *Tarassovi*.

В лесокустарниковых стациях доля инфицированных особей рыжей полевки составляла 31,8 %, во всех местообитаниях – 19,9 % (рис. 4, 5). В 2023 г. больше всего инфицированных рыжих полевок выявлено в ЦФО (11,0 % от всех ММ в России), также такие особи обнаружены в СЗФО и ПФО (рис. 4). При исследовании материала от этого вида лептоспироспороносители серогруппы *Icterohaemorrhagiae* обнаружены в Брянской, Смоленской, Архангельской и Вологодской обла-

стях; *Javanica* – в Брянской, Тверской и Вологодской областях; *Canicola* – в Брянской и Архангельской областях; *Australis* – в Брянской и Самарской областях; *Pomona* – в Брянской, Смоленской и Саратовской областях, Удмуртской Республике; *Grippytyphosa* – в Брянской, Рязанской, Тверской и Вологодской областях, г. Санкт-Петербурге; *Sejroe* – в Брянской и Самарской областях; *Tarassovi* – в Брянской области и Удмуртской Республике.

Во всех федеральных округах, кроме СЗФО и ДФО, единичные положительные результаты получены при исследовании материала от малой лесной мыши во всех местообитаниях (рис. 4, 5). Патогенные лептоспир, циркулирующие среди *S. uralensis* представлены серогруппами *Canicola* – в Пензенской области; *Australis* – в Брянской и Самарской областях; *Pomona* – в Брянской, Смоленской, Тверской и Саратовской областях, Краснодарском крае и Удмуртской Республике; *Grippotyphosa* – в Брянской, Рязанской и Пензенской областях, Краснодарском крае; *Sejroe* – в Брянской, Тверской, Ярославской и Самарской областях, Краснодарском и Ставропольском краях; *Bataviae* – в Республике Адыгея; *Tarassovi* – в Удмуртской Республике.

Среди исследованных животных-лептоспироносителей виды-двойники (обыкновенная полевка, неопределенная до вида, – *Microtus arvalis* и *M. rossiaemeridionalis*) обнаружены во всех станциях, больше всего – в полях (4,2 % от всех выявленных особей в России), на территории 5 из 8 федеральных округов, кроме СКФО, УФО и СФО (рис. 4).



Лептоспиросители серогруппы *Icterohaemorrhagiae* выявлены в Тверской области; *Javanica* – в Брянской, Тверской и Вологодской областях; *Grippytyphosa* – в Тверской, Тульской и Новгородской областях; *Sejroe* – в Брянской области.

В 2023-м, как и в 2022 г., зарегистрированы лептоспиросители при исследовании материала от доменной мыши и серой крысы [26]. Доля инфицированных особей доменной мыши составила 5,8 % (3,4 % – в 2022 г.), серой крысы – 1,4 % (1,6 % – в 2022 г.) от всех лептоспиросителей в России. Домовая мышь выявлена во всех станциях, кроме скирд и ометов, в 6 из 8 федеральных округов, кроме СКФО и СФО. Повсеместно, кроме луго-полевых станций, зарегистрированы единичные особи серой крысы в 4 округах: в ЦФО, СЗФО, ЮФО и СФО. При исследовании материала от доменной мыши лептоспиросители серогруппы *Icterohaemorrhagiae* обнаружены в Архангельской области; *Javanica* – в Тверской области; серой крысы – *Icterohaemorrhagiae* в Иркутской и Тверской областях; *Tarassovi* и *Hebdomadis* – в Иркутской области.

У остальных видов (рис. 4, 5) обнаружены единичные особи – носители отдельных перечисленных серогрупп.

**Прогноз на 2024 г.** В 2023 г. в 50 территориях, где проводили обследования, подтверждена активность природных очагов лептоспирозов. Выявлены ММ различных видов и форм синантропии, в основном эвритопные. Основная доля лептоспиросителей представлена двумя видами: полевой мышью и рыжей полевкой. В настоящее время на территории Российской Федерации среди ММ наблюдается циркуляция патогенных лептоспир нескольких серогрупп: *Icterohaemorrhagiae*, *Grippytyphosa*, *Javanica*, *Canicola*, *Autumnalis*, *Australis*, *Pomona*, *Sejroe*, *Bataviae*, *Tarassovi*, *Hebdomadis*.

В 2024 г. в России превышение среднесезонных показателей заболеваемости маловероятно, возможны спорадические случаи заболевания. Вероятность инфицирования людей выше на территориях ЮФО, ЦФО, СЗФО, ПФО и УФО. Не исключены завозные случаи инфекции из регионов с субэкваториальным и экваториальным климатом, активно посещаемых туристами.

**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. Ананьев В.В., редактор. Лептоспирозы людей и животных. М.: Медицина; 1971. 352 с.
2. Соболева Г.Л., Ананьева Ю.В., Непоклонова И.В. Актуальные вопросы лептоспироза людей и животных. *Российский ветеринарный журнал*. 2017; 8:14–18.
3. Городин В.Н., Мойсова Д.Л., Бахтина В.А., Зотов С.В. Тренды современного лептоспироза. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2018; 23(2):93–100. DOI: 10.18821/1560-9529-2018-23-2-93-100.
4. Ананьева Ю.В. Лептоспиры – возбудители лептоспирозов человека. В кн.: Лабинская А.С., Костюкова Н.Н., Иванова

С.М., редакторы. Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Книга II. М.: БИНОМ; 2022. С. 821–43.

5. Costa F., Hagan J.E., Calcagno J., Kane M., Torgerson P., Martinez-Silveira M.S., Stein C., Abela-Ridder B., Ko A.I. Global morbidity and mortality of leptospirosis: a systematic review. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(9):e0003898. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003898.

6. Nau L.H., Emirhar D., Obiegala A., Mylius M., Runge M., Jacob J., Bier N., Nöckler K., Imholt C., Below D., Princk C., Dreesman J., Ulrich R.G., Pfeffer M., Mayer-Scholl A. Leptospirose in Deutschland: Aktuelle Erkenntnisse zu Erregerspezies, Reservoirwirten und Erkrankungen bei Mensch und Tier. *Leptospirosis in Germany: current knowledge on pathogen species, reservoir hosts, and disease in humans and animals. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2019; 62(12):1510–21. DOI: 10.1007/s00103-019-03051-4.

7. Garcia-Lopez M., Llorca C., Soares A., Trombert-Paolantoni S., Harran E., Ayral F., Picardeau M., Djelouadi Z., Bourhy P. Genetic diversity of *Leptospira* strains circulating in humans and dogs in France in 2019–2021. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2023; 13:1236866. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1236866.

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

9. Транквиловский Д.В. Об инфицированности мелких млекопитающих возбудителями зоонозов в Российской Федерации. *Здоровье населения и среда обитания*. 2016; 10:53–6.

10. European Surveillance System (TESSy). Leptospirosis. Annual Epidemiological Report for 2014–2021. Stockholm: ECDC; 2023. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en>.

11. Mohd Radi M.F., Hashim J.H., Jaafar M.H., Hod R., Ahmad N., Mohammed Nawi A., Baloch G.M., Ismail R., Farakhin Ayub N.I. Leptospirosis outbreak after the 2014 major flooding event in Kelantan, Malaysia: A spatial-temporal analysis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2018; 98(5):1281–95. DOI: 10.4269/ajtmh.16-0922.

12. Kupek E., de Sousa Santos Favarsani M.C., de Souza Philippi J.M. The relationship between rainfall and human leptospirosis in Florianópolis, Brazil, 1991–1996. *Braz. J. Infect. Dis.* 2000; 4(3):131–4.

13. Becirovic A., Trnacevic A., Dubinovic-Rekic A., Dzafic F. Floods associated with environmental factors and leptospirosis: our experience at Tuzla Canton, Bosnia and Herzegovina. *Mater. Sociomed.* 2022; 34(3):193–6. DOI: 10.5455/msm.2022.34.193-196.

14. Warnasekara J., Agampodi S. Neglecting the neglected during the COVID-19 pandemic: the case of leptospirosis in Sri Lanka. *Epidemiol. Health.* 2022; 44:e2022015. DOI: 10.4178/epih.e2022015.

15. Maskey M., Shastri J.S., Saraswathi K., Surpam R., Vaidya N. Leptospirosis in Mumbai: post-deluge outbreak 2005. *Indian J. Med. Microbiol.* 2006; 24(4):337–8. DOI: 10.4103/0255-0857.29413.

16. Matsushita N., Ng C.F.S., Kim Y., Suzuki M., Saito N., Ariyoshi K., Salva E.P., Dimaano E.M., Villarama J.B., Go W.S., Hashizume M. The non-linear and lagged short-term relationship between rainfall and leptospirosis and the intermediate role of floods in the Philippines. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12(4):e0006331. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006331.

17. Dhewantara P.W., Mamun A., Zhang W.Y., Yin W.W., Ding F., Guo D., Hu W., Costa F., Ko A.I., Soares Magalhães R.J. Epidemiological shift and geographical heterogeneity in the burden of leptospirosis in China. *Infect. Dis. Poverty.* 2018; 7(1):57. DOI: 10.1186/s40249-018-0435-2.

18. Li J.M., Li L.M., Shi J.F., Li T., Wang Q., Ma Q.X., Zheng W., Feng H.F., Liu F., Du R. Prevalence of *Leptospira* in murine in China: A systematic review and meta-analysis. *Front. Vet. Sci.* 2022; 9:944282. DOI: 10.3389/fvets.2022.944282.

19. Hu W., Lin X., Yan J. *Leptospira* and leptospirosis in China. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2014; 27(5):432–6. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000097.

20. Helman S.K., Tokuyama A.F.N., Mummah R.O., Stone N.E., Gamble M.W., Snedden C.E., Borremans B., Gomez A.C.R., Cox C., Nussbaum J., Tweedt I., Haake D.A., Galloway R.L., Monzón J., Riley S.P.D., Sikich J.A., Brown J., Friscia A., Sahl J.W., Wagner D.M., Lynch J.W., Prager K.C., Lloyd-Smith J.O. Pathogenic *Leptospira* are widespread in the urban wildlife of southern California. *Sci. Rep.* 2023; 13(1):14368. DOI: 10.1038/s41598-023-40322-2.

21. Browne E.S., Pereira M., Barreto A., Zeppelini C.G., de Oliveira D., Costa F. Prevalence of human leptospirosis in the Americas: a systematic review and meta-analysis. *Rev. Panam. Salud Publica.* 2023; 47:e126. DOI: 10.26633/RPSP.2023.126.

22. Hagiya H., Koyama T., Otsuka F. Epidemiological characteristics and trends in the incidence of leptospirosis in Japan: a nationwide, observational study from 2006 to 2021. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2023; 109(3):589–94. DOI: 10.4269/ajtmh.23-0131.

23. Лисовский А.А., Шефтель Б.И., Савельев А.П., Ермаков О.А., Козлов Ю.А., Смирнов Д.Г., Стахеев В.В., Глазов Д.М. Млекопитающие России: список видов и прикладные

аспекты: Сборник трудов Зоологического музея МГУ. Т. 56. М.: Товарищество научных изданий КМК; 2019. 191 с.

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

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

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

27. Транквилевский Д.В., Царенко В.А., Жуков В.И. Современное состояние эпизоотологического мониторинга за природными очагами инфекций в Российской Федерации. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2016; 2:19–24.

## References

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

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

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

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

5. Costa F., Hagan J.E., Calcagno J., Kane M., Torgerson P., Martinez-Silveira M.S., Stein C., Abela-Ridder B., Ko A.I. Global morbidity and mortality of leptospirosis: a systematic review. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(9):e0003898. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003898.

6. Nau L.H., Emirhar D., Obiegala A., Mylius M., Runge M., Jacob J., Bier N., Nöckler K., Imholt C., Below D., Princk C., Dreesman J., Ulrich R.G., Pfeffer M., Mayer-Scholl A. Leptospirose in Deutschland: Aktuelle Erkenntnisse zu Erregerspezies, Reservoirwirten und Erkrankungen bei Mensch und Tier. *Leptospirosis in Germany: current knowledge on pathogen species, reservoir hosts, and disease in humans and animals. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2019; 62(12):1510–21. DOI: 10.1007/s00103-019-03051-4.

7. Garcia-Lopez M., Llorca C., Soares A., Trombert-Paolantoni S., Harran E., Ayral F., Picardeau M., Djelouadi Z., Bourhy P. Genetic diversity of *Leptospira* strains circulating in humans and dogs in France in 2019–2021. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2023; 13:1236866. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1236866.

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

9. Trankvilievskiy D.V. [On about contamination of small mammals by zoonotic causative agents]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2016; (10):53–6.

10. European Surveillance System (TESSy). Leptospirosis. Annual Epidemiological Report for 2014–2021. Stockholm: ECDC; 2023. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en>.

11. Mohd Radi M.F., Hashim J.H., Jaafar M.H., Hod R., Ahmad N., Mohammed Nawi A., Baloch G.M., Ismail R., Farakhin Ayub N.I. Leptospirosis outbreak after the 2014 major flooding event in Kelantan, Malaysia: A spatial-temporal analysis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2018; 98(5):1281–95. DOI: 10.4269/ajtmh.16-0922.

12. Kupek E., de Sousa Santos Favarsani M.C., de Souza Philippi J.M. The relationship between rainfall and human leptospirosis in Florianópolis, Brazil, 1991–1996. *Braz. J. Infect. Dis.* 2000; 4(3):131–4.

13. Becirovic A., Trnacevic A., Dubinovic-Rekic A., Dzafic F. Floods associated with environmental factors and leptospirosis: our experience at Tuzla Canton, Bosnia and Herzegovina. *Mater. Sociomed.* 2022; 34(3):193–6. DOI: 10.5455/msm.2022.34.193-196.

14. Warnasekara J., Agampodi S. Neglecting the neglected during the COVID-19 pandemic: the case of leptospirosis in Sri Lanka. *Epidemiol. Health.* 2022; 44:e2022015. DOI: 10.4178/epih.e2022015.

15. Maskey M., Shastri J.S., Saraswathi K., Surpam R., Vaidya N. Leptospirosis in Mumbai: post-deluge outbreak 2005. *Indian J. Med. Microbiol.* 2006; 24(4):337–8. DOI: 10.4103/0255-0857.29413.

16. Matsushita N., Ng C.F.S., Kim Y., Suzuki M., Saito N., Ariyoshi K., Salva E.P., Dimaano E.M., Villarama J.B., Go W.S., Hashizume M. The non-linear and lagged short-term relationship

between rainfall and leptospirosis and the intermediate role of floods in the Philippines. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12(4):e0006331. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006331.

17. Dhewantara P.W., Mamun A., Zhang W.Y., Yin W.W., Ding F., Guo D., Hu W., Costa F., Ko A.I., Soares Magalhães R.J. Epidemiological shift and geographical heterogeneity in the burden of leptospirosis in China. *Infect. Dis. Poverty.* 2018; 7(1):57. DOI: 10.1186/s40249-018-0435-2.

18. Li J.M., Li L.M., Shi J.F., Li T., Wang Q., Ma Q.X., Zheng W., Feng H.F., Liu F., Du R. Prevalence of *Leptospira* in murine in China: A systematic review and meta-analysis. *Front. Vet. Sci.* 2022; 9:944282. DOI: 10.3389/fvets.2022.944282.

19. Hu W., Lin X., Yan J. Leptospira and leptospirosis in China. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2014; 27(5):432–6. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000097.

20. Helman S.K., Tokuyama A.F.N., Mummah R.O., Stone N.E., Gamble M.W., Snedden C.E., Borremans B., Gomez A.C.R., Cox C., Nussbaum J., Tweed I., Haake D.A., Galloway R.L., Monzón J., Riley S.P.D., Sikich J.A., Brown J., Friscia A., Sahl J.W., Wagner D.M., Lynch J.W., Prager K.C., Lloyd-Smith J.O. Pathogenic *Leptospira* are widespread in the urban wildlife of southern California. *Sci. Rep.* 2023; 13(1):14368. DOI: 10.1038/s41598-023-40322-2.

21. Browne E.S., Pereira M., Barreto A., Zeppelini C.G., de Oliveira D., Costa F. Prevalence of human leptospirosis in the Americas: a systematic review and meta-analysis. *Rev. Panam. Salud Publica.* 2023; 47:e126. DOI: 10.26633/RPSP.2023.126.

22. Hagiya H., Koyama T., Otsuka F. Epidemiological characteristics and trends in the incidence of leptospirosis in Japan: a nationwide, observational study from 2006 to 2021. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2023; 109(3):589–94. DOI: 10.4269/ajtmh.23-0131.

23. Lisovsky A.A., Sheftel B.I., Savelyev A.P., Ermakov O.A., Kozlov Yu.A., Smirnov D.G., Stakheev V.V., Glazov D.M. [Mammals of Russia: List of Species and Applied Aspects. Proceedings of the Zoological Museum of Moscow State University]. Vol. 56. Moscow: "Association of Scientific Publications of the CMC"; 2019. 191 p.

24. Zaks L. [Statistical Estimation]. Moscow: "Statistica"; 1976. 600 p.

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

26. Trankvilievskiy D.V., Kiseleva E.Yu., Korzun V.M., Breneva N.V., Verzhutskaya Yu.A., Zharva I.D., Skudareva O.N., Balakhonov S.V. [Epizootological and epidemiological situation on leptospirosis in the Russian Federation over the period of 2013–2022 and the forecast for 2023]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (3):43–50. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-43-50.

27. Trankvilievskiy D.V., Tsarenko V.A., Zhukov V.I. [The current state of epizootological monitoring of natural foci of infections in the Russian Federation]. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]*. 2016; (2):19–24.

## Authors:

Trankvilievskiy D.V. Federal Center of Hygiene and Epidemiology; 19a, Varshavskoye Highway, Moscow, 117105, Russian Federation; e-mail: trankvilievskiydv@fcgie.ru. Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman; Moscow, Russian Federation.

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

Kiseleva E.Yu., Korzun V.M., Verzhutskaya Yu.A., Kulikalova E.S., Breneva N.V., Budaeva S.E. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissersa St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Noskov A.K., Morozova I.V., Trishina A.V. 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:

Транквилевский Д.В. Федеральный центр гигиены и эпидемиологии; Российской Федерация, 117105, Москва, Варшавское шоссе, 19а; e-mail: trankvilievskiydv@fcgie.ru. Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана; Российская Федерация, Москва.

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

Киселева Е.Ю., Корзун В.М., Вержущая Ю.А., Куликалова Е.С., Бренёва Н.В., Будаева С.Е. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилессера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Носков А.К., Морозова И.В., Тришина А.В. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aanet.ru.



DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-63-73

УДК 616.98:579.88(470)

С.В. Штрек<sup>1,2</sup>, Н.В. Рудаков<sup>1,2</sup>, С.Н. Шпынов<sup>1,2</sup>, А.И. Блох<sup>1,2</sup>, Д.В. Транквилевский<sup>3,4</sup>,  
Н.А. Пенъевская<sup>1,2</sup>, Л.В. Кумпан<sup>1,2</sup>, А.В. Санников<sup>1,2</sup>

### Эпидемиологическая ситуация по риккетсиозам и лихорадке Ку в Российской Федерации за период 2010–2023 гг., прогноз на 2024 г.

<sup>1</sup>ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций», Омск, Российская Федерация;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Омск, Российская Федерация; <sup>3</sup>ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии», Москва, Российская Федерация;

<sup>4</sup>ФБУН «Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана», Москва, Российская Федерация

**Цель** обзора – прогноз заболеваемости риккетсиозами и лихорадкой Ку в Российской Федерации на 2024 г. на основании анализа эпидемиологической ситуации за 2010–2023 гг. Дана оценка эпидемического потенциала по данным инфекциям в России и других странах, где отмечается повышение активности очагов и расширение ареала возбудителей. Проведен анализ заболеваемости эпидемическим сыпным тифом, болезнью Брилла, сибирским клещевым тифом (СКТ), астраханской пятнистой лихорадкой (АПЛ), лихорадкой Ку, гранулоцитарным анаплазмозом человека, моноцитарным эрлихиозом человека в Российской Федерации в 2023 г. в сравнении со среднесулетними показателями 2010–2019 гг. (допандемического по COVID-19 периода). В 2023 г. показатели регистрируемой заболеваемости риккетсиозами и лихорадкой Ку в целом по России снизились относительно среднесулетнего уровня 2010–2019 гг. и отмечается значимый тренд на снижение заболеваемости в большинстве субъектов. Исключение составляет Дальневосточный федеральный округ, где показатель заболеваемости СКТ в 2023 г. увеличился в 1,5 раза в сравнении с периодом 2010–2019 гг., и г. Севастополь, где выявлен подъем заболеваемости марсельской лихорадкой. При оценке внутригодового распределения заболеваемости в 2023 г. регистрация СКТ на территории России осуществлялась с марта по ноябрь включительно, АПЛ – с мая по октябрь, а лихорадки Ку – с мая по август.

**Ключевые слова:** сибирский клещевой тиф, астраханская пятнистая лихорадка, лихорадка Ку, эпидемический сыпной тиф, риккетсиозы, заболеваемость, прогноз, Российская Федерация.

Корреспондирующий автор: Штрек Сергей Владимирович, e-mail: shtrek\_sv@oniipi.org.

Для цитирования: Штрек С.В., Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Блох А.И., Транквилевский Д.В., Пенъевская Н.А., Кумпан Л.В., Санников А.В. Эпидемиологическая ситуация по риккетсиозам и лихорадке Ку в Российской Федерации за период 2010–2023 гг., прогноз на 2024 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 3:63–73. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-63-73

Поступила 15.05.2024. Отправлена на доработку 07.06.2024. Принята к публ. 24.06.2024.

S.V. Shtrek<sup>1,2</sup>, N.V. Rudakov<sup>1,2</sup>, S.N. Shpynov<sup>1,2</sup>, A.I. Blokh<sup>1,2</sup>, D.V. Trankvilevsky<sup>3,4</sup>,  
N.A. Pen'evskaya<sup>1,2</sup>, L.V. Kumpan<sup>1,2</sup>, A.V. Sannikov<sup>1,2</sup>

### Epidemiological Situation on Rickettsial Diseases and Q Fever in the Russian Federation over the Period of 2010–2023, Forecast for 2024

<sup>1</sup>Omsk Research Institute of Natural-Focal Infections, Omsk, Russian Federation;

<sup>2</sup>Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation;

<sup>3</sup>Federal Center of Hygiene and Epidemiology, Moscow, Russian Federation;

<sup>4</sup>Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** The aim of the review is to forecast the incidence of rickettsial infections and Q fever in the Russian Federation for 2024 based on an analysis of the epidemiological situation in 2010–2023. The epidemic potential associated with these infections in Russia and other countries where there is an increased activity of foci with an expansion of the area of pathogen circulation has been assessed. An analysis of the incidence of epidemic typhus, Brill's disease, Siberian tick-borne typhus (STT), Astrakhan spotted fever (ASF), Q fever, human granulocytic anaplasmosis, human monocytic ehrlichiosis in the Russian Federation in 2023 in comparison with long-term average values in 2010–2019 (COVID-19 pre-pandemic period) has been carried out. In 2023, the rates of registered incidence of rickettsial infections and Q fever in Russia as a whole decreased relative to the long-term average level of 2010–2019, and there is a significant downward trend in most regions. The exception is the Far Eastern Federal District, where the incidence rate of STT in 2023 increased by 1.5 times as compared to the period of 2010–2019, and the city of Sevastopol, where an increase in the incidence of Marseilles fever was detected. When assessing the intra-annual distribution of incidence in 2023, registration of STT in Russia was carried out from March to November inclusive, ASF – from May to October, and Q fever – from May to August.

**Key words:** Siberian tick-borne typhus, Astrakhan spotted fever, Q fever, epidemic typhus, rickettsial infections, incidence, forecast, Russian Federation.

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

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

**Corresponding author:** Sergey V. Shtrek, e-mail: shtrek\_sv@oniipi.org.



Citation: Shtrek S.V., Rudakov N.V., Shpynov S.N., Blokh A.I., Trankvilevsky D.V., Pen'evskaya N.A., Kumpan L.V., Sannikov A.V. Epidemiological Situation on Rickettsial Diseases and Q Fever in the Russian Federation over the Period of 2010–2023, Forecast for 2024. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 3:63–73. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-63-73

Received 15.05.2024. Revised 07.06.2024. Accepted 24.06.2024.

Shtrek S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4509-1212>  
Rudakov N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9566-9214>  
Shpynov S.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4550-3459>  
Blokh A.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0756-2271>

Trankvilevsky D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4896-9369>  
Pen'evskaya N.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7220-4366>  
Kumpan L.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5230-1380>  
Sannikov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3377-5374>

Риккетсиозы – группа трансмиссивных лихорадочных заболеваний с сыпью, вызываемых риккетсиями (класс альфа-протеобактерии, порядок *Rickettsiales*), передающимися человеку членистоногими (клещами, вшами и блохами) [1]. Лихорадка Ку (кокциеллез), вызываемая *Coxiella burnetii* (класс гамма-протеобактерии, порядок *Legionellales*), – зоонозная инфекция с длительным и самостоятельным существованием эпизоотических очагов у сельскохозяйственных животных, а также наличием на отдельных территориях смешанных природно-хозяйственных (антропоургических) очагов, характеризующаяся разнообразными путями передачи возбудителя, развитием распространенного ретикулоэндотелиоза, клинически сопровождающаяся лихорадкой, интоксикацией, полиморфной симптоматикой.

Эпидемический сыпной тиф (ЭСТ) относится к вновь возникающим (возвращающимся) инфекциям. Ранее в странах Африки (Руанда, Бурунди) и Южной Америки (Боливия, Перу) в регионах с высокогорным холодным климатом и низким санитарно-гигиеническим уровнем жизни вшивость существовала у большинства населения, что обеспечивало условия для трансмиссии возбудителя ЭСТ и передачи его из поколения в поколение, эндемичности указанных территорий [2]. Примером является крупная вспышка ЭСТ в эндемичном очаге в 1997 г. в лагере беженцев в Бурунди, где заболело 43 345 человек, смертность составила 15 % [3, 4].

Проблему новых и возвращающихся инфекций в отношении ЭСТ и клещевых риккетсиозов можно продемонстрировать на примере Китайской Народной Республики (КНР), где с 1950 по 2021 г. зарегистрировано 452 965 случаев заболевания сыпным тифом (без дифференциации на ЭСТ и болезнь Брилла) и 7339 смертей от него. Число случаев в 1950, 1960 и 1980-х гг. превышало 14 тыс. в год. В настоящее время на востоке КНР в провинциях Аньхой, Хубэй и Хунань, расположенных в начале Великого шелкового пути, у побережья Восточно-Китайского моря, складывается ситуация по эпидемическому неблагополучию по ЭСТ с формированием сыпнотифозного потенциала, в связи с тем что 18,9 % из переболевших составляют дети, которые пожизненно становятся потенциальным источником (резервуаром) *Rickettsia prowazekii*. Это способствует формированию отдаленных рисков возникновения случаев заболевания, вспышек и эпидемий этой инфекции [5].

За последние несколько лет выявлены очаги новых для КНР риккетсиозов группы клещевой

пятнистой лихорадки (КПЛ): индийского клещевого тифа и астраханской пятнистой лихорадки (АПЛ), вызываемых соответственно *Rickettsia conorii* subsp. *indica* и *R. conorii* subsp. *caspia* [6, 7].

Пятнистая лихорадка Скалистых гор (ПЛСГ) имеет нозоареал в США, Канаде и Мексике. В некоторых штатах США летальность от ПЛСГ составляет от 4 % при назначении доксицилина в течение первых пяти дней и до 35 %, если лечение назначено позже [8, 9]. Только 35 % врачей назначают доксицилин детям младше 8 лет, в результате чего эта категория заболевших дает <6 % случаев ПЛСГ, но на нее приходится 22 % случаев смерти [10]. В Израиле на побережье Средиземного моря в период 2010–2019 гг. из риккетсиозов группы КПЛ наиболее часто выявлялся израильский клещевой тиф, вызываемый *R. conorii* subsp. *israelensis* (n=33,79 %). Показано, что 30%-я летальность связана с проблемами оказания раннего и интенсивного лечения, которое требовалось 52 % пациентов [11]. В противоположность этому, в тропической части Австралии клиницисты оказались хорошо подготовлены к борьбе с риккетсиозами группы КПЛ и кустарникового тифа (лихорадка цуцугамуши), вызываемого *Orientia tsutsugamushi*. Простая клиническая оценка состояния у постели больного помогала выявить пациентов с высоким риском ухудшения состояния и оказалась очень полезной в условиях ограниченных ресурсов [12].

В странах Евросоюза в период 2008–2020 гг. зарегистрировано 13 458 случаев лихорадки Ку, от 518 до 2719 случаев в год. Наибольшее количество случаев зарегистрировано в Нидерландах – 4183 (31,08 %), Германии – 2703 (20,08 %), Франции – 2005 (14,89 %) и Испании – 1959 (14,55 %). В Нидерландах произошла крупнейшая эпидемия лихорадки Ку, как по продолжительности, так и по масштабам, связанная с козьими молочными фермами по производству сыра [13, 14]. Среднегодовое количество (СМГ) регистрируемой заболеваемости лихорадкой Ку на 100 тыс. населения за этот период показал, что эпидемиологическая ситуация в России наиболее близка к таковой в Греции, Хорватии, Франции и Чехии, что может быть обусловлено схожестью эпизоотолого-эпидемиологических особенностей лихорадки Ку в этих странах.

Цель обзора – проанализировать эпидемиологическую ситуацию по риккетсиозам и лихорадке Ку в Российской Федерации в 2023 г. в сравнении с 2010–2019 гг., дать прогноз на 2024 г.

Ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости риккетсиозами и лихорадкой

Ку в России проведен с использованием данных формы № 2 государственной статистической отчетности «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за период 2010–2023 гг. Показатели заболеваемости и обращаемости населения с «укусами клещами» вычисляли на 100 тыс. ( $\text{‰}_{0000}$ ) среднегодового населения, используя сведения о численности населения из Единой межведомственной информационно-статистической системы (ЕМИСС). Доверительные интервалы (95 % ДИ) СМП заболеваемости рассчитывали по методу Вальда [15]. Дифференциацию субъектов Российской Федерации по степени потенциальной эпидемической опасности по сибирскому клещевому тифу (СКТ) осуществляли с помощью оценочной шкалы, включающей СМП для 17 эндемичных по сибирскому клещевому тифу территорий за период 2010–2023 гг. Градацию шкалы проводили по методике, описанной ранее, с использованием интервала значений между доверительными границами медианы, определяемыми по ГОСТ Р ИСО 16269-7-2004 «Статистическое представление данных. Медиана. Определение точечной оценки и доверительных интервалов» [16]. Во всех случаях проверки статистических гипотез критический уровень статистической значимости ( $p$ ) принимался равным 0,05. Для прогнозирования эпидемиологической ситуации на 2024 г. использовали авторскую программу «Tickcast: прогнозирование заболеваемости с выраженной периодичностью» [17].

**Эпидемиологическая ситуация по риккетсиозам и лихорадке Ку в Российской Федерации.** В настоящее время в Российской Федерации в соответствии с формой № 2 государственной статистической отчетности «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» в разделе «Риккетсиозы» (код МКБ-10, A75-A79) предусмотрена регистрация следующих нозологических форм и инфестаций, имеющих отношение к этому термину: «Эпидемический сыпной тиф» (A75.0), вызываемый *Rickettsia prowazekii*; «Болезнь Брилла», или рецидивирующий тиф (A75.1); «Астраханская пятнистая лихорадка» (A77.1), вызываемая *R. conorii* подвид *caspaii*; «Сибирский клещевой тиф» (A77.2), вызываемый *R. sibirica*; «Лихорадка Ку» (A78), вызываемая *S. burnetii*; «Риккетсиоз, вызываемый *Anaplasma phagocytophilum*» (A79.9); «Риккетсиоз, вызываемый *Ehrlichia chaffeensis* и *Ehrlichia muris*» (A79.9); «Педикулез головной», вызванный *Pediculus humanus capitis* (B85.0); «Педикулез платяной» (B85.1), вызванный *Pediculus humanus corporis*; «Вшивость», или «Педикулез неуточненный» (B85.2); «Инфестация смешанного типа», или «Смешанный педикулез» (B85.4) и «Укусы клещами» (B88.8). Кроме этого, «Марсельская (Средиземноморская) пятнистая лихорадка», вызываемая *R. conorii* подвид *conorii*, отсутствует в форме № 2, но регистрируется в Республике Крым с момента ее вхождения в Российскую Федерацию.

Последняя вспышка ЭСТ в Российской Федерации произошла зимой 1997/1998 г. в Липецкой области в психоневрологическом интернате для престарелых, где заболело 14 человек [18]. В последующие годы регистрировалось максимально до четырех случаев этой инфекции (в 2000 г.), последний зарегистрированный случай был выявлен в Ханты-Мансийском автономном округе в 2005 г.

В период 2002–2013 гг. в Российской Федерации было зарегистрировано 53 случая болезни Брилла, из них 38 (72 %) случаев приходится на субъекты Центрального федерального округа (ЦФО). В Воронежской области зарегистрировано 11 (29 %) случаев заболевания, в Липецкой – 8 (21 %), Москве – 7 (18 %), Смоленской области – 4 (10 %), Белгородской – 3 (8 %), Тульской – 2 (5 %) и по 1 (3 %) случаю в Брянской, Курской и Орловской областях.

Последние два случая болезни Брилла зарегистрированы в Российской Федерации в 2013 г. – по одному случаю в Воронежской и Самарской областях. За период 2003–2023 гг. в Российской Федерации произошло снижение случаев педикулеза в 3,1 раза. Наибольшее значение СМП педикулеза на 100 тыс. населения за указанный период установлено в Москве – 1275,3  $\text{‰}_{0000}$ . В 2023 г. в России 83,7 % случаев педикулеза выявлено в ЦФО, из них 80,08 % случаев – в Москве.

За период 2003–2023 гг. в Российской Федерации зарегистрировано 4 967 177 случаев педикулеза. Среднегодовое число случаев педикулеза варьировало от 113 582 в 2022 г. до 322 472 в 2004 г., произошло снижение инфестаций в 3,1 раза. Наибольшее значение СМП педикулеза на 100 тыс. населения за указанный период установлено в Москве – 1275,27  $\text{‰}_{0000}$ . В 2023 г. в России выявлено 131 137 случаев педикулеза, из них 109 763 (83,7 %) – в ЦФО и 105 015 (80,08 %) – в Москве.

Клещевые риккетсиозы (КР) – группа облигатно-трансмиссивных природно-очаговых инфекций, вызываемых риккетсиями группы КПЛ [19]. В течение 2010–2023 гг. СКТ в Российской Федерации ежегодно регистрировали в 17 субъектах Уральского (УФО), Сибирского (СФО) и Дальневосточного (ДФО) федеральных округов.

АПЛ на протяжении последних десяти лет фиксировали только на территории Южного федерального округа (ЮФО): ежегодно – в Астраханской области; с 2013 до 2019 г. включительно – в Республике Калмыкия; в отдельные годы единичные завозные случаи – в Москве (2017–2019 гг.), Республике Дагестан (2019 и 2020 гг.), Белгородской области (2015 г.), Санкт-Петербурге (2013 г.) [20].

Проведен анализ заболеваемости лихорадкой Ку в период с 1957 по 2023 г. в Российской Федерации. За этот период зарегистрирован 14 241 случай лихорадки Ку. Максимальное значение показателя заболеваемости на 100 тыс. населения было зарегистрировано в 1957 г. (1,0  $\text{‰}_{0000}$ ), минимальное – в 2020 г. (0,01  $\text{‰}_{0000}$ ) (рис. 1). С 1997 по 2023 г. из 3077 реги-

стрированных на территории 24 субъектов России случаев лихорадки Ку 2410 (78,3 %) пришлось на ЮФО, с 2250 (73,1 %) случаями в Астраханской области. В Ставропольском крае выявлено 380 (12,3 %) случаев заболевания. В ЦФО зарегистрировано 117 (3,8 %) случаев, с максимальным количеством в Воронежской области (86). В Приволжском федеральном округе (ПФО) выявлен 81 (2,6 %) случай, из них 54 – в Ульяновской области. В ДФО отсутствует регистрация заболеваемости лихорадкой Ку.

В период пандемии COVID-19 (2020–2021 гг.) произошло резкое снижение числа случаев этой инфекции в России, с дальнейшим ростом в 2022 и 2023 гг.

В 2022 г. (весна – лето) в Ростовской области была зарегистрирована вспышка лихорадки Ку. Диагноз «лихорадка Ку» у 27 пациентов подтвержден лабораторными исследованиями методом полимеразной цепной реакции с учетом результатов в режиме реального времени (ПЦР-РТ) на выявление ДНК *S. burnetii*. Филогенетический анализ полно-размерного генома *S. burnetii*, секвенированного из образца сыворотки больного, по данным ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, показал наибольшее сходство с выделенным в 1955 г. от человека в Киргизии штаммом *S. burnetii* Schperling, который входит в кластер со штаммами (CbuK Q154, MSU Goat Q177), изолированными в США в 1976 и 1980 гг. [21]. В 2022–2023 гг. проведен ретроспективный серологический мониторинг методом иммуноферментного анализа (ИФА) на наличие IgG к *S. burnetii* сывороток крови 426 человек, проживающих в районах Алтайского края. В 38,0 % случаев обнаружены IgG к возбудителю лихорадки Ку, при том что на протяжении последнего десятилетия это заболевание регистрировали крайне редко [22].

С момента вхождения Республики Крым и г. Севастополя в состав Российской Федерации (2014 г.) случаи КР на этих территориях регистрируют в разделе «Риккетсиозы» формы № 2. Как следует из информации, поступившей из Межрегионального управления Роспотребнадзора по Республике Крым и г. Севастополю в Референс-центр по мониторингу

за риккетсиозами ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, в указанном регионе в настоящее время в качестве риккетсиозов учитывают заболевания с диагнозами «марсельская лихорадка» (МЛ) и «клещевой риккетсиоз неуточненный» [20].

Анализ заболеваемости гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ) и моноцитарного эрлихиоза человека (МЭЧ), включенных в раздел «Риккетсиозы» формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», проводится с 2013 г. (приказ Росстата от 20.12.2012 № 645). Официальная регистрация ГАЧ (30 субъектов) и МЭЧ (24 субъекта) осуществлялась на территории ЦФО, Северо-Западного (СЗФО), Северо-Кавказского (СКФО) федеральных округов, ПФО, УФО, СФО и ДФО. Резкое снижение регистрации заболеваемости ГАЧ и снижение количества регистрируемых случаев МЭЧ, произошедшее в 2015 г., может быть обусловлено повышением требований к проведению диагностических лабораторных исследований в Российской Федерации и отсутствием на этот период зарегистрированных в Росздравнадзоре тест-систем для диагностики.

**Эпидемиологическая ситуация по риккетсиозам и лихорадке Ку в 2023 г. в сравнении с периодом 2010–2019 гг.** В 2023 г. заболевания СКТ зарегистрированы в 16 субъектах РФ. Согласно данным официальной статистики, всего зарегистрировано 1222 случая СКТ. СМП заболеваемости СКТ в России в 2023 г. составил 0,83 на 100 тыс. населения (таблица).

Наибольший вклад в заболеваемость СКТ внесли СФО и ДФО (72,1 и 27,6 % соответственно), вклад УФО был минимален – 0,3 %. Среди субъектов СФО в 2023 г. наибольшие показатели заболеваемости СКТ на 100 тыс. населения зарегистрированы в Республике Алтай (35,11 ‰) и Алтайском крае (16,75 ‰). В остальных субъектах СФО заболеваемость составила: в Республике Хакасия – 7,17 ‰, Новосибирской области – 4,55 ‰, Иркутской области – 2,52 ‰, Республике Тыва – 1,19 ‰, Красноярском крае – 0,42 ‰, Омской области – 0,33 ‰, Кемеровской области – 0,23 ‰. В Омской области с 2019 по 2022 г. не было зарегистрировано

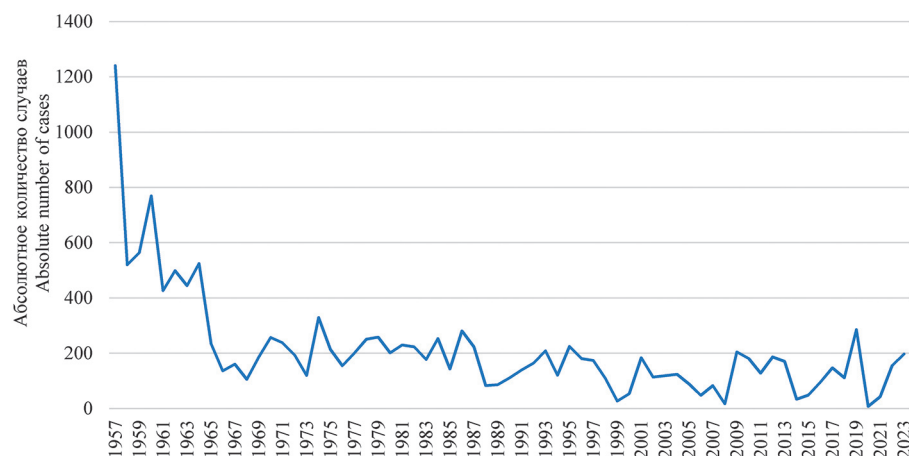


Рис. 1. Количество случаев лихорадки Ку в Российской Федерации с 1957 по 2023 г.

Fig. 1. The number of cases of Q fever in the Russian Federation between 1957 and 2023



Тенденции развития эпидемического процесса в эндемичных по клещевым риккетсиозам и лихорадке Ку субъектах Российской Федерации в 2010–2023 гг. и прогноз на 2024 г.

Trends in the development of the epidemic process in entities of the Russian Federation that are endemic for tick-borne rickettsioses and Q fever in 2010–2023 and forecast for 2024

Территории Territories	Показатели заболеваемости в 2023 г. (95 % ДИ) Morbidity rates in 2023 (95 % CI)	СМП заболеваемости в 2010–2019 гг. (95 % ДИ) Long-term average annual incidence in 2010–2019 (95 % CI)	Темп прироста / снижения в 2010–2023 гг., % Rate of incre- ment / decre- ment in 2010– 2023, %	Характеристика линии тренда $y=ax+b$ в 2010–2023 гг. Characteristics of the trend line $y=ax+b$ in 2010–2023		Прогнозируемые показатели заболеваемости на 2024 г. Estimated morbidity rates for 2024
				коэффициент детерминации (R <sup>2</sup> ), % the coefficient of determination (R <sup>2</sup> ), %	p – уровень для коэффициента наклона линии тренда (a) p – level for trend line slope coefficient (a)	
1	2	3	4	5	6	7
<b>Сибирский клещевой тиф / Siberian tick-borne typhus</b>						
<b>Российская Федерация Russian Federation</b>	<b>0,83 (0,81–0,86)</b>	<b>1,07 (1,06–1,08)</b>	<b>–2,65</b>	<b>38,5</b>	<b>0,0179</b>	<b>0,66 (0,51–0,86)</b>
<b>СФО Siberian Federal District</b>	<b>4,1 (3,95–4,26)</b>	<b>6,83 (6,76–6,89)</b>	<b>–3,6</b>	<b>57,9</b>	<b>0,0016</b>	<b>4,16 (3,23–5,36)</b>
Республика Алтай Republic of Altai	35,11 (27,57–44,08)	87,60 (85,57–89,62)	–0,05	0,004	0,9822	78,92 (40,76–152,79)
Алтайский край Altai Territory	16,75 (15,87–17,64)	23,33 (23,02–23,64)	–2,91	53,27	0,003	18,81 (15,79–22,41)
Республика Хакасия Republic of Khakassia	7,17 (5,07–9,83)	10,49 (10,05–10,93)	–16,4	60,14	0,0011	0,14 (0,01–1,90)
Новосибирская область Novosibirsk Region	4,55 (4,14–4,95)	6,41 (6,25–6,56)	–1,29	3,02	0,5525	3,73 (2,26–6,13)
Иркутская область Irkutsk Region	2,52 (1,92–3,25)	2,60 (2,50–2,71)	–4,27	26,27	0,061	1,30 (0,81–2,11)
Республика Тыва Republic of Tuva	1,19 (0,32–3,04)	18,79 (18,02–19,56)	–8,23	44,04	0,0097	3,68 (1,07–12,58)
Красноярский край Krasnoyarsk Territory	0,42 (0,22–0,74)	2,46 (2,37–2,55)	–11,61	75,14	0,0001	0,70 (0,45–1,07)
Омская область Omsk Region	0,33 (0,12–0,71)	0,07 (0,04–0,12)	10,54	8,22	0,3203	0,08 (0,01–0,78)
Кемеровская область Kemerovo Region	0,23 (0,09–0,51)	0,28 (0,22–0,35)	–3,89	19	0,1193	0,17 (0,10–0,28)
<b>ДФО Far Eastern Federal District</b>	<b>6,71 (6,41–7,00)</b>	<b>4,35 (4,28–4,43)</b>	<b>2,35</b>	<b>8,87</b>	<b>0,3012</b>	<b>5,67 (3,36–9,58)</b>
Хабаровский край Khabarovsk Territory	25,08 (23,68–26,47)	12,80 (12,49–13,11)	5,27	21,51	0,0949	21,61 (11,35–41,13)
Еврейская АО Jewish Autonomous Region	21,02 (14,28–29,84)	9,33 (8,59–10,08)	4,98	12,5	0,2149	4,26 (1,60–11,36)
Приморский край Primorsky Territory	8,85 (8,15–9,54)	6,19 (6,01–6,37)	3	14,04	0,1869	9,99 (5,97–16,71)
Республика Бурятия Buryat Republic	1,03 (0,49–1,89)	1,90 (1,76–2,04)	–2,7	10,58	0,2564	1,11 (0,73–1,71)
Амурская область Amur Region	0,53 (0,14–1,35)	1,64 (1,50–1,78)	–11,98	51,13	0,004	0,09 (0,01–0,72)
Забайкальский край Trans-Baikal Territory	0,2 (0,02–0,73)	2,04 (1,91–2,18)	–19,68	71,76	0,0001	0,09 (0,04–0,22)
<b>УФО Ural Federal District</b>	<b>0,07 (0,03–0,13)</b>	<b>0,09 (0,08–0,10)</b>	<b>–14,78</b>	<b>25,59</b>	<b>0,065</b>	<b>0,06 (0,01–0,27)</b>
Курганская область Kurgan Region	1,05 (0,45–2,07)	0,76 (0,59–0,96)	–18,83	23,55	0,0785	0,14 (0,01–3,76)
Тюменская область Tyumen Region		0,31 (0,22–0,41)	–7,15	10,13	0,2674	0,12 (0,02–0,90)

Окончание таблицы / Ending of the table

1	2	3	4	5	6	7
<b>Астраханская пятнистая лихорадка / Astrakhan spotted fever</b>						
Астраханская область Astrakhan Region	10,52 (8,56–12,80)	27,71 (27,09–28,33)	–15,61	75,96	0,0005	5,98 (2,53–14,12)
Республика Калмыкия Republic of Kalmykia	0,38 (0,01–2,11)	1,95 (1,38–2,68)	–23,75	67,11	0,002	0,004 (0,0002–0,07)
<b>Риккетсиоз неуточненный (марсельская лихорадка) / Rickettsiosis unspecified (Marseille fever)</b>						
Республика Крым Republic of Crimea	1,2 (0,76–1,80)	1,87	11,51	30,1	0,0422	10,22 (0,58–181,40)
г. Севастополь Sevastopol	1,97 (0,98–3,52)	1,58	17,53	50,99	0,0041	32,19 (3,07–337,55)
<b>Лихорадка Ку (кокселлез) / Q fever (coxiellosis)</b>						
Астраханская область Astrakhan Region	8,42 (6,67–10,47)	11,14 (10,81–11,47)	–7,61	18,25	0,1277	4,89 (0,39–61,40)
Ставропольский край Stavropol Territory	3,67 (3,31–4,02)	0,62 (0,61–0,57)	22,14	61,19	0,0009	18,52 (2,59–132,43)

ни одного случая СКТ, однако в 2023 г. выявлено 8 случаев заболевания.

В ДФО по показателям заболеваемости СКТ на 100 тыс. населения в 2023 г. лидируют: Хабаровский край (25,08 ‰), Еврейская автономная область (АО) (21,02 ‰) и Приморский край (8,85 ‰). В Республике Бурятия инцидентность СКТ составила 1,03 ‰, в Амурской области – 0,53 ‰, Забайкальском крае – 0,20 ‰.

В УФО в 2023 г., как и в предыдущие годы, СКТ зарегистрирован в Курганской области (1,05 ‰). В Тюменской области в 2023 г. отсутствовали зафиксированные случаи. Единичные случаи СКТ зарегистрированы в Москве.

При ранжировании по степени эпидемической опасности в отношении СКТ регионы сохранили позиции, определенные ранее (рис. 2) [23].

Из-за резкого снижения показателей регистрируемой заболеваемости в 2020–2021 гг., в период ограничительных мероприятий в связи с COVID-19, показатели заболеваемости за 2023 г. сравнивали со СМП за период 2010–2019 гг. (таблица).

В целом по Российской Федерации показатель заболеваемости СКТ на 100 тыс. населения в 2023 г. составил 77,6 % от СМП<sub>2010–2019</sub>, по СФО в 2023 г. – 60,0 % от СМП<sub>2010–2019</sub>, а по ДФО – 154,3 %. В 2023 г. показатель обращаемости населения в связи с присасыванием клещей по России не изменился

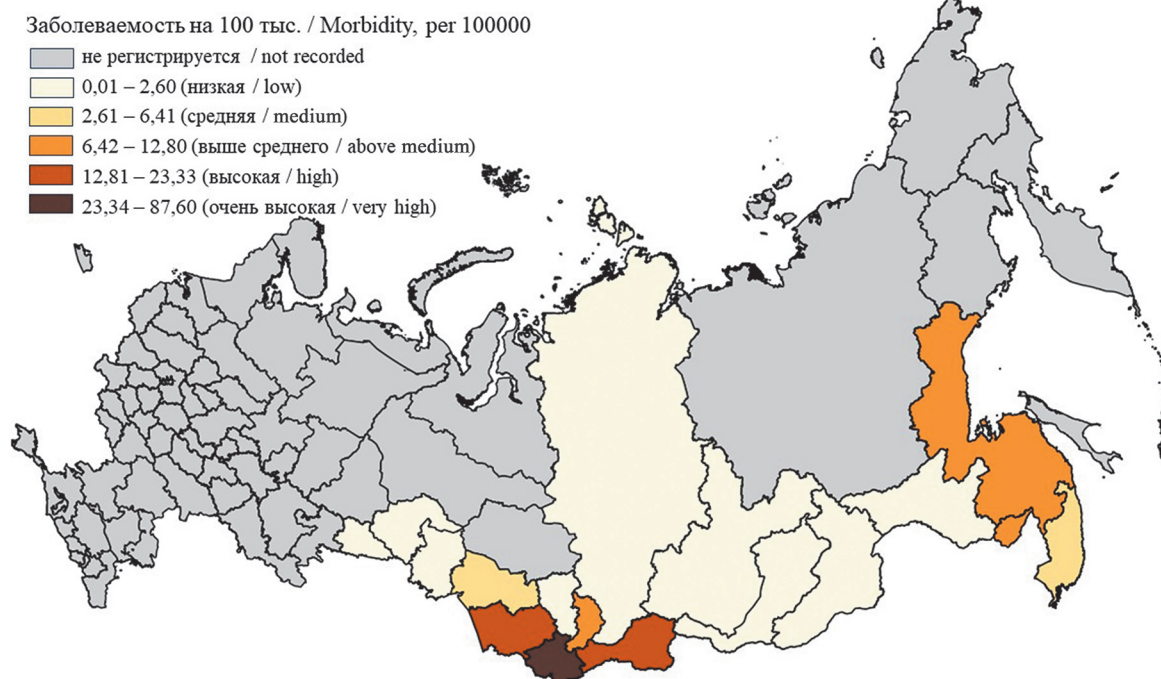


Рис. 2. Ранжирование субъектов Российской Федерации по среднескользящим показателям заболеваемости сибирским клещевым тифом в 2010–2023 гг.

Fig. 2. Ranking of the constituent entities of the Russian Federation by the long-term average annual incidence of Siberian tick-borne typhus in 2010–2023

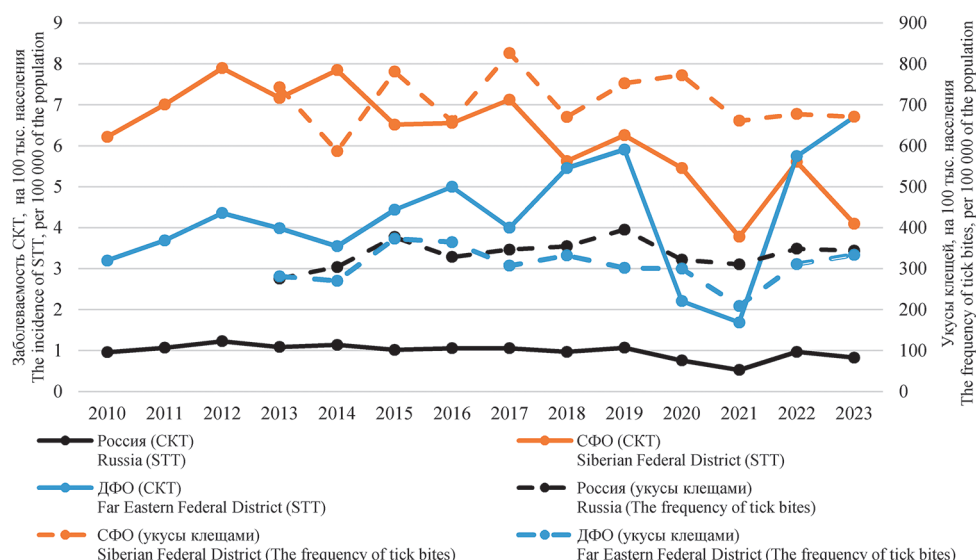


Рис. 3. Динамика заболеваемости сибирским клещевым тифом и обращаемость населения в связи с «укусами клещами» в Российской Федерации, СФО и ДФО в 2010–2023 гг.

Fig. 3. The dynamics of the incidence of Siberian tick-borne typhus (STT) and the appealability of the population in connection with “tick bites” in the Russian Federation, the Siberian Federal District and the Far Eastern Federal District in 2010–2023

(343,95  $\text{‰}$ ) в сравнении с доковидным периодом (340,84  $\text{‰}$ ).

В СФО и ДФО имеются различия: в первом федеральном округе при снижении обращаемости населения в связи с нападением клещей (с 717,56  $\text{‰}$  в 2010–2019 гг. до 671,23  $\text{‰}$  в 2023 г.) произошло снижение заболеваемости СКТ (с 6,83  $\text{‰}$  в 2010–2019 гг. до 4,1  $\text{‰}$  в 2023 г.), а во втором – произошло увеличение показателя заболеваемости (с 4,35  $\text{‰}$  в 2010–2019 гг. до 6,71  $\text{‰}$  в 2023 г.) при увеличении частоты контактов населения с клещами (318,84  $\text{‰}$  в 2010–2019 гг. и 333,86  $\text{‰}$  в 2023 г.) (рис. 3).

Значительный рост заболеваемости в 2023 г. по сравнению с доковидным периодом выявлен в Еврейской АО (21,024 против 9,33  $\text{‰}$ ), Хабаровском крае (20,08 против 12,80  $\text{‰}$ ), Приморском крае (8,85 против 6,19  $\text{‰}$ ), Омской области (0,33 против 0,07  $\text{‰}$ ) и Курганской области (1,05 против 0,76  $\text{‰}$ ). В этих регионах в 2023 г. обращаемость населения в связи с нападением клещей превышала среднееголетние показатели 2010–2019 и 2020–2021 гг. (рис. 4).

В основных эпидемически значимых регионах СФО показатели заболеваемости в 2023 г. ниже доковидного уровня: в Республике Алтай (35,11 против 87,60  $\text{‰}$ ), Алтайском крае (16,75 против 23,33  $\text{‰}$ ), Республике Хакасия (7,17 против 10,49  $\text{‰}$ ), Новосибирской области (4,55 против 6,41  $\text{‰}$ ), Республике Тыва (1,19 против 18,79  $\text{‰}$ ) и Красноярском крае (0,42 против 2,46  $\text{‰}$ ). В республиках Алтай и Тыва и Красноярском крае СМП заболеваемости даже ниже, чем в период пандемии, при нарастании обращаемости населения в связи с нападением клещей. В остальных субъектах снижение заболеваемости произошло на фоне снижения частоты контактов с клещами. В Иркутской области уровень заболеваемости СКТ в постковидный период (2,52  $\text{‰}$ ) восстановился до пандемического уровня (2,60  $\text{‰}$ ), при снижении обращаемости населения после контакта с клещами (с 613,60  $\text{‰}$  в 2010–2019 гг. до 542,71  $\text{‰}$  в 2023 г.).

В Забайкальском крае заболеваемость СКТ в 2023 г. (0,20  $\text{‰}$ ) была ниже, чем в доковидный и ковидный периоды (2,04 и 0,33  $\text{‰}$ ), при снижении обращаемости населения с «укусами клещами» (с 376,46  $\text{‰}$  в 2010–2019 гг. до 302,19  $\text{‰}$  в 2023 г.). В Амурской области в 2023 г. заболеваемость снизилась более чем в 2 раза с периода 2010–2019 гг. (0,53 против 1,64  $\text{‰}$ ), а частота контактов с клещами увеличилась (277,97 и 295,16  $\text{‰}$ ).

При оценке влияния периода ограничительных мероприятий в связи с COVID-19 на показатели заболеваемости СКТ и обращаемости населения с «укусами клещами» подтверждено установленное ранее отсутствие значимой корреляционной связи [20].

Случаи СКТ с летальным исходом выявлены только на территории Красноярского края, СМП летальности в период 2010–2023 гг. равен 0,003  $\text{‰}$  [24, 25].

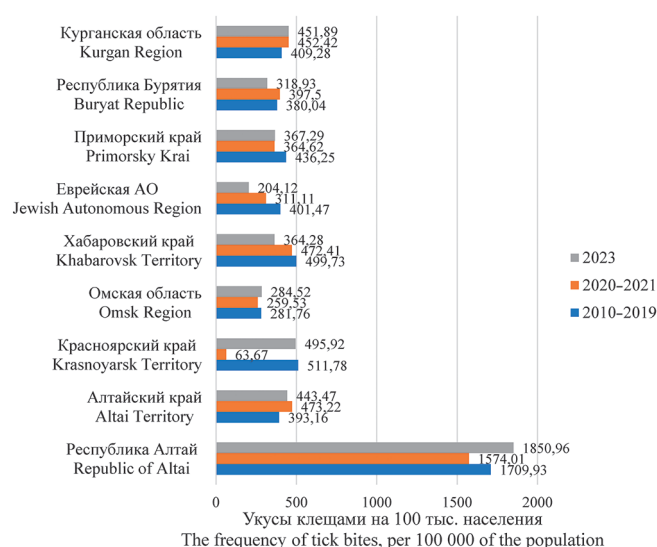


Рис. 4. Обращаемость населения в связи с «укусами клещами» в наиболее эпидемически значимых субъектах Российской Федерации в периоды 2010–2019, 2020–2021 и 2022–2023 гг.

Fig. 4. Population appealability due to “tick bites” in the most epidemically significant constituent entities of the Russian Federation in the periods of 2010–2019, 2020–2021, and 2022–2023



Всего в 2023 г. в России зарегистрировано 105 случаев АПЛ. Показатель заболеваемости АПЛ в России в 2023 г. составил  $0,07 \text{ ‰}$ . Основной вклад (95,2 %) в заболеваемость внесла Астраханская область – единственный регион, в котором АПЛ регистрируется ежегодно и где начиная с 2013 г. прослеживался выраженный линейный тренд к снижению заболеваемости этой нозологией с  $38,0 \text{ ‰}$  в 2013 г. до  $4,1 \text{ ‰}$  в 2022 г. ( $T_{\text{сн}}=16,9 \%$ ), но в 2023 г. составил  $10,52 \text{ ‰}$ . Вклад в общую инфекционную патологию внесли республики Калмыкия ( $0,38 \text{ ‰}$ ) и Дагестан ( $0,06 \text{ ‰}$ ).

Эпидемиологическая ситуация по астраханской пятнистой лихорадке выглядит следующим образом: при уменьшении контактов населения с переносчиками в Астраханской области в 2 раза (с  $286,75 \text{ ‰}$  в 2010–2019 гг. до  $154,65 \text{ ‰}$  в 2023 г.) произошло снижение заболеваемости в 2,5 раза (с  $27,71 \text{ ‰}$  в 2010–2019 гг. до  $10,52 \text{ ‰}$  в 2023 г.). Аналогичная ситуация в Республике Калмыкия, где обращаемость населения с «кусами клещами» в 2023 г. снизилась в 1,5 раза (с  $247,38 \text{ ‰}$  в 2010–2019 гг. до  $170,52 \text{ ‰}$  в 2023 г.), а заболеваемость АПЛ – в 4 раза (с  $1,95 \text{ ‰}$  в 2010–2019 гг. до  $0,38 \text{ ‰}$  в 2023 г.).

В Республике Крым в 2023 г. заболеваемость КР увеличилась в 2 раза в сравнении с 2020–2021 гг. В Севастополе инцидентность КР превысила в 2 раза СМП 2010–2019 и 2020–2021 гг.

В 2023 г. в Российской Федерации выявлено 198 случаев лихорадки Ку. Показатель заболеваемости данной инфекцией в России составил  $0,14 \text{ ‰}$ . Основной вклад (93,9 %) в заболеваемость внесли Ставропольский край (53,5 %) и Астраханская область (40,4 %). В Астраханской области в 2023 г. произошло снижение показателя заболеваемости в сравнении с периодом 2010–2019 гг. (8,42 против  $11,14 \text{ ‰}$ ), а в Ставропольском крае он увеличился в 6 раз (3,67 против  $0,61 \text{ ‰}$ ). В остальных субъектах заболеваемость составила: в Ростовской области –  $0,24 \text{ ‰}$ , Карачаево-Черкесской Республике –  $0,21 \text{ ‰}$ , Псковской области –  $0,17 \text{ ‰}$ . В 2022 г. выявлено 27 случаев в Ростовской области, а с 2010 по 2021 г. не зарегистрировано ни одного случая заболевания. Показатель заболеваемости среди жителей сельской местности в Астраханской области –  $8,78 \text{ ‰}$ , Ставропольском крае –  $7,45 \text{ ‰}$ , Ростовской области –  $0,74 \text{ ‰}$ . Впервые с 2010 г. в Карачаево-Черкесской Республике и Псковской области зарегистрировано по одному случаю лихорадки Ку.

В 2023 г. в Российской Федерации выявлено 15 случаев гранулоцитарного анаплазмоза человека ( $0,01 \text{ ‰}$ ) и 10 случаев моноцитарного эрлихиоза человека ( $0,01 \text{ ‰}$ ). Основной вклад (52,0 %) в заболеваемость вносит СФО. В ДФО, ЮФО, ПФО, УФО, ЦФО в 2023 г. выявлено от 1 до 3 случаев.

Случаев заболеваемости ЭСТ и болезни Брилла в Российской Федерации в 2023 г. не выявлено.

**Оценка внутригодового распределения заболеваемости (сезонность) риккетсиозов и лихорадки Ку в 2023 г.** Регистрация СКТ на территории России

в 2023 г. осуществлялась с марта по ноябрь включительно. Пик заболеваемости СКТ (в %) в Алтайском крае приходится на май (25,17 %), июль (18,52 %) и ноябрь (22,81 %). Максимум сезонной заболеваемости СКТ в Красноярском крае приходился на июнь (25,55 %), август (24,73 %) и небольшой пик в октябре (16,48 %). Пик заболеваемости СКТ в Хабаровском крае приходился в основном на летние месяцы: июнь (22,82 %), июль (38,96 %), август (18,10 %), сентябрь (15,21 %). В Республике Алтай с мая по июль сезонная заболеваемость представляла плато с пиком в августе – 16,05; 13,82; 17,39; 33,44 и 12,44 % соответственно.

Регистрация АПЛ на территории РФ в 2023 г. осуществлялась с мая по октябрь включительно, идентичная картина наблюдается в Астраханской области, на которую приходится 95,2 % случаев.

Лихорадка Ку на территории РФ в 2023 г. регистрировалась с мая (11,43 %) по август (12,42 %) включительно. Пик заболеваемости – в июне (36,96 %) и июле (23,35 %). Аналогичная картина в регионах с высокой заболеваемостью.

**Прогноз развития эпидемиологической ситуации по риккетсиозам и лихорадке Ку в Российской Федерации на 2024 г.** В таблице представлены краткосрочные прогнозируемые показатели заболеваемости по СКТ в разрезе Российской Федерации, федеральных округов и отдельных субъектов.

В период 2010–2023 гг. СМП на 100 тыс. населения по СКТ в Российской Федерации составил  $1,07 \text{ ‰}$  с темпом прироста за указанный период –  $0,24 \text{ ‰}$ , рассчитанный прогнозируемый показатель на 2024 г. составил 1,08 (0,88–1,33)  $\text{‰}$ , что предполагает в целом стабильную ситуацию по этой инфекции в текущем году.

Рассчитанный прогнозируемый показатель заболеваемости астраханской пятнистой лихорадкой в России на 2024 г. составил 0,10 (0,05–0,20)  $\text{‰}$ .

Прогнозируемый показатель заболеваемости лихорадкой Ку на 2024 г. составил 0,11 (0,01–0,53)  $\text{‰}$ .

**Проблемы лабораторной диагностики риккетсиозов и лихорадки Ку в Российской Федерации.** Сотрудниками референс-центра проведен анализ состояния лабораторной диагностики риккетсиозов и лихорадки Ку в Российской Федерации. В настоящее время лабораторная диагностика осуществляется в соответствии с действующими нормативными и методическими документами. Она включает серологическую (выявление антител к антигенам риккетсий), молекулярно-биологическую (генотипирование ДНК риккетсий в образцах клинического материала от пациентов и идентификация выделенных штаммов) и микробиологическую (выделение и изучение штаммов) диагностики.

В соответствии с данными, размещенными на сайте Росздравнадзора (<https://roszdravnadzor.gov.ru/services/misearch>), в Российской Федерации регламентированы к применению, со сроком действия регистрационного удостоверения «бессроч-

но», 19 медицинских изделий для осуществления серологических и молекулярно-биологических исследований для выявления маркеров возбудителей риккетсиозов.

Некоторые зарегистрированные (сертифицированные) диагностические препараты для серологической диагностики отечественного производства не всегда доступны для приобретения в связи с отсутствием выпуска, например набор реагентов «Диагностикум риккетсиозный Сибирика для РСК» (ТУ 9388-158-14237183-2010) для выявления антител к *R. sibirica* у больных СКТ и другие диагностические тест-системы. Это приводит к увеличению периода постановки окончательного диагноза, основанного на клинико-эпидемиологических данных, и смещению подъема регистрируемой заболеваемости на более поздние сроки (ноябрь, январь). Кроме этого, требует решения проблема отсутствия в Росздравнадзоре информации о зарегистрированных тест-системах для диагностики ГАЧ и МЭЧ методом ИФА.

Несмотря на отсутствие случаев заболеваний в последние годы ЭСТ и болезнью Брилла, на территории Российской Федерации сохраняются отдаленные риски возникновения заболеваний и вспышек инфекции из-за высокого уровня миграции населения из государств ближнего и дальнего зарубежья, в связи с отсутствием настороженности врачей в отношении данных инфекций и высоким уровнем педикулеза в некоторых регионах страны. Рекомендуется проводить серологический мониторинг на наличие антител к *R. prowazekii* в среде трудовых мигрантов, уделять внимание общественной профилактике педикулеза.

При сравнении СМП 2023 и 2010–2019 гг. заболеваемости риккетсиозов и лихорадки Ку можно констатировать восстановление уровня заболеваемости к доковидному периоду. Отмеченный в большинстве субъектов тренд к снижению анализируемых показателей может быть связан с проблемами лабораторной верификации риккетсиозов и лихорадки Ку.

С целью дальнейшей стабилизации эпидемиологической ситуации по риккетсиозам и лихорадке Ку необходимо выполнение нескольких рекомендаций. Проводить дифференцировку территорий, очаговых по клещевым риккетсиозам и лихорадке Ку, в разрезе муниципальных территориальных образований (административных районов) с ранжированием по СМП заболеваемости на 100 тыс. населения. Из-за многообразия этиологических агентов, переносчиков, ландшафтно-эпидемиологических зон и возможных алгоритмов лабораторных исследований осуществлять эпидемиологический мониторинг природных очагов клещевых риккетсиозов с внедрением молекулярно-генетического мониторинга с применением ПЦР-РВ-тест-систем в практику лабораторий территориальных учреждений, подведомственных Роспотребнадзору. Для осуществления молекулярно-генетического мониторинга риккетсий проводить

учет относительной численности, сбора и исследования иксодовых клещей. Рекомендуется своевременное и в полном объеме проведение исследований материала от больных (кровь, сыворотка крови, плазма, биоптат, смыв с первичного аффекта и др.) и образцов аутопсии погибших от клещевых инфекций с применением молекулярно-биологических методов для верификации диагноза СКТ, особенно на территориях с высокой степенью риска заражения, а также серологической верификации диагноза с применением зарегистрированных в установленном порядке ПЦР-РВ и ИФА-тест-систем. На эндемичных территориях и территориях с высоким уровнем регистрации пневмоний неустановленной этиологии использовать в полном, необходимом объеме методы серологической диагностики лихорадки Ку. Необходимо направлять биологический материал от больных клещевыми риккетсиозами с нетипичной клинической картиной, тяжелым течением инфекции и при летальном исходе в Референс-центр по мониторингу за риккетсиозами ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора. Реализовать контроль выполнения мероприятий территориальных программ по профилактике лихорадки Ку (межведомственных комплексных планов) с учетом оперативных и ретроспективных результатов эпизоотолого-эпидемиологического мониторинга.

**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. Raoult D., Roux V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. *Clin. Microbiol. Rev.* 1997; 10(4):694–719. DOI: 10.1128/CMR.10.4.694.
2. Raoult D., Woodward T., Dumler J.S. The history of epidemic typhus. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2004; 18(1):127–40. DOI: 10.1016/S0891-5520(03)00093-X.
3. Houhamdi L., Raoult D. Louse-borne epidemic typhus. In: Raoult D., Parola P., editors. *Rickettsial Diseases*. N.-Y.; London: “Informa Healthcare”; 2007. Chapter 5. P. 51–62. DOI: 10.3109/9781420019971.005.
4. Raoult D., Ndiokubwayo J.B., Tissot-Dupont H., Roux V., Faugere B., Abegbinni R., Birtles R.J. Outbreak of epidemic typhus associated with french fever in Burundi. *Lancet.* 1998; 352(9125): 353–8. DOI: 10.1016/S0140-6736(97)12433-3.
5. Han L., Zhang Y., Jin X., Ren H., Teng Z., Sun Z., Xu J., Qin T. Changing epidemiologic patterns of typhus group rickettsiosis and scrub typhus in China, 1950–2022. *Int. J. Infect. Dis.* 2024; 140:52–61. DOI: 10.1016/j.ijid.2023.12.013.
6. Xu N., Liu H., Qu C., Wen S., Zou W., Chang C., Wang G. The presence of foci of *Rickettsia conorii* infection in China. *Infect. Med. (Beijing).* 2023; 2(4):334–7. DOI: 10.1016/j.imj.2023.09.002.
7. Teng Z.Q., Yang L., Zhao N., Li X.T., Dai L.P., Zhang X., Shao T.T., Han L., Zheng R.J., Wen B.H., Kan B., Xu J.G., Lu X.B., Qin T. Emergence of Astrakhan rickettsial fever in China. *J. Infect.* 2024; 88(4):106136. DOI: 10.1016/j.jinf.2024.106136.
8. Tickborne Diseases of the United States: A Reference Manual for Healthcare Providers. Sixth Edition. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Division of Vector-Borne Diseases; 2022. 52 p.
9. Rocky Mountain Spotted Fever (RMSF) (опубл. 05.08.2022). [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cdc.gov/ticks/tickbornediseases/rmsf.html> (дата обращения 11.03.2024).
10. Research on Doxycycline and Tooth Staining (опубл. 19.02.2019). [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cdc.gov/rmsf/doxycycline/index.html> (дата обращения 11.03.2024).



11. Cohen R., Finn T., Babushkin F., Paran Y., Ben Ami R., Atamna A., Reisfeld S., Weber G., Petersiel N., Zayyad H., Leshem E., Weinberger M., Maor Y., Makhoul N., Neshet L., Zaide G., Klein D., Beth-Din A., Atiya-Nasagi Y. Spotted fever group rickettsioses in Israel, 2010–2019. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(8):2117–26. DOI: 10.3201/eid2708.203661.
12. Stewart A.G.A., Smith S., Binotto E., McBride W.J.H., Hanson J. The epidemiology and clinical features of rickettsial diseases in North Queensland, Australia: Implications for patient identification and management. *PLOS Negl. Trop. Dis.* 2019; 13(7):e0007583. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007583.
13. Dijkstra F., van der Hoek W., Wijers N., Schimmer B., Rietveld A., Wijkman C.J., Vellema P., Schneeberger P.M. The 2007–2010 Q fever epidemic in the Netherlands: characteristics of notified acute Q fever patients and the association with dairy goat farming. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2012; 64(1):3–12. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2011.00876.x.
14. Whelan J., Schimmer B., Schneeberger P., Meekelenkamp J., Ijff A., van der Hoek W., Robert-Du Ry van Beest Holle M. Q fever among culling workers, the Netherlands, 2009–2010. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(9):1719–23. DOI: 10.3201/eid1709.110051.
15. Савилов Е.Д., Астафьев В.А., Жданова С.Н., Заруднев Е.А. Эпидемиологический анализ: Методы статистической обработки материала. Новосибирск: Наука-Центр; 2011. 156 с.
16. Колпак С.Л., Яковлев А.А. О методологии оценки эпидемиологической ситуации. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2015; 20(4):34–9.
17. Рудаков Н.В., Пеневская Н.А., Кумпан Л.В., Блох А.И., Шпынов С.Н., Транквилевский Д.В., Штрек С.В. Эпидемиологическая ситуация по риккетсиозам группы клещевой пятнистой лихорадки в РФ в 2012–2021 гг. и прогноз на 2022–2026 гг. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2022; 1:54–63. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-54-63.
18. Tarasevich I., Rydkina E., Raoult D. Outbreak of epidemic typhus in Russia. *Lancet.* 1998; 352(9134):1151. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)79799-3.
19. Parola P., Paddock C.D., Socolovschi C., Labruna M.B., Mediannikov O., Kernif T., Abdad M.Y., Stenos J., Bitam I., Fournier P.-E., Raoult D. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clin. Microbiol. Rev.* 2013; 26(4):657–702. DOI: 10.1128/CMR.00032-13.
20. Пеневская Н.А., Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Блох А.И., Транквилевский Д.В., Савельев Д.А., Штрек С.В., Санников А.В. Обзор эпидемиологической ситуации по клещевым риккетсиозам в 2022 г. в Российской Федерации в сравнении с 2013–2021 гг., прогноз на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2023; 2:35–48. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-35-48.
21. Шпынов С.Н., Рудаков Н.В., Зеликман С.Ю., Транквилевский Д.В. Анализ геномов *Coxiella burnetii* при изучении эпидемии лихорадки Ку. *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2022; 7(2):94–101. DOI: 10.23946/2500-0764-2022-7-2-94-101.
22. Блох А.И., Штрек С.В., Савельев Д.А., Егорова О.Ф., Манохина Х.А., Шпынов С.Н., Пеневская Н.А., Рудаков Н.В., Красоткина С.Ю. Особенности эпидемического процесса острых респираторных инфекций и внебольничных пневмоний в Алтайском крае в 2011–2021 гг. В кн.: Актуальные природно-очаговые инфекции: Материалы международной научно-практической конференции. Иркутск; 2023. С. 94–7.
23. Штрек С.В., Рудаков Н.В., Пеневская Н.А., Савельев Д.А., Блох А.И. Многолетняя динамика и интенсивность эпидемического процесса сибирского клещевого тифа в федеральных округах и субъектах Российской Федерации в период 2002–2018 гг. *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2019; 4(3):68–76. DOI: 10.23946/2500-0764-2019-4-3-68-76.
24. Рудаков Н.В., Самойленко И.Е., Штрек С.В., Рудакова С.А., Кумпан Л.В., Иголкина Я.П., Пар В.А., Жираковская Е.В., Ткачев С.Е., Тикунова Н.В., Кострыкина Т.В., Блохина И.А., Ленц П.А. Клинико-лабораторная характеристика клещевого риккетсиоза, связанного с микст-инфицированием *Rickettsia sibirica* и *Candidatus Rickettsia tarasevichiae*. *Инфекция и иммунитет.* 2021; 11(6):1173–8. DOI: 10.15789/2220-7619-CAL-1597.
25. Штрек С.В., Шпынов С.Н., Самойленко И.Е., Санников А.В., Рудаков Н.В. Молекулярно-биологическая верификация диагноза сибирского клещевого тифа с летальным исходом. *Журнал инфектологии.* 2023; 15(1 S1):199–200.
- London: “Informa Healthcare”; 2007. Chapter 5. P. 51–62. DOI: 10.3109/9781420019971.005.
4. Raoult D., Ndiokubwayo J.B., Tissot-Dupont H., Roux V., Faugere B., Abegbinni R., Birtles R.J. Outbreak of epidemic typhus associated with trench fever in Burundi. *Lancet.* 1998; 352(9125):353–8. DOI: 10.1016/S0140-6736(97)12433-3.
5. Han L., Zhang Y., Jin X., Ren H., Teng Z., Sun Z., Xu J., Qin T. Changing epidemiologic patterns of typhus group rickettsiosis and scrub typhus in China, 1950–2022. *Int. J. Infect. Dis.* 2024; 140:52–61. DOI: 10.1016/j.ijid.2023.12.013.
6. Xu N., Liu H., Qu C., Wen S., Zou W., Chang C., Wang G. The presence of foci of *Rickettsia conorii* infection in China. *Infect. Med. (Beijing).* 2023; 2(4):334–7. DOI: 10.1016/j.imj.2023.09.002.
7. Teng Z.Q., Yang L., Zhao N., Li X.T., Dai L.P., Zhang X., Shao T.T., Han L., Zheng R.J., Wen B.H., Kan B., Xu J.G., Lu X.B., Qin T. Emergence of Astrakhan rickettsial fever in China. *J. Infect.* 2024; 88(4):106136. DOI: 10.1016/j.jinf.2024.106136.
8. Tickborne Diseases of the United States: A Reference Manual for Healthcare Providers. Sixth Edition. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Division of Vector-Borne Diseases; 2022. 52 p.
9. Rocky Mountain Spotted Fever (RMSF). (Date of publication 08.05.2022, cited date 03.11.2024). [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/ticks/tickbornediseases/rmsf.html>.
10. Research on doxycycline and tooth staining. (Date of publication 19.02.2019, cited date 03.11.2024). [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/rmsf/doxycycline/index.html>.
11. Cohen R., Finn T., Babushkin F., Paran Y., Ben Ami R., Atamna A., Reisfeld S., Weber G., Petersiel N., Zayyad H., Leshem E., Weinberger M., Maor Y., Makhoul N., Neshet L., Zaide G., Klein D., Beth-Din A., Atiya-Nasagi Y. Spotted fever group rickettsioses in Israel, 2010–2019. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(8):2117–26. DOI: 10.3201/eid2708.203661.
12. Stewart A.G.A., Smith S., Binotto E., McBride W.J.H., Hanson J. The epidemiology and clinical features of rickettsial diseases in North Queensland, Australia: Implications for patient identification and management. *PLOS Negl. Trop. Dis.* 2019; 13(7):e0007583. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007583.
13. Dijkstra F., van der Hoek W., Wijers N., Schimmer B., Rietveld A., Wijkman C.J., Vellema P., Schneeberger P.M. The 2007–2010 Q fever epidemic in the Netherlands: characteristics of notified acute Q fever patients and the association with dairy goat farming. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2012; 64(1):3–12. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2011.00876.x.
14. Whelan J., Schimmer B., Schneeberger P., Meekelenkamp J., Ijff A., van der Hoek W., Robert-Du Ry van Beest Holle M. Q fever among culling workers, the Netherlands, 2009–2010. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(9):1719–23. DOI: 10.3201/eid1709.110051.
15. Saviolov E.D., Astaf'ev V.A., Zhdanova S.N., Zarudnev E.A. [Epidemiological Analysis: Methods of Statistical Processing of the Material]. Novosibirsk: “Nauka-Tsentr”; 2011. 156 p.
16. Kolpakov S.L., Yakovlev A.A. [About the methodology of assessment of epidemiological situation]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2015; 20(4):34–9.
17. Rudakov N.V., Pen'evskaya N.A., Kumpan L.V., Blokh A.I., Shpynov S.N., Trankvilevsky D.V., Shtrek S.V. [Epidemiological situation on tick-borne spotted fever group rickettsioses in the Russian Federation in 2012–2021, prognosis for 2022–2026]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (1):54–63. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-54-63.
18. Tarasevich I., Rydkina E., Raoult D. Outbreak of epidemic typhus in Russia. *Lancet.* 1998; 352(9134):1151. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)79799-3.
19. Parola P., Paddock C.D., Socolovschi C., Labruna M.B., Mediannikov O., Kernif T., Abdad M.Y., Stenos J., Bitam I., Fournier P.-E., Raoult D. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clin. Microbiol. Rev.* 2013; 26(4):657–702. DOI: 10.1128/CMR.00032-13.
20. Pen'evskaya N.A., Rudakov N.V., Shpynov S.N., Blokh A.I., Trankvilevsky D.V., Savel'ev D.A., Shtrek S.V., Sannikov A.V. [Review of epidemiological situation on rickettsioses in the Russian Federation in 2022 as compared with 2013–2021, forecast for 2023]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (2):35–48. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-35-48.
21. Shpynov S.N., Rudakov N.V., Zelikman S.Yu., Trankvilevsky D.V. [Analysis of *Coxiella burnetii* genomes in context of epidemic Q fever]. *Fundamental'naya i Klinicheskaya Meditsina [Fundamental and Clinical Medicine]*. 2022; 7(2):94–101. DOI: 10.23946/2500-0764-2022-7-2-94-101.
22. Blokh A.I., Shtrek S.V., Saveliev D.A., Egorova O.F., Manohina H.A., Shpinov S.N., Pen'evskaya N.A., Rudakov N.V., Krasotkina S.Yu. [Features of the epidemic process of acute respiratory infections and community-acquired pneumonia in the Altai Territory in 2011–2021]. In: [Relevant Natural Focal Infections. Materials of the International Scientific and Practical Conference]. Irkutsk; 2023. P. 94–7.

## References

1. Raoult D., Roux V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. *Clin. Microbiol. Rev.* 1997; 10(4):694–719. DOI: 10.1128/CMR.10.4.694.
2. Raoult D., Woodward T., Dumler J.S. The history of epidemic typhus. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2004; 18(1):127–40. DOI: 10.1016/S0891-5520(03)00093-X.
3. Houhamdi L., Raoult D. Louse-borne epidemic typhus. In: Raoult D., Parola P., editors. *Rickettsial Diseases*. N.-Y.;



23. Shtrek S.V., Rudakov N.V., Penjevskaia N.A., Saveliev D.A., Blokh A.I. [Long-term dynamics and epidemic intensity of Siberian tick typhus in federal districts and regions of Russian federation during 2002–2018]. *Fundamental'naya i Klinicheskaya Meditsina [Fundamental and Clinical Medicine]*. 2019; 4(3):68–76. DOI: 10.23946/2500-0764-2019-4-3-68-76.

24. Rudakov N.V., Samojlenko I.E., Shtrek S.V., Rudakova S.A., Kumpan L.V., Igolkina Ya.P., Rar V.A., Zhirakovskaya E.V., Tkachev S.E., Tikunova N.V., Kostyukina T.V., Blohina I.A., Lenc P.A. [Clinical and laboratory characteristics of tick-borne rickettsiosis related to *Rickettsia sibirica* and *Candidatus Rickettsia tarasevichiae*]. *Infektsiya i Immunitet [Russian Journal of Infection and Immunity]*. 2021; 11(6):1173–8. DOI: 10.15789/2220-7619-CAL-1597.

25. Shtrek S.V., Shpynov S.N., Samojlenko I.E., Sannikov A.V., Rudakov N.V. [Molecular biological verification of the diagnosis of Siberian tick-borne typhus with a fatal outcome]. *Zhurnal Infektologii [Russian Journal of Infectology]*. 2023; 15(1 S1): 199–200.

#### Authors:

*Shtrek S.V., Rudakov N.V., S Shpynov N., Blokh A.I., Pen'evskaya N.A., Kumpan L.V., Sannikov A.V.* Omsk Research Institute of Natural-Focal Infections; 7, Avenue Mira, Omsk, 644080, Russian Federation; e-mail: mail@oniipi.org. Omsk State Medical University; Omsk, Russian Federation.

*Trankvilevsky D.V.* Federal Center of Hygiene and Epidemiology; 19a, Varshavskoe Highway, Moscow, 117105, Russian Federation; e-mail: gsen@fcgie.ru. Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman; Moscow, Russian Federation.

#### Об авторах:

*Штрек С.В., Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Блох А.И., Пеневская Н.А., Кумпан Л.В., Санников А.В.* Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций; Российская Федерация, 644080, Омск, проспект Мира, 7; e-mail: mail@oniipi.org. Омский государственный медицинский университет; Российская Федерация, Омск.

*Транквилевский Д.В.* Федеральный центр гигиены и эпидемиологии; Российская Федерация, 117105, Москва, Варшавское шоссе, 19а; e-mail: gsen@fcgie.ru. Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана; Российская Федерация, Москва.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-74-80

УДК 616.98:579.841.95

Н.В. Аронова, Н.В. Павлович, М.Г. Мелоян, М.В. Цимбалистова, **А.К. Носков**

**Особенности везикуляции у вирулентных и авирулентных ЛПС-дефектных штаммов *Francisella tularensis* различной подвидовой принадлежности**

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

**Целью** работы явилось сравнительное изучение внеклеточных везикул (OMVs) и их композиционного состава у вирулентных и авирулентных (ЛПС-дефектных) штаммов *Francisella tularensis* различной подвидовой принадлежности. **Материалы и методы.** С помощью трансмиссионной электронной микроскопии изучен процесс везикуляции у бактерий *F. tularensis*. Полученные препараты OMVs охарактеризованы по композиционному составу иммунологическими методами: реакция нейтрализации антител (РНАт), иммунохроматографический анализ, дот- и иммуноблоттинг. **Результаты и обсуждение.** Установлено, что все природные вирулентные штаммы, обладающие S-типом липополисахарида (ЛПС), способны к образованию двух форм везикул: округлых и тубулярных (tubes), специфичных для *F. tularensis*. У авирулентных ЛПС-дефектных штаммов образование OMVs не зарегистрировано. Выявлено, что везикулы штаммов различных подвигов имеют свои индивидуальные морфологические особенности. Тубулярные структуры среднеазиатского штамма отличались большими размерами по сравнению с голарктическим штаммом. Возможно, именно это определило тот факт, что препараты везикул *F. tularensis* subsp. *mediasiatica*, полученные с использованием фильтров с диаметром пор 0,22 мкм были резко обеднены тубулярными формами. Предложен способ обеззараживания суспензий бактерий с помощью гентамицина, не влияющий на морфологию и антигенную активность везикул. При сравнительном изучении нескольких серий концентрированных препаратов OMVs из разных штаммов туляремии микроба обнаружено, что все образцы обладали антигенной активностью в реакции преципитации по Оухтерлони, РНАт, ИХ-тесте, дот- и иммуноблоттинге. Исследуемые образцы содержали иммунодоминантный антиген – ЛПС и несколько мажорных антигенактивных белков. Выявлены отличия в композиционном составе иммунодоминантных белков везикул, полученных из штаммов разных подвигов туляремии микроба.

**Ключевые слова:** везикулы наружной мембраны, *F. tularensis* subsp. *holarctica*, *mediasiatica*, *novicida*, ЛПС.

Корреспондирующий автор: Аронова Надежда Валентиновна, e-mail: info@tularemia.ru.

Для цитирования: Аронова Н.В., Павлович Н.В., Мелоян М.Г., Цимбалистова М.В., Носков А.К. Особенности везикуляции у вирулентных и авирулентных ЛПС-дефектных штаммов *Francisella tularensis* различной подвидовой принадлежности. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 3:74–80. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-74-80

Поступила 12.01.2024. Отправлена на доработку 27.02.2024. Принята к публ. 15.03.2024.

N.V. Aronova, N.V. Pavlovich, M.G. Meloyan, M.V. Tsimbalistova, **A.K. Noskov**

**Peculiarities of Vesiculation in Virulent and Avirulent LPS-Defective Strains of *Francisella tularensis* of Various Subspecies**

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

**Abstract.** The aim of the study was to compare outer membrane vesicles (OMVs) and their composition in virulent and avirulent (LPS-defective) strains of *Francisella tularensis* of various subspecies. **Materials and methods.** The vesiculation process in *F. tularensis* bacteria was studied using transmission electron microscopy. OMVs preparations were obtained and characterized by their composition using immunological methods: antibody neutralization test, immunochromatographic analysis, dot and immunoblotting. **Results and discussion.** It has been found that all natural virulent strains with the S type lipopolysaccharide (LPS) are able to produce two forms of vesicles – spherical and tubular (“tubes”), specific for *F. tularensis*. OMVs formation has not been registered in avirulent LPS-defective strains. It is revealed that vesicles of strains of various subspecies show their own individual morphological features. The tubes of *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* are larger in size as compared to those of the subsp. *holarctica* strain. This is probably the reason why vesicle preparations from *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* obtained using filters with a diameter of pores being 0.22 μm contained a significantly reduced number of tubular forms. A method of disinfection of bacterial suspensions using gentamycin, which does not affect the morphology and antigenic activity of vesicles, is proposed. A comparative study of several series of concentrated OMVs preparations obtained from different strains has revealed that all samples had antigenic activity in the precipitation Ouchterlony test, antibody neutralization test, immunochromatographic assay, dot-blot and immunoblotting. Immunodominant antigen – LPS and several major antigenic proteins have been detected in the preparations. Differences in the composition of vesicle proteins in the strains of various *F. tularensis* subspecies have been identified.

**Key words:** outer membrane vesicles, *F. tularensis* subsp. *holarctica*, *mediasiatica*, *novicida*, LPS.

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

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

*Corresponding author:* Nadezda V. Aronova, e-mail: info@tularemia.ru.

*Citation:* Aronova N.V., Pavlovich N.V., Meloyan M.G., Tsimbalistova M.V., Noskov A.K. Peculiarities of Vesiculation in Virulent and Avirulent LPS-Defective Strains of *Francisella tularensis* of Various Subspecies. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2024; 3:74–80. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-74-80

Received 12.01.2024. Revised 27.02.2024. Accepted 15.03.2024.

Aronova N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7772-9276>

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

Meloyan M.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7268-9298>

Tsimbalistova M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4091-649X>

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

В настоящее время возрастает интерес исследователей к такому феномену жизнедеятельности бактерий, как образование мембранных везикул. Установлено, что эти структуры многофункциональны и играют значимую роль в выживании и адаптации микроорганизмов, осуществляя взаимодействие бактерий с факторами окружающей среды, микробными сообществами или макроорганизмом [1–5]. Везикулы наружных мембран (OMVs) грамотрицательных бактерий имеют, как правило, сферическую форму, созданную фрагментами наружной мембраны, и содержат различные биологически активные молекулы: липополисахариды (ЛПС), ферменты, порины, токсины, рецепторы и, по некоторым данным, РНК или ДНК [1, 6]. Разнообразие композиционного состава позволяет OMVs выполнять самые разные биологические функции: принимать участие в колонизации, персистенции, экспрессии вирулентности, а также модулировать иммунный ответ хозяина [2, 6, 7]. В зависимости от условий окружающей среды бактериальные клетки способны варьировать включением тех или иных компонентов в OMVs [6, 8]. Изучение везикул наружных мембран показало их связь с пато- и иммуногенезом заболеваний бактериальной природы [1, 6, 9].

С практической точки зрения важной особенностью везикул является способность вызывать иммунный ответ макроорганизма, в том числе и специфический. Этот факт позволяет рассматривать их в качестве кандидатов в вакцинные препараты [10]. Основные преимущества такого подхода – это биологическая безопасность вакцины, нативная конформация антигенов в везикулах и возможность комбинированных препаратов [10]. Иллюстрацией этому может служить создание и успешное применение менингококковой везикулярной вакцины [11].

Туляремия является тяжелым заболеванием человека и животных и относится к вакциноконтролируемым природно-очаговым инфекциям. Этиологический агент болезни – *Francisella tularensis* – имеет длительную историю изучения, однако факторы его вирулентности до сих пор полностью не расшифрованы. В настоящее время принято считать, что патогенность возбудителя туляремии реализуется посредством сложного набора детерминант, экспрессирующихся преимущественно *in vivo* [12]. Большинство авторов признает, что одним из важных факторов вирулентности является ЛПС, который является также основным иммунодоминантным антигеном микробной клетки [13–16].

Многолетние исследования по созданию безопасной химической вакцины на основе ЛПС *F. tularensis* и антигенактивных белков не увенчались успехом. Как выявлено, очищенные препараты ЛПС или ЛПС-белковый комплекс, представляемый убитыми бактериями, не обладают токсичностью и протективной активностью [15, 17–19]. В связи с этим одним из подходов к решению проблемы может быть выяснение роли везикул бактерий в патогенезе и иммуногенезе туляремийной инфекции и создание в будущем на их основе везикулярной вакцины.

В научной литературе имеются лишь немногочисленные работы по изучению химического состава и биологической активности везикул франциселл, выполненные на весьма ограниченном наборе штаммов [19–25]. Следует подчеркнуть, что отличительной особенностью внеклеточных везикул туляремийного микроба является наличие двух видов OMVs: сферической формы, характерной для многих микробов, и палочковидной, специфичной только для франциселл, обозначаемой как трубочки (tubes или OMVs/T). Вместе с тем биологическая функция тубулярных элементов на сегодняшний день однозначно не установлена. Так, в работе I. Pavkova *et al.* показано поглощение везикул туляремийного микроба мышинными макрофагами и высказывается предположение о важной роли в этом процессе именно тубулярных структур [26]. До 2018 г. исследования выполнялись на слабо патогенном подвиде *F. tularensis* subsp. *novicida* и вакцинном штамме *F. tularensis* [19–21]. В последние годы появились работы по изучению продукции везикул и их протеома у вирулентных штаммов возбудителя [22–26]. Выявлена разница в белковом составе везикул между штаммами подвидов *tularensis* и *holarctica*, а также показаны отличия в наборе белков у везикул, вырабатываемых в ответ на различные стрессовые условия окружающей среды [24, 25]. Интересно, что наибольшие изменения регистрировались в спектре белков, участвующих в биосинтезе и метаболизме компонентов бактериальной оболочки, таких как О-антиген, липид А, фосфолипиды, жирные кислоты и некоторые основные структурные белки внешней мембраны. В то же время для штаммов среднеазиатского подвида сведения о продукции везикул в литературе отсутствуют. Кроме того, протективная способность нативных везикул вирулентных штаммов возбудителя туляремии до настоящего времени изучена слабо. В частности, показано протективное действие только OMVs *F. tularensis* subsp. *novicida*



и *F. noatunensis*, а также везикул рекомбинантного штамма *Escherichia coli*, презентующих на своей мембране ЛПС *F. tularensis* [19, 27–29].

**Целью** работы явилось сравнительное изучение внеклеточных везикул и их композиционного состава у вирулентных и авирулентных (ЛПС-дефектных) штаммов *F. tularensis* различной подвидовой принадлежности.

### Материалы и методы

Все этапы исследования проводили в соответствии с требованиями СанПиН 3.3686-21. В работе использовали штаммы туляремия микроба: *F. tularensis* subsp. *holarctica* 503 (типовой, вирулентный), 117 (вирулентный), 15 НИИЭГ (вакцинный); *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* 543 (типовой, вирулентный) и *F. tularensis* subsp. *novicida* Utah 112 (типовой, слабо патогенный). В исследование включены также авирулентные изогенные ЛПС-дефектные варианты *F. tularensis* subsp. *holarctica* 117 *cap*<sup>-</sup> и *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* 543 *cap*<sup>-</sup>. Бактерии выращивали на агаре Мюллера – Хинтона с добавлением специальной ростовой добавки и полимиксина (100 ед/мл).

Визуализацию везикул в мазках стандартизованных бактериальных суспензий ( $10^{10}$  КОЕ/мл) и концентрированных препаратов проводили с помощью трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) на цифровом микроскопе Jeol JEM 1011. Все манипуляции выполняли согласно МУ 1.3.3103-13. Для обеззараживания взвесей микроорганизмов и препаратов для электронной микроскопии использовали добавление глutarового альдегида до конечной концентрации 2,5 % с экспозицией 2 ч с последующим контролем их специфической стерильности бактериологическим методом. Исследуемые образцы окрашивали методом негативного контрастирования, для чего их наносили на сетки с пленкой-подложкой из формвара (0,5 %) и инкубировали 2 мин с 2 % раствором уранилацетата. Приготовленные образцы изучали в электронном микроскопе с увеличением в 40–200 тыс. раз.

В качестве исходного материала для выделения OMVs и OMVs/T использовали бактериальную суспензию точной агаровой культуры в концентрации  $10^{10}$  КОЕ/мл (100 мл). Микробную взвесь обеззараживали гентамицином (200 мкг/мл, 2 ч при комнатной температуре) с последующим высевом на питательные среды с целью контроля стерильности. Для удаления клеток суспензию центрифугировали 15 мин при 10000 g и далее супернатанты фильтровали через мембраны (полиэтилсульфон, PES) с диаметром пор 0,45 мкм или 0,22 мкм. Концентрирование везикул в бесклеточных фильтратах осуществляли высокоскоростным центрифугированием (90 мин, 44000 g). Осадок ресуспендировали в 0,5 мл 0,9 % раствора натрия хлорида.

Контроль специфической стерильности полученных образцов осуществляли бактериологиче-

ским методом. Наличие и морфологию везикул в полученных препаратах оценивали по результатам просмотра мазков в ТЭМ.

Специфическую антигенную активность везикулярных препаратов исследовали в реакции преципитации по Оухтерлони и дот-блоттинге (1 мкл препарата на пятно) с экспериментальными кроличьими противотуляреминой и «противоновицидной» сыворотками [30]. Иммунологическую активность везикул вирулентных штаммов регистрировали в реакции нейтрализации антител с коммерческим эритроцитарным антигенным туляреминым диагностиком «РНГА-Аг-СтавНИПЧИ» (производство ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь) и с помощью иммунохроматографической тест-системы «ИХ тест-система *F. tularensis*» для выявления и идентификации возбудителя туляремии (производство ФБУН ПМБ ГНЦ Роспотребнадзора, Оболенск).

Изучение композиционного состава антигенов везикул проводили с помощью иммуноблоттинга [30]. Препараты разделяли в 15 % полиакриламидном геле в присутствии SDS по методике U.K. Laemmli [31] с последующим электропереносом на нитроцеллюлозную мембрану согласно H. Towbin, J. Gordon [30]. Для обработки блотов использовали экспериментальные кроличьи сыворотки против *F. tularensis* и *F. tularensis* subsp. *novicida* (титр 1:2500–1:5000). Антиген-активные зоны выявляли конъюгатом белка А с пероксидазой хрена (Sigma) и раствором тетраметилбензидина (ТМБ) (Serva).

### Результаты и обсуждение

Для сравнительного анализа образования OMVs у штаммов различной подвидовой принадлежности, а также оценки участия поверхностных структур туляремиального микроба в формировании внеклеточных везикул в работу включены штаммы голарктического и среднеазиатского подвида с полноценной структурой S-ЛПС, а также их изогенные ЛПС-дефектные (R-ЛПС) варианты, вакцинный штамм с укороченной длиной O-цепи ЛПС и штамм подвида *novicida* с S-ЛПС, обладающим другой антигенной специфичностью. С помощью ТЭМ стандартизованных бактериальных взвесей установлено, что вне зависимости от подвидовой принадлежности все типичные природные штаммы, в том числе и *F. tularensis* subsp. *novicida*, продуцировали везикулы двух типов: округлые (OMVs) и характерные для франциселл тубулярные (tubes, OMVs/T) (рис. 1).

Размер округлых везикул не отличался у разных штаммов и находился в пределах от 0,05 до 0,2 мкм (рис. 2).

Характерные для франциселл тубулярные структуры имели более крупные размеры – от 0,3 до 0,5 мкм в длину и 0,06–0,14 мкм в поперечнике (рис. 3).

Полученные данные согласуются с результатами других исследователей, показавших, что бактерии

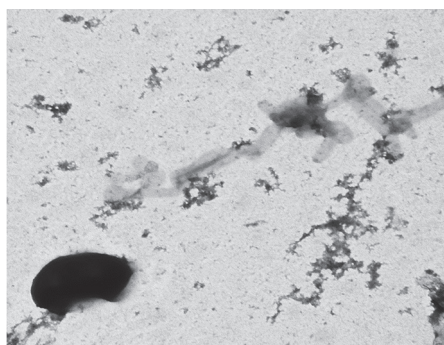


Рис. 1. Результаты ТЭМ бактериальной культуры *F. tularensis* subsp. *holarctica* 503. Представлены бактериальные клетки (интенсивно окрашенные) и везикулы округлой и тубулярной формы (слабо окрашенные) (увеличение 1:60000)

Fig. 1. TEM of the bacterial culture of *F. tularensis* subsp. *holarctica* 503. Bacterial cells (intensely stained) and vesicles of spherical and tubular shape (slightly stained) are presented (magnification 1:60000)

подвидов *novicida*, *holarctica* и *tularensis*, а также новый представитель рода – *F. noatunensis* продуцируют два морфотипа везикул [20, 21, 24, 25, 27, 28].

Вместе с тем результаты наших экспериментов выявили, что везикулы бактерии среднеазиатского подвида имеют свои индивидуальные особенности. Как и другие вирулентные штаммы, *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* 543 характеризовался интенсивной продукцией OMVs и OMVs/T. В то же время тубулярные элементы имели более крупные размеры (0,09–0,14 мкм) в ширину, чем у голарктических штаммов (0,06–0,11 мкм). Вакцинный штамм, обладающий укороченной длиной полисахаридной цепи ЛПС, уступал вирулентным штаммам и *F. tularensis* subsp. *novicida* в образовании OMVs/T. Заслуживает внимания тот факт, что, согласно данным ТЭМ, у исследуемых образцов из авирулентных мутантов туляремиального микроба, синтезирующих R-ЛПС, не зарегистрировано появление ни округлых, ни тубулярных форм везикул наружной мембраны. Эти ре-

зультаты сопоставимы с недавно опубликованными в работе J. Bavlovic *et al.*, в которой показано, что мутанты с неполноценным S-ЛПС демонстрировали низкую способность образовывать OMVs/T [32].

Полученные данные позволяют предполагать, что образование везикул у возбудителя туляремии коррелирует с синтезом полноценной капсулы и длинноцепочечной S-формы ЛПС.

Следующий этап исследования включал в себя получение концентрированных препаратов везикул туляремиального микроба разных подвигов и оценку их композиционного состава.

Анализ используемых методических приемов выделения везикул *F. tularensis* у разных авторов показал отсутствие стандартного подхода. Так, например, имеются сведения о применении мембран с разным диаметром пор (0,45 или 0,22 мкм) для удаления бактериальных клеток из препарата [22, 24]. Более того, в литературе отсутствуют данные о влиянии подвиговой принадлежности на эффективность выделения полноценных препаратов, содержащих OMVs и OMVs/T. В связи с этим мы провели предварительные опыты по изучению специфической стерильности биологического материала после фильтрации живых бактериальных взвесей разных подвигов через мембраны с различным размером пор. Контроль специфической стерильности образцов осуществляли бактериологическим методом. Как обнаружено, только мембраны 0,22 мкм позволили получить бесклеточные препараты для дальнейшей работы. В противоположность этому, мембраны 0,45 мкм не обеспечивали полное удаление бактериальных клеток, в частности препараты содержали жизнеспособные бактерии  $n \cdot 10^2$  КОЕ/мл для вирулентных штаммов *F. tularensis* и  $10^5$  КОЕ/мл для *F. tularensis* subsp. *novicida*. Поэтому мы исследовали возможность использования способа обеззараживания материала с помощью гентамицина.

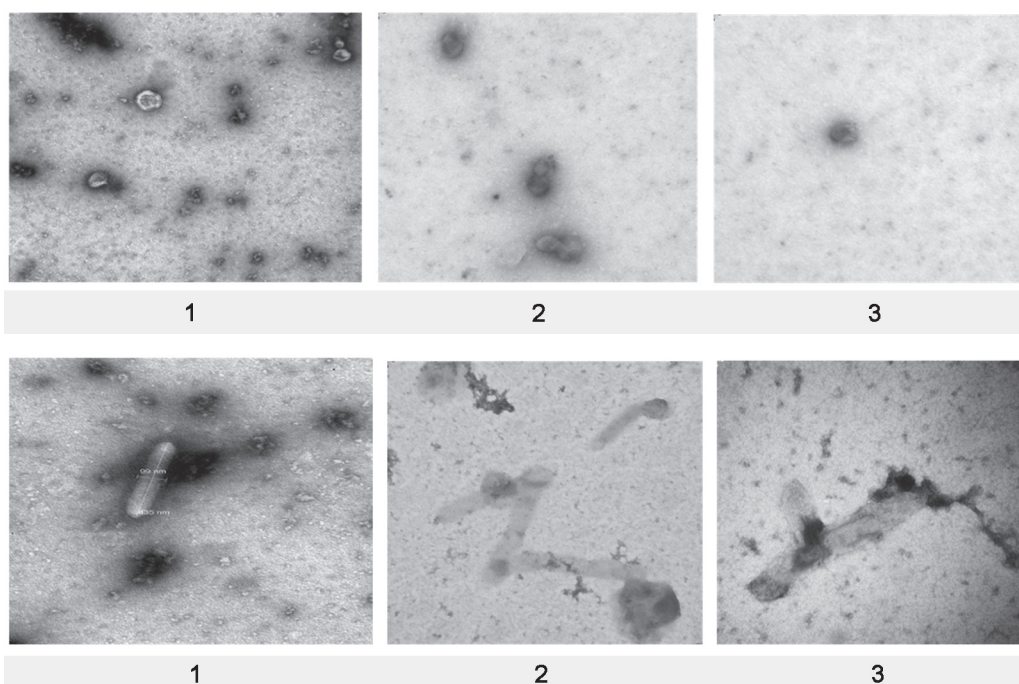


Рис. 2. Представлены OMVs округлой формы штаммов *F. tularensis* subsp. *holarctica* 503 (1) и *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* 543 (2, 3) (ТЭМ, 1:60000)

Fig. 2. OMVs of spherical shape from *F. tularensis* subsp. *holarctica* 503 (1) and *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* 543 (2, 3) (TEM, 1:60000)

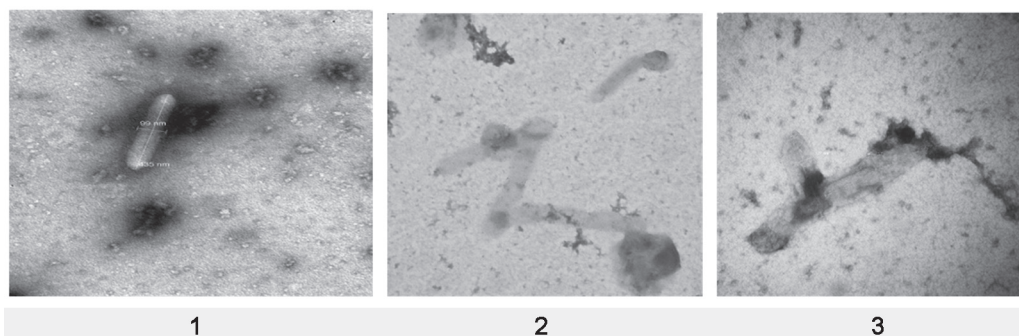


Рис. 3. Представлены OMVs тубулярной формы штаммов *F. tularensis* subsp. *holarctica* 503 (1, 2) и *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* 543 (3) (ТЭМ, 1:60000)

Fig. 3. OMVs of tubular shape from *F. tularensis* subsp. *holarctica* 503 (1, 2) and *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* 543 (3) (TEM, 1:60000)



Установлено, что 200 мкг/мл гентамицина с экспозицией 2 ч при комнатной температуре обеспечивали специфическую стерильность бактериальной взвеси в концентрации  $10^{10}$  КОЕ/мл. В дальнейшем показано, что использование для выделения везикул микробных суспензий, обработанных гентамицином, не отражалось на морфологической целостности и антигенной активности OMVs и OMVs/T.

Для сравнительного анализа получены по два типа препаратов каждого подвида: с использованием фильтров с размером пор 0,45 и 0,22 мкм. Однако в отношении *F. tularensis* subsp. *novicida* образец, полученный с применением мембраны 0,45 мкм, был исключен из исследования, так как содержал большое количество клеток. Концентрирование осуществляли высокоскоростным центрифугированием (4 °C, 90 мин, 44000 g). Характеристики концентрированных образцов представлены в таблице.

Согласно результатам ТЭМ, все препараты содержали две морфологические формы везикул, за исключением образца среднеазиатского штамма, в котором после прохождения мембраны с порами 0,22 мкм крайне редко визуализировались тубулярные формы. Нельзя исключить, что данные структуры, в отличие от аналогичных палочковидных везикул subsp. *holarctica* или *novicida*, с затруднением преодолевают мембрану 0,22 мкм. Следовательно, везикулы штаммов различных подвидов имеют свои индивидуальные морфологические особенности, что необходимо учитывать при получении полноценных препаратов. Возможно, факт ограниченного проникновения через мелкие поры фильтра OMVs/T подвида *mediasiatica* обусловлен их более крупными размерами. При этом округлые формы меньшего размера присутствовали во всех изученных препаратах в большом количестве.

Исследуемые концентрированные препараты обладали четко регистрируемыми антигенными свойствами в реакции преципитации по Оухтерлони и дот-блоттинге. Дополнительно антигенная активность везикул вирулентных штаммов возбудителя туляремии, обусловленная присутствием ЛПС, подтверждена с коммерческими диагностическими препаратами в РНАт и с помощью ИХ-теста, как после мембран 0,45 мкм, так и в бесклеточных образцах (0,22 мкм). Параметры чувствительности используемых методов ( $10^6$  м.кл./мл для РНАт и  $10^7$  м.кл./мл

для ИХ-теста) исключают возможность влияния на результат незначительного количества бактериальных клеток, оставшихся в материале после фильтров 0,45 мкм. Следовательно, антигенная активность препаратов обусловлена наличием везикул наружных мембран *F. tularensis*, содержащих ЛПС.

Результаты вестерн-блоттинга показали, что во всех образцах везикул возбудителя туляремии в значимых количествах присутствует иммунодоминантный специфический антиген – S-ЛПС *F. tularensis*, а в препарате *F. tularensis* subsp. *novicida* – S-ЛПС, специфичный для этого микроба (рис. 4).

Кроме того, в препаратах визуализируются несколько иммуноактивных белков с молекулярными массами в пределах 40–60 и 20–25 кДа. При сравнительном анализе препаратов, полученных из вирулентных штаммов разных подвидов возбудителя туляремии, установлено, что везикулы отличались по составу иммунодоминантных белков. Так, в везикулах штамма среднеазиатского подвида на иммуноблоте отсутствовал мажорный белок с молекулярной массой в районе 45 кДа. Особенностью штамма *F. tularensis* subsp. *novicida* было присутствие высокомолекулярных белковых антигенов в пределах 40–100 кДа и так же, как и в других препаратах, наличие мажорного антигена с молекулярной массой 20–25 кДа.

Таким образом, результаты исследования показали, что на процесс везикуляции туляремиального микроба существенное влияние оказывают поверхностные структуры бактериальной клетки. Так, наличие у туляремиального микроба полноценного S-ЛПС коррелирует со способностью бактерий к эффективной продукции везикул. В противоположность этому, у авирулентных вариантов, синтезирующих R-ЛПС, образование везикул не зарегистрировано. Наличие в везикулах в значимом количестве антигена S-ЛПС *F. tularensis* свидетельствует о том, что этот биополимер принимает участие не только в продукции везикул, но и в реализации их биологических функций. Например, установлено, что в механизме поглощения везикул макрофагами важную роль играет ЛПС туляремиального микроба [26].

Впервые изучена везикуляция туляремиального микроба среднеазиатского подвида, бактерии которого характеризовались интенсивной продукцией OMVs и OMVs/T, но при этом имели свои индивидуальные особенности. При фильтрации бактериаль-

Характеристика препаратов везикул из штаммов *F. tularensis* различной подвидовой принадлежности, полученных при использовании фильтров с различным диаметром пор

Characterization of vesicle preparations from *F. tularensis* strains of different subspecies, obtained using filters with various pore size

Показатели Indicators	Подвиды <i>F. tularensis</i> / Subspecies of <i>F. tularensis</i>					
	subsp. <i>holarctica</i>		subsp. <i>mediasiatica</i>		subsp. <i>novicida</i>	
Размер пор фильтрующей мембраны, мкм Filter membrane pore size, microns	0,45	0,22	0,45	0,22	0,45	0,22
Концентрация бактерий, КОЕ/мл Bacterial content, CFU/ml	$10^3$	Рост отсутствует No growth	$10^3$	Рост отсутствует No growth	$10^6$	Рост отсутствует No growth
Наличие двух типов везикул, OMVs/OMVsT Presence of two types of vesicles, OMVs/OMVsT	+/+	+/+	+/+	+/-	+/+	+/+



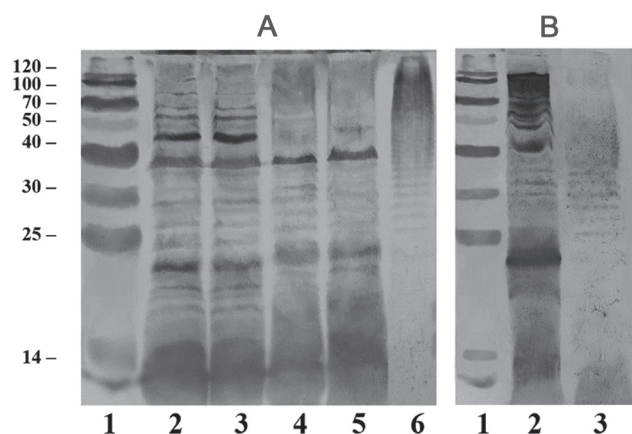


Рис. 4. Результаты иммуноблоттинга препаратов везикул:

*A* – иммуноблоттинг препаратов везикул с экспериментальной кроличьей противотуляреминой сывороткой. Треки: маркеры молекулярного веса (кДа) (1); препараты везикул штаммов *F. tularensis* 503 при использовании фильтров 0,22 мкм (2) и 0,45 мкм (3); *F. tularensis* 543 при использовании фильтров 0,22 мкм (4) и 0,45 мкм (5); препарат ЛПС *F. tularensis* 503 (50 мкг) (6);

*B* – иммуноблоттинг препаратов везикул с экспериментальной кроличьей сывороткой против *F. tularensis* subsp. *novicida*. Треки: маркеры молекулярного веса (кДа) (1); препарат везикул *F. tularensis* subsp. *novicida* при использовании фильтров 0,22 мкм (2); препарат ЛПС *F. tularensis* subsp. *novicida* (50 мкг) (3)

Fig. 4. Results of immunoblotting of vesicle preparations:

*A* – immunoblotting of vesicle preparations with experimental rabbit serum against *F. tularensis*. Tracks: molecular weight markers (kDa) (1); vesicle preparations of *F. tularensis* 503 when using filters of 0.22 microns (2) and 0.45 microns (3); *F. tularensis* 543 when using filters of 0.22 microns (4) and 0.45 microns (5); LPS preparation of *F. tularensis* 503 (50 mcg) (6);

*B* – immunoblotting of vesicle preparations with experimental rabbit serum against *F. tularensis* subsp. *novicida*. Tracks: molecular weight markers (kDa) (1); *F. tularensis* subsp. *novicida* vesicle preparation when using filters of 0.22 microns (2) and *F. novicida* LPS preparation (50 mcg) (3)

ных суспензий через мембраны с мелкими порами (0,22 мкм) получены образцы, обедненные содержанием тубулярных форм. Можно предположить, что данный факт связан с более крупными, по сравнению с гомарктическим штаммом, размерами этих структур. Более того, выявлена разница в спектре иммунодоминантных белков везикул в зависимости от подвиговой принадлежности родительского штамма. Полученные результаты обуславливают перспективность дальнейшего изучения роли внеклеточных везикул в пато- и иммуногенезе туляреминой инфекции.

**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. Kuehn M.J., Kesty N.C. Bacterial outer membrane vesicles and the host-pathogen interaction. *Genes. Dev.* 2005; 19(22):2645–55. DOI: 10.1101/gad.1299905.
2. Kulp A., Kuehn M.J. Biological functions and biogenesis of secreted bacterial outer membrane vesicles. *Annu. Rev. Microbiol.* 2010; 64:163–84. DOI: 10.1146/annurev.micro.091208.073413.
3. Schwechheimer C., Kuehn M.J. Outer-membrane vesicles from gram-negative bacteria: biogenesis and functions. *Nat. Rev. Microbiol.* 2015; 13(10):605–19. DOI: 10.1038/nrmicro3525.
4. Малкова М.А., Дудина Л.Г., Девришов Д.А., Бывалов А.А. Везикулообразование грамотрицательных бактерий (обзор литературы). *Advanced Science.* 2017; 4:3.

5. Луста К.А. Бактериальные мембранные внеклеточные нановезикулы: строение, биогенез, функции, использование в биотехнологии и медицине (обзор). *Прикладная биохимия и микробиология.* 2015; 51(5):443–52. DOI: 10.7868/S0555109915040091.
6. Ellis T.N., Kuehn M.J. Virulence and immunomodulatory roles of bacterial outer membrane vesicles. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2010; 74(1):81–94. DOI: 10.1128/MMBR.00031-09.
7. Schooling S.R., Beveridge T.J. Membrane vesicles: an overlooked component of the matrices of biofilms. *J. Bacteriol.* 2006; 188(16):5945–57. DOI: 10.1128/JB.00257-06.
8. Lee E.Y., Choi D.S., Kim K.P., Gho Y.S. Proteomics in gram-negative bacterial outer membrane vesicles. *Mass Spectrom. Rev.* 2008; 27(6):535–55. DOI: 10.1002/mas.20175.
9. Yoon H. Bacterial outer membrane vesicles as a delivery system for virulence regulation. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2016; 26(8):1343–7. DOI: 10.4014/jmb.1604.04080.
10. Wang S., Gao J., Wang Z. Outer membrane vesicles for vaccination and targeted drug delivery. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* 2019; 11(2):e1523. DOI: 10.1002/wnan.1523.
11. Pizza M., Bekkat-Berkani R., Rappuoli R. Vaccines against meningococcal diseases. *Microorganisms.* 2020; 8(10):1521. DOI: 10.3390/microorganisms8101521.
12. Spidlova P., Stojkova P., Sjöstedt A., Stulik J. Control of *Francisella tularensis* virulence at gene level: network of transcription factors. *Microorganisms.* 2020; 8(10):1622. DOI: 10.3390/microorganisms8101622.
13. Jones B.D., Faron M., Rasmussen J.A., Fletcher J.R. Uncovering the components of the *Francisella tularensis* virulence stealth strategy. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2014; 4:32. DOI: 10.3389/fcimb.2014.00032.
14. Rowe H.M., Huntley J.F. From the outside-in: The *Francisella tularensis* envelope and virulence. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2015; 5:94. DOI: 10.3389/fcimb.2015.00094.
15. Ellis J., Oyston C.F., Green M., Titball R.W. Tularemia. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002; 15(4):631–46. DOI: 10.1128/CMR.15.4.631-646.2002.
16. Аронова Н.В., Павлович Н.В. Сравнительный анализ иммунного ответа кролика на антигены живых и убитых бактерий рода *Francisella*. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2001; 2:26–30.
17. Sandström G., Sjöstedt A., Johansson T., Kuoppa K., Williams J.C. Immunogenicity and toxicity of lipopolysaccharide from *Francisella tularensis* LVS. *FEMS Microbiol. Immunol.* 1992; 5(4):201–10. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1992.tb05902.x.
18. Оноприенко Н.Н., Павлович Н.В. Роль липополисахарида в токсичности бактерий рода *Francisella*. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2003; 3:23–9.
19. Pierson T., Matrakas D., Taylor Y.U., Manyam G., Morozov V.N., Zhou W., van Hoek M.L. Proteomic characterization and functional analysis of outer membrane vesicles of *Francisella novicida* suggests possible role in virulence and use as a vaccine. *J. Proteome Res.* 2011; 10(3):954–67. DOI: 10.1021/pr1009756.
20. McCaig W.D., Koller A., Thanassi D.G. Production of outer membrane vesicles and outer membrane tubes by *Francisella novicida*. *J. Bacteriol.* 2013; 195(6):1120–32. DOI: 10.1128/JB.02007-12.
21. Chen F., Cui G., Wang S., Nair M.K.M., He L., Qi X., Han X., Zhang H., Zhang J.R., Su J. Outer membrane vesicle-associated lipase FtlA enhances cellular invasion and virulence in *Francisella tularensis* LVS. *Emerg. Microbes Infect.* 2017; 6(7):e66. DOI: 10.1038/emi.2017.53.
22. Champion A.E., Bandara A.B., Mohapatra N., Fulton K.M., Twine S.M., Inzana T.J. Further characterization of the capsule-like complex (CLC) produced by *Francisella tularensis* subspecies *tularensis*: protective efficacy and similarity to outer membrane vesicles. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018; 8:182. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00182.
23. Sampath V., McCaig W.D., Thanassi D.G. Amino acid deprivation and central carbon metabolism regulate the production of outer membrane vesicles and tubes by *Francisella*. *Mol. Microbiol.* 2018; 107(4):523–41. DOI: 10.1111/mmi.13897.
24. Klimentova J., Pavkova I., Horcickova L., Bavlovic J., Kofronova O., Benada O., Stulik J. *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* releases differentially loaded outer membrane vesicles under various stress conditions. *Front. Microbiol.* 2019; 10:2304. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02304.
25. Klimentova J., Rehulka P., Pavkova I., Kubelkova K., Bavlovic J., Stulik J. Cross-species proteomic comparison of outer membrane vesicles and membranes of *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* versus subsp. *holarctica*. *J. Proteome Res.* 2021; 20(3):1716–32. DOI: 10.1021/acs.jproteome.0c00917.
26. Pavkova I., Klimentova J., Bavlovic J., Horcickova L., Kubelkova K., Vlcek E., Raabova H., Filimonenko V., Ballek O., Stulik J. *Francisella tularensis* outer membrane vesicles participate in the early phase of interaction with macrophages. *Front. Microbiol.* 2021; 12:748706. DOI: 10.3389/fmicb.2021.748706.
27. Brudal E., Lampe E.O., Reubsaet L., Roos N., Hegna I.K., Thrane I.M., Koppang E.O., Winther-Larsen H.C. Vaccination with outer membrane vesicles from *Francisella noatunensis* reduces

development of francisellosis in a zebrafish model. *Fish Shellfish Immunol.* 2015; 42(1):50–7. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.10.025.

28. Lagos L., Tandberg J.I., Repnik U., Boysen P., Ropstad E., Varkey D., Paulsen I.T., Winther-Larsen H.C. Characterization and vaccine potential of membrane vesicles produced by *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* in an adult zebrafish model. *Clin. Vaccine Immunol.* 2017; 24(5):e00557-16. DOI: 10.1128/CI.00557-16.

29. Stevenson T.C., Cywes-Bentley C., Moeller T.D., Weyant K.B., Putnam D., Chang Y.F., Jones B.D., Pier G.B., DeLisa M.P. Immunization with outer membrane vesicles displaying conserved surface polysaccharide antigen elicits broadly antimicrobial antibodies. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2018; 115(14):E3106–E3115. DOI: 10.1073/pnas.1718341115.

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

31. 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.

32. Bavlovic J., Pavkova I., Balonova L., Benada O., Stulik J., Klimentova J. Intact O-antigen is critical structure for the exceptional tubular shape of outer membrane vesicles in *Francisella tularensis*. *Microbiol. Res.* 2023; 269:127300. DOI: 10.1016/j.micres.2023.127300.

## References

1. Kuehn M.J., Kesty N.C. Bacterial outer membrane vesicles and the host-pathogen interaction. *Genes. Dev.* 2005; 19(22):2645–55. DOI: 10.1101/gad.1299905.

2. Kulp A., Kuehn M.J. Biological functions and biogenesis of secreted bacterial outer membrane vesicles. *Annu. Rev. Microbiol.* 2010; 64:163–84. DOI: 10.1146/annurev.micro.091208.073413.

3. Schwechheimer C., Kuehn M.J. Outer-membrane vesicles from gram-negative bacteria: biogenesis and functions. *Nat. Rev. Microbiol.* 2015; 13(10):605–19. DOI: 10.1038/nrmicro3525.

4. Malkova M.A., Dudina L.G., Devrishov D.A., Byvalov A.A. [Vesicle formation in gram-negative bacteria (literature review)]. *Advanced Science.* 2017; (4):3.

5. Lusta K.A. [Bacterial outer membrane nanovesicles: structure, biogenesis, functions, use in biotechnology and medicine (review)]. *Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya [Applied Biochemistry and Microbiology]*. 2015; 51(5):443–52. DOI: 10.7868/S0555109915040091.

6. Ellis T.N., Kuehn M.J. Virulence and immunomodulatory roles of bacterial outer membrane vesicles. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2010; 74(1):81–94. DOI: 10.1128/MMBR.00031-09.

7. Schooling S.R., Beveridge T.J. Membrane vesicles: an overlooked component of the matrices of biofilms. *J. Bacteriol.* 2006; 188(16):5945–57. DOI: 10.1128/JB.00257-06.

8. Lee E.Y., Choi D.S., Kim K.P., Gho Y.S. Proteomics in gram-negative bacterial outer membrane vesicles. *Mass Spectrom. Rev.* 2008; 27(6):535–55. DOI: 10.1002/mas.20175.

9. Yoon H. Bacterial outer membrane vesicles as a delivery system for virulence regulation. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2016; 26(8):1343–7. DOI: 10.4014/jmb.1604.04080.

10. Wang S., Gao J., Wang Z. Outer membrane vesicles for vaccination and targeted drug delivery. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* 2019; 11(2):e1523. DOI: 10.1002/wnan.1523.

11. Pizza M., Bekkat-Berkani R., Rappuoli R. Vaccines against meningococcal diseases. *Microorganisms.* 2020; 8(10):1521. DOI: 10.3390/microorganisms8101521.

12. Spidlova P., Stojkova P., Sjöstedt A., Stulik J. Control of *Francisella tularensis* virulence at gene level: network of transcription factors. *Microorganisms.* 2020; 8(10):1622. DOI: 10.3390/microorganisms8101622.

13. Jones B.D., Faron M., Rasmussen J.A., Fletcher J.R. Uncovering the components of the *Francisella tularensis* virulence stealth strategy. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2014; 4:32. DOI: 10.3389/fcimb.2014.00032.

14. Rowe H.M., Huntley J.F. From the outside-in: The *Francisella tularensis* envelope and virulence. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2015; 5:94. DOI: 10.3389/fcimb.2015.00094.

15. Ellis J., Oyston C.F., Green M., Titball R.W. Tularemia. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002; 15(4):631–46. DOI: 10.1128/CMR.15.4.631-646.2002.

16. Aronova N.V., Pavlovich N.V. [Comparative analysis of the rabbit's immune response to antigens of live and killed bacteria of the genus *Francisella*]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2001; (2):26–30.

17. Sandström G., Sjöstedt A., Johansson T., Kuoppa K., Williams J.C. Immunogenicity and toxicity of lipopolysaccharide

from *Francisella tularensis* LVS. *FEMS Microbiol. Immunol.* 1992; 5(4):201–10. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1992.tb05902.x.

18. Onoprienko N.N., Pavlovich N.V. [The role of lipopolysaccharide in the toxicity of bacteria of the genus *Francisella*]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2003; (3):23–9.

19. Pierson T., Matrakas D., Taylor Y.U., Manyam G., Morozov V.N., Zhou W., van Hoek M.L. Proteomic characterization and functional analysis of outer membrane vesicles of *Francisella novicida* suggests possible role in virulence and use as a vaccine. *J. Proteome Res.* 2011; 10(3):954–67. DOI: 10.1021/pr1009756.

20. McCaig W.D., Koller A., Thanassi D.G. Production of outer membrane vesicles and outer membrane tubes by *Francisella novicida*. *J. Bacteriol.* 2013; 195(6):1120–32. DOI: 10.1128/JB.02007-12.

21. Chen F., Cui G., Wang S., Nair M.K.M., He L., Qi X., Han X., Zhang H., Zhang J.R., Su J. Outer membrane vesicle-associated lipase FtlA enhances cellular invasion and virulence in *Francisella tularensis* LVS. *Emerg. Microbes Infect.* 2017; 6(7):e66. DOI: 10.1038/emi.2017.53.

22. Champion A.E., Bandara A.B., Mohapatra N., Fulton K.M., Twine S.M., Inzana T.J. Further characterization of the capsule-like complex (CLC) produced by *Francisella tularensis* subspecies *tularensis*: protective efficacy and similarity to outer membrane vesicles. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018; 8:182. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00182.

23. Sampath V., McCaig W.D., Thanassi D.G. Amino acid deprivation and central carbon metabolism regulate the production of outer membrane vesicles and tubes by *Francisella*. *Mol. Microbiol.* 2018; 107(4):523–41. DOI: 10.1111/mmi.13897.

24. Klimentova J., Pavkova I., Horcickova L., Bavlovic J., Kofronova O., Benada O., Stulik J. *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* releases differentially loaded outer membrane vesicles under various stress conditions. *Front. Microbiol.* 2019; 10:2304. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02304.

25. Klimentova J., Rehulka P., Pavkova I., Kubelkova K., Bavlovic J., Stulik J. Cross-species proteomic comparison of outer membrane vesicles and membranes of *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* versus subsp. *holarctica*. *J. Proteome Res.* 2021; 20(3):1716–32. DOI: 10.1021/acs.jproteome.0c00917.

26. Pavkova I., Klimentova J., Bavlovic J., Horcickova L., Kubelkova K., Vlcek E., Raabova H., Filimonenko V., Ballek O., Stulik J. *Francisella tularensis* outer membrane vesicles participate in the early phase of interaction with macrophages. *Front. Microbiol.* 2021; 12:748706. DOI: 10.3389/fmicb.2021.748706.

27. Brudal E., Lampe E.O., Reubsaet L., Roos N., Hegna I.K., Thrane I.M., Koppang E.O., Winther-Larsen H.C. Vaccination with outer membrane vesicles from *Francisella noatunensis* reduces development of francisellosis in a zebrafish model. *Fish Shellfish Immunol.* 2015; 42(1):50–7. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.10.025.

28. Lagos L., Tandberg J.I., Repnik U., Boysen P., Ropstad E., Varkey D., Paulsen I.T., Winther-Larsen H.C. Characterization and vaccine potential of membrane vesicles produced by *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* in an adult zebrafish model. *Clin. Vaccine Immunol.* 2017; 24(5):e00557-16. DOI: 10.1128/CI.00557-16.

29. Stevenson T.C., Cywes-Bentley C., Moeller T.D., Weyant K.B., Putnam D., Chang Y.F., Jones B.D., Pier G.B., DeLisa M.P. Immunization with outer membrane vesicles displaying conserved surface polysaccharide antigen elicits broadly antimicrobial antibodies. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2018; 115(14):E3106–E3115. DOI: 10.1073/pnas.1718341115.

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

31. 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.

32. Bavlovic J., Pavkova I., Balonova L., Benada O., Stulik J., Klimentova J. Intact O-antigen is critical structure for the exceptional tubular shape of outer membrane vesicles in *Francisella tularensis*. *Microbiol. Res.* 2023; 269:127300. DOI: 10.1016/j.micres.2023.127300.

## Authors:

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

## Об авторах:

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



DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-81-87

УДК 616.98:579.842.23

А.Ю. Гончарова, С.А. Бугоркова, А.С. Абдрашитова, Н.Е. Щербакова, Я.М. Краснов,  
В.Г. Германчук, З.Л. Девдариани, И.Г. Швиденко, Т.Н. Щуковская

## Влияние азоксимера бромида при добавлении в среду культивирования *Yersinia pestis* EV НИИЭГ на отдельные геномные и протеомные характеристики штамма

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

**Цель** исследования – изучение влияния иммуноадьюванта азоксимера бромида (полиоксидоний, ПО) при добавлении его в среду культивирования на отдельные молекулярно-генетические и протеомные особенности штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ. **Материалы и методы.** *Y. pestis* EV НИИЭГ выращивали при 28 °C в течение 48 ч на агаре LB, pH 7,2 (Miller), как с ПО (EV+ПО), так и без (EV). Полногеномное секвенирование штаммов EV и EV+ПО проводили на платформе II поколения Ion S5 XG. Полногеномный SNP-анализ и поиск маркерных SNPs осуществляли в программе Wombac 2.0. Снятие масс-спектров экстрактов клеток *Y. pestis* EV и EV+ПО проводили на масс-спектрометре Microflex LT. Протективные свойства тестируемых культур оценивали по интегральному показателю ImD<sub>50</sub> на мышах BALB/c при заражении *Y. pestis* 231(708). **Результаты и обсуждение.** При сравнительном анализе в структуре генома штаммов *Y. pestis* EV+ПО делеций, инсерций и единичных нуклеотидных замен, приводящих к нарушению продукции факторов патогенности, иммуногенности и обеспечения жизнедеятельности возбудителя чумы, не обнаружено. Методом MALDI-TOF масс-спектрометрии установлено, что у штаммов *Y. pestis* EV+ПО изменяется интенсивность 22 % от общего количества пиков в диапазоне 2000–20000 Да. Основная часть измененных пиков относится по банку белков UniProtKB к не охарактеризованным протеинам и метаболическим белкам. При этом у культур, выращенных с добавлением ПО, ImD<sub>50</sub> в 2–3,3 раза ниже, чем у *Y. pestis* EV. Таким образом, добавление ПО в среду культивирования *Y. pestis* EV НИИЭГ не вызывает изменений в генах факторов патогенности и обеспечения жизнедеятельности возбудителя чумы, но модулирует ее белковый профиль, что сопровождается повышением протективного потенциала вакцинного штамма.

**Ключевые слова:** чума, чумная вакцина, *Y. pestis* EV НИИЭГ, азоксимера бромид, секвенирование, масс-спектрометрия.

Корреспондирующий автор: Гончарова Анастасия Юрьевна, e-mail: rusrap@microbe.ru.

Для цитирования: Гончарова А.Ю., Бугоркова С.А., Абдрашитова А.С., Щербакова Н.Е., Краснов Я.М., Германчук В.Г., Девдариани З.Л., Швиденко И.Г., Щуковская Т.Н. Влияние азоксимера бромида при добавлении в среду культивирования *Yersinia pestis* EV НИИЭГ на отдельные геномные и протеомные характеристики штамма. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 3:81–87. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-81-87

Поступила 05.03.2024. Отправлена на доработку 21.03.2024. Принята к публ. 23.05.2024.

A.Yu. Goncharova, S.A. Bugorkova, A.S. Abdrashitova, N.E. Shcherbakova, Ya.M. Krasnov,  
V.G. Germanchuk, Z.L. Devdariani, I.G. Shvidenko, T.N. Shchukovskaya

## Effect of Azoximer Bromide on Individual Genomic and Proteomic Characteristics of the Strain during Cultivation of *Yersinia pestis* EV NIEG

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

**Abstract.** The aim of the work was to study the effect of the azoximer bromide immunoadjuvant (polyoxidonium, PO) on certain molecular-genetic and proteomic properties of *Yersinia pestis* EV NIEG strain, when added to the culture medium. **Materials and methods.** *Y. pestis* EV NIEG was grown at 28 °C for 48 hours on LB agar pH 7.2 (Miller), with and without PO (EV+PO). Whole-genome sequencing of EV and EV+PO strains was performed on the Ion S5 XG generation II platform. Whole-genome SNP analysis and search for marker SNPs were conducted in the Wombac 2.0 program. Mass-spectra of *Y. pestis* EV extracts and EV+PO cells were recorded using a Microflex LT mass spectrometer. Protective properties of the test cultures were evaluated by the integral ImD<sub>50</sub> index in BALB/c mice when infected with *Y. pestis* 231(708). **Results and discussion.** Comparative analysis has not revealed deletions, insertions and single nucleotide polymorphisms in the structure of *Y. pestis* EV+PO strain genome leading to a violation of the production of pathogenicity, immunogenicity and ensuring the vital activity factors of the plague pathogen. The MALDI-TOF mass spectrometry has shown that *Y. pestis* EV+PO strains changed the intensity of 22 % of the total number of peaks in the range of 2000–20000 Da. Most of the altered peaks in the UniProtKB protein bank belong to uncharacterized proteins and metabolic proteins. At the same time, the ImD<sub>50</sub> was 2–3.3 times lower in cultures grown with the addition of PO than in *Y. pestis* EV. Thus, the addition of PO to *Y. pestis* EV NIEG culture medium does not cause changes in the genes of pathogenicity and vital activity support factors of plague pathogen, but modulates its protein profile, which is accompanied by an increase in the protective potential of the EV vaccine strain.

**Key words:** plague, plague vaccine, *Y. pestis* EV NIEG, azoximer bromide, sequencing, mass spectrometry.

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

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

**Bioethics:** Manipulations with animals, as well as their removal from the experiment, were approved by the Bioethics Commission of the Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of the Rospotrebnadzor and were carried out in accordance with national and international guidelines for the care and humane use of animals.



Corresponding author: Anastasia Yu. Goncharova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Goncharova A.Yu., Bugorkova S.A., Abdrashitova A.S., Shcherbakova N.E., Krasnov Ya.M., Germanchuk V.G., Devdariani Z.L., Shvidenko I.G., Shchukovskaya T.N. Effect of Azoximer Bromide on Individual Genomic and Proteomic Characteristics of the Strain during Cultivation of *Yersinia pestis* EV NIIEG. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 3:81–87. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-81-87

Received 05.03.2024. Revised 21.03.2024. Accepted 23.05.2024.

Goncharova A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9994-7936>  
Bugorkova S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7548-4845>  
Abdrashitova A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1803-4156>  
Shcherbakova N.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3261-6128>

Krasnov Ya.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4909-2394>  
Germanchuk V.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8986-3640>  
Shchukovskaya T.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8995-0895>

Вакцина чумная живая (ВЧЖ), применяемая в России для специфической профилактики чумы по эпидемическим показаниям, обеспечивает формирование защиты от чумной инфекции продолжительностью до года, что обуславливает в условиях длительного сохранения эпизоотической активности на территории природных очагов чумы необходимость проведения ежегодной ревакцинации [1]. На протяжении всей истории применения ВЧЖ предпринимались неоднократные попытки повышения иммуногенности вакцины, в том числе и за счет изменения условий культивирования вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ [2, 3].

Ранее нами был разработан и запатентован способ повышения иммуногенности вакцинного штамма чумного микроба [4], базирующийся на изменении условий его культивирования. Культуру штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ выращивали на питательной среде с добавлением азоксимера бромида (полиоксидоний, ПО), что приводило к значимому повышению иммуногенности вакцинного штамма, регистрируемому по увеличению продукции специфических антител к капсульному антигену (F1) чумного микроба, и выраженному усилению защитного потенциала вакцины при моделировании бубонной формы чумы. Выбор иммуномодулятора неслучаен, так как известно, что ПО – водорастворимое N-окислованное производное полиэтиленпиперазина – обладает выраженным иммуномодулирующим, детоксицирующим, мембраностабилизирующим и антигенусиливающим эффектом [5, 6]. Более того, в работах по сочетанному применению ПО с ВЧЖ была показана эффективность его применения в различных схемах профилактики чумы [7, 8]. В то же время исследований механизма воздействия ПО на биологические свойства возбудителя чумы ранее не проводилось, но было установлено изменение морфометрических характеристик и адгезивных свойств вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ и других представителей рода *Yersinia*, выращенных на среде с добавлением ПО [9]. Изучение молекулярных механизмов взаимодействия ПО с макро- и микроорганизмом для выявления мишеней стимулирования иммуногенной и протективной активности ВЧЖ является актуальной задачей.

**Цель исследования** – изучение влияния иммуноадьюванта азоксимера бромида при добавлении его в среду культивирования на отдельные молекулярно-генетические и протеомные особенности штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ.

## Материалы и методы

Вакцинный штамм *Y. pestis* EV линии НИИЭГ (Pgm<sup>–</sup>, pYT<sup>+</sup>, pYV<sup>+</sup>, pYP<sup>+</sup>) – три субкультуры, отличающиеся по году лиофилизации (EV1 – 2011 г., EV2 – 2018 г. и EV3 – 2021 г.), и вирулентный штамм основного подвида *Y. pestis* 231(708) (Pgm<sup>+</sup>, pYT<sup>+</sup>, pYV<sup>+</sup>, pYP<sup>+</sup>) получены из Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (Саратов). В эксперименте использовали мышей линии BALB/c массой (18±2) г, полученных из отдела экспериментальных животных с виварием ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. Манипуляции с животными, а также выведение их из эксперимента были одобрены Комиссией по биоэтике при ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора и проводились в соответствии с национальными и международными руководящими принципами по уходу и гуманному использованию животных. Вторую генерацию штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ выращивали при 28 °C в течение 48 ч на питательной среде агар LB, pH 7,2 (Miller), как с добавлением ПО в конечной концентрации 60 мкг/мл (EV+ПО), что соответствует его терапевтической концентрации при разовом введении человеку, так и без внесения в среду ПО (EV).

Защитное действие вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ при культивировании с ПО (группы: EV1+ПО, EV2+ПО, EV3+ПО) и без него (группы: EV1, EV2, EV3) определяли в условиях моделирования чумной инфекции по интегральному показателю ImD<sub>50</sub> (количество живых микробных клеток, выраженное в колониеобразующих единицах [КОЕ] и способное защитить через 21 сутки 50 % взятых в опыт животных от заражения вирулентным тест-штаммом) на мышах линии BALB/c. Три субкультуры *Y. pestis* EV НИИЭГ вводили подкожно соответствующим группам мышей BALB/c в дозах 2·10<sup>2</sup>, 10<sup>3</sup>, 5·10<sup>3</sup> и 2,5·10<sup>4</sup> КОЕ. Заражение осуществляли на 21-е сутки после вакцинации подкожно вирулентным тест-штаммом основного подвида *Y. pestis* 231(708) в дозе 400 LD<sub>50</sub>.

Выделение и очистку геномной ДНК культур штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ выполняли согласно инструкции производителя с использованием коммерческого набора PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, США). Полногеномное секвенирование штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ, выращенного в стан-

дартных условиях (EV2) и на среде с добавлением ПО (EV2+ПО), проводили на платформе Ion S5 XG (Life technologies, США). Единичные чтения скорректированы с использованием программного обеспечения Ion Torrent Suite software версии 5.10 и собраны *de novo* в контиги с помощью программы Newbler gsAssembler версии 2.6. Далее единичные прочтения изучаемых субкультур штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ, выращенных на среде с добавлением ПО, картировали на референтную последовательность штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ, выращенного на среде без ПО, с помощью программного пакета DNA STAR Lasergene v.11.2 (DNA STAR Inc., США). Нуклеотидную последовательность штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ предварительно аннотировали в геномном сервисе для прокариот RAST v.2.0 (<http://rast.nmpdr.org/rast.cgi>). Полногеномный SNP-анализ и поиск маркерных SNPs осуществляли в программе Wombac 2.0. Визуализацию и анализ полученных данных проводили с помощью программного обеспечения UGENE Unipro и MEGA5.

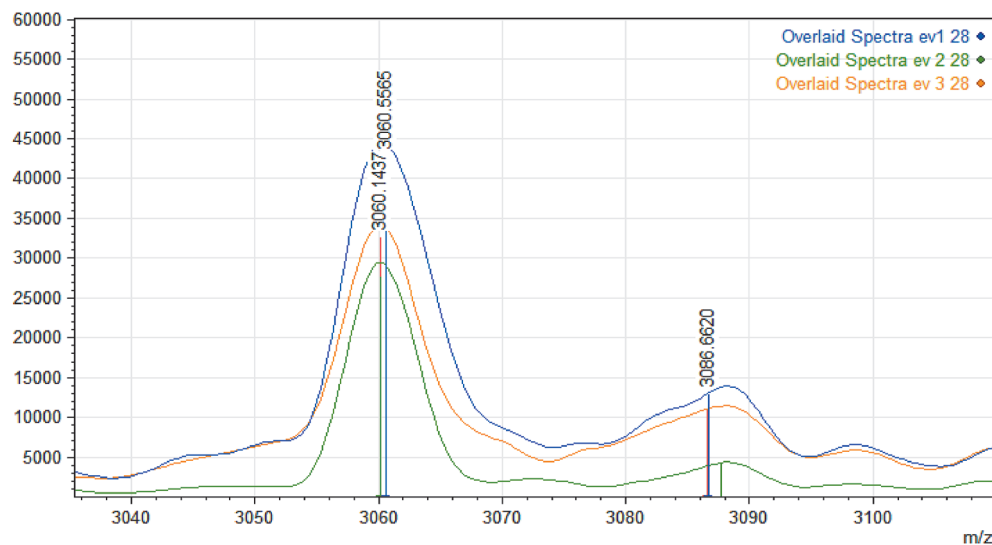
Для масс-спектрометрического анализа субкультуры штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ (EV1, EV2, EV3 и EV1+ПО, EV2+ПО, EV3+ПО) выращивали в течение 48 ч при 28 °С, для каждой субкультуры готовили три образца белковых препаратов. Белковую экстракцию проводили в соответствии с МУ 4.2.3733-21 «Подготовка культур микроорганизмов I–II групп патогенности для анализа методом MALDI-TOF масс-спектрометрии и формирование баз данных референсных масс-спектров для автоматической идентификации микроорганизмов». Снятие масс-спектров экстрактов образцов проводили в автоматическом режиме на масс-спектрометре Microflex LT (Bruker Daltonics, Германия). В качестве матрицы применяли насыщенный раствор α-циано-4-гидроксикоричной кислоты. Анализируемый диапазон масса/заряд ( $m/z$ ) составлял 2000–20000 Да. Для получения одиночного масс-спектра использовали 40 импульсов азотного лазера (частота 60 Гц). Сравнение пиков белковых масс-спектров проводили в программе общего доступа mMass (<http://www.mmass.org>). Идентификацию пептидов по значению  $m/z$  осуществляли с использованием международной базы белков UniProt (<http://www.uniprot.org/>). Интенсивность пиков измеряли в а.и. (абсолютная интенсивность).

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартного пакета программ Microsoft Office Excel 2016. Данные представляли в виде ( $M \pm m$ ), где  $M$  – среднее значение,  $m$  – средняя квадратичная ошибка средней арифметической. Значимость различий между группами оценивали с использованием  $t$ -критерия Стьюдента. Различия между группами наблюдения считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Взаимосвязь между переменными определяли с помощью корреляционно-регрессионного анализа (коэффициент корреляции Пирсона) и модели корреляционной матрицы.

## Результаты и обсуждение

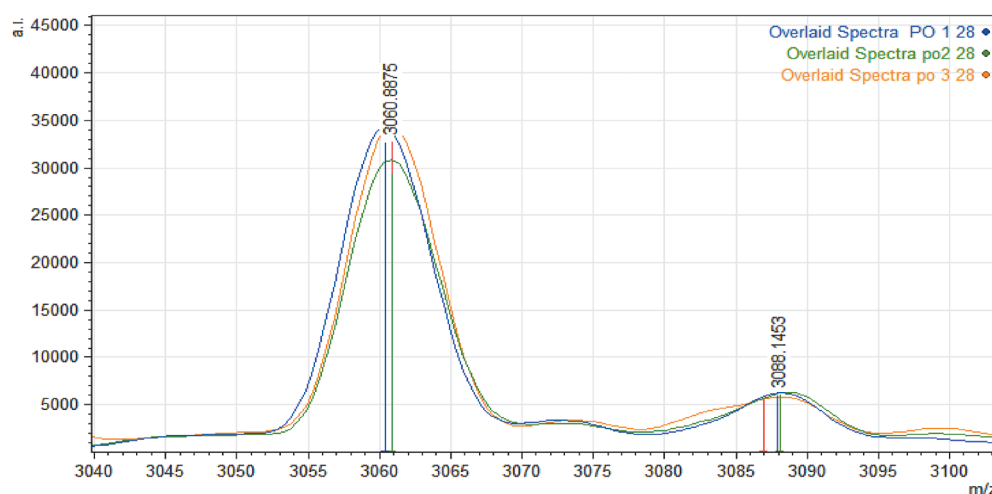
На первом этапе проведено полногеномное секвенирование штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ, выращенного в стандартных условиях (EV) и на среде с добавлением ПО (EV+ПО). Проанализированы в двух повторностях 204 контига (EV) и 207 контигов (EV+ПО), общая длина собранного генома – 4421832 и 4421363 п.н., глубина покрытия – 67 и 64 соответственно, GC-состав – 47,4 % в обоих случаях. При проведении сравнительного анализа в структуре генома штамма *Y. pestis* EV+ПО делеций, инсерций и единичных нуклеотидных замен не обнаружено. По результатам анализа с применением программного обеспечения UGENE Unipro, MEGA5 и PATRIC в интересующих нас генах плазмидной и хромосомной локализации, отвечающих за иммуногенность, вирулентность (оперон *Cafl*, гены эффекторных белков внешней мембраны *yop*, активатора плазмидогена *pla*, *lcrV*), а также за адгезивные свойства чумного микроба (ген *ail*, гены аутотранспортных белков группы генов *yap* и *yad*, оперон *Psa*), вариативности генома у культур, выращенных на среде с добавлением ПО, не обнаружено. Следовательно, важные продукты, участвующие в патогенезе чумы и обеспечении жизнедеятельности чумного микроба, не претерпели изменений, поэтому характер воздействия ПО на протективные свойства чумного микроба может быть связан с изменениями уровня продукции определенных белков.

На следующем этапе с использованием метода MALDI-TOF масс-спектрометрии получена характеристика протеома в диапазоне от 2000 до 20000 Да субкультур вакцинного штамма, выращенных в обычных условиях и на среде с добавлением ПО. Для каждой субкультуры анализ проводили в трех повторях. Полученные масс-спектры обработаны и суммированы методом overlay для каждой субкультуры с получением индивидуального суперспектра. В результате у всех субкультур идентифицированы пики, характерные по описанию [10] для разных уровней таксономической идентификации: род *Yersinia* ( $m/z$  4350, 5427, 6046, 6241 Да), группа *Y. pestis/pseudotuberculosis* ( $m/z$  6637, 7224, 7783, 9268, 9659 Да), вид *Y. pestis* ( $m/z$  3065 Да), что свидетельствует о валидности используемых образцов и достоверности полученных результатов. При сопоставлении результатов исследования масс-спектров субкультур штамма *Y. pestis* EV отмечена зависимость изменения интенсивности пиков (до 30 % от общего количества) у разных субкультур, отличающихся годом выращивания и последующего лиофильного высушивания. Добавление ПО в среду культивирования приводило к изменению еще 22 пиков, что проявлялось как условное «выравнивание» интенсивности пиков у всех субкультур *Y. pestis* EV+ПО. Если у субкультуры EV наблюдали конкретный пик, значительно превышающий средние значения, то на среде с добавлением ПО регистрировали его сниже-

**a**

MALDI-TOF масс-спектры пика  $m/z$  3065 (фрагмент белка активатора плазминогена по банку белков UniProtKB) у субкультур *Y. pestis* EV (a) и *Y. pestis* EV+ПО (b)

MALDI-TOF mass spectra of peak  $m/z$  3065 (plasminogen activator protein fragment across the UniProtKB protein bank) in subcultures of *Y. pestis* EV (a) and *Y. pestis* EV+ПО (b)

**b**

ние до среднестатистических значений. Так, при анализе масс-спектров у всех субкультур идентифицирован пик 3060 ( $m/z \pm 5$  Да), который ранее был описан как видоспецифичный для штаммов *Y. pestis* [10] и идентифицируется в базе данных UniprotKB как фрагмент белка активатора плазминогена. Разница между максимальными и минимальными значениями интенсивности этого пика у культур, выращенных без добавления ПО, составляла 15157 а.и. (от 27789 до 42946 а.и.), а у субкультур EV1+ПО, EV2+ПО, EV3+ПО была всего 3656 а.и. (от 31128 до 34784 а.и.) (рисунок), что статистически отображается в кратном уменьшении ( $p < 0,05$ ) ошибки среднего арифметического значений интенсивности пиков субкультур *Y. pestis* EV+ПО (табл. 1).

Дальнейший статистический анализ позволил выявить пики ( $m/z$  2526, 2821, 3303, 4182, 6591, 7190 и 8643 Да), интенсивность которых на масс-спектрах субкультур *Y. pestis* EV достоверно отличалась ( $p < 0,05$ ) от интенсивности пиков для субкультур *Y. pestis* EV+ПО (табл. 1). При проведении статистического анализа по поиску корреляционной

связи между отобранными протеинами (интенсивности соответствующих им пиков на масс-спектрах) с помощью модели корреляционной матрицы выполнено ранжирование оцениваемых показателей по сумме величин коэффициентов корреляции (при зависимости признака  $p < 0,05$ ). В результате оказалось, что максимальное значение суммы коэффициентов корреляции, равное 5, установлено для протеина Sorporoporphyrinogen III oxidase ( $m/z$  2526 Да), участвующего в ускорении процессов превращения колец I и III пропионовой кислоты в винильные группы при синтезе гема. Аналогичный анализ интенсивности пиков субкультур, отличающихся только годом лиофилизации, не выявил зависимости с данным пиком ( $m/z$  2526 Да), но показал наличие корреляционных связей между протеинами, отвечающими за питательные потребности клетки, в частности метаболизм сахаров.

При оценке влияния азоксимера бромид на про- тективные свойства субкультур вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ по интегральному показателю  $ImD_{50}$  при моделировании бубонной формы чумы



Таблица 1 / Table 1

Продукты генов, отличающиеся у штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ, выращенного на среде с ПО (EV+ПО) и без него (EV), найденные по банку белков UniProtKB

Gene products that differ in *Y. pestis* EV NIEG strain grown on the medium with PO (EV+PO) and without it (EV), found across the UniProtKB protein bank

Масса пика (m/z ±5 Да) Peak weight (m/z ±5 Da)	Средние значения интенсивности пиков, а.и., (M±m) Average peak intensities, a.i., (M±m)		Наименование протеина в <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ Protein name in <i>Y. pestis</i> EV NIEG	Длина протеина, а.о. Protein length, AA	Наименование гена в <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ Gene name in <i>Y. pestis</i> EV NIEG
	<i>Y. pestis</i> EV	<i>Y. pestis</i> EV+ПО (PO)			
2526	5459±1370	2589±465*	Coproporphyrinogen III oxidase	24	EGX45_02675
2821	7568±783	4510±642*	Glutathione S-transferase	27	EGX46_04045
3060	34474±3157	33466±829	Plasminogen	30	<i>pla</i>
3303	8007±2266	3675±526*	Putative glycosyl transferase	31	–
3634	10717±3004	7436±444	Putative membrane protein	32	–
3690	4424±1550	2251±71	Transposase remnant	31	YPA_CD0087
4182	2994±790	2264±117*	Holin	37	y2955
5149	23287±2205	21335±818	DNA-directed RNA polymerase beta chain	43	<i>rpoB</i>
5426	5265±1920	3037±223	50S ribosomal protein L34	46	<i>rpmH</i>
5527	14917±1710	12067±918	Copper resistance protein CopA	48	YPA_1871
6044	8323±2009	4828±337	Small toxic polypeptide	53	YP_0267
6591	6096±2904	2578±239*	Chromate transporter	60	y0809
7190	4171±1812	3655±204*	Exported protein	62	EGX46_00375
8643	12675±3137	12888±447*	Transposase	77	YP_pMT099
9659	2007±731	1213±119	DNA-binding protein HU-alpha	91	<i>hupA</i>
11053	5459±1370	2589±465*	Putative secreted protein	97	–

Примечания: а.и. – абсолютная интенсивность; а.о. – аминокислотные остатки; \* p<0,05 – при сравнении с субкультурами штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ.

Notes: a.i. – absolute intensity; AA – amino acid residue; \* as compared to subcultures of *Y. pestis* EV NIEG strain without PO.

на мышцах линии BALB/c установлено, что введение ПО в состав среды культивирования приводило к достоверному повышению защитного потенциала вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ для выбранной биомодели, а также к увеличению продолжительности жизни животных (табл. 2). После заражения иммунизированных животных высоковирулентным штаммом *Y. pestis* 231(708), применяющимся в качестве заражающего тест-штамма при контроле ВЧЖ, регистрировали снижение ImD<sub>50</sub> в 2–3,3 раза для субкультур штамма *Y. pestis* EV+ПО по сравнению с ImD<sub>50</sub> для *Y. pestis* EV, культивируемых в стандартных условиях.

Использование препаратов с иммуномодулирующей активностью на фоне вакцинации изменяет баланс эндогенных цитокинов в организме и оказывает влияние на развитие антиген-специфического иммунного ответа [11]. Однако не меньший интерес представляет непосредственное воздействие иммуномодуляторов на биологические свойства вакцинного штамма, особенно если это приводит к повышению его иммуногенных и протективных характеристик. Ранее нами предложен способ повышения иммуногенности вакцинного штамма чумного микроба, предусматривающий его культивирование на питательной среде с добавлением азоксимера бромида [4]. Разработанный способ позволил получить культуру вакцинного штамма чумного микроба, об-

ладающую высокой иммуногенностью, без использования процедуры анимализации или клеточных культур. Ранее высказанное предположение о возможной связи изменения иммуногенности *Y. pestis* EV НИИЭГ и трансформирующего действия ПО, в частности изменения наномеханических свойств клеточной поверхности с изменением биосинтеза адгезинов [9], в данном исследовании не нашло подтверждения. При проведении сравнительного полногеномного SNP-анализа культур *Y. pestis* EV и *Y. pestis* EV+ПО в генах, кодирующих адгезины, а также в интересующих нас генах плазмидной и хромосомной локализации, отвечающих за иммуногенность и вирулентность, мутаций не обнаружено.

Результаты белкового профилирования с использованием метода MALDI-TOF масс-спектрометрии зависят от условий культивирования, особенностей воздействия химических и физических факторов на культуры, длительности их хранения [12, 13]. Это подтверждают и наши данные по изменениям, выявленным в значительном количестве пиков диапозона до 20000 Да у субкультур вакцинного штамма с разными сроками хранения, выращенных на среде без добавления ПО. При этом обращает на себя внимание тот факт, что у 22 % пиков интенсивность изменялась при добавлении в среду культивирования ПО. Характер действия ПО на прокариотические клетки, выражающийся в определенном «выравни-

Таблица 2 / Table 2

Протективные свойства субкультур вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ, выращенных с добавлением в среду культивирования ПО и без него, при заражении вирулентным тест-штаммом *Y. pestis* 231(708) в дозе 400 LD<sub>50</sub>

Protective properties of subcultures of the vaccine strain EV NIEG grown with and without addition of azoximer bromide (PO) to culture medium during infection with virulent test strain *Y. pestis* 231(708) at a dose of 400 LD<sub>50</sub>

Группа Group	Число животных (выжившие / общее количество) Number of animals (survived/total)	Средняя продолжительность жизни (сутки) Average life span (days) M±m	ImD <sub>50</sub> KOE CFU
1EV	15/37	4,6±0,6	0,41·10 <sup>4</sup> (4127)
1EV +ПО (PO)	22/35	7,0±0,1*	0,12·10 <sup>4</sup> (1241)*
2EV	12/32	5,0±1,0	0,43·10 <sup>4</sup> (4304)
2EV +ПО (PO)	21/39	6,6±0,2*	0,22·10 <sup>4</sup> (2233)*
3EV	14/40	4,4±0,3	0,58·10 <sup>4</sup> (5860)
3EV +ПО (PO)	23/40	5,3±0,3*	0,17·10 <sup>4</sup> (1728)*
Физиологический раствор PBS PBS saline solution	0/10	3,7±0,5	—

Примечание: \* p<0,05 – при сравнении с субкультурами штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ.

Note: \* p<0.05 – as compared to subcultures of *Y. pestis* EV NIEG strain without PO.

вании» интенсивности пиков изученного диапазона, вполне согласуется с заявленным его иммуномодулирующим потенциалом на эукариотические клетки [5]. Так, например, ПО усиливает продукцию фактора некроза опухоли (ФНО) клетками крови только у лиц с исходно сниженным уровнем синтеза этого цитокина и не оказывает влияния или даже несколько понижает продукцию ФНО у лиц с исходно повышенным уровнем [6]. Данный механизм объясняется наличием N-оксидных и карбоксильных групп в структуре молекулы ПО, которые активно взаимодействуют с рецепторами клеток макро- и микроорганизмов. Вероятно, взаимодействие активных групп молекул ПО с белками поверхностных структур чумного микроба, так же как и других патогенов, оказывает модулирующее действие на различные факторы, приводящие к лучшей презентации *Y. pestis* EV НИИЭГ иммунокомпетентным клеткам макроорганизма, способствуя увеличению иммунологической активности вакцинного штамма [14, 15]. В пользу схожести механизмов иммуномодуляции ПО свидетельствуют данные, полученные при сочетании введении животным вакцинного штамма и иммуномодулятора [8], когда, как и в случае с выращиванием вакцинного штамма на среде с добавлением ПО, регистрировали снижение ImD<sub>50</sub> в 2–3,3 раза по сравнению со штаммом, выращенным в обычных условиях.

Таким образом, в настоящем исследовании по данным полногеномного секвенирования мутаций при добавлении ПО в среду культивирования *Y. pestis* EV НИИЭГ в изученных генах факторов патогенности и обеспечения жизнедеятельности возбудителя чумы не выявлено. Установлена модуляция анализируемой части белкового профиля, сопровождающаяся повышением протективной активности штамма. Дальнейшая детализация механизмов влияния ПО на вакцинный штамм EV нуждается в расширении

арсенала применяемых протеомных и биоинформатических технологий и увеличении спектра изучаемых белков в диапазоне выше 20000 Да.

**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.** Манипуляции с животными, а также выведение их из эксперимента были одобрены Комиссией по биоэтике при ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора и проводились в соответствии с национальными и международными руководящими принципами по уходу и гуманному использованию животных.

### Список литературы

1. Микшис Н.И., Кутырев В.В. Современное состояние проблемы разработки вакцин для специфической профилактики чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 1:50–63. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-50-63.
2. Гостищева С.Е., Абзаева Н.В., Ракитина Е.Л., Пономаренко Д.Г., Костюченко М.В., Катунина Л.С., Логвиненко О.В., Иванова Г.Ф., Курилова А.А. Сравнительный анализ иммуногенной активности чумной вакцины в зависимости от среды выращивания. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 2:148–51. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-148-151.
3. Гостищева С.Е., Абзаева Н.В., Иванова Г.Ф., Катунина Л.С., Ростовцева Д.В., Костроминов А.В. Мониторинг стабильности вакцины чумной живой, приготовленной с использованием питательной среды на основе гидролизата кукурузного экстракта сгущенного. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 4:37–40. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-37-40.
4. Щуковская Т.Н., Бугоркова С.А., Гончарова А.Ю., Кудрявцева О.М. Способ повышения иммуногенности вакцинного штамма чумного микроба. Патент РФ № 2727258, опубл. 21.07.2020. Бюл. № 21.
5. Пинегин Б.В., Некрасов А.В., Хаитов Р.М. Иммуномодулятор полиоксидоний: механизмы действия и аспекты клинического применения. *Цитокины и воспаление*. 2004; 3(3):41–7.
6. Петров Р.В., Хаитов Р.М., Некрасов А.В., Аттаулаханов Р.И., Пучкова Н.Г., Иванова А.С., Пинегин Б.В., Хамидуллина К.Ф., Дамбаева С.В., Климова С.В. Полиоксидоний: механизм действия и клиническое применение. *Медицинская иммунология*. 2000; 2(3):271–8.

7. Каральник Б.В., Пономарева Т.С., Дерябин П.Н., Денисова Т.Г., Мельникова Н.Н., Тугамбаев Т.И., Атшабар Б.Б., Закарян С.Б. Влияние иммуномодуляции на иммуногенную и протективную активность живой чумной вакцины. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2014; 6:108–12.
8. Гончарова А.Ю., Бугоркова С.А., Кудрявцева О.М., Кожевников В.А., Кравцов А.Л., Каштанова Т.Н., Шуковская Т.Н. Экспериментальная оценка эффективности применения вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ в сочетании с иммуномодуляторами. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 2:71–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-71-77.
9. Шуковская Т.Н., Гончарова А.Ю., Бугоркова С.А., Ерохин П.С., Кудрявцева О.М. Оценка действия азоксимера бромид (полиоксидония) на адгезивные свойства вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ по данным атомно-силовой микроскопии. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(3):298–307. DOI: 10.36233/0372-9311-93.
10. Lasch P., Drevinek M., Nattermann H., Grunow R., Stämmler M., Dieckmann R., Schwecke T., Naumann D. Characterization of *Yersinia* using MALDI-TOF mass spectrometry and chemometrics. *Anal. Chem.* 2010; 82(20):8464–75. DOI: 10.1021/ac101036s.
11. Авдеева Ж.И., Алпатова Н.А., Акользина С.Е., Медуницын Н.В. Цитокины и вакцины. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2009; 3:22–7.
12. Bove C.G., De Angelis M., Gatti M., Calasso M., Neviani E., Gobetti M. Metabolic and proteomic adaptation of *Lactobacillus rhamnosus* strains during growth under cheese-like environmental conditions compared to de Man, Rogosa, and Sharpe medium. *Proteomics*. 2012; 12(21):3206–18. DOI: 10.1002/pmic.201200157.
13. Seibold E., Maier T., Kostrzewa M., Zeman E., Splettstoesser W. Identification of *Francisella tularensis* by whole-cell matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: fast, reliable, robust, and cost-effective differentiation on species and subspecies levels. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(4):1061–9. DOI: 10.1128/JCM.01953-09.
14. Крылов Д.А., Чайникова И.Н., Перунова Н.Б., Челпаченко О.Е., Паньков А.С., Смолягин А.И., Вальшев А.В. Влияние иммуномодулятора полиоксидония на биологические свойства микроорганизмов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2003; 4:74–8.
15. Харсеева Г.Г., Москаленко Е.П., Алутина Э.Л., Бредо А.М. Влияние полиоксидония на адгезивные свойства *Corynebacterium diphtheriae*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2009; 2:11–5.

## References

1. Mikshis N.I., Kuttyrev V.V. [Current state of the problem of vaccine development for specific prophylaxis of plague]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (1):50–63. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-50-63.
2. Gostishcheva S.E., Abzaeva N.V., Rakitina E.L., Ponomarenko D.G., Kostyuchenko M.V., Katunina L.S., Logvinenko O.V., Ivanova G.F., Kurilova A.A. [Comparative analysis of the immunogenic activity of the plague vaccine depending on the growing medium]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (2):148–51. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-148-151.
3. Gostishcheva S.E., Abzaeva N.V., Ivanova G.F., Katunina L.S., Rostovtseva D.V., Kostrominov A.V. [Monitoring of stability of the live plague vaccine produced using condensed corn steep extract hydrolysate-based nutrient medium]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (4):37–40. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-37-40.
4. Shchukovskaya T.N., Bugorkova S.A., Goncharova A.Yu., Kudryavtseva O.M. [Method for increasing immunogenicity of a vaccine strain of plague microbe]. RF Patent No. 2727258, publ. 21 July 2020. Bull. No. 21.
5. Pinegin B.V., Nekrasov A.V., Khaitov R.M. [Polyoxidonium immunomodulator: mechanisms of action and aspects of clinical

use]. *Tsitokiny i Vospalenie [Cytokines and Inflammation]*. 2004; 3(3):41–7.

6. Petrov R.V., Khaitov R.M., Nekrasov A.V., Attaulakhanov R.I., Puchkova N.G., Ivanova A.S., Pinegin B.V., Khamidullina K.F., Dambaeva S.V., Klimova S.V. [Polyoxidonium – mechanisms of action and clinical relevance]. *Meditsinskaya Immunologiya [Medical Immunology]*. 2000; 2(3):271–8.
7. Karal'nik B.V., Ponomareva T.S., Deryabin P.N., Denisova T.G., Mel'nikova N.N., Tugambaev T.I., Atshabar B.B., Zakaryan S.B. [Effect of immune modulation on immunogenic and protective activity of a live plague vaccine]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2014; (6):108–12.
8. Goncharova A.Yu., Bugorkova S.A., Kudryavtseva O.M., Kozhevnikov V.A., Kravtsov A.L., Kаштанова Т.Н., Shchukovskaya T.N. [Experimental evaluation of application of the vaccine strain *Yersinia pestis* EV NIEG in combination with immune-modulators]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (2):71–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-71-77.
9. Shchukovskaya T.N., Goncharova A.Y., Bugorkova S.A., Erokhin P.S., Kudryavtseva O.M. [Evaluation of azoximer bromide (polyoxidonium) influence on the adhesive properties of the *Yersinia pestis* EV NIEG vaccine strain by atomic force microscopy]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2021; 98(3):298–307. DOI: 10.36233/0372-9311-49.
10. Lasch P., Drevinek M., Nattermann H., Grunow R., Stämmler M., Dieckmann R., Schwecke T., Naumann D. Characterization of *Yersinia* using MALDI-TOF mass spectrometry and chemometrics. *Anal. Chem.* 2010; 82(20):8464–75. DOI: 10.1021/ac101036s.
11. Avdeeva Zh.I., Alpatova N.A., Akolizina S.E., Medunitsyn N.V. [Cytokines and vaccines]. *Tikhookeanskij Meditsinskij Zhurnal [Pacific Medical Journal]*. 2009; (3):22–7.
12. Bove C.G., De Angelis M., Gatti M., Calasso M., Neviani E., Gobetti M. Metabolic and proteomic adaptation of *Lactobacillus rhamnosus* strains during growth under cheese-like environmental conditions compared to de Man, Rogosa, and Sharpe medium. *Proteomics*. 2012; 12(21):3206–18. DOI: 10.1002/pmic.201200157.
13. Seibold E., Maier T., Kostrzewa M., Zeman E., Splettstoesser W. Identification of *Francisella tularensis* by whole-cell matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: fast, reliable, robust, and cost-effective differentiation on species and subspecies levels. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(4):1061–9. DOI: 10.1128/JCM.01953-09.
14. Krylov D.A., Chaynikova I.N., Perunova N.B., Chelpachenko O.E., Pan'kov A.S., Smolyagin A.I., Valyshev A.V. [Effect of a polyoxidonium immunoregulator on the biological properties of microorganisms]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2003; (4):74–8.
15. Kharseeva G.G., Moskalenko E.P., Alutina E.L., Bredov A.M. [Influence of polyoxidonium on adhesive properties of *Corynebacterium diphtheriae*]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2009; (2):11–5.

## Authors:

Goncharova A.Yu., Bugorkova S.A., Abdrashitova A.S., Shcherbakova N.E., Krasnov Ya.M., Germanchuk V.G., Devdariani Z.L., Shvidenko I.G., Shchukovskaya T.N. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

## Об авторах:

Гончарова А.Ю., Бугоркова С.А., Абдрашитова А.С., Щербакова Н.Е., Краснов Я.М., Германчук В.Г., Девдариани З.Л., Швиденко И.Г., Шуковская Т.Н. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.



DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-88-95

УДК 616.932:612.017.1

В.В. Евдокимова, Л.П. Алексеева, О.А. Якушева, Д.А. Левченко, М.В. Ренгач

## Получение и характеристика иммунных асцитических жидкостей к штаммам *Vibrio cholerae* R-варианта

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

**Цель работы** – получить иммунные асцитические жидкости (ИАЖ) мышей к целым клеткам холерных вибрионов R-варианта и оценить возможность их применения для обнаружения и характеристики атипичных холерных вибрионов. **Материалы и методы.** Проводили цикл иммунизации нелинейных белых мышей, включающий четыре инъекции антигена с адьювантом и без него, индукцию накопления асцитической жидкости путем внутрибрюшинной инокуляции мышинных миеломных клеток. Экспериментальные ИАЖ изучали в серологических и иммунологических реакциях на наборе штаммов *Vibrio cholerae* R-варианта, *V. cholerae* nonO1/nonO139, *V. cholerae* O1 и гетерологичных микроорганизмах. **Результаты и обсуждение.** Полученные ИАЖ отличаются высокими титрами антител в непрямом иммуноферментном анализе (до 1:640000), а в реакции слайд-агглютинации агглютинируют атипичные холерные вибрионы в разведении от 1:8 до 1:32. Обнаружены перекрестные реакции в трех изучаемых группах штаммов *V. cholerae*, что свидетельствует о наличии у них сходных антигенов. По результатам электрофоретического разделения и иммуноблоттинга лизатов клеток штаммов установлено наличие общих мажорных белков в области 55–60 и 25 кДа. Наглядные отличия наблюдаются по нескольким минорным белкам в области 30–55 кДа, в частности они отсутствуют у типичных штаммов. Показано также, что экспериментальные ИАЖ содержат антитела к эпитопам коровой части липополисахарида и поверхностных белков, причем большая часть из них являются общими для исследуемых групп холерных вибрионов. Полученные данные позволяют заключить, что возможность обнаружения *V. cholerae* R-варианта повышается при условии использования набора ИАЖ к R-вибрионам; для серологического анализа атипичных штаммов ИФА предпочтительнее реакции слайд-агглютинации. Объединение ИАЖ в виде одного препарата представляется перспективным, так как позволяет охарактеризовать спектр поверхностных антигенных детерминант измененных штаммов и расширить возможности их обнаружения.

**Ключевые слова:** холерный вибрион, атипичный штамм, R-вариант, мышинная асцитическая жидкость, поликлональная сыворотка, агглютинация, антигенная детерминанта.

Корреспондирующий автор: Евдокимова Вероника Вячеславовна, e-mail: evdokimova\_vv@antiplague.ru.

Для цитирования: Евдокимова В.В., Алексеева Л.П., Якушева О.А., Левченко Д.А., Ренгач М.В. Получение и характеристика иммунных асцитических жидкостей к штаммам *Vibrio cholerae* R-варианта. Проблемы особо опасных инфекций. 2024; 3:88–95. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-88-95  
Поступила 29.01.2024. Отправлена на доработку 13.03.2024. Принята к публ. 18.03.2024.

V.V. Evdokimova, L.P. Alekseeva, O.A. Yakusheva, D.A. Levchenko, M.V. Rengach

## Production and Characterization of Immune Ascitic Fluids to *Vibrio cholerae* R-Variant Strains

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

**Abstract.** The aim of the work was to obtain immune ascitic fluids (IAF) of mice to whole cells of R-variant cholera vibrios and to evaluate the possibility of their use for detection and characterization of atypical cholera vibrios. **Materials and methods.** A cycle of immunization of nonlinear white mice was performed. It included four injections of antigen with and without adjuvant, induction of ascitic fluid accumulation through intraperitoneal inoculation of murine myeloma cells. Experimental IAFs were studied in serologic and immunologic reactions on a set of strains of R-variant *Vibrio cholerae*, *V. cholerae* nonO1/nonO139, *V. cholerae* O1 and heterologous microorganisms. **Results and discussion.** The obtained IAFs are notable for high antibody titers in indirect enzyme immunoassay (up to 1:640000), and agglutinate atypical cholera vibrios at dilutions from 1:8 to 1:32 in slide-agglutination reaction. Cross-reactions were found in the three groups of *V. cholerae* strains studied, indicating the presence of similar antigens. Based on the results of electrophoretic separation and immunoblotting of cell lysates of the strains, the presence of common major proteins in the region of 55–60 and 25 kDa was established. Evident differences were observed for several minor proteins in the 30–55 kDa region, in particular, they were absent in the typical strains. It is also shown that experimental IAFs contain antibodies to epitopes of the core part of LPS and surface proteins, most of them being common to the studied groups of cholera vibrios. The obtained data allow us to draw the following conclusions: the possibility of detecting a larger number of *V. cholerae* R-variants is increased if the ELISA kit to R-vibrios is used; the use of ELISA method is preferable to the slide-agglutination reaction for serologic analysis of atypical strains. Combining IAFs in the form of a single preparation seems promising, as it allows for characterizing the spectrum of surface antigenic determinants of altered strains and expanding the possibilities of their detection.

**Key words:** cholera vibrio, atypical strain, R-variant, murine ascitic fluid, polyclonal serum, agglutination, antigenic determinant.

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

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

**Bioethics:** All experiments with animals were carried out in accordance with Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council of the European Union for the Protection of Animals Used for Scientific Purposes (minutes of the meeting of the Bioethics Commission dated April 20, 2022 No. 5).

**Corresponding author:** Veronika V. Evdokimova, e-mail: evdokimova\_vv@antiplague.ru.

**Citation:** Evdokimova V.V., Alekseeva L.P., Yakusheva O.A., Levchenko D.A., Rengach M.V. Production and Characterization of Immune Ascitic Fluids to *Vibrio cholerae* R-Variant Strains. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2024; 3:88–95. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-88-95

**Received** 29.01.2024. **Revised** 13.03.2024. **Accepted** 18.03.2024.

Evdokimova V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5522-9097>

Alekseeva L.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9866-3579>

Yakusheva O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8159-7547>

Levchenko D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4676-0377>

Rengach M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7598-0013>

Атипичные штаммы холерных вибрионов с измененной антигенной структурой клеточной стенки нередко выделяются на территории Российской Федерации в ходе проведения мониторинговых исследований на холеру объектов окружающей среды (ООС). Штаммы отличаются низкой агглютинабельностью в отношении диагностических О-сывороток или агглютинируются только RO-сывороткой [1–5]. Среди холерных вибрионов RO установлено наличие двух вариантов штаммов: R и SR [6]. Согласно МУК 4.2.3745-22, измененные штаммы холерных вибрионов, которые агглютинируются всеми диагностическими холерными сыворотками, в том числе и RO, обозначают как SR-варианты. Штаммы *Vibrio cholerae*, агглютинирующиеся только диагностической холерной сывороткой RO, отнесены к R-варианту. Серологические особенности изолятов холерных вибрионов R-варианта связаны со строением О-липополисахарида [7]. Основу внешней антигенной мозаики R-вариантов составляет R-ЛПС, и все воздействия, которым подвергается микробная клетка, в первую очередь отражаются на структуре R-core, обуславливая его значительные вариации по терминальным моносахаридам. Иммунофемонтный анализ (ИФА) с помощью панели моноклональных антител (МКА) поверхностных структур атипичных по агглютинабельности штаммов *V. cholerae* R-варианта показал, что среди исследуемых штаммов, идентифицированных при выделении как *V. cholerae* R-варианта, регистрируются отдельные культуры с различным содержанием О-антигена [8]. В связи с этим целесообразно получение поли- и моноклональных антител, направленных к поверхностным антигенам атипичных холерных вибрионов, выявление и изучение в серологических реакциях иммунодоминантных эпитопов мембранных белков, R-core, R-ЛПС штаммов *V. cholerae* R-варианта.

При создании гибридом-продуцентов МКА донорами иммунных спленоцитов служат белые мыши линии BALB/c. Поскольку репертуар иммунного ответа животных любой инбредной линии генетически рестриктирован [9], а в качестве партнера для слияния используются миеломные клетки этой же линии мышей, иммунный ответ формируется преимущественно против иммунодоминантных эпитопов. Получение поликлональных антител позволяет оценить весь спектр антигенных детерминант, участвующих в иммунном ответе. Они могут быть полу-

чены путем иммунизации лабораторных животных с последующим забором различных биологических жидкостей и выделением из них иммуноглобулинов. Чаще всего источником антител служат кровь или асцитические жидкости. Иммунная асцитическая жидкость (ИАЖ) тождественна по своему составу и специфической активности соответствующим иммунным сывороткам крови. Для получения ИАЖ иммунизированным животным в полость брюшины вводят асцитобразующий материал: адьювант и клетки злокачественной опухоли [10, 11]. Наиболее распространено использование ИАЖ мышей, так как от одной мыши за 3–4 забора можно получить до 20 мл ИАЖ. В качестве биопродуцентов используют как сингенных линейных мышей BALB/c, так и беспородных белых мышей [12]. Корректно подобранный цикл иммунизации позволяет получать высокотитражные ИАЖ, которые в дальнейшем могут быть использованы для выделения иммуноглобулинов и изучения с их помощью холерных вибрионов *V. cholerae* R-варианта.

**Цель** работы состояла в получении иммунных асцитических жидкостей мышей к целым клеткам холерных вибрионов R-варианта и оценке возможности их применения для обнаружения и характеристики атипичных холерных вибрионов.

## Материалы и методы

**Штаммы микроорганизмов.** В работе использовали 63 штамма *V. cholerae* различной токсигенности и серологических групп (R-вариант, O1, nonO1/nonO139), изолированных из ООС на территории бывших республик СССР и административных территорий России. Для иммунизации животных использовали три штамма *V. cholerae* R-варианта: № 16290 (1995 г., Забайкальский край), № 18298 (2000 г., Приморский край), № 18138 (1999 г., Ленинградская область). Для контроля в исследование взяты тест-штаммы согласно МУ 3.3.2.2124-06: два токсигенных тест-штамма *V. cholerae* O1 Ogawa El Tor № 12214 (*wbe<sup>+</sup>hly<sup>+</sup>ctxA<sup>+</sup>tcpA<sup>+</sup>*), *V. cholerae* O1 Ogawa classical № 1391 (*wbe<sup>+</sup>hly<sup>+</sup>ctxA<sup>+</sup>tcpA<sup>+</sup>*), нетоксигенный штамм *V. cholerae* nonO1/nonO139 № P-9741 (*wbe<sup>+</sup>hly<sup>+</sup>ctxA<sup>-</sup>tcpA<sup>-</sup>*). Кроме того, в качестве контроля использовали токсигенный штамм *V. cholerae* classical R-варианта № 16197/1 (*wbe<sup>+</sup>hly<sup>+</sup>ctxA<sup>+</sup>tcpA<sup>+</sup>*), изолированный от человека и несущий ген *wbeT*, но агглютинирую-

щийся только диагностической холерной сывороткой RO. Для оценки специфичности ИАЖ использовали гетерологичные микроорганизмы: *Escherichia coli* № MB 101, *E. coli* № 16804, *Shigella flexneri* № 1018516, *Sh. sonnei* № 10391, *Salmonella enteritidis* № 19493, *S. München* № 5177–5188; готовили взвеси  $10^9$  м.кл./мл и обеззараживали. Все штаммы получены из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. Все этапы работы с живыми культурами микроорганизмов проводили с учетом требований СанПин 3.3686-21.

**Реакция агглютинации.** Согласно паспортным данным, используемые в работе изоляты холерных вибрионов при первичном выделении из ООС были идентифицированы как *V. cholerae* R-варианта по признаку агглютинации только сывороткой RO в диагностическом титре. Все штаммы с момента поступления и идентификации хранились в лиофильно высушенном состоянии. В нашей работе культуры вновь проверяли в развернутой реакции агглютинации (РА) с серогрупповой (O1), серовароспецифическими (Огава и Инаба) и RO-диагностическими холерными сыворотками в соответствии с МУК 4.2.3745-22. По результатам агглютинации штаммы *V. cholerae* условно объединены в три группы: 1) 20 штаммов *V. cholerae* O1 – агглютинировались серогрупповой (O1) и серовароспецифическими (Огава или Инаба) диагностическими холерными сыворотками в диагностических титрах в различных сочетаниях и содержали ген *wbeT* (*ctxA<sup>+</sup>tcpA<sup>+</sup>wbeT<sup>+</sup>wbfR<sup>-</sup>*, *ctxA<sup>-</sup>tcpA<sup>+</sup>wbeT<sup>+</sup>wbfR<sup>-</sup>*, *ctxA<sup>-</sup>tcpA<sup>-</sup>wbeT<sup>+</sup>wbfR<sup>-</sup>*), 2) 7 штаммов *V. cholerae* R-варианта, агглютинирующихся только холерной сывороткой RO в диагностическом титре (1/800) и у которых отсутствовал ген *wbeT* (*ctxA<sup>-</sup>tcpA<sup>-</sup>wbeT<sup>-</sup>wbfR<sup>+</sup>*), 3) 36 штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139 – нетоксигенные штаммы холерных вибрионов (*ctxA<sup>-</sup>tcpA<sup>-</sup>wbeT<sup>-</sup>wbfR<sup>-</sup>*), которые не агглютинировались диагностическими сыворотками холерными, в том числе RO [13, 14]. Штаммы, используемые для иммунизации животных, относились ко второй группе *V. cholerae* R-варианта, при этом изолят № 18138 также агглютинировался холерной серовароспецифической сывороткой O76.

Определение специфической активности (титрование) иммунных асцитических жидкостей проводили в реакции слайд-агглютинации с живыми культурами *V. cholerae* R-варианта № 16290, 18298, 18138, которыми иммунизировали животных. Из исходной асцитической жидкости готовили последовательные двукратные разведения до титра 1:64. Учет в объемной РА и слайд-агглютинации проводили по 4-крестовой системе, за положительный результат в объемной РА принимали агглютинацию на 4+ и 3+, а в слайд-агглютинации – на 4+.

**Культивирование миеломы *in vitro*.** Для асцитобразования использовали мышинные миеломные линии P3-X63/Ag8.653 (РКККП, Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия) и NS0/1 (клон

миеломы P3X63/Ag8), хранящиеся в криобанке ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. После размораживания клетки миеломы выращивали в пластиковых чашках Петри в среде DMEM (Gibco, Invitrogen, США) с 10 % сыворотки плода коровы, 2 мМ глутамин и 50 мкг/мл гентамицина в условиях CO<sub>2</sub>-инкубатора (37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, влажность не менее 70 %). Все манипуляции с клетками проводили в ламинарном боксе с принудительной подачей стерильного воздуха. Морфологию клеток оценивали под инвертированным микроскопом.

#### **Культивирование миеломных клеток *in vivo*.**

После тиражирования миеломы *in vitro* клетки центрифугировали и ресуспендировали в бессывороточной среде RPMI. Для индукции асцитных опухолей животных заранее (за 7–14 дней) праймировали пристаном в дозе 0,5 мл/мышь, затем внутрибрюшинно вводили 5–10 млн клеток миеломы. Далее наблюдали за формированием асцитной опухоли, начиная с 10–12-го дня производили пункцию брюшной полости, отбирали образовавшуюся асцитическую жидкость, содержащую клетки миеломы. Клетки перевивали иммунным животным для индукции асцитобразования, а также чистым животным для дальнейших пассажей миеломы.

**Лабораторные животные.** В опыт брали самок нелинейных белых мышей массой 20–22 г. Все эксперименты с животными выполнялись в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях [15] (протокол заседания комиссии по биоэтике от 20.04.2022 № 5).

**Иммунизация и индукция иммунных асцитических жидкостей.** Работа по получению ИАЖ состояла из двух этапов – иммунизации и введения миеломных клеток.

В качестве антигенного материала использовали убитую кипячением взвесь холерных вибрионов (*V. cholerae* R-варианта № 16290, 18298, 18138), проверенную на специфическую стерильность трехкратным высеvom. Цикл иммунизации состоял из четырех инъекций: три инъекции антигенного материала ( $10^8$  м.кл.), смешанного с адьювантом Фрейнда, в равных объемах по 0,2 мл с интервалом в 14 дней (1, 15 и 30-й дни) вводили внутрибрюшинно. Заключительную инъекцию проводили через 14 дней (45-й день): антигенный материал ( $10^8$  м.кл.) без добавления адьюванта вводили внутримышечно. Через 7 дней (53-й день) после завершения цикла иммунизации животным делали инъекцию пристана в дозе 0,5 мл/мышь, спустя 7–14 дней внутрибрюшинно вводили миелому в количестве  $10^7$  кл./мышь. Сбор ИАЖ проводили по мере ее накопления путем повторных пункций брюшной полости (с интервалом 3–5 дней). ИАЖ центрифугировали при 3–4 тыс. об/мин в течение 20 мин для освобождения от клеточных элементов (миеломных клеток, лейкоцитов, макрофагов, тучных клеток) и фибрина. Надосадочную (прозрачную) ИАЖ



использовали по назначению. Серологическую активность ИАЖ проверяли в реакции слайд-агглютинации, непрямом иммуноферментном анализе, иммуноблоттинге.

**Непрямой иммуноферментный анализ** проводили по общепринятой методике в полистироловых планшетах [16]. Инактивированными взвесями холерных вибрионов сенсibilizировали пластик в дозе  $10^8$  м.кл./лунка. В качестве антивидовых антител использовали антимышиный пероксидазный конъюгат (HRP-Goat-Anti-Mouse, Invitrogen, США). Реакцию проявляли субстратной смесью, содержащей хромоген 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (AppliChem, Германия). Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре Sunrise (Tecan, Австрия) с программным обеспечением Magellan при длине волны 450 нм (референс-волна 620 нм). Результаты считали положительными, если значение  $D_{450}$  исследуемого образца в два раза и более превосходило среднее значение  $D_{450}$  отрицательных контролей. Постановку ИФА осуществляли в трех повторностях.

**Электрофорез и иммуноблоттинг.** Электрофорез бактериальных взвесей проводили по методу U.K. Laemmli [17] в пластинах 12,5 % полиакриламидного геля размером 70×100×1 мм в денатурирующих условиях. Для окрашивания белковых фракций на мембране использовали краситель Ponceau S (Reanal, Будапешт, Венгрия). Постановку иммуноблоттинга осуществляли по методу H. Towbin *et al.* [18].

**Статистическая обработка результатов.** Статистическую обработку полученных экспериментальных данных проводили с помощью программы Microsoft Excel (Microsoft Office 2003). При анализе и обобщении результатов планшетного ИФА использовали параметрические статистические методы: вычисляли среднюю арифметическую, среднее квадратичное отклонение.

## Результаты и обсуждение

Для получения ИАЖ в качестве антигена использовали целые клетки штаммов *V. cholerae* R-варианта: № 16290, 18298, 18138. В результате иммунизации мышей и индукции образования ИАЖ получено по две серии ИАЖ к каждому штамму R-варианта *V. cholerae* в объеме 5–10 мл. Оценка специфической активности полученных ИАЖ в реакции слайд-агглютинации показала, что они агглютинировали холерные вибрионы *V. cholerae* R-варианта № 16290, 18298 и 18138 в пределах титров 1:8 – 1:32 (табл. 1).

При использовании в непрямом иммуноферментном анализе в качестве антигена (сенситина) убитых кипячением клеток холерных вибрионов *V. cholerae* R-варианта № 16290, 18298, 18138 установлены предельные титры ИАЖ от 1:160000 до 1:640000. Судя по показателям титров в РА и оптической плотности в ИФА, наибольшей серологической активностью отличается ИАЖ-2.

Затем иммунные асцитические жидкости оценили в ИФА на наличие перекрестных антител с гетерологичными микроорганизмами: *E. coli*, *Sh. flexneri*, *Sh. sonnei*, *S. enteritidis*, *S. München*. Перекрестной реактивности не обнаружено при их взаимодействии с ИАЖ в рабочих разведениях 1/80000 – 1/160000.

Для ответа на вопрос, какие антигенные детерминанты можно выявить с помощью пула антител, входящих в состав ИАЖ, проведены электрофоретическое разделение и иммуноблоттинг лизатов клеток штаммов – представителей определенных групп: *V. cholerae* R-варианта, *V. cholerae* nonO1/nonO139, а также тест-штаммов *V. cholerae* O1. На рисунке представлена блотограмма клеточных лизатов исследуемых штаммов, обработанных ИАЖ-2, полученная к клеткам холерных вибрионов R-варианта (№ 18298).

Таблица 1 / Table 1

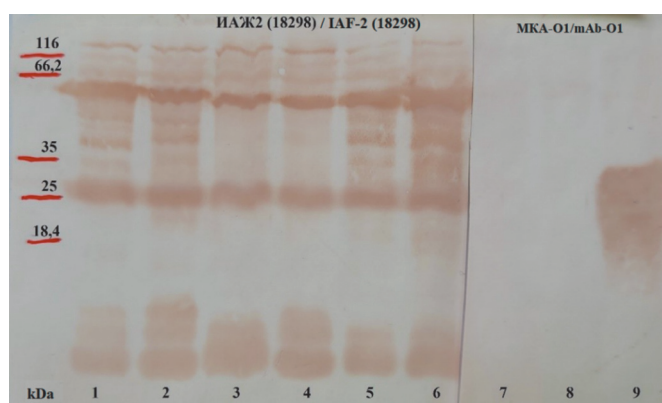
Специфическая активность иммунных асцитических жидкостей в реакции слайд-агглютинации (РА) и непрямом иммуноферментном анализе (ИФА)

Specific activity of immune ascitic fluids (IAF) in slide-agglutination reaction (AR) and indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Иммунная асцитическая жидкость Immune ascitic fluids	Титр в РА Titer in agglutination reaction						Титр в ИФА (ОПср) Titer in ELISA (average OD)						
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/10000	1/20000	1/40000	1/80000	1/160000	1/320000	1/640000
ИАЖ-1 (№ 16290) IAF-1 (No. 16290)	+	+	+	–	–	–	0,718±0,01	0,638±0,01	0,639±0,01	0,574±0,01	0,436±0,01	0,300±0,01	0,124±0,01
ИАЖ-2 (№ 18298) IAF-2 (No. 18298)	+	+	+	+	+	–	0,690±0,01	0,619±0,01	0,607±0,02	0,626±0,01	0,657±0,01	0,609±0,01	0,390±0,01
ИАЖ-3 (№ 18138) IAF-3 (No. 18138)	+	+	+	+	+	–	0,684±0,02	0,607±0,01	0,608±0,01	0,494±0,01	0,358±0,01	0,271±0,02	0,114±0,01
							K <sup>+</sup>					0,717±0,01	
							K <sup>–</sup>					0,158±0,01	

Примечание: в табл. 1 представлены средние арифметические оптических плотностей (ОПср) и среднее квадратичное отклонение; K<sup>+</sup> (положительный контроль), K<sup>–</sup> (отрицательный контроль).

Note: the table 1 presents arithmetic mean values for optical densities (average OD) and mean square deviation; K<sup>+</sup> (positive control), K<sup>–</sup> (negative control).



Иммуноблот бактериальных лизатов штаммов *V. cholerae* с ИАЖ-2 (№ 18298) и МКА-O1:

1 – *V. cholerae* R-варианта № 16290, 2 – № 18298; 3 – тест-штаммы *V. cholerae* O1 № 12214, 4 – № 1391; 5 – *V. cholerae* nonO1/nonO139 № 14904, 6 – № 20553; 7 – *V. cholerae* R-варианта № 18298; 8 – *V. cholerae* nonO1/nonO139 № 20553; 9 – *V. cholerae* O1 № 12214

Immunoblot of bacterial lysates of *V. cholerae* strains with immune ascitic fluids IAF-2 (No. 18298) and monoclonal antibodies (mAb-O1):

1 – *V. cholerae* R-variant No. 16290, 2 – No. 18298; 3 – test strains of *V. cholerae* O1 No. 12214, 4 – No. 1391; 5 – *V. cholerae* nonO1/nonO139 No. 14904, 6 – No. 20553; 7 – *V. cholerae* R-variant No. 18298; 8 – *V. cholerae* nonO1/nonO139 No. 20553; 9 – *V. cholerae* O1 No. 12214

Сравнительный анализ полос на блотограмме показывает, что в области 55–60 и 25 кДа выявляются мажорные белки, общие для всех штаммов, независимо от их принадлежности к соответствующей серологической группе. Наглядные отличия наблюдаются по минорным белкам в области 30–55 кДа. Так, штаммы – представители *V. cholerae* R-варианта и *V. cholerae* nonO1/nonO139 имеют несколько общих минорных полос в этой зоне, в отличие от типичных холерных вибрионов в S-форме, у которых аналогичные полосы отсутствуют. Локализованная в нижней части блотограммы широкая зона представлена у всех испытуемых штаммов и принадлежит, по-видимому, кор-олигосахариду. При обработке мембраны моноклональными антителами к O1-антигену *V. cholerae* (МКА-O1) [19] соответствующая ему зона ЛПС у атипичных штаммов не окрашивается (треки 7 и 8, трек 9 – положительный контроль), т.е. эпитопы ЛПС, характерные для типичных холерных вибрионов серогруппы O1, отсутствуют у изолятов *V. cholerae* R-варианта и *V. cholerae* nonO1/nonO139. В лизатах штаммов из группы *V. cholerae* O1 на блотограмме также обнаружены эпитопы ЛПС (фото не представлено). На основании данных блотограммы можно констатировать, что ИАЖ в своем составе содержат антитела к эпитопам коровой части ЛПС и поверхностных белков, большая часть из них являются общими для исследуемых групп холерных вибрионов.

С учетом сведений о составе и эпитопной направленности антител ИАЖ оценена их специфическая активность в реакции слайд-агглютинации на широком наборе штаммов, относящихся к трем различным серологическим группам. В работу брали ИАЖ в рабочих разведениях и живые культуры

штаммов *V. cholerae* O1, *V. cholerae* RO и *V. cholerae* nonO1/nonO139, а также тест-штаммов.

Как видно из табл. 2, экспериментальные ИАЖ в реакции слайд-агглютинации проявляли различную специфическую активность в отношении исследуемых штаммов. Отрицательная реакция всех ИАЖ зарегистрирована с клетками тест-штамма *V. cholerae* O139.

Наряду с реакцией агглютинации иммунологическую активность ИАЖ оценили в ИФА с атипичными холерными вибрионами (табл. 3).

Как оказалось, в иммуноферментном анализе каждая из трех ИАЖ взаимодействовала с 80–100 % штаммов – представителей испытуемых групп. Объяснить это можно тем, что, во-первых, иммуноферментный анализ является более чувствительным методом, чем реакция агглютинации на стекле, во-вторых, в реакции агглютинации участвуют антигенные детерминанты, локализованные на поверхности нативной бактериальной клетки, представленные большей частью О-полисахаридными цепями ЛПС, либо кор-олигосахаридом ЛПС. В ИФА для сенсibilизации лунок использовали целые клетки холерных вибрионов, убитые кипячением. Возможно, термобработка приводит к частичной деградации ЛПС, и мембранные белки становятся более доступными для взаимодействия с иммуноглобулинами. В составе нативной бактериальной клетки ЛПС «экранирует» эпитопы мембранных белков (конформационная «закрытость»), что наблюдается в реакции слайд-агглютинации. Поскольку ИАЖ являются поликлональными сыворотками и содержат пул антител к различным антигенным детерминантам: ЛПС, мембранным белкам и кор-олигосахариду, – то в ИФА происходит взаимодействие специфических иммуноглобулинов со всеми антигенами, представленными на поверхности инактивированной бактериальной клетки, чем и обусловлено выявление большего количества штаммов.

В задачи данной работы входило получение ИАЖ к R-вариантам и оценка их активности на широкой выборке атипичных холерных вибрионов. В реакциях агглютинации и ИФА мы наблюдали различные варианты взаимодействия иммуноглобулинов с атипичными по агглютинабельности штаммами. Основными поверхностными антигенами R-форм холерных вибрионов являются R-ЛПС и мембранные белки, которые детерминируют синтез антител при использовании их в качестве иммуногена. В нашей работе иммунизация биопробных животных проведена клетками штаммов из группы *V. cholerae* R-варианта, при этом антительный ответ сформировался преимущественно против иммунодоминантных эпитопов поверхностных белков и R-ЛПС. Оценка специфической активности полученных ИАЖ в серологических реакциях со штаммами холерных вибрионов показала, что они вступали в реакцию с большинством штаммов из группы *V. cholerae* nonO1/nonO139, что обусловлено наличием

Таблица 2 / Table 2

Результаты слайд-агглютинации иммунных асцитических жидкостей с набором штаммов *V. cholerae*Results of slide agglutination of immune ascitic fluids with *V. cholerae* strains

Группы штаммов <i>V. cholerae</i> Groups of <i>V. cholerae</i> strains	Количество штаммов, взятых в исследование Number of strains under the study	ИАЖ / количество штаммов с положительной реакцией в слайд-агглютинации IAF / number of strains with positive agglutination					
		ИАЖ-1 (№ 16290) IAF-1 (No. 16290)		ИАЖ-2 (№ 18298) IAF-2 (No. 18298)		ИАЖ-3 (№ 18138) IAF-3 (No. 18138)	
		абс. кол-во abs. number	уд. вес от общ. кол-ва, % proportion out of the total number, %	абс. кол-во abs. number	уд. вес от общ. кол-ва, % proportion out of the total number, %	абс. кол-во abs. number	уд. вес от общ. кол-ва, % proportion out of the total number, %
<i>V. cholerae</i> O1	20	1*	5	2*	10	2	10
<i>V. cholerae</i> R-варианта <i>V. cholerae</i> R-variant	7	2	28,6	3	42,8	1	14,3
<i>V. cholerae</i> nonO1/nonO139	36	7	19,4	16*	44,4	12*	33,3
<i>V. cholerae</i> O1 (токсигенные тест-штаммы № 12214 El Tor, 1391 classical) <i>V. cholerae</i> O1 (toxigenic test strain No. 12214 El Tor, 1391 classical)	2	2	100	0	0	0	0
<i>V. cholerae</i> O139 (токсигенный тест-штамм № 16064) <i>V. cholerae</i> O139 (toxigenic test strain No. 16064)	1	0	0	0	0	0	0
<i>V. cholerae</i> classical R-вариант (токсигенный тест-штамм № 16197/1) <i>V. cholerae</i> classical R-variant (toxigenic test strain No. 16197/1)	1	1	100	0	0	0	0
<i>V. cholerae</i> nonO1/nonO139 (нетоксигенный штамм № P-9741) <i>V. cholerae</i> nonO1/nonO139 (nontoxigenic strain No. P-9741)	1	0	0	0	0	0	0

Примечание: \* номера штаммов совпадают.

Note: \* strain numbers are the same.

Таблица 3 / Table 3

Оценка специфической активности иммунных асцитических жидкостей в ИФА на выборке штаммов *V. cholerae*Evaluation of specific activity of immune ascitic fluids in ELISA on a sample of *V. cholerae* strains

Штаммы <i>V. cholerae</i> <i>V. cholerae</i> strains	Количество штаммов, взятых в исследование Number of strains under the study	ИАЖ / количество штаммов с положительной реакцией в ИФА IAF / number of strains with a positive reaction in ELISA					
		ИАЖ-1 (№ 16290) IAF-1 (No. 16290)		ИАЖ-2 (№ 18298) IAF-2 (No. 18298)		ИАЖ-3 (№ 18138) IAF-3 (No. 18138)	
		абс. кол-во abs. number	уд. вес от общ. кол-ва, % proportion out of the total, %	абс. кол-во abs. number	уд. вес от общ. кол-ва, % proportion out of the total, %	абс. кол-во abs. number	уд. вес от общ. кол-ва, % proportion out of the total, %
<i>V. cholerae</i> R-варианта <i>V. cholerae</i> R-variant	7	6	85	7	100	6	85
<i>V. cholerae</i> nonO1/nonO139	10	8	80	10	100	7	85

ем у них множества общих антигенных детерминант, и этот факт безусловно заслуживает дальнейшего анализа. Положительная реакция ИАЖ с отдельными штаммами в S-форме, агглютинирующимися O1 и серовароспецифическими сыворотками, свидетельствует о том, что только некоторые из штаммов сохранили эпитопы, идентичные R-вариантам. Что касается группы *V. cholerae* R-варианта, то по результатам работы очевиден вывод, что чем шире набор

ИАЖ, тем выше вероятность выявить большее число R-вибрионов, обладающих индивидуальными иммунодоминантными эпитопами кора R-ЛПС, отличающихся концевыми моносахаридами. Объединение ИАЖ в виде одного препарата представляется нам перспективным, так как позволяет охарактеризовать достаточно широкий спектр поверхностных антигенных детерминант атипичных штаммов, выделяемых из объектов окружающей среды в процессе мо-



нитинга за холерой, и затем в динамике оценить их сохранность при хранении и действии различных стрессовых факторов. На основании полученных результатов закономерен также вывод, что для обнаружения атипичных штаммов предпочтительнее использование ИФА в сравнении с реакцией слайд-агглютинации, а его достоверность и чувствительность может быть повышена за счет расширения набора ИАЖ к R-вариантам или объединения их в виде комбинированного 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 эксперименты с животными выполнялись в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях (протокол заседания комиссии по биоэтике от 20.04.2022 № 5).

### Список литературы

1. Безсмертный В.Е., Подосинникова Л.С., Иванова С.М., Титов Г.В., Смоликова Л.М., Мазрухо Б.Л., Кругликов В.Д., Шесталтынова И.С., Монахова Е.В., Кудрякова Т.А., Авдеева Е.П., Лобанов В.В. Характеристика культур холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп, изолированных от людей и из объектов окружающей среды на территории Российской Федерации в 2006 году. В кн.: Холера и патогенные для человека вибрионы. Материалы проблемной комиссии (48.04). Вып. 20. Ростов-на-Дону; 2007. С. 49–53.
2. Иванова С.М., Титов Г.В., Безсмертный В.Е., Титова С.В., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Архангельская И.В., Ежова М.И., Кудрякова Т.А., Зубкова Д.А., Водопьянов С.О., Водопьянов А.С. Информация о биологических свойствах холерных вибрионов O1 серогруппы, изолированных из объектов окружающей среды и от людей на территории Российской Федерации в 2014 году. В кн.: Холера и патогенные для человека вибрионы. Материалы проблемной комиссии (48.04). Вып. 28. Ростов-на-Дону; 2015. С. 67–70. [Электронный ресурс]. URL: <http://antiplague.ru/wp-content/uploads/2015/06/Cholera-28-2015.pdf>.
3. Яшкуллов К.Б., Калыева Т.Б., Оброткина Н.Ф., Тюнникова В.Д., Дандаева Б.В. О свойствах культур холерных вибрионов O1, выделенных из воды открытых водоемов Республики Калмыкия в период с 2012–2014 гг. В кн.: Холера и патогенные для человека вибрионы. Материалы проблемной комиссии (48.04). Вып. 28. Ростов-на-Дону; 2015. С. 71–75. [Электронный ресурс]. URL: <http://antiplague.ru/wp-content/uploads/2015/06/Cholera-28-2015.pdf>.
4. Иванова С.М., Иванников В.В., Мискинова Т.А., Лопатин А.А., Титова С.В., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Архангельская И.В., Левченко Д.А., Чемисова О.С., Гаевская Н.Е., Ежова М.И., Непомнящая Н.Б. Информация о биологических свойствах холерных вибрионов O1 серогруппы, изолированных из объектов окружающей среды на территории Российской Федерации в 2017 году. В кн.: Холера и патогенные для человека вибрионы. Материалы проблемной комиссии (48.04). Вып. 31. Ростов-на-Дону; 2018. С. 48–51. [Электронный ресурс]. URL: <http://antiplague.ru/wp-content/uploads/2019/01/СБОРНИК-31.pdf>.
5. Мошкина А.А. Свойства забайкальских штаммов холерных вибрионов O1, выделенных за последние пять лет. В кн.: Холера и патогенные для человека вибрионы. Материалы проблемной комиссии (48.04). Вып. 32. Ростов-на-Дону; 2019. С. 110–12. [Электронный ресурс]. URL: <http://antiplague.ru/wp-content/uploads/2019/11/Холера-и-патогенные-для-человека-вибрионы-выпуск-32.pdf>.
6. Черепашкина И.Я., Балахнова В.В., Подосинникова Л.С., Огнева Н.С., Сорокин В.М., Прозорова Л.А., Фецайлова О.П., Чиркова О.О. Современные подходы к изучению антигенной вариативности холерных вибрионов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1996; 4:85–6.
7. Лобанов В.В., Сухарь В.В. Особенности липополисахарида *Vibrio cholerae*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2002; 2:102–7.
8. Евдокимова В.В., Алексеева Л.П., Якушева О.А., Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Зюзина В.П., Яговкин М.Э. Изучение с помощью панели МКА поверхностных антигенных детерминант атипичных по агглютинабельности штаммов *Vibrio cholerae*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:77–85. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-77-85.
9. Климович В.Б., Самойлович М.П., Грязева И.В., Крутецкая И.Ю., Пашкова С.Ф., Руденко И.Я. Моноклональные антитела на основе репертуара иммунного ответа мышей линии SJL/J. *Медицинская иммунология*. 1999; 1(1-2):47–58.
10. Нуралова И.В. Способ получения хламидийного люминесцирующего диагностического препарата, хламидийный люминесцирующий диагностический препарат и способ диагностики хламидийных инфекций. Патент РФ № 2141666, опубл. 20.11.1999.
11. Подоплека Л.Е., Шарова О.И., Унгер Г.Н. Способ получения антител для производства диагностических препаратов вируса клещевого энцефалита. Патент РФ № 2063245, опубл. 10.07.1996.
12. Девдариани З.Л., Федорова В.А., Веренков М.С., Чижиньков А.И., Кочетов А.Х. Беспородные мыши – биопродукты моноклональных антител к капсульному антигену возбудителя чумы. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1992; 2:73–4.
13. Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Архангельская И.В., Якушева О.А., Алексеева Л.П., Водопьянов С.О., Ежова М.И., Носков А.К. Изучение диапазона изменчивости по агглютинабельности штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных при мониторинговых исследованиях. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 3:107–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-107-114.
14. Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Подойничина О.А., Непомнящая Н.Б., Селянская Н.А., Водопьянов А.С., Ежова М.И., Ренгач М.В., Носков А.К. Комплексная характеристика штаммов *Vibrio cholerae* – R-вариант. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова*. 2023; 19(1):6–14.
15. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. СПб.; 2012. 48 с. [Электронный ресурс]. URL: [https://ruslasa.ru/wp-content/uploads/2017/06/Directive\\_201063\\_rus.pdf](https://ruslasa.ru/wp-content/uploads/2017/06/Directive_201063_rus.pdf).
16. Егоров А.М., Осипов А.П., Дзантиев Б.Б., Гаврилова Е.М. Теория и практика иммуноферментного анализа. М.; 1991. 288 с.
17. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227(5259):680–5. DOI: 10.1038/227680a0.
18. Towbin H., Gordon J. Immunoblotting and dot immunobinding – current status and outlook. *J. Immunol. Methods*. 1984; 72(2):313–40. DOI: 10.1016/0022-1759(84)90001-2.
19. Евдокимова В.В., Алексеева Л.П., Кретенчук О.Ф., Кругликов В.Д., Архангельская И.В., Бурша О.С. Иммуноферментные методы анализа в диагностике холеры. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(5):303–7. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-5-303-307.

### References

1. Bezsmertny V.E., Podosinnikova L.S., Ivanova S.M., Titov G.V., Smolikova L.M., Mazruho B.L., Kruglikov V.D., Shestaltynova I.S., Monakhova E.V., Kudryakova T.A., Avdeeva E.P., Lobanov V.V. [Characteristics of cultures of cholera vibrios O1 and O139 serogroups isolated from patients and from environmental objects on the territory of the Russian Federation in 2006. In: [Cholera and Pathogenic for Humans Vibrios. Proceedings of the Problem Commission (48.04). Iss. 20]. Rostov-on-Don; 2007. P. 49–53.
2. Ivanova S.M., Titov G.V., Bezsmertny V.E., Titova S.V., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., Arhangel'skaya I.V., Ezhova M.I., Kudryakova T.A., Zubkova D.A., Vodopyanov S.O., Vodopyanov A.S. [Data on the biological properties of cholera vibrios O1 serogroup isolated from environmental objects and from patients on the territory of the Russian Federation in 2014]. In: [Cholera and Pathogenic for Humans Vibrios. Proceedings of the Problem Commission (48.04). Iss. 28]. Rostov-on-Don; 2015. P. 67–70. Available from: <http://antiplague.ru/wp-content/uploads/2015/06/Cholera-28-2015.pdf>.
3. Yashkulov K.B., Kalyaeva T.B., Obrotkina N.F., Tyunnikova V.D., Dandaeva B.V. [On the properties of cultures of cholera vibrios O1 isolated from the open water bodies of the Republic of Kalmykia in 2012–2014]. In: [Cholera and Pathogenic for Humans Vibrios. Proceedings of the Problem Commission (48.04). Iss. 28]. Rostov-on-Don; 2015. P. 71–5. Available from: <http://antiplague.ru/wp-content/uploads/2015/06/Cholera-28-2015.pdf>.
4. Ivanova S.M., Ivannikov V.V., Miskina T.A., Lopatin A.A., Titova S.V., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., Arkhangel'skaya I.V., Levchenko D.A., Chemisova O.S., Gaevskaya N.E., Ezhova M.I., Nepomnyashchaya N.B. [Information on the biological properties of

cholera vibrios O1 serogroup isolated from environmental objects on the territory of the Russian Federation in 2017]. In: [Cholera and Pathogenic for Humans Vibrios. Proceedings of the Problem Commission (48.04). Iss. 31]. Rostov-on-Don; 2018. P. 48–51. Available from: <http://antiplague.ru/wp-content/uploads/2019/01/SBORNIK-31.pdf>.

5. Moshkina A.A. [Properties of Transbaikalian strains of cholera vibrios O1 isolated over the past five years]. In: [Cholera and Pathogenic for Humans Vibrios. Proceedings of the Problem Commission (48.04). Iss. 32]. Rostov-on-Don; 2019. P. 110–12. Available from: <http://antiplague.ru/wp-content/uploads/2019/11/Холера-и-патогенные-для-человека-вибрионы-выпуск-32.pdf>.

6. Cherepakina I.Ya., Balakhnova V.V., Podosinnikova L.S., Ogneva N.S., Sorokin V.M., Prozorova L.A., Fetsailova O.P., Chirkova O.O. [Modern approaches to the study of antigenic variability of cholera vibrios]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 1996; (4):85–6.

7. Lobanov V.V., Sukhar' V.V. [Features of *Vibrio cholerae* lipopolysaccharide]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2002; (2):102–7.

8. Evdokimova V.V., Alekseeva L.P., Yakusheva O.A., Levchenko D.A., Kruglikov V.D., Zyuzina V.P., Yagovkin M.E. [Study of the surface antigenic determinants of *Vibrio cholerae* strains with atypical agglutinability using the panel of monoclonal antibodies]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; (1):77–85. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-77-85.

9. Klimovich V.B., Samojlovich M.P., Gryazeva I.V., Krutetskaya I.Yu., Pashkova S.F., Rudenko I.Ya. [Monoclonal antibodies based on the immune response repertoire of SJL/J mice]. *Meditsinskaya Immunologiya* [Medical Immunology]. 1999; 1(1-2): 47–58.

10. Nuralova I.V. [A method for producing a chlamydial luminescent diagnostic drug, a chlamydial luminescent diagnostic drug and a method for diagnosing chlamydial infections]. RF Patent No. 2141666, publ. 20 Nov 1999.

11. Podoplekina L.E., Sharova O.I., Unger G.N. [Method for obtaining antibodies for the production of tick-borne encephalitis virus diagnostic drugs]. RF Patent No. 2063245, publ. 10 July 1996.

12. Devdariani Z.L., Fedorova V.A., Verenkov M.S., Chizhin'kov A.I., Kochetov A.Kh. [Outbred mice are bioproducers of monoclonal antibodies to the capsular antigen of the plague pathogen]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 1992; (2):73–4.

13. Levchenko D.A., Kruglikov V.D., Arhangel'skaya I.V., Yakusheva O.A., Alekseeva L.P., Vodop'yanov S.O., Ezhova M.I., Noskov A.K. [Assessment of the variation range of agglutinability in *Vibrio cholerae* strains isolated in the course of monitoring studies]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; (3):107–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-107-114.

14. Levchenko D.A., Kruglikov V.D., Podojnitsyna O.A., Nepomnyashchaya N.B., Selyanskaya N.A., Vodop'yanov A.S., Ezhova M.I., Rengach M.V., Noskov A.K. [Complex characteristics of *Vibrio cholerae* strains – R-variant]. *Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov*. 2023; 19(1):6–14.

15. [Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council of European Union on the protection of animals used for scientific purposes]. St. Petersburg; 2012. 48 p. [Internet]. Available from: [https://ruslasa.ru/wp-content/uploads/2017/06/Directive\\_201063\\_rus.pdf](https://ruslasa.ru/wp-content/uploads/2017/06/Directive_201063_rus.pdf).

16. Egorov A.M., Osipov A.P., Dzantiev B.B., Gavrilova E.M. Theory and Application of Enzyme Immunoassay. Moscow; 1991. 288 p.

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

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

19. Evdokimova V.V., Alekseeva L.P., Kretenchuk O.F., Kruglikov V.D., Arhangel'skaya I.V., Bursha O.S. [Enzyme immunoassay methods in the diagnosis of cholera]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika* [Clinical Laboratory Diagnostics]. 2016; 61(5):303–7. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-5-303-307.

#### Authors:

Evdokimova V.V., Alekseeva L.P., Yakusheva O.A., Levchenko D.A., Rengach M.V. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: [plague@aaanet.ru](mailto:plague@aaanet.ru).

#### Об авторах:

Евдокимова В.В., Алексеева Л.П., Якушева О.А., Левченко Д.А., Ренгач М.В. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: [plague@aaanet.ru](mailto:plague@aaanet.ru).

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-96-102

УДК 616.98:579.842.23

Г.А. Ерошенко<sup>1</sup>, А.К. Джапарова<sup>2</sup>, К.А. Никифоров<sup>1</sup>, А.С. Сидорин<sup>1</sup>, Л.М. Куклева<sup>1</sup>,  
Н.С. Червякова<sup>1</sup>, Я.М. Краснов<sup>1</sup>

## Филогения и свойства штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* из Аксайского высокогорного и Прибалхашского пустынного очагов чумы

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

<sup>2</sup>Республиканский центр карантинных и особо опасных инфекций Министерства здравоохранения Кыргызской Республики, Бишкек, Кыргызская Республика

**Цель работы** – получить комплексную характеристику штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* из Аксайского высокогорного и Прибалхашского пустынного очагов чумы Центральной Азии. **Материалы и методы.** Изучение культурально-морфологических и биохимических свойств исследуемых штаммов проводили с помощью принятых методов лабораторной диагностики. Для полногеномного секвенирования использовали Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific). Обработку данных и сборку последовательностей сырых ридов *de novo* выполняли с помощью Ion Torrent Suite software package 5.12 и Newbler gsAssembler 2.6 (454 Life Sciences). Для поиска маркерных SNPs использовали программу Wombac 2.0 на базе операционной системы BioLinux 8.0. При построении дендрограммы применяли метод Maximum Likelihood, программу PhyML 3.1 и модель НКУ85. **Результаты и обсуждение.** Исследованные штаммы из Аксайского высокогорного и Прибалхашского пустынного очагов имели свойства вида *Y. pseudotuberculosis* характеристики, были прототрофами и не содержали плазмиды pYV. По данным филогенетического анализа на основе выявленных 109 641 коровых SNPs они близкородственны штаммам псевдотуберкулезного микроба из Сарыджазского высокогорного очага в Кыргызской Республике и Республике Казахстан, а также штамму серовара O:3 из Туркменистана. Кластер этих центральноазиатских штаммов на филогенетическом древе *Y. pseudotuberculosis* локализован рядом со штаммами псевдотуберкулезного микроба серовара O:3 из различных регионов мира. Полученные результаты доказывают циркуляцию на территории природных очагов чумы Центральной Азии отдельной филогеографической популяции *Y. pseudotuberculosis*. Охарактеризованные штаммы *Y. pseudotuberculosis* и их полногеномные последовательности могут использоваться в качестве референсных для Аксайского и Прибалхашского природных очагов чумы Центральной Азии.

**Ключевые слова:** псевдотуберкулез, штаммы, природные очаги чумы Центральной Азии, филогения штаммов.

Корреспондирующий автор: Ерошенко Галина Александровна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Ерошенко Г.А., Джапарова А.К., Никифоров К.А., Сидорин А.С., Куклева Л.М., Червякова Н.С., Краснов Я.М. Филогения и свойства штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* из Аксайского высокогорного и Прибалхашского пустынного очагов чумы. Проблемы особо опасных инфекций. 2024; 3:96–102. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-96-102

Поступила 19.06.2024. Принята к публ. 28.06.2024.

G.A. Eroshenko<sup>1</sup>, A.K. Dzhaparova<sup>2</sup>, K.A. Nikiforov<sup>1</sup>, A.S. Sidorin<sup>1</sup>, L.M. Kukleva<sup>1</sup>,  
N.S. Chervyakova<sup>1</sup>, Ya.M. Krasnov<sup>1</sup>

## Phylogeny and Characteristics of *Yersinia pseudotuberculosis* Strains from the Aksai High-Mountain and Balkhash Desert Foci of Plague

<sup>1</sup>Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation;

<sup>2</sup>Republican Center for Quarantine and Particularly Dangerous Infections of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic, Bishkek, Kyrgyz Republic

**Abstract.** The aim of the study is to obtain a comprehensive characterization of *Yersinia pseudotuberculosis* strains from the Aksai high-mountain and Balkhash desert foci of plague in Central Asia. **Materials and methods.** Investigation of the cultural, morphological and biochemical properties of the examined strains was carried out using conventional methods of laboratory diagnostics. Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific) was used for whole-genome sequencing. Data processing and sequence assembly of raw reads *de novo* were performed using Ion Torrent Suite software package 5.12 and Newbler gsAssembler 2.6 (454 Life Sciences). To search for marker SNPs, the Wombac 2.0 program based on the BioLinux 8.0 operating system was applied. When constructing the dendrogram, the Maximum Likelihood method, the PhyML 3.1 program and the HKY85 model were used. **Results and discussion.** The studied strains from the Aksai high-mountain and Balkhash desert foci have properties characteristic of the *Y. pseudotuberculosis* species, are prototrophs and do not contain the pYV plasmid. According to phylogenetic analysis based on identified 109,641 core SNPs, they are closely related to strains of the pseudotuberculosis microbe from the Sarydzhas high-mountain focus in the Kyrgyz Republic and the Republic of Kazakhstan, as well as to the O:3 serovar strain from Turkmenistan. The cluster of these Central Asian strains on the phylogenetic tree of *Y. pseudotuberculosis* is localized next to strains of the pseudotuberculosis microbe of O:3 serovar from various regions of the world. The results obtained testify to the circulation of a separate phylogeographic population of *Y. pseudotuberculosis* in the territory of natural plague foci in Central Asia. The characterized *Y. pseudotuberculosis* strains and their whole genome sequences can be used as reference ones for the Aksai and Balkhash natural plague foci of Central Asia.



**Key words:** *Y. pseudotuberculosis*, strains, natural plague foci in Central Asia, phylogeny of strains.

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

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

**Corresponding author:** Galina A. Eroshenko, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

**Citation:** Eroshenko G.A., Dzhaparova A.K., Nikiforov K.A., Sidorin A.S., Kukleva L.M., Chervyakova N.S., Krasnov Ya.M. Phylogeny and Characteristics of *Yersinia pseudotuberculosis* Strains from the Aksai High-Mountain and Balkhash Desert Foci of Plague. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2024; 3:96–102. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-96-102

Received 19.06.2024. Accepted 28.06.2024.

Eroshenko G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5403-989X>  
Dzhaparova A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1067-0940>  
Nikiforov K.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4115-9486>  
Sidorin A.S., ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-3411-5572>

Kukleva L.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2438-8364>  
Chervyakova N.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3133-3820>  
Krasnov Ya.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4909-2394>

*Yersinia pseudotuberculosis* относится к семейству *Yersiniaceae* и является грамотрицательной, подвижной, не образующей спор бактерией, факультативным анаэробом, который широко распространен в окружающей среде. *Y. pseudotuberculosis* вызывает эпизоотии у диких птиц и грызунов. Этот возбудитель выделен от многих видов млекопитающих, птиц, пресмыкающихся, земноводных, рыб и членистоногих. В первую очередь этот бактериальный вид патогенен для животных, хотя вызывает заболевания и у человека. Во второй половине XX столетия впервые произошли эпидемические вспышки псевдотуберкулеза на Дальнем Востоке, названные дальневосточной скарлатиноподобной лихорадкой, или эпидемическим псевдотуберкулезом [1–3]. Псевдотуберкулез передается хозяину-млекопитающему после употребления зараженной пищи или воды и вызывает широкий спектр желудочно-кишечных заболеваний, включая аппендицит, илеит, колит и мезентериальный лимфаденит [4]. Патогенные штаммы *Y. pseudotuberculosis* избирательно проникают в слизистую оболочку тонкой кишки через М-клетки, покрывающие пейеровы бляшки, что объясняет поражение подвздошной кишки, аппендикса и брыжеечных узлов. Организм размножается в пейеровых бляшках и региональных узлах, может сохраняться в лимфоидной ткани кишечника в течение длительного периода. Дальнейшее распространение происходит гематогенным и лимфогенным путем.

Псевдотуберкулез сохраняет актуальность для здравоохранения России и многих зарубежных стран. Заболевание было зарегистрировано на большей части территории РФ, во многих европейских странах, в США, Канаде, ряде стран Азии. Единичные случаи инфекции отмечены в некоторых странах Южной Америки, Африки, в Австралии и Новой Зеландии [5, 6].

Полногеномное секвенирование представителей рода *Yersinia* показало, что геном *Y. pseudotuberculosis* чрезвычайно близок геному *Yersinia pestis*, возбудителя особо опасной инфекции – чумы [7, 8]. Обе бактерии схожи по свойствам, что необходимо учитывать при проведении дифференциальной лабораторной диагностики этих патогенов. Важной детерминантой патогенности *Y. pseudotuberculosis* является плазмида pYV (синоним pCad). Она кодирует систему секреции III типа, мощный фактор патоген-

ности, который способствует выживанию возбудителя при фагоцитозе макрофагами [9, 10].

Штаммы *Y. pseudotuberculosis* относятся к 21 серологическому варианту [11, 12]. Ранее нами исследованы свойства и филогенетическое родство штаммов *Y. pseudotuberculosis*, выделенных от сурков *Marmota* в Сарыджазском высокогорном очаге Тянь-Шаня на территории Кыргызской Республики и Республики Казахстан. По данным филогенетического анализа они вошли в один кластер со штаммом серовара O:3 из Туркменистана в составе ветви, также состоящей из штаммов серовара O:3 различного происхождения. Это позволило нам предположить, что исследованные штаммы из Сарыджазского очага близкородственны штамму из Туркменистана и могут принадлежать к серовару O:3 [13].

Поскольку сведения по патогенным штаммам *Y. pseudotuberculosis* из природных очагов чумы Центральной Азии весьма ограничены, в этой работе нами исследованы свойства двух штаммов псевдотуберкулезного микроба из Аксайского высокогорного очага Кыргызской Республики и Прибалхашского пустынного очага Республики Казахстан. **Цель** работы – получить комплексную характеристику штаммов *Y. pseudotuberculosis* из Аксайского высокогорного и Прибалхашского пустынного очагов Центральной Азии. Впервые охарактеризованные штаммы *Y. pseudotuberculosis* и полученные полногеномные последовательности этих штаммов могут использоваться в качестве референсных для Аксайского и Прибалхашского природных очагов Центральной Азии.

## Материалы и методы

Изучение культурально-морфологических, биохимических свойств использованных штаммов *Y. pseudotuberculosis* проводили в соответствии с методами лабораторной диагностики патогенных иерсиний [14, 15]. Штаммы выращивали при температуре 28 °C в течение 48 часов на LB-бульоне и агаре. Определяли чувствительность исследуемых штаммов к диагностическим бактериофагам: псевдотуберкулезному и чумному Л-413С, а также к бактериоцину – пестицину. Наличие плазмид устанавливали по методу C.I. Kado, S.T. Liu [16]. Биохимические особенности штаммов определяли

с помощью специализированного набора API 20E (BioMerieux SA, Франция) для идентификации бактерий. Учет результатов проводили визуально и после добавления соответствующих реактивов, идентификацию осуществляли по числовому профилю при помощи программного обеспечения *apiweb*. Тест на ферментацию глицерина проводили на среде Коля – Белькура при температуре 28 °С, результаты учитывали через 1–3 суток. Чувствительность штаммов к антибиотикам изучали методом нанесения дисков с антибиотиком на газон исследуемых штаммов.

Выделение ДНК штаммов *Y. pseudotuberculosis* проводили с помощью набора Easy Pure Genomic DNA Kit (TransGen Biotech Co. Ltd, Китай). Для полногеномного секвенирования штаммов использовали Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific). Для обработки данных и сборки последовательностей сырых ридов *de novo* применяли Ion Torrent Suite software package 5.12 и Newbler gsAssembler 2.6. Поиск маркерных SNPs проводили с использовани-

ем программы Wombac 2.0 на базе операционной системы BioLinux 8.0. Дендрограмму строили методом Maximum Likelihood с применением программы PhyML 3.1 и модели НКY85 с использованием 500 бутстреп-реплик. Визуализацию дендрограммы выполняли в программе FigTree 1.4.3.

### Результаты и обсуждение

В работе исследованы комплексные свойства штаммов *Y. pseudotuberculosis* А-921 и А-1377. Штамм А-921 получен в 1964 г. в Аксайском высокогорном очаге в Кыргызской Республике, а штамм А-1377 выделен в 1959 г. от большой песчанки *Rhombomys opimus* в Прибалхашском пустынном очаге в Республике Казахстан (таблица).

Для идентификации штаммов проведено исследование их культурально-морфологических и биохимических свойств. Штаммы А-921 и А-1377 были прототрофами – росли на минимальной голод-

Штаммы *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*, использованные в работе  
*Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* strains used in this work

Штамм, номер доступа в NCBI GenBank Strain, access number in NCBI GenBank	Место выделения* Site of isolation*	Источник, время выделения* Source, date of isolation*	Серovar Serovar	Наличие плазмид Presence of plasmids
1	2	3	4	5
<i>Y. pestis</i>				
CO92 № GCA_000009065.1	Колорадо, США Colorado, USA	Больной, 1992 Patient, 1992		pCad (pYV), pFra, pPst
<i>Y. pseudotuberculosis</i>				
A-1701	Республика Казахстан, Сарыджазский высокогорный очаг, Нарынкольский район Republic (R.) of Kazakhstan, Sarydzhas high-mountain focus, Narynkol District	Сурки <i>Marmota</i> , 1971 Marmots <i>Marmota</i> , 1971	н/д n/d	нет no
A-1710	Кыргызская Республика, Сарыджазский высокогорный очаг, Кокпакский мезоочаг Kyrgyz R., Sarydzhas high-mountain focus, Kokpak mesofocus	Сурок <i>Marmota</i> , 1971 Marmot <i>Marmota</i> , 1971	н/д n/d	нет no
A-1377	Республика Казахстан, Прибалхашский пустынный очаг R. of Kazakhstan, Balkhash desert focus	Большая песчанка <i>Rhombomys opimus</i> 1959 Great gerbil <i>Rhombomys opimus</i> , 1959	н/д n/d	нет no
A-921	Кыргызская Республика, Аксайский высокогорный очаг, Кульджа-Баш Kyrgyz R., Aksai high-mountain focus, Kul'dza-Bash	1964	н/д n/d	нет no
B-6863 № CAQV01	РФ, Ставропольский край, Благодарненский район RF, Stavropol Territory, Blagodarnensky District	Малый суслик <i>Spermophilus pygmaeus</i> , 1961 Small souslik <i>Spermophilus pygmaeus</i> , 1961	O:3	pYV
B-6865 № CAQX01	РФ, Ленинградская область, Тосненский район RF, Leningrad Region, Tosnensky District	Домовая мышь <i>Mus musculus</i> , 1955 House mouse <i>Mus musculus</i> , 1955	O:3	pYV
B-6864 № CAQW01	РФ, Ставропольский край, Буденновский район RF, Stavropol Territory, Budennovsky District	Малый суслик <i>Spermophilus pygmaeus</i> , 1940 Small souslik <i>Spermophilus pygmaeus</i> , 1940	O:3	pYV
B-6862 № CAQU01	Туркменистан, Марийская область Turkmenistan, Mari Region	Большая песчанка <i>Rhombomys opimus</i> , 1961 Great gerbil <i>Rhombomys opimus</i> , 1961	O:3	pYV
B-6796 № CAQT01	РФ, Ставропольский край, Новоселецкий район RF, Stavropol Territory, Novoseletsky District	Малый суслик <i>Spermophilus pygmaeus</i> , 1957 Small souslik <i>Spermophilus pygmaeus</i> , 1957	O:3	pYV
B-6866 № CAQY01	РФ, Ленинградская область, Тосненский район RF, Leningrad Region, Tosnensky District	Домовая мышь <i>Mus musculus</i> , 1955 House mouse <i>Mus musculus</i> , 1955	O:3	pYV

Окончание таблицы / Ending of the table

1	2	3	4	5
IP32938 № CGGB01	Аргентина Argentina	1900/2008	O:3	н/д n/d
IP32544 № CPUY01	Южно-Африканская Республика Republic of South Africa	1900/2008	O:3	н/д n/d
OK5586 № CQEB01	Япония Japan	1990	O:3	н/д n/d
OK6088 № CGGM01	Япония Japan	1990	O:10	н/д n/d
PT682 № CIFL01	Япония Japan	1987	O:2b	н/д n/d
№ IP33177 CQBA01	РФ RF	1900/2008	O:1	н/д n/d
1231 № CQBJ01	РФ RF	1985	O:4b	н/д n/d
IP31758 № GCA_000016945.1	РФ, Приморский район RF, Primorsky District	1966	O:1b	н/д n/d
IP33250 № CHDQ01	РФ RF	2001	O:3	н/д n/d
No5 № CQEU01	Новая Зеландия New Zealand	1900/2008	O:2b	н/д n/d
MW109-2 № CPYL00000000.1	Япония Japan	1900/2008	O:11	н/д n/d
R-819 № CPYK00000000.1	Япония Japan	1900/2008	O:5b	н/д n/d
IP33054 № CQEA01	Испания Spain	1900/2008	O:2	н/д n/d
N912 № CQDI01	Китай China	1900/2008	O:2b	н/д n/d
FDAARGOS-416 № PDEJ01	н/д n/d	н/д n/d	O:2b	н/д n/d
IP32921 № CIFM01	Франция France	1900/2008	O:2	н/д n/d
B-7194 № CBKS01	н/д n/d	н/д n/d	O:1b	н/д n/d
B-7195 № CBKR01	н/д n/d	н/д n/d	O:1b	н/д n/d
IP32670 № CTIQ01	Англия England	1983	O:1b	н/д n/d
IP33038 № CPXN01	Австралия Australia	1900/2008	O:1	н/д n/d
2888 № CQDR01	Италия Italy	1900/2008	O:1a	н/д n/d
260 № CGBX01	Канада Canada	1900/2008	O:1a	н/д n/d
IH111554 № CPWK01	Финляндия Finland	1900/2008	O:1a	н/д n/d
IP32953 № GCA_000834295.1	н/д n/d	н/д n/d	н/д n/d	н/д n/d
FDAARGOS_580 № GCA_003798445.1	Франция France	Больной Patient	O:2	н/д n/d
FDAARGOS_582 № GCA_003798405.1	Франция France	Больной Patient	O:1	н/д n/d

Примечания: \* данные по происхождению штаммов приведены по паспортным данным или сведениям из NCBI GenBank; н/д – нет данных.

Notes: \* data on the origin of strains are given according to passport data or information from NCBI GenBank; n/d – no data.



ной среде без добавления аминокислот. Оба штамма лизировались псевдотуберкулезным бактериофагом и не лизировались чумным бактериофагом Л-413С. Штаммы не обладали пестициногенной активностью. Оба штамма были способны также к ферментации глицерина. С использованием специализированного набора API 20E (BioMérieux SA, Франция) для идентификации бактерий установлено, что оба штамма ферментировали до кислоты глюкозу, маннит, рамнозу, арабинозу, не ферментировали сахарозу, сорбит, амилазу, обладали денитрифицирующей способностью и уреазной активностью. По этим признакам с помощью программного обеспечения *apiweb* установлена принадлежность обоих штаммов к виду *Y. pseudotuberculosis* с вероятностью 99,9 %.

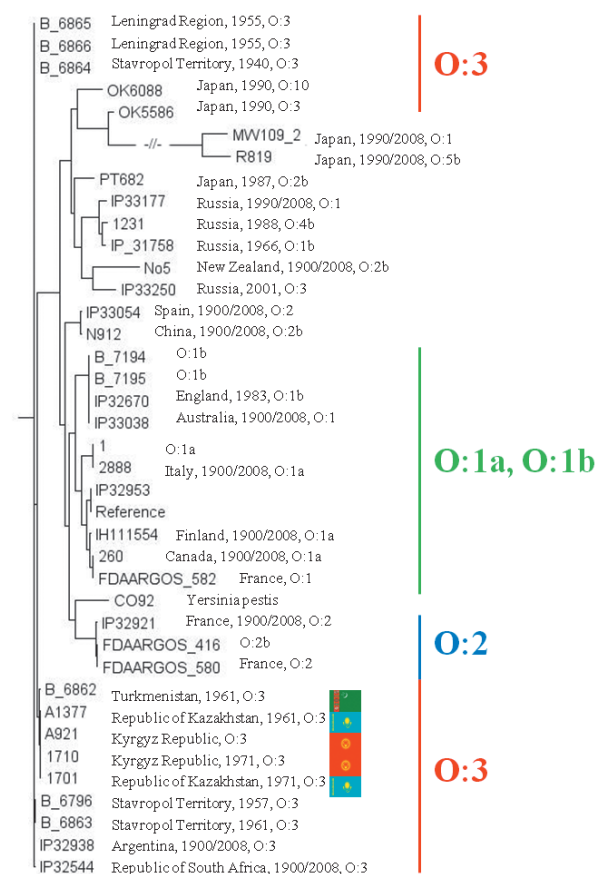
Отличительной биохимической особенностью этих штаммов было отсутствие у них способности к ферментации дисахарида мелибиозы, что может быть связано с нарушением генов мелибиозного оперона. Рост штаммов при 37 °C не зависел от наличия в среде ионов кальция. Оба штамма чувствительны к антибиотикам: стрептомицину, доксициклину, тетрациклину, гентамицину, левомицетину. Штаммы А-921 и А-1377 не содержали плазмиды рYV или других плазмид.

Для определения родственных связей штаммов *Y. pseudotuberculosis* А-921 и А-1377 проведено полногеномное секвенирование этих штаммов и сравнение с другими штаммами псевдотуберкулезного

микроба разных сероваров из различных регионов мира (таблица).

Для проведения филогенетического анализа использованы полногеномные последовательности 37 штаммов *Y. pseudotuberculosis*, включая 33 штамма из базы данных NCBI GenBank, выделенных в разных странах мира (таблица). Сведения по штаммам В-6862 – В-6865, В-6866 и В-6796 взяты из паспортов Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур ФБУН ГНЦ ПМБ. Филогенетическое дерево на основе выявленных 109 641 SNPs в коровом геноме использованных штаммов строили с помощью алгоритма Maximum Likelihood с применением программы PhyML 3.1 и модели HKY85 (рисунок).

Штаммы *Y. pseudotuberculosis* на дендрограмме разделились на отдельные ветви по степени генетического родства, что в основном совпадало с их разделением и по серологической принадлежности. Многие кластеры и филогенетические ветви состоят из штаммов одного серовара – О:1 (О:1а, О:1б), О:2 (О:2, О:2б), О:3. Штаммы серовара О:1 сформировали отдельную ветвь с разделением на две подветви – О:1а, О:1б. Штаммы, вошедшие в эти подветви, представляют различные регионы мира. Подветвь О:1а включает изоляты из Финляндии, Италии и Канады, а подветвь О:1б – штаммы из Англии (1983 г.) или не идентифицированные по происхождению изоляты (NCBI GenBank). Штаммы ветви серовара О:1



Анализ родственных связей штаммов *Y. pseudotuberculosis* А-921 и А-1377 из Аксайского высокогорного и Прибалхашского пустынного очагов чумы по данным полногеномного секвенирования на основе 109 641 выявленных коровых SNPs. Метод Maximum Likelihood с моделью замены HPY85 при помощи программы PhyML 3.1, с 500-бутстреп поддержкой

Relations of *Y. pseudotuberculosis* strains А-921 and А-1377 from the Aksai high-mountain and Balkhash desert plague foci according to whole genome sequencing data based on 109,641 identified core SNPs. Maximum Likelihood method with HPY85 replacement model using PhyML 3.1 software, with 500 bootstrap support

имеют широкое географическое распространение в Европе, Северной Америке, Австралии. Также отдельный кластер на дендрограмме образовали штаммы *Y. pseudotuberculosis* серовара О:2, выделенные преимущественно во Франции (рисунок).

Исследуемые нами штаммы *Y. pseudotuberculosis* А-921 и А-1377 вошли в близкородственный кластер вместе со штаммами А-1710 и А-1701 из Сарыджазского высокогорного очага (Кыргызская Республика и Республика Казахстан) и штаммом В-6862 из Туркменистана (Марийская область). На дендрограмме они образуют обособленный, тесно сгруппированный кластер. Этот кластер отделяет от всех других штаммов несколько сотен полиморфных единичных нуклеотидов SNPs, что свидетельствует о достаточно длинном периоде независимой эволюции этой филогеографической популяции псевдотуберкулезного микроба (рисунок). По данным литературы, один из штаммов этого кластера – В-6862 – относится к серовару О:3 [17]. Рядом на дендрограмме расположена группа штаммов, также состоящая из штаммов серовара О:3, выделенных в различных регионах мира. Сюда вошли штаммы В-6796 и В-6863, полученные в Ставропольском крае в 1957 и 1961 гг., а также штаммы IP32938 из Аргентины (1900/2008 гг.) и IP32544 из ЮАР (1990 г.). Другую отдельную группу серовара О:3 составили штаммы более ранних годов выделения: В-6864 (Ставропольский край, 1940 г.), В-6865 и В-6866 (Ленинградская область, 1955 г.). На основании данных филогенетического анализа можно сделать предположение, что штаммы *Y. pseudotuberculosis* из Центрально-Азиатского региона: А-1701, А-1710 (Сарыджазский высокогорный очаг), А-921 (Аксайский высокогорный очаг), А-1377 (Прибалхашский пустынный очаг) и В-6862 (Туркменистан) – также могут принадлежать к серовару О:3. Штаммы получены на значительном удалении друг от друга в природных очагах чумы на территории Кыргызской Республики, Республики Казахстан и Туркменистана. Это свидетельствует о существовании отдельной филогеографической популяции псевдотуберкулеза, широко распространенной на территории природных очагов Центральной Азии.

Отдельная ветвь на дендрограмме состоит из штаммов, выделенных в Японии, России (Приморье), Новой Зеландии преимущественно в 1966–2001 гг. Эта ветвь представлена штаммами *Y. pseudotuberculosis* разных сероваров: О1 – О5, О10 – О11, по-видимому, являющимися этиологическими агентами дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки.

Таким образом, нами впервые проведено изучение свойств и филогенетический анализ штаммов *Y. pseudotuberculosis* из Аксайского высокогорного очага в Кыргызской Республике и Прибалхашского пустынного очага в Республике Казахстан. Показано, что они являются прототрофами, не содержат плазмид, типичны по биохимическим свойствам, за ис-

ключением ферментации дисахарида мелибиозы. Эти штаммы вошли в филогенетическую группу штаммов псевдотуберкулезного микроба, относящихся к серовару О:3, что позволяет предположить их принадлежность к этому серовару. Штаммы этой филогеографической группы широко распространены в природных очагах чумы Центральной Азии и патогенны для разных видов грызунов – сурков (очаги Тянь-Шаня) и больших песчанок (Прибалхашье, Туркменистан), но могут представлять опасность и для здоровья человека. Впервые охарактеризованные штаммы *Y. pseudotuberculosis* А-921 и А-1377 и их полногеномные последовательности могут использоваться в качестве референсных для Аксайского и Прибалхашского природных очагов.

**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. Сомова Л.М., Андрюков Б.Г., Плехова Н.Г. Проблема иерсиниозов в современном мире. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015; 12-4:661–7.
2. Сомов Г.П., Покровский В.И., Беседнова Н.Н., Антоненко Ф.Ф. Псевдотуберкулез. М.: Медицина; 2001. 256 с.
3. Тимченко Н.Ф., Попов А.Ф. Псевдотуберкулез – прошлое и настоящее. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2014; 4:51–6.
4. Lamps L.W., Madhusudhan K.T., Havens J.M., Greenson J.K., Bronner M.P., Chiles M.C., Dean P.J., Scott M.A. Pathogenic *Yersinia* DNA is detected in bowel and mesenteric lymph nodes from patients with Crohn's disease. *Am. J. Surg. Pathol.* 2003; 27(2):220–7. DOI: 10.1097/00000478-200302000-00011.
5. Tseneva G.Ya., Chesnokova M.V., Klimov V.T., Voskresenskaya E.A., Burgasova O.A., Sayapina L.V., Tirsikh K.A., Karimova T.V. Pseudotuberculosis in the Russian Federation. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012; 954:63–8. DOI: 10.1007/978-1-4614-3561-7\_9.
6. Тотолян А.А., редактор. Иерсиниозы в Российской Федерации. Информационный бюллетень. Вып. 3. СПб.; 2022. 44 с.
7. Eppinger M., Rosovitz M.J., Fricke W.F., Rasko D.A., Kokorina G., Fayolle C., Lindler L.E., Carniel E., Ravel J. The complete genome sequence of *Yersinia pseudotuberculosis* IP31758, the causative agent of Far East scarlet-like fever. *PLoS Genet.* 2007; 3(8):e142. DOI: 10.1371/journal.pgen.0030142.
8. Chain P.S., Carniel E., Larimer F.W., Lamerding J., Stoutland P.O., Regala W.M., Georgescu A.M., Vergez L.M., Land M.L., Motin V.L., Brubaker R.R., Fowler J., Hinnbusch 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.
9. Gernski O.P., Lazere J.R., Casey T., Wohlhieter J.A. Presence of a virulence-associated plasmid in *Yersinia pseudotuberculosis*. *Infect. Immun.* 1980; 28(3):1044–7. DOI: 10.1128/iai.28.3.1044-1047.1980.
10. Zang Y., Murtha J., Roberts M.A., Siegel R.M., Bliska J.B. Type III secretion decreases bacterial and host survival following phagocytosis of *Yersinia pseudotuberculosis* by macrophages. *Infect. Immun.* 2008; 76(9):4299–310. DOI: 10.1128/IAI.00183-08.
11. Tsubokura M., Aleksić S. A simplified antigenic scheme for serotyping of *Yersinia pseudotuberculosis*: phenotypic characterization of reference strains and preparation of O and H factor sera. *Contrib. Microbiol. Immunol.* 1995; 13:99–105.
12. Skurnik M., Peippo A., Ervelä E. Characterization of the O-antigen gene clusters of *Yersinia pseudotuberculosis* and the cryptic O-antigen gene cluster of *Yersinia pestis* shows that the plague bacillus is most closely related to and has evolved from *Y. pseudotuberculosis* serotype O:1b. *Mol. Microbiol.* 2000; 37(2):316–30. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2000.01993.x.
13. Джапарова А.К., Ерошенко Г.А., Никифоров К.А., Куклева Л.М., Альхова Ж.В., Бердиев С.К., Кутырев В.В.

Характеристика и филогенетический анализ штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* из Сарыдзхазского высокогорного очага в Тянь-Шане. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 2:87–93. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-87-93.

14. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика особо опасных инфекционных болезней: Практическое руководство. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.

15. Чеснокова М.В., Климов В.Т., Каримова Т.В., Тирских К.А., Афанасьев М.В. Алгоритм лабораторной диагностики персониозов. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2010; 17:188–92.

16. Kado C.I., Liu S.T. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* 1981; 145(3):1365–73. DOI: 10.1128/jb.145.3.1365-1373.1981.

17. Platonov M.E., Blouin Y., Evseeva V.V., Afanas'ev M.V., Pourcel C., Balakhonov S.V., Vergnaud G., Anisimov A.P. Draft genome sequences of five *Yersinia pseudotuberculosis* ST19 isolates and one isolate variant. *Genome Announc.* 2013; 1(2):e0012213. DOI: 10.1128/genomeA.00122-13.

## References

1. Somova L.M., Andryukov B.G., Plekhova N.G. [The problem of yersiniosis in the modern world]. *Mezhdunarodny Zhurnal Prikladnykh i Fundamental'nykh Issledovaniy [International Journal of Applied and Basic Research]*. 2015; (12-4):661–7.

2. Somov G.P., Pokrovsky V.I., Besednova N.N., Antonenko F.F. [Pseudotuberculosis]. Moscow: "Medicine"; 2001. 256 p.

3. Timchenko N.F., Popov A.F. [Pseudotuberculosis: past and present]. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]*. 2014; (4):51–6.

4. Lamps L.W., Madhusudhan K.T., Havens J.M., Greenson J.K., Bronner M.P., Chiles M.C., Dean P.J., Scott M.A. Pathogenic *Yersinia* DNA is detected in bowel and mesenteric lymph nodes from patients with Crohn's disease. *Am. J. Surg. Pathol.* 2003; 27(2):220–7. DOI: 10.1097/00000478-200302000-00011.

5. Tseneva G.Ya., Chesnokova M.V., Klimov V.T., Voskresenskaya E.A., Burgasova O.A., Sayapina L.V., Tirsikh K.A., Karimova T.V. Pseudotuberculosis in the Russian Federation. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012; 954:63–8. DOI: 10.1007/978-1-4614-3561-7\_9.

6. Totolian A.A., editor. [Yersiniosis in the Russian Federation. News Bulletin]. Iss. 3. St. Petersburg; 2022. 44 p.

7. Eppinger M., Rosovitz M.J., Fricke W.F., Rasko D.A., Kokorina G., Fayolle C., Lindler L.E., Carniel E., Ravel J. The complete genome sequence of *Yersinia pseudotuberculosis* IP31758, the causative agent of Far East scarlet-like fever. *PLoS Genet.* 2007; 3(8):e142. DOI: 10.1371/journal.pgen.0030142.

8. 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.

9. Genski O.P., Lazere J.R., Casey T., Wohlhieter J.A. Presence of a virulence-associated plasmid in *Yersinia pseudotuberculosis*.

*Infect. Immun.* 1980; 28(3):1044–7. DOI: 10.1128/iai.28.3.1044-1047.1980.

10. Zang Y., Murtha J., Roberts M.A., Siegel R.M., Bliska J.B. Type III secretion decreases bacterial and host survival following phagocytosis of *Yersinia pseudotuberculosis* by macrophages. *Infect. Immun.* 2008; 76(9):4299–310. DOI: 10.1128/IAI.00183-08.

11. Tsubokura M., Aleksić S. A simplified antigenic scheme for serotyping of *Yersinia pseudotuberculosis*: phenotypic characterization of reference strains and preparation of O and H factor sera. *Contrib. Microbiol. Immunol.* 1995; 13:99–105.

12. Skurnik M., Peippo A., Ervelä E. Characterization of the O-antigen gene clusters of *Yersinia pseudotuberculosis* and the cryptic O-antigen gene cluster of *Yersinia pestis* shows that the plague bacillus is most closely related to and has evolved from *Y. pseudotuberculosis* serotype O:1b. *Mol. Microbiol.* 2000; 37(2):316–30. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2000.01993.x.

13. Dzharapova A.K., Eroshenko G.A., Nikiforov K.A., Kukleva L.M., Al'khova Zh.V., Berdiev S.K., Kutyrev V.V. [Characteristics and phylogenetic analysis of *Yersinia pseudotuberculosis* strains from the Sarydzhas high-mountain focus in the Tien-Shan]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (2):87–93. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-87-93.

14. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases: Practice Guidelines]. Moscow: "Shiko"; 2013. 560 p.

15. Chesnokova M.V., Klimov V.T., Karimova T.V., Tirsikh K.A., Afanas'ev M.V. [Algorithm for laboratory diagnostics of yersiniosis]. *Dal'nevostochny Zhurnal Infektsionnoy Patologii [Far Eastern Journal of Infectious Pathology]*. 2010; (17):188–92.

16. Kado C.I., Liu S.T. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* 1981; 145(3):1365–73. DOI: 10.1128/jb.145.3.1365-1373.1981.

17. Platonov M.E., Blouin Y., Evseeva V.V., Afanas'ev M.V., Pourcel C., Balakhonov S.V., Vergnaud G., Anisimov A.P. Draft genome sequences of five *Yersinia pseudotuberculosis* ST19 isolates and one isolate variant. *Genome Announc.* 2013; 1(2):e0012213. DOI: 10.1128/genomeA.00122-13.

## Authors:

Eroshenko G.A., Nikiforov K.A., Sidorin A.S., Kukleva L.M., Chervyakova N.S., Krasnov Ya.M. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Dzharapova A.K. Republican Center for Quarantine and Particularly Dangerous Infections of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic. 92, Skryabina St., Bishkek, 720005, Kyrgyz Republic. E-mail: rckooi@mail.ru.

## Об авторах:

Ерошенко Г.А., Никифоров К.А., Сидорин А.С., Куклева Л.М., Червякова Н.С., Краснов Я.М. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Джарпарова А.К. Республиканский центр карантинных и особо опасных инфекций Министерства здравоохранения Кыргызской Республики. Кыргызская Республика, 720005, Бишкек, ул. Скрябина, 92. E-mail: rckooi@mail.ru.



DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-103-110

УДК 616.98:578.8:614.4

А.В. Иванова, В.А. Сафронов

## Формирование объективной методической базы эпидемиологического прогнозирования заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом с использованием методов машинного обучения

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

Высокая медицинская и социальная значимость проблемы геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) в России является значимым аргументом в пользу разработок качественно новых подходов к прогнозированию эпидемиологических осложнений. Наличие сложного характера взаимодействия факторов, определяющих интенсивность эпидемических проявлений, требует продолжения поиска наиболее достоверных прогностических критериев предэпидемической диагностики ГЛПС, способных обеспечить ту полноту информации, которая необходима в современных условиях для оптимизации управления эпидемическим процессом. **Целью** работы явилось формирование объективной методической базы прогнозирования эпидемиологической обстановки по ГЛПС за счет использования методов машинного обучения при моделировании влияния комбинаций абиотических факторов риска на фактическую заболеваемость ГЛПС. **Материалы и методы.** Материалы исследования составили данные о 10 788 случаях заболевания ГЛПС, зарегистрированных с 1982 по 2022 г. на территории Саратовской области. В качестве факторов, вероятно оказывающих влияние на эпидемический процесс ГЛПС, рассмотрены более 46 тыс. значений метеопказателей, полученных из архива базы данных метеонаблюдений за период 1981–2023 гг. метеостанции Саратов – Юго-Восток, представленных в открытом доступе Гидрометцентром России. Разработка нейросетевой модели прогнозирования выполнена на базе специализированного модуля платформы Loginom версии 7.1. **Результаты и обсуждение.** В работе представлены преимущества методов нейросетевого прогнозирования осложнения эпидемиологической обстановки по ГЛПС на основе анализа сложных, нелинейных зависимостей влияния абиотических факторов на заболеваемость населения. Разработан типовой сценарий для нейросетевого прогнозирования эпидемических осложнений по ГЛПС и апробирована прогностическая модель заболеваемости на территории Саратовской области. Показано, что применение нейросетевых алгоритмов позволяет получить прогноз возможного развития эпидемиологической обстановки по ГЛПС в будущем с вероятностью 98,8 %, что позволит обеспечить качественный переход от экспертного прогнозирования к независимому анализу эпидемиологических тенденций, существенно повышая информационные возможности и значимость прогнозирования при планировании и проведении профилактических работ учреждениями Роспотребнадзора.

**Ключевые слова:** геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, эпидемиологический анализ, прогноз, экспертное прогнозирование, методы машинного обучения, нейросетевое прогнозирование.

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

Для цитирования: Иванова А.В., Сафронов В.А. Формирование объективной методической базы эпидемиологического прогнозирования заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом с использованием методов машинного обучения. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 3:103–110. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-103-110

Поступила 22.05.2024. Принята к публ. 07.06.2024.

A.V. Ivanova, V.A. Safronov

## Formation of a Credible Methodological Framework for Epidemiological Forecasting of the Incidence of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome Using Machine Learning Techniques

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

**Abstract.** The high medical and social significance of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in Russia is a valid argument in favor of developing qualitatively new approaches to predicting epidemiological complications. The complex nature of interaction of factors determining the intensity of epidemic manifestations requires the continuation of the search for the most reliable prognostic criteria for pre-epidemic diagnosis of HFRS, providing the completeness of information that is necessary in modern conditions to optimize the epidemic process management. **The aim** of the work was to form an objective methodological basis for predicting the epidemiological situation on HFRS through the use of machine learning in modeling the effect of combinations of abiotic risk factors on the actual incidence of HFRS. **Materials and methods.** The study materials comprised the data on 10,788 cases of HFRS, registered in the Saratov Region between 1982 and 2022. More than 46 thousand values of meteorological indicators obtained from the archive of the database of meteorological observations for the period of 1981–2023 of the Saratov – South-East meteorological station, presented in the open access by the Hydrometeorological Center of Russia, are considered as factors likely to influence the epidemic process of HFRS. The development of a neural network forecasting model is based on a specialized module of the Loginom platform version 7.1. **Results and discussion.** The paper presents the advantages of neural network forecasting of complications of the epidemiological situation on HFRS based on the analysis of complex, nonlinear dependencies of the influence of abiotic factors on the morbidity among the population. A standard scenario for neural network forecasting of epidemic complications due to HFRS has been developed and a prognostic model of incidence in the Saratov Region has been tested. It is shown that the use of neural network algorithms allows to obtain

a forecast of the possible development of the epidemiological situation on HFRS in the future with a probability of 98.8 %, which will ensure a qualitative transition from expert forecasting to independent analysis of epidemiological trends, significantly increasing the information capacities and importance of forecasting when planning and conducting preventive measures by the efforts of Rospotrebnadzor institutions.

**Key words:** hemorrhagic fever with renal syndrome, epidemiological analysis, forecast, expert forecasting, machine learning methods, neural network forecasting.

**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:** Ivanova A.V., Safronov V.A. Formation of a Credible Methodological Framework for Epidemiological Forecasting of the Incidence of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome Using Machine Learning Techniques. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 3:103–110. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-103-110

Received 22.05.2024. Accepted 07.06.2024.

Ivanova A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4849-3866>

Safronov V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9563-2833>

Современный эпидемиологический надзор за геморрагической лихорадкой с почечным синдромом (ГЛПС) ориентирован на уменьшение информационной неопределенности при принятии управленческих решений [1]. Преимущество рационально организованного эпидемиологического надзора заключается в способности предвидения осложнений эпидемической ситуации для заблаговременной корректировки тактики лечебно-профилактической и противоэпидемической работы. Согласно ранее проведенным исследованиям [2] показано, что экономический ущерб, наносимый одним случаем ГЛПС в Российской Федерации, составляет от 95 тыс. до 140 тыс. рублей, в зависимости от возраста заболевших, а каждый летальный случай ГЛПС с учетом потерянных лет экономической активности и упущенной выгоды ВВП обходится государству в сумму до 38 млн рублей. Существенные потери в экономике являются значимым аргументом в пользу разработок качественно новых подходов к прогнозированию эпидемических осложнений ГЛПС, при которых прогноз заболеваемости рассматривается как основа для принятия управленческих решений, имеющих упреждающее действие.

Составление ежегодного эпидемиологического прогноза по ГЛПС в настоящее время выполняется преимущественно за счет методов экспертного прогнозирования, основанных на опыте, интуиции и знаниях конкретного эксперта для прогнозирования будущих событий. В арсенале экспертов имеются множество методик статистического анализа, таких как экстраполяция, регрессионный анализ, методы сглаживания данных и др. [3, 4], позволяющих прогнозировать по типу прямой или обратной зависимости действующих факторов, предполагая, что будущие события будут повторяться или иметь определенные закономерности, которые можно выявить и использовать для прогнозирования. Статистические методы позволяют учесть определенные закономерности, однако могут быть существенно ограничены в случаях, когда данные имеют высокую степень изменчивости или результат анализа подвержен влиянию внешних факторов. Достоверность статистического прогноза также зависит от непрерывно-

сти данных, что не всегда может быть достигнуто в реальных условиях. Подобные прогнозы могут быть ограничены субъективностью и возможными ошибками экспертов. Постоянная работа со сводными таблицами исходных данных требует от сотрудника предельной внимательности и больших трудозатрат. Трудоемкость процесса приводит к увеличению сроков формирования прогноза.

Ключевыми параметрами достижения высокой точности прогноза являются адекватность и надежность используемых первичных данных с полным обеспечением качественной и количественной информации в необходимом для прогнозирования объеме [5].

В настоящее время эпидемиологические прогнозы по ГЛПС (краткосрочные и среднесрочные) строятся на оперативных и ретроспективных данных эпизоотологического обследования территории (оценка численности и инфицированности грызунов в конкретных локациях). Многолетние исследования подтверждают сильную положительную корреляционную связь между численностью эпидемиологически значимых грызунов и заболеваемостью населения на конкретных территориях [6, 7]. Численность инфицированных грызунов имеет еще более сильную корреляционную связь с заболеваемостью населения [8–10]. Фактически полевые зоологические работы и их результаты являются на сегодняшний день ключевым начальным этапом оперативного анализа в эпиднадзоре за ГЛПС. При этом экстраполяция результатов, полученных в нескольких точках обследования на всю исследуемую территорию, существенно снижает информативность формируемого прогноза и позволяет лишь ориентировочно понять складывающуюся картину на территории. Кроме того, имеющийся дефицит кадрового потенциала работников зоологического профиля приводит к снижению полноты получаемых при эпизоотологическом мониторинге данных [11]. В связи с тем, что обследованию подлежат выборочные локации, а не вся территория, данные такого эпизоотологического обследования весьма приблизительно позволяют спрогнозировать эпидемиологическую ситуацию по ГЛПС. Отмеченные особенности учета биотических

факторов свидетельствуют о том, что статистические зоологические данные (численность и инфицированность грызунов), используемые экспертами в качестве прогностических критериев осложнения эпидемиологической обстановки, хотя и остаются оперативным элементом оценки территории риска заражения ГЛПС в системе эпидемиологического надзора, однако сами по себе не способны обеспечить ту полноту информации, которая необходима в современных условиях для оптимизации управления эпидемическим процессом.

Вследствие вышесказанного поиск наиболее достоверных прогностических критериев предэпидемической диагностики ГЛПС является крайне актуальной задачей совершенствования эпидемиологического надзора на современном этапе. Для построения достоверных прогнозов заболеваемости ГЛПС необходим сплошной, независимый от внешних факторов, непрерывный ряд данных, доступных для анализа, регистрируемых постоянно на протяжении продолжительного временного периода (т.е. доступные данные для прогностической оценки в целом по исследуемой территории, а не на отдельных ее локациях).

Известно, что в основе эффективного прогнозирования должна быть заложена организация слежения за факторами, влияющими на эпидемиологическую обстановку еще до того, как она начала формироваться [12]. В условиях ограниченных возможностей использования зоологических данных в качестве прогностического критерия осложнения эпидемиологической ситуации ГЛПС и с учетом зоонозной природы болезни представляется, что искомый фактор, влияющий на заболеваемость ГЛПС, должен воздействовать на численность популяций носителей хантавирусов. Результаты научных исследований данной зависимости подтверждают существенное влияние определенных абиотических факторов на численность грызунов, оказывая на них как прямое (количество беременностей, размер помета, рождаемость и коэффициент выживаемости), так и опосредованное влияние (условия жизни и обеспеченность пищевыми ресурсами и др.) [13–16]. Природно-климатические факторы в значительной степени обуславливают выживаемость грызунов на природно-очаговых территориях и поддаются точному количественному учету.

Высокая социальная и медицинская значимость проблемы ГЛПС в Российской Федерации требует внедрения эффективных и современных методов анализа и прогнозирования, необходимых для принятия аргументированных решений, оперативного управления ситуацией и планирования профилактических мероприятий.

Перспективным решением поставленной задачи, на наш взгляд, является разработка и внедрение в практику эпидемиологического надзора за ГЛПС методик анализа и прогнозирования заболеваемости на основе методов машинного обучения. Широкое

распространение болезни в разных климатических зонах и геоботанических условиях, наблюдаемая тенденция к росту уровня заболеваемости населения на фоне постоянной профилактической поддержки в природных очагах и расширение ареала циркуляции хантавирусов свидетельствуют о наличии сложного характера взаимодействия факторов, определяющих активность эпизоотического процесса и интенсивность эпидемических проявлений. Проблема анализа таких сложных, нелинейных зависимостей и опосредованно действующих компонентов может быть эффективно решена при использовании возможностей искусственных нейронных сетей, представляющих собой математические модели и их программные реализации. В последние годы наблюдается активное внедрение в практику здравоохранения нейросетевого прогнозирования развития конкретных заболеваний, осложнений, исходов, эффективности лечения [17–19], что представляет собой несомненный научный и практический интерес для эпидемиологии. Показанная на практике способность искусственных нейронных сетей создавать более достоверные модели, позволяющие получить качественный прогноз, превосходящий по точности и скорости получения результата классические статистические методы [20–22], определяет выбор данной методики для возможности прогнозирования заболеваемости ГЛПС.

Исходя из вышесказанного, **целью** работы явилось формирование объективной методической базы прогнозирования эпидемиологической обстановки по ГЛПС за счет использования методов машинного обучения при моделировании влияния комбинаций абиотических факторов риска на фактическую заболеваемость ГЛПС.

## Материалы и методы

Исследование проводилось на основе анализа заболеваемости ГЛПС на территории Саратовской области. Материалы исследования составили данные о 10 788 случаях заболевания ГЛПС, зарегистрированных с 1982 по 2022 г., полученные из форм отчетности № 1 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» и архивных статистических материалов. Каждый случай заболевания персонифицирован и имеет дату регистрации болезни.

Климатические характеристики получены из архива базы данных метеонаблюдений за период 1981–2023 гг. метеостанции Саратов – Юго-Восток, представленных в открытом доступе Гидрометцентром России [23]. В работе использовано более 46 тыс. значений метеопоказателей, приведенных за каждый день изучаемого периода. В исследование взяты следующие величины:

- максимальная, минимальная, среднесуточная температура (градусы Цельсия);
- атмосферное давление (миллиметры ртутного столба);
- скорость ветра (метры в секунду);



- количество осадков (миллиметры);
- высота снежного покрова (сантиметры);
- относительная влажность (%);
- направление ветра.

Разработка нейросетевой модели прогнозирования выполнена на базе специализированного модуля платформы Loginom версии 7.1.

### Результаты и обсуждение

Вся работа по отбору критериев прогностической оценки, обучению и тестированию нейронных сетей выполнена в три этапа.

На первом этапе исследования проведенный анализ заболеваемости ГЛПС в Саратовской области показал, что наряду со стабильно напряженной эпидемиологической обстановкой по ГЛПС (ежегодная регистрация болезни с 1964 г.) при сочетанном влиянии определенных факторов в отдельные годы происходят резкие подъемы заболеваемости. Общее число больных в годы эпидемических вспышек превышало в несколько раз не только средние многолетние показатели по области (в 11,5 раза – в 1986 г.; в 5,8 раза – в 2014 г.; в 14,18 раза – в 2019 г.), но и было выше заболеваемости в целом по Российской Федерации (в 17,17 раза – в 1986 г.; в 5,6 раза – в 2014 г.; в 11,5 раза – в 2019 г.) [24]. При этом среднее значение многолетнего интенсивного показателя по Саратовской области составляет 4,89 на 100 тыс. населения, что соответствует порядка 300 заболевшим в год. Данная величина использована в работе как базовый среднесезонный уровень заболевших.

Статистическая обработка ретроспективных данных показала, что активная регистрация заболевших в области начинается с мая, а пик заболеваемости приходится на октябрь-декабрь, обуславливая осенне-зимнюю сезонность ГЛПС, характерную для области. Учитывая продолжительный инкубационный период болезни, можно предположить, что случаи, регистрируемые в начале года (январь-февраль), являются результатом заражения ГЛПС в прошлом году или спорадической заболеваемостью, связанной с миграцией инфицированных грызунов в теплые постройки человека, а не активацией природного очага. Учитывая вышесказанное, в данной работе за период прогнозирования осложнения эпидемиологической обстановки по ГЛПС принят значимый в эпидемиологическом отношении промежуток времени с мая предыдущего года по май текущего.

В качестве факторов, предположительно оказывающих влияние на заболеваемость ГЛПС в зависимости от сезона года, нами рассмотрены 34 абиотических показателя с установленной климатической нормой, характерной для Саратовской области по литературным данным [25]. Пример рассмотренных в работе показателей приведен в табл. 1.

Для подтверждения наличия влияния всех принятых в анализ абиотических (климатических) факторов на заболеваемость ГЛПС проведен корреля-

ционный анализ. По коэффициенту Пирсона  $r \geq 0,62$  (сильная связь) для дальнейшего моделирования отобраны только восемь климатических показателей (табл. 2).

Уровень значимости выбранных показателей подтвержден выполненным анализом методом конечных классов [5, 26], по результатам которого у каждого из восьми выбранных показателей уровень значимости соответствовал самому высокому рангу (более 0,3).

Таким образом, в ходе первого этапа исследования сформирована обучающая выборка для фор-

Таблица 1 / Table 1

Примеры климатических характеристик, рассмотренных в работе

Examples of climatic characteristics discussed in the work

№ No.	Факт (Саратовская область) / Event (Saratov Region)
ЗИМА (20 ноября – 20 марта) / WINTER (November 20 – March 20)	
1	Устойчивый снежный покров: норма 20 ноября – 10 декабря Stable snow cover: standard time – November 20 – December 10
2	Высота снежного покрова: норма 30–40 см Snow depth: standard indicator is 30–40 cm
3	Продолжительность устойчивого снежного покрова: норма 132 дня Period of stable snow cover: standard period is 132 days
4	Резкий суточный перепад зимних температур – 10 °C и более: норма 3 дня Extreme daily winter temperature variations – 10 °C or more: the norm is 3 days
5	Число дней с оттепелью: норма 11 дней Number of days of warm spells (thawing weather): standard value is 11 days
...	
ВЕСНА (21 марта – 30 апреля) / SPRING (March 21 – April 30)	
1	Продолжительность снеготаяния: норма 13–20 дней Duration of snowmelt: standard period is 13–20 days
2	Среднее количество осадков: норма 60 мм Average level of precipitation: the norm is 60 mm
3	Период перехода от 0 до 10 °C: норма 25 дней Temperature shift from 0 to 10 °C: standard timeline is 25 days
...	
ЛЕТО (1 мая – 20 сентября) / SUMMER (May 1 – September 20)	
1	Количество дней с температурой 30 °C: норма 25 дней Number of days when temperature reaches 30 °C: standard indicator is 25 days
2	Количество дней с температурой выше 10 °C: норма 120–150 дней Number of days when temperature is above 10 °C: standard indicator is 120–150 days
3	Среднее количество осадков: норма 200 мм Average level of precipitation: the norm is 200 mm
...	
ОСЕНЬ (20 сентября – 20 ноября) / AUTUMN (September 20 – November 20)	
1	Период перехода температуры от 10 до 5 °C: норма 20–25 дней Temperature shift from 10 to 5 °C: standard timeline is 20–25 days
...	

Таблица 2 / Table 2

Результаты корреляционного анализа для абиотических показателей, имеющих сильную связь с заболеваемостью населения

Results of correlation analysis of abiotic indicators that have a strong connection with population morbidity

№ No.	Показатель коэффициента Пирсона Pearson's coefficient value	Действующий фактор в зависимости от сезона года Operative factor depending on the season of the year
1	0,695564407	Лето   Максимальное количество осадков Summer   Maximum precipitation
2	0,694629056	Зима   Высота снежного покрова, февраль Winter   Snow depth, February
3	0,63781759	Зима   Средняя высота снежного покрова
4	0,688498758	Зима   Максимальная высота снежного покрова Winter   Average snow depth
5	0,621612414	Зима   Максимальное количество осадков Winter   Maximum precipitation
6	0,697603402	Зима   Суммарное количество осадков Winter   Total precipitation
7	0,771542054	Весна   Максимальная температура воздуха Spring   Maximum air temperature
8	-0,639195045	Зима   Количество дней оттепели Winter   Number of days of thawing weather

мирования нейросетевой модели прогнозирования. В выборку вошли данные по заболевшим ГЛПС в Саратовской области за период с 1982 по 2021 г., распределенные по месяцам регистрации случаев болезни, и восемь абиотических показателей, имеющих статистически достоверное влияние на заболеваемость. В качестве пороговой величины, определяющей эпидемическое осложнение по ГЛПС в области, определено значение в 300 заболевших. За период прогнозирования принят не календарный год, а наиболее значимый в эпидемиологическом отношении промежуток времени – с мая предыдущего по май текущего года. Все исходные данные распределены на контрольную и тестовую выборки, необходимые для управления процессом обучения. Сформированы категории прогноза – результат прогностической

оценки будет характеризовать динамику ожидаемой заболеваемости по трем уровням: ожидаемая заболеваемость на уровне среднесезонных показателей; ожидаемая заболеваемость на уровне выше или ниже среднесезонной, выраженная в процентах. Данные о заболеваемости в 2022 г. на сеть не подавались и были зарезервированы для проверки эффективности созданной нейросетевой модели и качества ее прогноза.

На втором этапе происходило «обучение» нейронной сети. В ходе обучения проанализированы 13 142 комбинации влияния восьми выбранных климатических факторов на заболеваемость ГЛПС в области. Полученные данные использованы для построения и обучения 88 нейросетевых моделей. По результатам оценки качества для каждой из полученных моделей рассчитана среднеквадратическая ошибка – критерием успешного обучения являлось последовательное уменьшение ошибки на обучаемом множестве. В работу взята наиболее простая модель с наименьшим количеством ошибок (модель № 28), отношение стандартного отклонения которой равнялось нулю.

Алгоритм анализа, используемый моделью, схематично представлен на рисунке. При вводе в модель фактических данных восьми выбранных ранее параметров за анализируемый период (с мая предыдущего года по май текущего) «обученная» нейронная сеть самостоятельно осуществляет комбинирование всех возможных сочетаний действия факторов и определяет возможный результат прогнозирования.

Преимущество методики заключается в реализации возможности ручной настройки параметров, позволяющей задавать интересующие параметры задолго до наступления эпидемического сезона в условиях отсутствия фактических данных. С помощью инструмента визуализации прогноза посредством построения так называемого «куба возможных решений» можно искусственно вводить интересующие параметры климатических данных и прогнозировать заболеваемость на ближайшую перспективу, ориентируясь на среднегодовые значения выбранных показателей, которые нейросеть рассчитает самостоя-

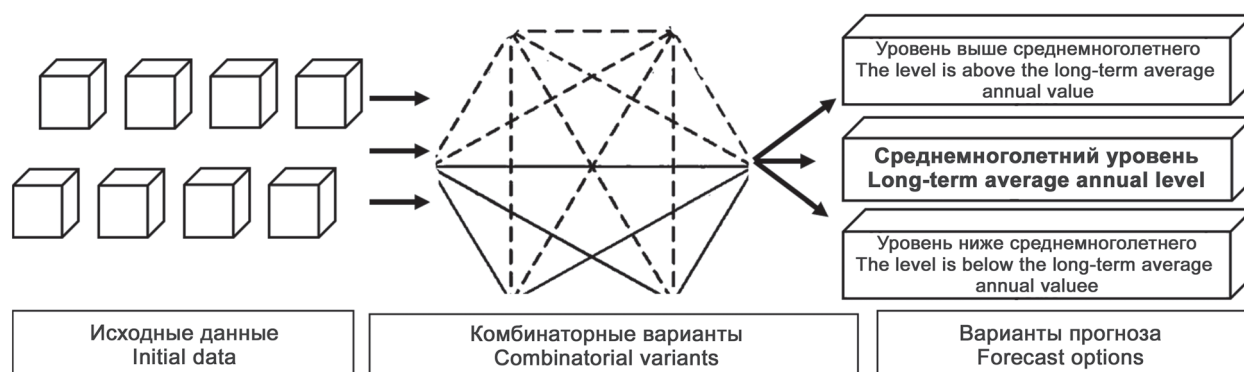


Схема алгоритма прогностической оценки

Schematic algorithm of the prognostic assessment

тельно. Например, какой вариант прогноза возможен, если в текущем году количество дней с температурой выше 10 °C будет выше среднееголетних значений, высота снежного покрова в феврале останется на уровне среднееголетних значений, а количество осадков весной значительно превысит многолетнюю норму. При этом необходимо отметить, что при использовании фактических данных выбранных для создания нейронной сети параметров точность прогноза повышается.

На третьем этапе выполнено тестирование полученной модели путем сравнения прогнозируемых значений с набором известных данных, которые ранее на сеть не подавались. Достоверность прогнозирования заболеваемости ГЛПС по разработанной модели проверена по методике оценки точности нейросетевых моделей [27, 28]. В нашем исследовании по ретроспективным данным правильное прогнозирование развития осложнения эпидемиологической обстановки по ГЛПС в Саратовской области получено в 98,8 % случаях. При использовании тестовых данных по заболеваемости ГЛПС в Саратовской области в 2023 г., не подаваемых на сеть в режиме обучения, получен достоверный результат прогнозирования: ожидаемая заболеваемость на уровне ниже среднееголетней (фактическая – 83 случая заболевания). При этом, согласно экспертному прогнозу на 2023 г., сформированному на основании комплексной экспертной оценки эпидемиологической ситуации предыдущего года и фактических эпизоотологических данных осуществленного мониторинга, Саратовская область была отнесена к территориям с высоким прогностическим риском осложнения эпидемиологической ситуации по ГЛПС в 2023 г. [29].

Необходимо отметить, что рассматриваемая модель специфична только для территории Саратовской области. Для использования представленного подхода к прогнозированию ГЛПС в других регионах России, в связи с широким разнообразием климатических, ландшафтных, геоботанических и других особенностей территории, формирующих структуру и обуславливающих активность природного очага ГЛПС, необходимо полностью «переобучить» нейронную сеть с помощью данных, характерных для исследуемых территорий. Предложенный нами методический подход к прогнозированию эпидемиологической обстановки по ГЛПС подразумевает не создание единой универсальной модели прогнозирования, а построение неизменного сценария исследования с возможностью в считанные минуты «переобучить» нейронную сеть под региональную специфику.

Таким образом, внедрение в практику методического подхода к прогнозированию ГЛПС на базе методов нейросетевого прогнозирования позволит обеспечить качественный переход от экспертного прогнозирования к независимому анализу эпидемиологических тенденций, основанному на сплошном, непрерывном ряде достоверных фактических данных. В связи с этим ежегодные прогнозы эпи-

демиологической обстановки в природных очагах ГЛПС Российской Федерации приобретут фактическую аналитическую базу, что несомненно повысит их информационные возможности и значимость при планировании и проведении профилактических работ учреждениями Роспотребнадзора.

**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., Ежлова Е.Б. Эпидемиологический надзор и профилактика геморрагической лихорадки с почечным синдромом в РФ. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2013; 4:23–32.
2. Иванова А.В., Сафронов В.А., Зубова А.А., Попов Н.В., Кожанова О.И., Матвеева Н.И., Вяткин И.Н., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Методические подходы к оценке экономического ущерба, связанного с заболеваемостью геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:96–104. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-96-104.
3. Чистик О.Ф. Статистический подход к исследованию заболеваемости населения России. *Интеллект. Инновации. Инвестиции*. 2018; 7:4–11.
4. Чистик О.Ф. Статистический анализ заболеваемости и смертности. *Вестник Самарского государственного экономического университета*. 2019; 9:65–72. DOI: 10.46554/1993-0453-2019-9-179-65-72.
5. Пакин Н.Б., Орешков В.И. Бизнес-аналитика: от данных к знаниям: Учеб. пособие. 2-е изд., испр. СПб.: Питер, 2013. 704 с.: ил.
6. Бернштейн А.Д., Апекина Н.С., Копылова Л.Ф., Хворенков А.В., Мясников Ю.А., Михайлова Т.В., Гавриловская И.Н. Особенности проявления лесных очагов геморрагической лихорадки с почечным синдромом, расположенных в оптимуме ареала рыжей полевки. *РЭТ-инфо*. 2000; 3:11–17.
7. Жигальский О.А., Кшняев И.А. Популяционные циклы европейской рыжей полевки в оптимуме ареала. *Экология*. 2000; 5:376–83.
8. Берштейн А.Д., Гавриловская И.Н., Апекина Н.С., Дзагурова Т.К., Ткаченко Е.А. Особенности природного очаговости хантавирусных зоонозов. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2010; (2):5–13.
9. Коренберг Э.И. Природная очаговость инфекций: современные проблемы и перспективы исследований. *Зоологический журнал*. 2010; 89(1):5–17.
10. Кушнарева Т.В. Эпизоотологический потенциал мышевидных грызунов в природных очагах хантавирусной инфекции и его эпидемиологическое значение. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2008; 2:50–2.
11. Транквиловский Д.В. Современное состояние организации зоолого-эпидемиологического, эпизоотологического мониторинга в России. *Пест-менеджмент*. 2022; 3:16–9. DOI: 10.25732/PM.2022.123.3.003.
12. Беляков В.Д. Управляемые инфекции и саморегуляция паразитарных систем. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1986; 63(11):8–12.
13. Прислегина Д.А., Дубянский В.М., Платонов А.Е., Малецкая О.В. Влияние природно-климатических факторов на эпидемиологическую ситуацию по природно-очаговым инфекциям. *Инфекция и иммунитет*. 2021; 11(5):820–36. DOI: 10.15789/2220-7619-ЕОТ-1631.
14. Лифиренко Н.Г., Костина Н.В. К оценке возможного влияния климата на эпидемический процесс. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2008; 10(2):333–9.
15. 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.
16. Платонов А.Е. Влияние погодных условий на эпидемиологию трансмиссивных инфекций (на примере лихорадки Западного Нила в России). *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2006; 2:25–9.



17. Прохоренко И.О. Метод нейросетевого моделирования и его использование для прогнозирования развития соматической патологии у лиц старших возрастных групп. *Современные проблемы науки и образования*. 2013; 1:70.
  18. Хасанов А.Г., Шайбаков Д.Г., Жернаков С.В., Меньшиков А.М., Бадретдинова Ф.Ф., Суфияров И.Ф., Сагадатова Ю.Р. Нейронные сети для прогнозирования динамики развития заболеваний. *Креативная хирургия и онкология*. 2020; 10(3):198–204. DOI: 10.24060/2076-3093-2020-10-3-198-204.
  19. Лазаренко В.А., Антонов А.Е., Markapuram V.K., Awad K. Опыт нейросетевой диагностики и прогнозирования язвенной болезни по результатам анализа факторов риска. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17(3):88–95. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-3-88-95.
  20. Суханова Н.В. Разработка нейросетевой модели для мониторинга заболеваемости и прогнозирования эффективности противоэпидемических мер. *Вестник Брянского государственного технического университета*. 2020; 10:42–50. DOI: 10.30987/1999-8775-2020-10-42-50.
  21. Светлый Л.И., Лопухова В.А., Тарасенко И.В., Климин А.С. Применение системы оценки технологий здравоохранения в принятии эффективных управленческих решений. *Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке»*. 2013; 15(1-4):234–5.
  22. Безруков Н.С., Еремин Е.Л. Построение и моделирование адаптивной нейро-нечеткой системы в задаче медицинской диагностики. *Информатика и системы управления*. 2005; 2:36–46.
  23. Гидрометцентр России. [Электронный ресурс]. URL: <https://meteoinfo.ru/archive-pogoda> (дата обращения 15.01.2024).
  24. Иванова А.В., Сафронов В.А., Попов Н.В., Кожанова О.И., Матвеева Н.И., Крессова У.А., Чумачкова Е.А., Пospelov М.В., Архипова Г.Н., Вяткин И.Н., Щербаклова С.А., Кутырев В.В. Эпидемиологические особенности вспышки ГЛПС в Саратовской области 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 2:78–85. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-78-85.
  25. Ормели Е.И. Оценка степени континентальности климата Саратовской области в начале XXI века. *Вестник Удмуртского университета. Серия «Биология. Науки о Земле»*. 2022; 32(4):476–84. DOI: 10.35634/2412-9518-2022-32-4-476-484.
  26. Даутов Р.З., Карчевский М.М. Введение в теорию метода конечных элементов: Учеб. пособие. Казань: Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина; 2004. 239 с.
  27. Гамбаров Г.М., Журавель Н.М., Королев Ю.Г. Статистическое моделирование и прогнозирование: Учеб. пособие. М.: Финансы и статистика; 1990. 383 с.
  28. Котельников С.А., Усков А.А. Методика оценки точности нейросетевых моделей. *Программные продукты и системы*. 2008; 2:63–5.
  29. Савицкая Т.А., Иванова А.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Трифонов В.А., Зиятдинов В.Б., Магерамов Ш.В., Хусаинова Р.М., Транквиловский 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.
- ## References
1. Onishchenko G.G., Ezhlova E.B. [Epidemiological surveillance and prevention of hemorrhagic fever with renal syndrome in the Russian Federation]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology]. 2013; (4):23–32.
  2. Ivanova A.V., Safronov V.A., Zubova A.A., Popov N.V., Kozhanova O.I., Matveeva N.I., Vyatkin I.N., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. [Methodological approaches to assessing the economic damage associated with the incidence of hemorrhagic fever with renal syndrome in the Russian Federation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2023; (1):96–104. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-96-104.
  3. Chistik O.F. [Statistical approach to the study of morbidity in the Russian population]. *Intellekt. Innovatsii. Investitsii* [Intelligence. Innovation. Investment]. 2018; (7):4–11.
  4. Chistik O.F. [Statistical analysis of morbidity and mortality]. *Vestnik Samarskogo Gosudarstvennogo Ekonomicheskogo Universiteta* [Bulletin of the Samara State University of Economics]. 2019; (9):65–72. DOI: 10.46554/1993-0453-2019-9-179-65-72.
  5. Paklin N.B., Oreshkov V.I. [Business Analytics: from Data to Knowledge: A Study Guide]. 2nd ed., revised. St. Petersburg; 2013. 704 p.: illustrated.
  6. Bernstein A.D., Apekina N.S., Kopylova L.F., Khvorenkov A.V., Myasnikov Yu.A., Mikhailova T.V., Gavrilovskaya I.N. [Features of the manifestation of forest foci of hemorrhagic fever with renal syndrome, located in the optimum range of the red vole]. *[RAT info]*. 2000; (3):11–7.
  7. Zhigalsky O.A., Kshnyasev I.A. [Population cycles of the European red vole in the optimum range]. *Ekologiya* [Ecology]. 2000; (5):376–83.
  8. Bernstein A.D., Gavrilovskaya I.N., Apekina N.S., Dzagurova T.K., Tkachenko E.A. [Features of the natural focality of hantavirus zoonoses]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika* [Epidemiology and Vaccinal Prevention]. 2010; (2):5–13.
  9. Korenberg E.I. [Natural focality of infections: current problems and research prospects]. *Zoologicheskyy Zhurnal* [Zoological Journal]. 2010; 89(1):5–17.
  10. Kushnareva T.V. [Epizootiological potential of mouse-like rodents in natural foci of hantavirus infection and its epidemiological significance]. *Tikhookeansky Meditsinsky Zhurnal* [Pacific Medical Journal]. 2008; (2):50–2.
  11. Tranquilevsky D.V. [The current state of the organization of zoological, entomological, epizootiological monitoring in Russia]. *[Pest Management]*. 2022; (3):16–9. DOI: 10.25732/PM.2022.123.3.003
  12. Belyakov V.D. [Controlled infections and self-regulation of parasitic systems]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology]. 1986; 63(11):8–12.
  13. Prislekina D.A., Dubynsky V.M., Platonov A.E., Maletskaya O.V. [Influence of natural and climatic factors on the epidemiological situation of natural focal infections]. *Infektsiya i Immunitet* [Russian Journal of Infection and Immunity]. 2021; 11(5):820–36. DOI: 10.15789/2220-7619-EOT-1631.
  14. Lihrenko N.G., Kostina N.V. [To assess the possible impact of climate on the epidemic process]. *Izvestiya Samarskogo Nauchnogo Tsentra Rossijskoj Akademii Nauk* [Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences]. 2008; 10(2):333–9.
  15. Maletskaya O.V., Taran T.V., Prislekina D.A., Platonov A.E., Dubynsky V.M., Volinkina 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.
  16. Platonov A.E. [The influence of weather conditions on the epidemiology of vector-borne infections (by the example of West Nile fever in Russia)]. *Vestnik Rossijskoj Akademii Meditsinskikh Nauk* [Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences]. 2006; (2):25–9.
  17. Prokhorenko I.O. [The method of neural network modeling and its use for predicting the development of somatic pathology in older age groups]. *Sovremennyye Problemy Nauki i Obrazovaniya* [Modern Problems of Science and Education]. 2013; (1):70.
  18. Khasanov A.G., Shaibakov D.G., Zhernakov S.V., Menshikov A.M., Badretdinova F.F., Sufiyarov I.F., Sagadatova Yu.R. [Neural networks for predicting the dynamics of disease development]. *Kreativnaya Khirurgiya i Onkologiya* [Creative Surgery and Oncology]. 2020; 10(3):198–204. DOI: 10.24060/2076-3093-2020-10-3-198-204.
  19. Lazarenko V.A., Antonov A.E., Markapuram V.K., Awad K. [The experience of neural network diagnostics and forecasting of peptic ulcer disease based on the results of risk factor analysis]. *Byulleten' Sibirskoy Meditsiny* [Bulletin of Siberian Medicine]. 2018; 17(3):88–95. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-3-88-95.
  20. Sukhanova N.V. [Development of a neural network model for monitoring morbidity and predicting the effectiveness of anti-epidemic measures]. *Vestnik Bryanskogo Gosudarstvennogo Tekhnicheskogo Universiteta* [Bulletin of the Bryansk State Technical University]. 2020; (10):42–50. DOI: 10.30987/1999-8775-2020-10-42-50.
  21. Svetly L.I., Lopukhova V.A., Tarasenko I.V., Klimkin A.S. [Application of the health technology assessment system in making effective management decisions]. *[Journal of Scientific Articles "Health and Education in the XXI Century"]*. 2013; 15(1-4):234–5.
  22. Bezrukov N.S., Eremin E.L. [Construction and modeling of an adaptive neuro-fuzzy system in the task of medical diagnostics]. *Informatika i Sistemy Upravleniya*. [Computer Science and Management Systems]. 2005; 2:36–46.
  23. Hydrometeorological Centre of Russia. (Cited 15 Jan 2024). [Internet]. Available from: <https://meteoinfo.ru/archive-pogoda>.
  24. Ivanova A.V., Safronov V.A., Popov N.V., Kozhanova O.I., Matveeva N.I., Kressova U.A., Chumachkova E.A., Pospelov M.V., Arkhipova G.N., Vyatkin I.N., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. [Epidemiological features of the HFRS outbreak in the Saratov Region in 2019]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2020; (2):78–85. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-78-85.
  25. Ormely E.I. [Assessment of the degree of continentality of the climate of the Saratov region at the beginning of the XXI century]. *Vestnik Udmurtskogo Universiteta. Seriya «Biologiya*.

*Nauki o Zemle» [Bulletin of the Udmurt University. "Biology. Earth Sciences" Series]. 2022; 32(4):476–84. DOI: 10.35634/2412-9518-2022-32-4-476-484.*

26. Dautov R.Z., Karchevsky M.M. [Introduction to the Theory of the Finite Element Method. A Study Guide]. Kazan: Kazan State University named after V.I. Ulyanov-Lenin; 2004. 239 p.

27. Gambarov G.M., Zhuravel' N.M., Korolev Yu.G. [Statistical Modeling and Forecasting: A Study Guide]. Moscow: "Finance and Statistics"; 1990. 383 p.

28. Kotelnikov S.A., Uskov A.A. [Methodology for evaluating the accuracy of neural network models]. *Programmnye Produkty i Sistemy [Software Products and Systems]*. 2008; (2):63–5.

29. Savitskaya T.A., Ivanova A.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Trifonov V.A., Ziatdinov V.B., Magerramov Sh.V., Khusainova R.M., Tranquilevsky D.V. [Analysis of the epidemiological situation

of hemorrhagic fever with renal syndrome in the Russian Federation in 2022 and forecast of its development for 2023]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (1):85–95. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-85-95.

**Authors:**

*Ivanova A.V., Safronov V.A.* Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

**Об авторах:**

*Иванова А.В., Сафронов В.А.* Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-111-117

УДК 616.98:578.834.1

Т.А. Иващенко, Я.О. Романенко, А.С. Карцева, М.В. Силкина, М.А. Мар'ин, А.Е. Хлынцева,  
Н.А. Зенинская, И.Г. Шемякин, В.В. Фирстова

**Моноклональные антитела, способные ингибировать взаимодействие  
рецептор-связывающего домена вируса SARS-CoV-2  
с ангиотензинпревращающим рецептором 2 клеток человека**

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

**Цель работы** – оценить способность моноклональных антител (МКА) ингибировать взаимодействие рецептор-связывающего домена (RBD) S-белка вируса SARS-CoV-2 вариантов Wuhan-Hu-1 и BQ 1.1 с ангиотензинпревращающим рецептором 2 клеток человека (ACE2). **Материалы и методы.** В качестве антигенов использованы рекомбинантные RBD вариантов Wuhan-Hu-1 и BQ 1.1. Для наработки мышиных моноклональных антител (мМКА) гибридомы культивировали *in vivo* в организме мышей линии BALB/c. Из асцитической жидкости выделяли мМКА очищением сульфатом аммония с последующей очисткой посредством аффинной хроматографии на колонке с сорбентом Protein G Sepharose. Оценку специфической активности мМКА проводили методом иммуноблота с рекомбинантным RBD варианта Wuhan-Hu-1. Для выявления наиболее перспективного мМКА проводили оценку нейтрализующей активности мМКА с помощью метода иммуоферментного анализа посредством иммобилизации RBD на поверхности микропланшета и использования ACE2 в форме конъюгата с пероксидазой хрена. Нарработку рекомбинантных антигенов осуществляли в клетках линии ExpiCHO-S (Gibco, США). **Результаты и обсуждение.** В результате исследования охарактеризованы три мМКА: 5C3, 3F11, 1E6. Все антитела относятся к иммуноглобулинам подкласса G и специфически взаимодействуют с RBD S-белка вируса SARS-CoV-2. Установлено, что наиболее эффективное ингибирование взаимодействия ACE2 и RBD штамма BQ 1.1 наблюдалось у мМКА 3F11 (65 %), а при взаимодействии с RBD штамма Wuhan-Hu-1 – у мМКА 5C3 (91 %). Выявленные характеристики позволяют рассматривать антитела в качестве потенциальных кандидатов для создания терапевтических препаратов на основе антител, что расширяет возможности терапии вирусной инфекции SARS-CoV-2.

**Ключевые слова:** SARS-CoV-2, COVID-19, моноклональные антитела, рецептор-связывающий домен, ангиотензинпревращающий фермент 2, нейтрализующая активность.

Корреспондирующий автор: Иващенко Татьяна Александровна, e-mail: ivaschenko\_ta@mail.ru.

Для цитирования: Иващенко Т.А., Романенко Я.О., Карцева А.С., Силкина М.В., Мар'ин М.А., Хлынцева А.Е., Зенинская Н.А., Шемякин И.Г., Фирстова В.В. Моноклональные антитела, способные ингибировать взаимодействие рецептор-связывающего домена вируса SARS-CoV-2 с ангиотензинпревращающим рецептором 2 клеток человека. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 3:111–117. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-111-117

Поступила 27.04.2024. Принята к публ. 13.05.2024.

T.A. Ivashchenko, Ya.O. Romanenko, A.S. Kartseva, M.V. Silkina, M.A. Mar'in, A.E. Khlyntseva,  
N.A. Zeninskaya, I.G. Shemyakin, V.V. Firstova

**Monoclonal Antibodies Capable of Inhibiting the Interaction of the Receptor Binding  
Domain of SARS-CoV-2 Virus with the Angiotensin-Converting Receptor 2 of Human Cells**

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

**Abstract.** The aim of the work was to evaluate the ability of monoclonal antibodies to inhibit the interaction of the receptor binding domain (RBD) in S protein of SARS-CoV-2 virus variants, Wuhan-Hu-1 and BQ 1.1, with the angiotensin-converting receptor 2 (ACE2). **Materials and methods.** In this study, recombinant RBDs of Wuhan-Hu-1 and BQ 1.1 variants were used as antigens. For mouse monoclonal antibody (mMCA) production, hybridomas were cultured *in vivo* in BALB/c mice. mMCA were isolated from ascitic fluid by ammonium sulfate treatment followed by purification through column affinity chromatography with Protein G Sepharose sorbent. The specific activity of mMCA was assessed by immunoblot with recombinant RBD of Wuhan-Hu-1 variant. To identify the most promising mMCA, the neutralizing activity of mMCA was evaluated by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) via immobilizing RBD on the surface of a microplate and using ACE2 in the form of horseradish peroxidase conjugate. Recombinant antigens were produced in ExpiCHO-S cell line (Gibco, USA). **Results and discussion.** Three mMCA have been described as a result of the study: 5C3, 3F11, 1E6. All antibodies belong to immunoglobulins of subclass G and specifically interact with the RBD in S protein of SARS-CoV-2 virus. The most effective inhibition of the interaction between ACE2 and the RBD of BQ 1.1 strain was observed for murine MCA 3F11 (65 %), while the interaction with the RBD of Wuhan-Hu-1 strain was inhibited by mMCA 5C3 (91 %). The identified characteristics allow for considering the antibodies as potential candidates for the development of antibody-based therapeutics, thus expanding the possibilities of therapy for SARS-CoV-2 virus infection.

**Key words:** SARS-CoV-2, COVID-19, monoclonal antibodies, receptor-binding domain, angiotensin-converting enzyme 2, neutralizing activity.

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

**Funding:** The work was carried out within the framework of state R&D assignment 3.1.3.



*Bioethics*: All stages of the study complied with the legislation of the Russian Federation, international ethical standards and regulatory documents of the institution, and were also approved by the relevant Committees.

Corresponding author: Tatiana A. Ivashchenko, e-mail: ivashchenko\_ta@mail.ru.

Citation: Ivashchenko T.A., Romanenko Ya.O., Kartseva A.S., Silkina M.V., Mar'in M.A., Khlyntseva A.E., Zeninskaya N.A., Shemyakin I.G., Firstova V.V. Monoclonal Antibodies Capable of Inhibiting the Interaction of the Receptor Binding Domain of SARS-CoV-2 Virus with the Angiotensin-Converting Receptor 2 of Human Cells. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 3:111–117. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-111-117

Received 27.04.2024. Accepted 13.05.2024.

Ivashchenko T.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4908-2524>  
Romanenko Ya.O., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1698-6516>  
Kartseva A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3159-6439>  
Silkina M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5329-2807>  
Mar'in M.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0560-915X>

Khlyntseva A.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0052-2602>  
Zeninskaya N.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5388-292X>  
Shemyakin I.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9667-1674>  
Firstova V.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9898-9894>

Новая коронавирусная инфекция COVID-19, вызванная вирусом SARS-CoV-2, впервые зарегистрированная в г. Ухань провинции Хубей Китая в декабре 2019 г., с высокой скоростью распространилась более чем в 200 странах мира, и 11 марта 2020 г. Всемирная организация здравоохранения объявила о пандемии [1, 2].

С момента появления COVID-19 геном вируса SARS-CoV-2 претерпел множество мутаций. Известно пять генетических вариантов вируса SARS-CoV-2, включая альфа (B.1.1.7), бета (B.1.351), гамма (P.1), дельта (B.1.617.2) и омикрон (B.1.1.529) [3–5]. Волны, вызванные новыми вариантами, быстро сменяли друг друга, при этом наблюдалось снижение тяжести клинических проявлений и уменьшение смертельных случаев по сравнению с предшествующим вариантом. Омикрон (B.1.1.529) стал доминирующим типом среди предыдущих циркулирующих вариантов COVID-19 и быстро распространился по всему миру с появлением новых линий: BA.1, BA.2, BA.3, BA.4, BA.5 – и подлиний, включая BA.1.1, BA.2.12.1, BA.2.11, BA.2.75 и BA.4.6.

Для профилактики и лечения COVID-19 используются вакцинные и противовирусные препараты. Однако из-за спонтанного появления новых вариантов SARS-CoV-2 необходимо постоянно подтверждать эффективность уже разработанных и утвержденных к применению вакцин. Важным терапевтическим средством против вирусных заболеваний, особенно для групп населения, имеющих противопоказания для вакцинации, являются антитела, способные нейтрализовать вирус [6, 7].

С начала пандемии COVID-19 во всем мире разработано, испытано и одобрено для клинического применения несколько моноклональных антител (МКА) [8]. Появление новых вариантов SARS-CoV-2 привело к потере эффективности большинства МКА. Несмотря на существенное уменьшение доли тяжелого течения COVID-19, нейтрализующие МКА по-прежнему остаются самым эффективным средством этиотропной терапии благодаря их способности предотвращать прогрессирование заболевания сразу после введения и ускорять выздоровление независимо от полноты выработки иммунитета у пациента [7, 9].

Структурными белками вируса SARS-CoV-2 являются S (spike), E (envelope), M (membrane) и N (nucleocapsid). Иммунный ответ при инфицировании коронавирусом вырабатывается на все его

структурные антигены, но наиболее значимыми иммуногенами являются белки S и N.

Для запуска инфекционного процесса вирус SARS-CoV-2 должен проникнуть в клетку, что подразумевает этап слияния, опосредованный вирусным гликопротеином (S) [10]. Большинство геномных мутаций сосредоточены в S-белке, который обуславливает прикрепление и проникновение вируса в клетку за счет связывания с рецептором клетки-хозяина, человеческим ангиотензинпревращающим ферментом 2 (ACE2) [11]. Белок S состоит из двух субъединиц: аминоконцевой субъединицы S1 и субъединицы S2. В ходе инфекционного процесса вируснейтрализующие антитела вырабатываются преимущественно к субъединице S1, а именно к рецептор-связывающему домену (RBD), что делает его главной мишенью для создания вакцин и получения лекарственных препаратов на основе МКА [12].

Вируснейтрализующие антитела, направленные к RBD поверхностного гликопротеина S SARS-CoV-2 при взаимодействии с ним, блокируют способность вируса связываться с рецептором клеток человека ACE2 [10].

**Цель работы** – оценить способность мышиных МКА (мМКА) ингибировать взаимодействие RBD S-белка двух штаммов вируса SARS-CoV-2 (Wuhan-Hu-1 и BQ 1.1) с его целевым рецептором ACE2.

## Материалы и методы

**Используемые антигены.** Для иммунизации лабораторных животных использовали рекомбинантный антиген RBD варианта Wuhan-Hu-1, состоящий из домена RBD (аминокислоты T333-K528), слитого с кристаллизующимся фрагментом IgG человека (RBD-Fc) методом, описанным в предыдущем исследовании [13].

**Получение гибридом, синтезирующих мМКА.** Для получения МКА, специфичных к RBD-домену S-белка вируса SARS-CoV-2, мышей линии BALB/c иммунизировали двукратно рекомбинантным RBD, химеризованным с Fc-фрагментом человеческого иммуноглобулина IgG в дозе 100 мкг/мышь, эмульгированным с полным адъювантом Фрейнда и гидроксидом алюминия (Al(OH)<sub>3</sub>) [13]. На третьи сутки после последней иммунизации у гипериммунных мышей извлекали селезенки для выделения спленоцитов (1·10<sup>8</sup> клеток) и проводили гибридизацию с помощью системы для электрослияния клеток ВТХ

ЕСМ 2001 (Harvard Bioscience, США) с клетками-партнерами Sp2/0-Ag14 ( $1 \cdot 10^7$  клеток). Все стадии исследования соответствовали законодательству РФ, международным этическим нормам и нормативным документам учреждения, а также одобрены соответствующими комитетами. Параметры и методика для электрослияния описаны в нашей предыдущей работе [14]. После гибридизации проводили НАТ-селекцию под давлением, скрининг, клонирование и масштабирование гибридных клеток.

**Культивирование гибридом *in vivo* и очистка.** Мышам линии BALB/c, заранее обработанным пристаном (Sigma, США), внутривенно вводили гибридные клетки 5C3, 1E6 и 3F11 в пределах от  $5 \cdot 10^5$  до  $2 \cdot 10^6$  в среде RPMI без фетальной бычьей сыворотки (ФБС). Забор асцитической жидкости проводили на 10–21-е сутки. Выделение иммуноглобулиновой фракции из асцитической жидкости проводили посредством аффинной хроматографии на колонке с сорбентом Protein G Sepharose (GE Healthcare, Великобритания) с последующей доочисткой на колонке Superdex 200. Чистоту выделенных мМКА оценивали методом SDS-электрофореза по Лэммли с окраской геля Кумасси R-250 в 10 % полиакриламидном геле (ПААГ) в денатурирующих и неденатурирующих условиях.

**Определение специфической активности мМКА к RBD S-белка вируса SARS-CoV-2.** Оценку иммунологической специфичности очищенных мМКА 5C3, 1E6 и 3F11 проводили методом иммуноблота (вестерн-блоттинг) с рекомбинантным RBD. Рекомбинантные белки RBD подвергали электрофорезу в 12 % ПААГ, после чего осуществляли горизонтальный перенос из геля на нитроцеллюлозную мембрану Hybond-C Extra (GE Healthcare, Великобритания) с помощью оборудования Trans-Blot® Turbo™ Transfer System (Bio-Rad, США). После завершения переноса мембрану блокировали погружением в молоко с массовой долей жира не более 0,5 % и инкубировали в течение 1 ч на орбитальном термостатируемом шейкере при 300 об/мин и температуре 37 °C. Далее, после трехкратной промывки фосфатно-солевым буфером, содержащим 0,5 % Твин-20 (ФСБ-Т), мембраны инкубировали с мМКА 5C3, 1E6 и 3F11 в концентрации 10 мкг/мл в ФСБ, инкубацию проводили при тех же условиях. После трехкратной отмывки мембраны инкубировали с антителами к суммарной фракции IgG мыши, конъюгированными с пероксидазой хрена (A9044, Sigma, США) в разведении 1:10000 в буфере ФСБ-Т в течение 40 мин. Затем мембрану промывали 5 раз в ФСБ-Т. Визуализацию реакции проводили раствором субстратной смеси на основе диаминобензидина (0,05 % диаминобензидина [Sigma, США], 0,015 %  $H_2O_2$  в ФСБ, pH 7,4). Реакцию останавливали после отчетливо различимого окрашивания образцов путем погружения мембраны в дистиллированную воду.

**Определение классовой принадлежности мМКА.** Для определения классовой принадлежно-

сти мМКА 5C3, 1E6, 3F11 использовали иммунохроматографический экспресс-тест IsoQuick™ Strips for Mouse Monoclonal Isotyping (Envirologix, США). Готовили разведения каждого мМКА в концентрации 1 мкг/мл в 200 мкл буфера ФСБ и погружали тест-полоску до проявления контрольной полосы.

**Определение равновесной константы диссоциации мМКА с белком-мишенью RBD.** Величину равновесной константы диссоциации для мМКА 5C3, 1E6 и 3F11 определяли методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR) на приборе BIAcore X-100 (Biacore, Швеция). Анализ проводили на сенсорном чипе CM5 в буфере HBS-EP (10 mM Hepes, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA и 0,005 % поверхностно-активного вещества P20, pH 7,4). Антитела к гистидину конъюгировали с сенсорным чипом с использованием наборов His Capture Kit type 2 и Amine Coupling Kit (Cytiva, Швеция) в соответствии с инструкцией производителя.

Рекомбинантный RBD варианта Wuhan-Hu-1 (10 мкг/мл) наносили на чип со скоростью 30 мкл/мин в течение 3 мин. После 10-минутной стабилизации антитело (концентрации в диапазоне от 6,25 до 100 нМ) вводили в течение 3 мин при постоянной скорости потока 40 мкл/мин. Диссоциацию контролировали в течение 90 мин, после чего чип регенерировали 10 mM глицином, pH 1,7, в течение 30 с при скорости потока 50 мкл/мин. Сенсорограммы нормализовали путем вычитания базовых значений RU из эталонной проточной кюветы (без захвата мМКА) и анализировали путем подгонки данных к модели связывания Ленгмюра 1:1 с помощью программного обеспечения Biacore T200 Evaluation Software.

**Определение способности мМКА 5C3, 1E6, 3F11 ингибировать взаимодействие белка ACE-2 с белком RBD (Wuhan-Hu-1) и RBD (BQ 1.1).** Определение нейтрализующей активности мМКА 5C3, 1E6, 3F11 проверяли с помощью метода иммуноферментного анализа (ИФА). Для этого в лунки 96-луночного полистиролового планшета иммобилизовали рекомбинантный белок RBD (Wuhan-Hu 1) и RBD (BQ 1.1) в концентрации 1 мкг/мл. Затем в лунки планшета вносили мМКА 5C3, 1E6, 3F11 в концентрации от 10 до 0,78125 мкг/мл с двукратным серийным шагом разведения. Следующим этапом в лунки планшета вносили рекомбинантный белок человеческого ACE2, конъюгированный с пероксидазой хрена с использованием набора LYNX Rapid HRP Antibody Conjugation Kit (Bio-Rad). После каждого этапа внесения нового образца планшет инкубировали при температуре 37 °C в течение 1 ч и трижды отмывали ФСБ-Т. Проявку результатов осуществляли добавлением в лунки планшета по 100 мкл проявочного раствора на основе 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ). Реакцию останавливали добавлением в лунки по 50 мкл 4N серной кислоты. Детекцию проводили на планшетном спектрофотометре (Bio-Rad xMark, США) при длине волны 450 нм. В качестве контроля использовали лунки без

иммобилизации RBD, что равносильно случаю, когда он полностью заблокирован антителами. За 100%-ю нейтрализующую активность считали среднее значение оптической плотности фона (контрольные лунки без иммобилизации RBD, что равносильно случаю, когда он полностью заблокирован антителами), а за отсутствие нейтрализующей активности (0 %) принимали среднее значение оптической плотности контрольных лунок, где ACE2-HRP взаимодействует с RBD без внесения антител. По контрольным значениям получали линейную функцию, с помощью которой значения оптической плотности в опытных лунках с различным количеством антитела переводили в процентное значение нейтрализующей активности.

### Результаты и обсуждение

#### Получение и очистка мМКА 5C3, 1E6, 3F11.

Большинство МКА, способных нейтрализовать вирус SARS-CoV-2, специфичны к RBD S-белка [15]. В нашей предыдущей работе в результате гибридизации методом электроосаждения получено 17 гибридных клонов, продуцирующих мМКА к RBD S-белка SARS-CoV-2. Из них наибольшей стабильностью, пролиферативной и антителопродуцирующей активностью *in vitro* обладали три гибридомы: 5C3, 1E6 и 3F11 [13]. С целью получения достаточного количества МКА гибридомы 5C3, 1E6 и 3F11 культивировали *in vivo* в организме мышей. После формирования асцита мышей декапитировали, забирали асцитную жидкость, содержащую моноклональные антитела.

Чистоту полученной иммуноглобулиновой фракции методом аффинной хроматографии с последующей доочисткой методом гель-фильтрации проверяли с помощью SDS-электрофореза по Лэммли в 10 % ПААГ в денатурирующих и неденатурирующих условиях (рис. 1).

**Определение иммунологической специфичности мМКА 5C3, 1E6, 3F11 к RBD S-белка вируса SARS-CoV-2 (Wuhan-Hu-1).** Специфичность мМКА 5C3, 1E6, 3F11 в отношении рекомбинантного белка RBD варианта Wuhan-Hu-1 доказали методом иммуноблоттинга. Показано, что мМКА 5C3, 1E6, 3F11 обладали высокой специфичностью в отношении

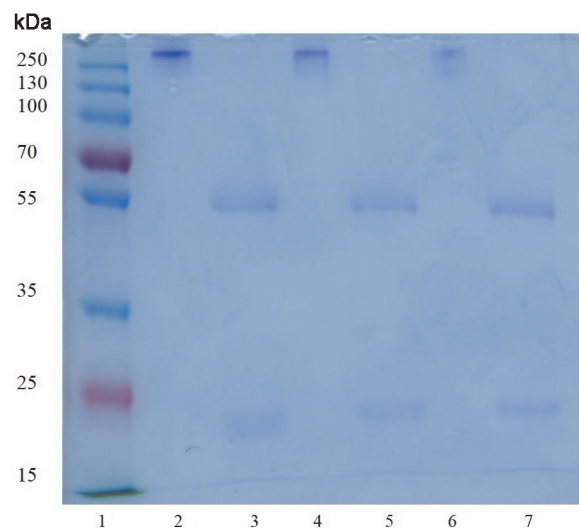


Рис. 1. Электрофореграмма очищенных мМКА 5C3, 1E6, 3F11 в 10 % ПААГ:

1 – маркеры молекулярных масс PageRuler Plus Prestained Protein Ladder (Thermo Fisher Scientific, США); 2 – образец МКА 5C3 в неденатурирующих условиях; 3 – образец МКА 5C3 в денатурирующих условиях; 4 – образец мМКА 1E6 в неденатурирующих условиях; 5 – образец мМКА 1E6 в денатурирующих условиях; 6 – образец мМКА 3F11 в неденатурирующих условиях; 7 – образец мМКА 3F11 в денатурирующих условиях

Fig. 1. Electrophoregram of purified mMCA 5C3, 1E6, 3F11 in 10 % polyacrylamide gel:

1 – PageRuler Plus Prestained Protein Ladder molecular mass markers (Thermo Fisher Scientific, USA); 2 – mMCA 5C3 sample under non-denaturing conditions; 3 – mMCA 5C3 sample under denaturing conditions; 4 – mMCA 1E6 sample under non-denaturing conditions; 5 – mMCA 1E6 sample under denaturing conditions; 6 – mMCA 3F11 sample under non-denaturing conditions; 7 – mMCA 3F11 sample under denaturing conditions

рекомбинантного белка RBD варианта Wuhan-Hu-1 (рис. 2).

#### Определение подклассовой специфичности.

Результаты иммунохроматографического теста показали, что исследуемые мМКА 5C3, 1E6, 3F11 относятся к изотипу G1 иммуноглобулинов класса G и содержат к-цепь (рис. 3).

**Определение равновесной константы диссоциации мМКА 5C3, 1E6, 3F11 с RBD SARS-CoV-2 (Wuhan-Hu-1).** Аффинное взаимодействие мМКА 5C3, 1E6, 3F11 с рекомбинантным белком RBD-His определяли с помощью метода поверхностного плазмонного резонанса (SPR) на приборе Biacore X100 (GE Healthcare, США). Величина равновесной константы диссоциации (KD) для мМКА 5C3, 1E6,

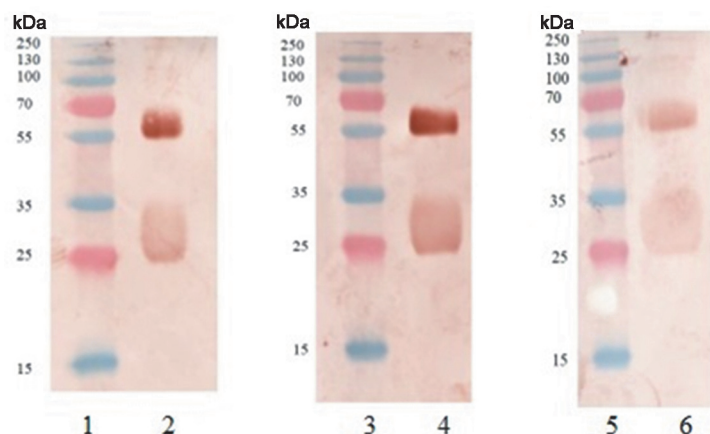


Рис. 2. Определение иммунологической специфичности мМКА 5C3, 1E6, 3F11 с белком мишенью RBD:

1, 3, 5 – маркеры молекулярных масс PageRuler Plus Prestained Protein Ladder (Thermo Fisher Scientific, США); 2 – рекомбинантный RBD, детектированный мМКА 5C3; 4 – рекомбинантный RBD, детектированный мМКА 1E6; 6 – рекомбинантный RBD, детектированный мМКА 3F11

Fig. 2. Determination of immunologic specificity of mMCA 5C3, 1E6, 3F11 with RBD target protein:

1, 3, 5 – PageRuler Plus Prestained Protein Ladder molecular mass markers (Thermo Fisher Scientific, USA); 2 – recombinant RBD detected by mMCA 5C3; 4 – recombinant RBD detected by mMCA 1E6; 6 – recombinant RBD detected by mMCA 3F11



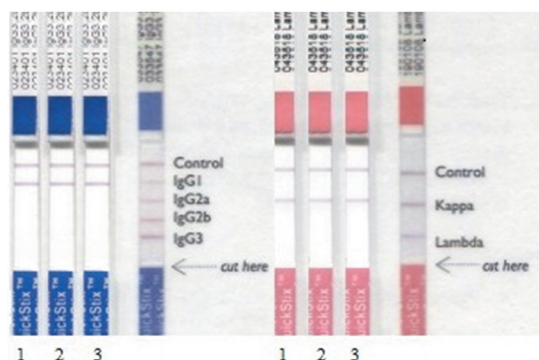


Рис. 3. Классовая специфичность мМКА:  
1 – мМКА 5C3; 2 – мМКА 1E6; 3 – мМКА 3F11

Fig. 3. Class specificity of mMCA:  
1 – mMCA 5C3; 2 – mMCA 1E6; 3 – mMCA 3F11

3F11 составила соответственно:  $KD=1,414 \cdot 10^{-7}$  М;  $KD=1,798 \cdot 10^{-7}$  М и  $KD=2,991 \cdot 10^{-7}$  М.

**Определение способности мМКА 5C3, 1E6, 3F11 ингибировать взаимодействие между ACE2 и RBD SARS-CoV-2 (варианты Wuhan-Hu-1 и омикрон подлинции BQ.1.1).** SARS-CoV-2 использует трансмембранный S-гликопротеин для прикрепления и проникновения в клетки-мишени путем связывания с рецептором ACE2. Роль RBD в S-белке предполагает, что иммунизация этим доменом может индуцировать антитела, способные блокировать сайт связывания рецептора, расположенного между RBD и ACE2, таким образом нейтрализуя развитие вирусной инфекции [16].

В данном исследовании с помощью метода ИФА мы определили способность полученных мМКА 5C3, 1E6, 3F11 оказывать ингибирующую активность в отношении рекомбинантного белка RBD штамма Wuhan-Hu-1 и штамма омикрон подлинции BQ.1.1. На первом этапе RBD-нейтрализующие антитела взаимодействуют с RBD, сорбированным на поверхности лунок полистиролового планшета. На втором этапе происходит взаимодействие RBD с рекомбинантным человеческим рецептором ACE2. В случае инфекции SARS-CoV-2 RBD-ACE2-нейтрализующая активность сывороток практически эквивалентна вируснейтрализующей активности их антител, поэтому данный метод может использоваться для оценки нейтрализующей активности антител к SARS-CoV-2.

Исследование нейтрализующей активности мМКА, взятых в максимальной концентрации (100 мкг/мл), показало, что мМКА 5C3 ингибировало взаимодействие ACE-2 и RBD штамма Wuhan-Hu-1 на 91 %; мМКА 1E6 – на 71 %; а мМКА 3F11 – на 48 %.

Снижение концентрации мМКА 5C3, 1E6, 3F11 до 12,5 мкг/мл снижало и их нейтрализующую активность, которая составила 61, 30, 10 % соответственно. В минимальной концентрации 0,7 мкг/мл мМКА 5C3, 1E6, 3F11 нейтрализующая активность практически не выявлялась (рис. 4).

Поскольку S-белок SARS-CoV-2 является ключевым для вирусной инфекции, его рецептор-связывающий домен стал основной мишенью для разработки терапевтических антител. Различные исследователи сообщают о большом количестве новых МКА, специфичных к белку S SARS-CoV-2, многие из которых связываются с RBD [6, 10]. В настоящее время в США и Европейском союзе одобрено минимум 14 таких препаратов и еще 27 находятся на разных стадиях клинических исследований [17]. За последние годы разработаны антитела, нейтрализующие SARS-CoV-2, для профилактического или терапевтического использования. Несколько мощных антител к SARS-CoV-2 показали определенную степень успеха в доклинических или клинических испытаниях, а Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) выдало разрешение на экстренное использование двух коктейлей нейтрализующих антител [18].

По причине возникающих мутаций в области RBD S-белка и появления новых штаммов SARS-CoV-2 многие сильнодействующие нейтрализующие МКА, включая все существующие в настоящее время коммерческие терапевтические МКА, оказались полностью или в значительной степени неэффективными. В экспериментах *in vitro* с использованием псевдовирусной системы и живых вирусов человеческие МКА, ранее разрешенные FDA: казирививамаб и имдевимаб (REGN10933 и REGN10987, Regeneron, США), бамланивимаб и этесевимаб (LY-CoV555 и LY-CoV016, Eli Lilly, США), вводимые в виде коктейля, а также регданвивамаб (CT-P59, Celltrion, Южная Корея), – показали полную потерю нейтрализующей активности препаратов против варианта омикрон, и их использование было ограничено [19].

До недавнего времени сообщалось лишь о нескольких широко нейтрализующих антителах против варианта омикрон, включая LY-CoV1404 (бебтеловимаб), S2K146 и 87G7 [20]. Бибеловимаб также больше не разрешен FDA к применению в США из-

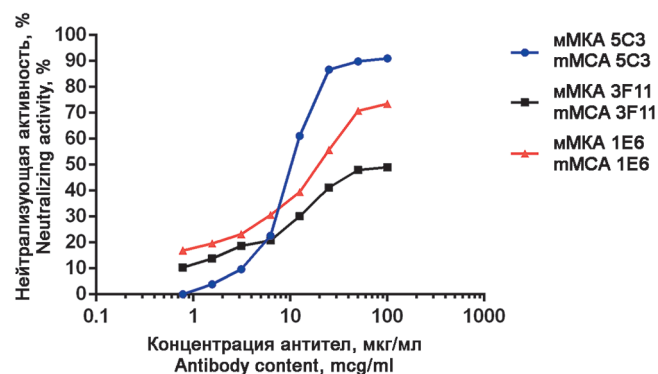


Рис. 4. Результаты определения ингибирующей активности мМКА 5C3, 1E6, 3F11 с рекомбинантными белками ACE2 и RBD (Wuhan-Hu-1)

Fig. 4. Results of determining the inhibitory activity of mMCA 5C3, 1E6, 3F11 with recombinant ACE2 and RBD proteins (Wuhan-Hu-1)

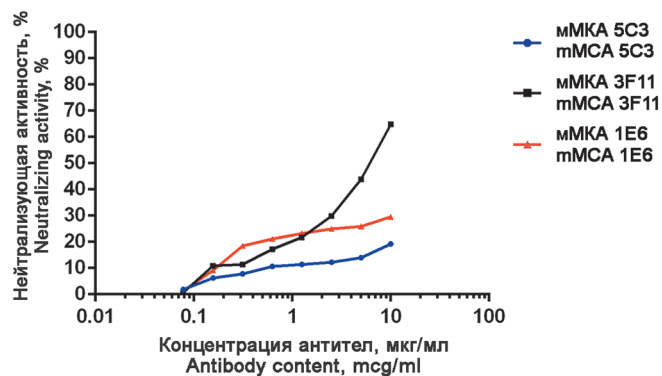


Рис. 5. Результаты определения ингибирующей активности мМКА 5C3, 1E6, 3F11 с рекомбинантными белками ACE2 и RBD (BQ 1.1)

Fig. 5. Results of determining the inhibitory activity of mMCA 5C3, 1E6, 3F11 with recombinant ACE2 and RBD proteins (BQ 1.1)

за отсутствия активности в отношении циркулирующих вариантов.

Существует острая необходимость в разработке антител, нейтрализующих SARS-CoV-2, которые эффективны против нынешних и будущих вариантов.

В связи с этим полученные нами мМКА далее протестированы на способность нейтрализовать взаимодействие ACE-2 и рекомбинантного RBD штамма омикрон подлинии BQ 1.1. Нейтрализующая активность мМКА 5C3 и мМКА 1E6 в максимальной концентрации 10 мкг/мл составила 19 и 27 % соответственно, мМКА 3F11 – 65 % (рис. 5).

Как показали результаты исследований, в экспериментах *in vitro* высокой нейтрализующей активностью в способности ингибировать взаимодействие белка ACE2 с белком RBD Wuhan-Hu-1 обладало мМКА 5C3, а наиболее эффективное ингибирование взаимодействия ACE2 и RBD штамма BQ 1.1 наблюдалось у мМКА 3F11.

Следовательно, полученные в данном исследовании мМКА представляют собой потенциальные кандидаты для создания терапевтических препаратов для борьбы с COVID-19. Поскольку применение мМКА в терапии ограничено их высокой иммуногенностью для человека, то с целью получения терапевтического МКА гибрида, синтезирующая мМКА, может быть использована для конструирования химерного или гуманизированного МКА.

Таким образом, полученные в работе мМКА могут потенциально представлять собой важные дополнительные инструменты для терапии COVID-19, а также способствовать пониманию функциональной структуры RBD SARS-CoV-2.

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

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания НИОКР 3.1.3.

**Биоэтика.** Все стадии исследования соответствовали законодательству Российской Федерации, международным этическим нормам и нормативным

документам учреждения, а также одобрены соответствующими комитетами.

## Список литературы

1. Тришкин Д.В., Крюков Е.В., Салухов В.В., Котив Б.Н., Садовников П.С., Андрейчук Ю.В., Чугунов А.А. Особенности формирования и продолжительность сохранения нейтрализующих антител к S-белку SARS-CoV-2 у лиц, перенесших новую коронавирусную инфекцию (COVID-19) легкого или бессимптомного течения. *Вестник РАМН*. 2021; 76(4):361–7. DOI: 10.15690/vgramn1582.
2. Балахонов С.В., Дубровина В.И., Чеснокова М.В., Войткова В.В., Пятидесятникова А.Б., Брюхова Д.Д., Киселева Н.О., Корытов К.М., Кузнецова Т.Г., Маркевич Ж.В. Изучение гуморального иммунного ответа при легкой и бессимптомной формах проявления COVID-19. *Acta Biomedica Scientifica*. 2020; 5(5):26–30. DOI: 10.29413/ABS.2020-5.5.3.
3. Zhou Y., Zhi H., Teng Y. The outbreak of SARS-CoV-2 Omicron lineages, immune escape, and vaccine effectiveness. *J. Med. Virol.* 2023; 95(1):e28138. DOI: 10.1002/jmv.28138.
4. Faria N.R., Mellan T.A., Whittaker C., Claro I.M., Candido D.D.S., Mishra S., Crispin M.A.E., Sales F.C.S., Hawrylyuk I., McCrone J.T., Hulsmit R.J.G., Franco L.A.M., Ramundo M.S., de Jesus J.G., Andrade P.S., Coletti T.M., Ferreira G.M., Silva C.A.M., Manuli E.R., Pereira R.H.M., Peixoto P.S., Kraemer M.U.G., Gaburo N. Jr, Camilo C.D.C., Hoeltgebaum H., Souza W.M., Rocha E.C., de Souza L.M., de Pinho M.C., Araujo L.J.T., Malta F.S.V., de Lima A.B., Silva J.D.P., Zauli D.A.G., Ferreira A.C.S., Schnekenberg R.P., Laydon D.J., Walker P.G.T., Schlüter H.M., Dos Santos A.L.P., Vidal M.S., Del Caro V.S., Filho R.M.F., Dos Santos H.M., Aguiar R.S., Proença-Modena J.L., Nelson B., Hay J.A., Monod M., Miscouridou X., Coupland H., Sonabend R., Vollmer M., Gandy A., Prete C.A. Jr, Nascimento V.H., Suchard M.A., Bowden T.A., Pond S.L.K., Wu C.H., Ratmann O., Ferguson N.M., Dye C., Loman N.J., Lemey P., Rambaut A., Fraiji N.A., Carvalho M.D.P.S.S., Pybus O.G., Flaxman S., Bhatt S., Sabino E.C. Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. *Science*. 2021; 372(6544):815–21. DOI: 10.1126/science.abb2644.
5. Singh J., Rahman S.A., Ehtesham N.Z., Hira S., Hasnain S.E. SARS-CoV-2 variants of concern are emerging in India. *Nat. Med.* 2021; 27(7):1131–3. DOI: 10.1038/s41591-021-01397-4.
6. Hwang Y.C., Lu R.M., Su S.C., Chiang P.Y., Ko S.H., Ke F.Y., Liang K.H., Hsieh T.Y., Wu H.C. Monoclonal antibodies for COVID-19 therapy and SARS-CoV-2 detection. *J. Biomed. Sci.* 2022; 29(1):1. DOI: 10.1186/s12929-021-00784-w.
7. Kumar S., Chande A., Sharma A. Current status of therapeutic monoclonal antibodies against SARS-CoV-2. *PLoS Pathog.* 2021; 17(9):e1009885. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009885.
8. Kim C., Ryu D.K., Lee J., Kim Y.I., Seo J.M., Kim Y.G., Jeong J.H., Kim M., Kim J.I., Kim P., Bae J.S., Shim E.Y., Lee M.S., Kim M.S., Noh H., Park G.S., Park J.S., Son D., An Y., Lee J.N., Kwon K.S., Lee J.Y., Lee H., Yang J.S., Kim K.C., Kim S.S., Woo H.M., Kim J.W., Park M.S., Yu K.M., Kim S.M., Kim E.H., Park S.J., Jeong S.T., Yu C.H., Song Y., Gu S.H., Oh H., Koo B.S., Hong J.J., Ryu C.M., Park W.B., Oh M.D., Choi Y.K., Lee S.Y. A therapeutic neutralizing antibody targeting receptor binding domain of SARS-CoV-2 spike protein. *Nat. Commun.* 2021; 12(1):288. DOI: 10.1038/s41467-020-20602-5.
9. Баклаушев В.П., Самойлова Е.М., Кузнецова С.М., Ермолаева Е.В., Юсубалиева Г.М., Кальсин В.А., Троицкий А.В. Технологии создания вируснейтрализующих антител человека на примере SARS-CoV-2. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2022; 24(4):5–13. DOI: 10.47183/mes.2022.049.
10. Taylor P.C., Adams A.C., Hufford M.M., de la Torre I., Winthrop K., Gottlieb R.L. Neutralizing monoclonal antibodies for treatment of COVID-19. *Nat. Rev. Immunol.* 2021; 21(6):382–93. DOI: 10.1038/s41577-021-00542-x.
11. Huang Y., Yang C., Xu X.F., Xu W., Liu S.W. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. *Acta Pharmacol. Sin.* 2020; 41(9):1141–9. DOI: 10.1038/s41401-020-0485-4.
12. Liu L. Pharmacokinetics of monoclonal antibodies and Fc-fusion proteins. *Protein Cell*. 2018; 9(1):15–32. DOI: 10.1007/s13238-017-0408-4.
13. Иващенко Т.А., Романенко Я.О., Марьин М.А., Карцева А.С., Силкина М.В., Зенинская Н.А., Шемякин И.Г., Фирстова В.В. Оценка эффективности различных адъювантов при получении мышиных моноклональных антител к рецептор-связывающему домену S-белка SARS-CoV-2. *Иммунология*. 2023; 44(4):481–90. DOI: 10.33029/1816-2134-2023-44-4-481-490.
14. Силкина М.В., Карцева А.С., Рябко А.К., Марьин М.А., Романенко Я.О., Калмантаева О.В., Хлынцева А.Е., Шемякин И.Г., Дятлов И.А., Фирстова В.В. Оптимизация условий электролинии для получения гибридом, синтезирующих человеческие



моноклональные антитела. *Биотехнология*. 2021; 37(2):65–75. DOI: 10.21519/0234-2758-2021-37-2-65-75.

15. Кукулина Г.В., Ипатов С.С., Горшков А.С., Печенкин Д.В., Еремкин А.В., Кузнецовский А.В., Туманов А.С., Дармов И.В. Получение и характеристика гибридом-продуцентов моноклональных антител к антигенам коронавируса SARS-CoV-2. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:105–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-105-110.

16. Mariotti S., Capocello A., Chiantore M.V., Iacobino A., Teloni R., De Angelis M.L., Gallinaro A., Pirillo M.F., Borghi M., Canitano A., Michelini Z., Baggieri M., Marchi A., Bucci P., McKay P.F., Accchioni C., Sandini S., Sgarbanti M., Tosini F., Di Virgilio A., Venturi G., Marino F., Esposito V., Di Bonito P., Magurano F., Cara A., Negri D., Nisini R. Isolation and characterization of mouse monoclonal antibodies that neutralize SARS-CoV-2 and its variants of concern Alpha, Beta, Gamma and Delta by binding conformational epitopes of glycosylated RBD with high potency. *Front. Immunol.* 2021; 12:750386. DOI: 10.3389/fimmu.2021.750386.

17. Володина Е.В., Фролова Н.Ф., Лысенко М.А., Ким И.Г., Ушакова А.И., Виноградов В.Е., Усатюк С.С., Никитина А.М., Маркина У.А., Червинко В.И., Крюков Е.В., Зубкин М.Л. Применение нейтрализующих моноклональных антител при SARS-CoV-2-инфекции у больных, получающих лечение гемодиализом. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2022; 11(4):38–46. DOI: 10.33029/2305-3496-2022-11-4-38-46.

18. Li D., Sempowski G.D., Saunders K.O., Acharya P., Haynes B.F. SARS-CoV-2 neutralizing antibodies for COVID-19 prevention and treatment. *Annu. Rev. Med.* 2022; 73:1–16. DOI: 10.1146/annurev-med-042420-113838.

19. Zhou D., Ren J., Fry E.E., Stuart D.I. Broadly neutralizing antibodies against COVID-19. *Curr. Opin. Virol.* 2023; 61:101332. DOI: 10.1016/j.coviro.2023.101332.

20. Meng L., Zha J., Zhou B., Cao L., Jiang C., Zhu Y., Li T., Lu L., Zhang J., Yang H., Feng J., Gu Z., Tang H., Jiang L., Li D., Lavillette D., Zhang X. A Spike-destructing human antibody effectively neutralizes Omicron-included SARS-CoV-2 variants with therapeutic efficacy. *PLoS Pathog.* 2023; 19(1):e1011085. DOI: 10.1371/journal.ppat.1011085.

## References

1. Trishkin D.V., Kryukov E.V., Salukhov V.V., Kotiv B.N., Sadovnikov P.S., Andreychuk Yu.V., Chugunov A.A. [A prospective multicenter randomized study: state of humoral immunity after a new coronavirus infection (COVID-19) of a mild or asymptomatic course]. *Vestnik Rossijskoj Akademii Meditsinskih Nauk [Annals of the Russian Academy of Medical Sciences]*. 2021; 76(4):361–7. DOI: 10.15690/vramn1582.

2. Balakhonov S.V., Dubrovina V.I., Chesnokova M.V., Voitkova V.V., Pyatidesyatnikova A.B., Bryukhova D.D., Kiseleva N.O., Korytov K.M., Kuznetsova T.G., Markevich Zh.V. [Studying humoral immune response at mild and asymptomatic COVID-19 forms]. *Acta Biomedica Scientifica*. 2020; 5(5):26–30. DOI: 10.29413/ABS.2020-5.5.3.

3. Zhou Y., Zhi H., Teng Y. The outbreak of SARS-CoV-2 Omicron lineages, immune escape, and vaccine effectiveness. *J. Med. Virol.* 2023; 95(1):e28138. DOI: 10.1002/jmv.28138.

4. Faria N.R., Mellan T.A., Whittaker C., Claro I.M., Candido D.D.S., Mishra S., Crispin M.A.E., Sales F.C.S., Hawryluk I., McCrone J.T., Hulswit R.J.G., Franco L.A.M., Ramundo M.S., de Jesus J.G., Andrade P.S., Coletti T.M., Ferreira G.M., Silva C.A.M., Manuli E.R., Pereira R.H.M., Peixoto P.S., Kraemer M.U.G., Gaburo N. Jr, Camilo C.D.C., Hoeltgebaum H., Souza W.M., Rocha E.C., de Souza L.M., de Pinho M.C., Araujo L.J.T., Malta F.S.V., de Lima A.B., Silva J.D.P., Zauli D.A.G., Ferreira A.C.S., Schnekenberg R.P., Laydon D.J., Walker P.G.T., Schlüter H.M., Dos Santos A.L.P., Vidal M.S., Del Caro V.S., Filho R.M.F., Dos Santos H.M., Aguiar R.S., Proença-Modena J.L., Nelson B., Hay J.A., Monod M., Miskouridou X., Coupland H., Sonabend R., Vollmer M., Gandy A., Prete C.A. Jr, Nascimento V.H., Suchard M.A., Bowden T.A., Pond S.L.K., Wu C.H., Ratmann O., Ferguson N.M., Dye C., Loman N.J., Lemey P., Rambaut A., Fraiji N.A., Carvalho M.D.P.S.S., Pybus O.G., Flaxman S., Bhatt S., Sabino E.C. Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. *Science*. 2021; 372(6544):815–21. DOI: 10.1126/science.abb2644.

5. Singh J., Rahman S.A., Ehtesham N.Z., Hira S., Hasnain S.E. SARS-CoV-2 variants of concern are emerging in India. *Nat. Med.* 2021; 27(7):1131–3. DOI: 10.1038/s41591-021-01397-4.

6. Hwang Y.C., Lu R.M., Su S.C., Chiang P.Y., Ko S.H., Ke F.Y., Liang K.H., Hsieh T.Y., Wu H.C. Monoclonal antibodies for COVID-19 therapy and SARS-CoV-2 detection. *J. Biomed. Sci.* 2022; 29(1):1. DOI: 10.1186/s12929-021-00784-w.

7. Kumar S., Chande A., Sharma A. Current status of therapeutic monoclonal antibodies against SARS-CoV-2. *PLoS Pathog.* 2021; 17(9):e1009885. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009885.

8. Kim C., Ryu D.K., Lee J., Kim Y.I., Seo J.M., Kim Y.G., Jeong J.H., Kim M., Kim J.I., Kim P., Bae J.S., Shim E.Y., Lee M.S.,

Kim M.S., Noh H., Park G.S., Park J.S., Son D., An Y., Lee J.N., Kwon K.S., Lee J.Y., Lee H., Yang J.S., Kim K.C., Kim S.S., Woo H.M., Kim J.W., Park M.S., Yu K.M., Kim S.M., Kim E.H., Park S.J., Jeong S.T., Yu C.H., Song Y., Gu S.H., Oh H., Koo B.S., Hong J.J., Ryu C.M., Park W.B., Oh M.D., Choi Y.K., Lee S.Y. A therapeutic neutralizing antibody targeting receptor binding domain of SARS-CoV-2 spike protein. *Nat. Commun.* 2021; 12(1):288. DOI: 10.1038/s41467-020-20602-5.

9. Baklaushev V.P., Samoilova E.M., Kuznetsova S.M., Ermolaeva E.V., Yusubalieva G.M., Kalsin V.A., Lipatova A.V., Troitsky A.V. [Neutralizing antibody creation technologies: case of SARS-CoV-2]. *Meditsina Ekstremal'nykh Situatsij [Extreme Medicine]*. 2022; 24(4):5–13. DOI: 10.47183/mes.2022.049.

10. Taylor P.C., Adams A.C., Hufford M.M., de la Torre I., Winthrop K., Gottlieb R.L. Neutralizing monoclonal antibodies for treatment of COVID-19. *Nat. Rev. Immunol.* 2021; 21(6):382–93. DOI: 10.1038/s41577-021-00542-x.

11. Huang Y., Yang C., Xu X.F., Xu W., Liu S.W. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. *Acta Pharmacol. Sin.* 2020; 41(9):1141–9. DOI: 10.1038/s41401-020-0485-4.

12. Liu L. Pharmacokinetics of monoclonal antibodies and Fc-fusion proteins. *Protein Cell*. 2018; 9(1):15–32. DOI: 10.1007/s13238-017-0408-4.

13. Ivashchenko T.A., Romanenko Ya.O., Marin M.A., Kartseva A.S., Silkina M.V., Zeninskaya N.A., Shemyakin I.G., Firstova V.V. [Evaluation of the efficacy of different adjuvants in producing murine monoclonal antibodies to the receptor-binding domain of the S-protein of SARS-CoV-2]. *Immunologiya [Immunology]*. 2023; 44(4):481–90. DOI: 10.33029/1816-2134-2023-44-4-481-90.

14. Silkina M.V., Kartseva A.S., Ryabko A.K., Mar'in M.A., Romanenko Ya.O., Kalmantaeva O.V., Khlyntseva A.E., Shemyakin I.G., Dyatlov I.A., Firstova V.V. [Optimization of electrofusion conditions for obtaining hybridomas synthesizing human monoclonal antibodies]. *Biotechnologiya [Biotechnology]*. 2021; 37(2):65–75. DOI: 10.21519/0234-2758-2021-37-2-65-75.

15. Kuklina G.V., Ipatov S.S., Gorshkov A.S., Pechenkin D.V., Eremkin A.V., Kuznetsovsky A.V., Tumanov A.S., Darmov I.V. [Obtaining and characterization of hybridomas producing monoclonal antibodies against coronavirus SARS-CoV-2]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (1):105–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-105-110.

16. Mariotti S., Capocello A., Chiantore M.V., Iacobino A., Teloni R., De Angelis M.L., Gallinaro A., Pirillo M.F., Borghi M., Canitano A., Michelini Z., Baggieri M., Marchi A., Bucci P., McKay P.F., Accchioni C., Sandini S., Sgarbanti M., Tosini F., Di Virgilio A., Venturi G., Marino F., Esposito V., Di Bonito P., Magurano F., Cara A., Negri D., Nisini R. Isolation and characterization of mouse monoclonal antibodies that neutralize SARS-CoV-2 and its variants of concern Alpha, Beta, Gamma and Delta by binding conformational epitopes of glycosylated RBD with high potency. *Front. Immunol.* 2021; 12:750386. DOI: 10.3389/fimmu.2021.750386.

17. Volodina E.V., Frolova N.F., Lysenko M.A., Kim I.G., Ushakova A.I., Vinogradov V.E., Usatiuk S.S., Nikitina A.M., Markina U.A., Chervinko V.I., Kryukov E.V., Zhubin M.L. [The use of neutralizing monoclonal antibodies against SARS-CoV-2 in hemodialysis patient]. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]*. 2022; 11(4):38–46. DOI: 10.33029/2305-3496-2022-11-4-38-46.

18. Li D., Sempowski G.D., Saunders K.O., Acharya P., Haynes B.F. SARS-CoV-2 neutralizing antibodies for COVID-19 prevention and treatment. *Annu. Rev. Med.* 2022; 73:1–16. DOI: 10.1146/annurev-med-042420-113838.

19. Zhou D., Ren J., Fry E.E., Stuart D.I. Broadly neutralizing antibodies against COVID-19. *Curr. Opin. Virol.* 2023; 61:101332. DOI: 10.1016/j.coviro.2023.101332.

20. Meng L., Zha J., Zhou B., Cao L., Jiang C., Zhu Y., Li T., Lu L., Zhang J., Yang H., Feng J., Gu Z., Tang H., Jiang L., Li D., Lavillette D., Zhang X. A Spike-destructing human antibody effectively neutralizes Omicron-included SARS-CoV-2 variants with therapeutic efficacy. *PLoS Pathog.* 2023; 19(1):e1011085. DOI: 10.1371/journal.ppat.1011085.

## Authors:

Ivashchenko T.A., Romanenko Ya.O., Kartseva A.S., Silkina M.V., Mar'in M.A., Khlyntseva A.E., Zeninskaya N.A., Shemyakin I.G., Firstova V.V. State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, urban district Serpukhov, Moscow Region, 142279, Russian Federation. E-mail: info@obvolensk.org.

## Об авторах:

Иващенко Т.А., Романенко Я.О., Карцева А.С., Силкина М.В., Марын М.А., Хлынцева А.Е., Зенинская Н.А., Шемьякин И.Г., Фирстова В.В. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. Российская Федерация, 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, п. Оболенск. E-mail: info@obvolensk.org.



DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-118-125

УДК 616.98:579.842.23

О.М. Кудрявцева, А.Ю. Гончарова, В.А. Кожевников, С.А. Бугоркова

**Комплексный подход к оценке и прогнозированию иммунного ответа на вакцинацию у привитых против чумы людей***ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация*

Обеспечение превентивной цели противочумной вакцинации и рациональное применение средств иммунопрофилактики подразумевают адекватную и своевременную оценку их эффективности. При отсутствии массовых случаев заболевания чумой невозможно объективно оценить фактическую (эпидемиологическую) эффективность средств и методов противочумной вакцинации, поэтому анализ эффективности сдвигается в сторону изучения индивидуальных показателей иммунного ответа на введение вакцины, а иммунологическая эффективность вакцинации становится ключевым фактором, обеспечивающим в конечном итоге ее эпидемиологический эффект. **Цель** работы – в рамках комплексного анализа определить направленность индивидуального иммунного ответа и охарактеризовать групповую иммунореактивность прививаемых против чумы лиц для формирования методологии индивидуальной и групповой коррекции схемы противочумной вакцинации. **Материалы и методы.** В работе использовали массив информационных данных, полученный в ходе мониторинга поствакцинального иммунитета у лиц, иммунизированных вакциной чумной живой (ВЧЖ), и представленный в виде базы данных. Для анализа заболеваний в поствакцинальном периоде среди прививаемого контингента проведено пятилетнее когортное ретроспективное исследование для определения частоты развития острых и обострения хронических болезней у вакцинированных и не вакцинированных против чумы людей. **Результаты и обсуждение.** Осуществлено ранжирование вакцинированных против чумы лиц по уровню их иммунореактивности. Выявлена направленность индивидуального иммунного ответа и охарактеризована групповая иммунореактивность прививаемых лиц. Определена возможность прогнозирования интенсивности иммунного ответа на вакцинацию. Проведена оценка частоты побочных проявлений после иммунизации (ПППИ) у ежегодно вакцинируемых против чумы лиц. В результате распределения вакцинированных лиц по уровню иммунореактивности и с учетом ПППИ определена возможность прогнозирования индивидуальной и групповой иммунореактивности прививаемых лиц для обоснования своевременной коррекции схемы применения ВЧЖ.

**Ключевые слова:** противочумный иммунитет, прогнозирование иммунного ответа, персонифицированный подход к вакцинации.

*Корреспондирующий автор:* Кудрявцева Ольга Михайловна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

*Для цитирования:* Кудрявцева О.М., Гончарова А.Ю., Кожевников В.А., Бугоркова С.А. Комплексный подход к оценке и прогнозированию иммунного ответа на вакцинацию у привитых против чумы людей. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2024; 3:118–125. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-118-125  
Поступила 11.06.2024. Принята к публ. 24.06.2024.

О.М. Kudryavtseva, A.Yu. Goncharova, V.A. Kozhevnikov, S.A. Bugorkova

**Multifaceted Approach to Assessing and Forecasting the Immune Response to Vaccination in Population Immunized against Plague***Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation*

**Abstract.** Ensuring the preventive anti-plague vaccination and the rational use of immunoprophylaxis means entail an adequate and timely assessment of their effectiveness. In the absence of mass cases of plague, it is impossible to objectively assess the actual (epidemiological) effectiveness of anti-plague vaccination means and methods, therefore, the analysis of efficacy shifts towards studying individual indicators of the immune response to the introduction of a vaccine, and the immunological efficacy of vaccination becomes a key factor that ultimately ensures its epidemiological effect. **The aim** of the work – as part of a comprehensive evaluation – was to determine the nature of individual immune response and characterize the group immune responsiveness of persons vaccinated against plague in order to build up a methodology for individual and group adjustment of the anti-plague vaccination regimen. **Materials and methods.** We used an array of information data obtained during monitoring of post-vaccination immunity in individuals immunized with live plague vaccine (LPV), presented in the form of a database. To analyze diseases in the post-vaccination period among the vaccinated population, a five-year retrospective cohort study was conducted to determine the incidence of acute and exacerbation of chronic diseases in people vaccinated and not vaccinated against plague. **Results and discussion.** Persons vaccinated against plague were ranked according to the level of immune responsiveness. The nature of individual immune response was revealed and the group immunoreactivity of vaccinated individuals was characterized. The possibility of predicting the intensity of the immune response to vaccination has been determined. The frequency of adverse events following immunization (AEFI) in individuals annually vaccinated against plague has been assessed. As a result of the distribution of vaccinated individuals according to the level of immune responsiveness and taking into account AEFI, the possibility of forecasting the individual and group immunoreactivity of vaccinated individuals has been determined to justify timely correction of the LPV administration regimen.

**Key words:** immunity to plague, immune response prediction, personalized approach to vaccination.

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

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

*Acknowledgements:* The team of authors expresses gratitude for the assistance in assessing the frequency of AEFI to the head and staff of the medical aid unit of the Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of the Rospotrebnadzor.

*Corresponding author:* Olga M. Kudryavtseva, e-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru).

*Citation:* Kudryavtseva O.M., Goncharova A.Yu., Kozhevnikov V.A., Bugorkova S.A. Multifaceted Approach to Assessing and Forecasting the Immune Response to Vaccination in Population Immunized against Plague. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 3:118–125. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-118-125

*Received* 11.06.2024. *Accepted* 24.06.2024.

Kudryavtseva O.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9894-3394>  
Goncharova A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9994-7936>

Kozhevnikov V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7267-7027>  
Bugorkova S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7548-4845>

Мероприятия по специфической профилактике чумы осуществляются по эпидемиологическим показателям контингенту риска, проживающему на энзоотичных по чуме территориях, а также лицам, регулярно работающим с возбудителем инфекции, либо в массовом порядке широкому кругу населения энзоотичных территорий в случае прямой угрозы возникновения и распространения антропонозных очагов заболевания [1].

В качестве основного препарата для специфической профилактики чумы на территории Российской Федерации применяется вакцина чумная живая (ВЧЖ), обеспечивающая защиту привитого контингента продолжительностью до 1 года. При длительном прогнозируемом обострении эпизоотической обстановки в природном очаге или при систематической работе с возбудителем проводится ежегодная ревакцинация этим препаратом. Кроме ВЧЖ в РФ лицензирована вакцина чумная молекулярная микроинкапсулированная (ВЧММ), предназначенная для военнослужащих спецподразделений радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных сил РФ и лиц старше 18 лет [2]. Для широкого применения среди гражданского населения данный препарат не используется, поэтому возможность оптимизировать схему противочумной вакцинации за счет комбинаторного применения различных (живых, химических) препаратов не представляется возможным.

В современный период, при отсутствии массовых вспышек чумы, но сохранении природных очагов этой инфекции с эпизоотической активностью, все случаи заболевания чумой влекут за собой проведение комплекса трудозатратных и дорогостоящих противоэпидемических мероприятий, в том числе по вакцинопрофилактике лиц категорий риска [1, 3]. В этих условиях каждый случай заболевания вакцинированных людей влечет за собой необходимость тщательного анализа вакцинальных неудач и, при необходимости, проведения своевременной коррекции результатов вакцинации [4]. Ключевая цель противочумной вакцинации в этих условиях смещается в сторону выработки индивидуального иммунного ответа, достаточного для предотвращения заболевания чумой у конкретного прививаемого человека.

При этом важно помнить о необходимости соблюдения баланса между увеличением масштабов проведения вакцинальных мероприятий и снижени-

ем рисков от неоправданной массовой иммунизации. В Российской Федерации в последнее десятилетие наблюдается выраженная тенденция к росту объемов противочумной вакцинации – с 4,3 тыс. в 2013 г. до 37 тыс. – в 2023 г. [5]. В рамках обеспечения мер по оперативному реагированию на возникновение неблагоприятных по чуме ситуаций на сопредельных с РФ территориях Китая и Монголии и для противодействия распространению завозных случаев заболевания из регионов РФ с высоким риском возникновения и передачи инфекции, увеличение числа ежегодно прививаемых против чумы лиц, с одной стороны, является целесообразным. Исторически доказано, что если имеют место крупные вспышки чумы, то массовая вакцинация против этой инфекции обеспечивает формирование коллективного иммунитета и положительно влияет на эпидемический процесс. Однако в условиях sporadической заболеваемости вакцинация не является ведущим профилактическим мероприятием против чумы, так как для формирования специфического иммунитета необходимо определенное время, а резкое обострение эпидемиологической ситуации требует быстрого реагирования. Тем не менее вакцинация против чумы сохраняет свою позицию в реализации комплексных планов проведения профилактических мероприятий на очаговых территориях. Кроме того, вакцинация является одним из способов борьбы с антибиотикорезистентностью и способна снизить ее распространенность путем снижения общего числа случаев инфекционных заболеваний, что имеет большое значение для долгосрочной защиты и борьбы с лекарственной устойчивостью [6].

Для обеспечения превентивной цели любой, в том числе противочумной, вакцинации необходимо адекватно и своевременно оценивать ее эффективность. В соответствии со стратегией развития иммунопрофилактики инфекционных болезней, утвержденной распоряжением Правительства РФ от 18.09.2020 № 2390-р на период до 2035 г., приоритетными задачами вакцинопрофилактики становятся совершенствование методов и инструментов определения уровня и длительности поствакцинального иммунитета в целях выработки гибкой тактики вакцинации и разработка научных основ персонализированного подхода к вакцинопрофилактике в зависимости от особенностей состояния здоровья и возраста лиц, подлежащих вакцинации.

Оценка эффективности вакцинопрофилактики чумы при отсутствии массовых случаев заболевания, когда невозможно оценить реальную пользу от прививки на популяционном уровне, сдвигается в сторону изучения индивидуальных показателей иммунного ответа на вакцину, анализа его динамики и выяснения причин гетерогенности. Традиционно иммунный ответ на прививку ВЧЖ оценивают по количеству специфических антител у вакцинируемых лиц. Несмотря на то, что защитные титры антительного ответа при чуме не установлены, их оценка играет определенную роль в изучении динамики специфического иммунитета. Так, при скрининге титров специфических антител у жителей энзоотичных территорий Горного Алтая, массово вакцинированных в рамках противоэпидемических мероприятий по ликвидации антропогенных очагов чумы в 2014–2016 гг., было выявлено снижение исследуемых показателей у большинства людей уже через 6 месяцев после прививки [7–9]. Организованный в этот период иммунологический мониторинг за прививаемым контингентом на территории трех природных очагов чумы (Горно-Алтайский высокогорный, Тувинский горный и Прикаспийский песчаный) позволил разработать алгоритм, с помощью которого был осуществлен комплексный анализ ряда предикторных показателей, характеризующих напряженность и динамику поствакцинального противочумного иммунитета [10–12].

**Цель работы** – в рамках комплексного анализа определить направленность индивидуального иммунного ответа и охарактеризовать групповую иммунореактивность прививаемых против чумы лиц для формирования методологии индивидуальной и групповой коррекции схемы противочумной вакцинации.

### Материалы и методы

Систематизацию вакцинированных лиц по уровню их иммунореактивности на введение ВЧЖ проводили с использованием базы данных, включающей массив показателей клеточного и гуморального иммунитета, полученный при проспективном когортном наблюдении в ходе многолетнего мониторинга поствакцинального иммунитета у лиц, прививаемых ВЧЖ [13].

Для оценки побочных проявлений после иммунизации проведено аналитическое когортное ретроспективное исследование, цель которого состояла в определении частоты развития острых и обострения хронических болезней у вакцинированных и не вакцинированных против чумы сотрудников ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов. Исследования проводились обезличенно на основании записей в амбулаторном журнале обращаемости работников в здравпункт учреждения, анализа листов нетрудоспособности сотрудников учреждения и на основании

заключительных актов периодических медицинских осмотров. В опытные и контрольные группы по годам наблюдения вошли ежегодно вакцинируемые/не вакцинируемые ВЧЖ люди. Период наблюдения составил 5 лет. Статистическую обработку данных проводили методами непараметрической статистики с использованием пакета прикладных программ STATISTICA (версия 10.0), а также программы Microsoft Excel. Оценку достоверности различий частоты заболеваний в несвязных (независимых) выборках проводили по t-критерию Стьюдента при  $p \leq 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

В настоящем исследовании полученный в ходе иммунологического мониторинга за ежегодно прививаемыми ВЧЖ людьми массив индивидуальных показателей (предикторов), характеризующих иммунный ответ на вакцинацию, обобщен и представлен в баллах. Согласно разработанному ранее методическому подходу, I балл является показателем отсутствия иммунного ответа на вакцинацию, II балла свидетельствуют о преимущественно гуморальном ответе на вакцинацию, III балла – смешанный вариант иммунного ответа и IV балла – показатель клеточного типа иммунного ответа (табл. 1). На основе индивидуальной балльной оценки выделены групповые типы иммунного ответа на вакцинацию: высокий (IV балла), средний (II–III балла) и низкий (I балл) [14].

Индивидуальная и групповая оценка эффективности вакцинопрофилактики включала проведение факторного анализа предикторов иммунного ответа на вакцину с определением ценности их исходных и итоговых значений, учетом степени их изменения и определением границ учета измененных параметров от исходного уровня (до вакцинации). Совокупность значений предикторов иммунного ответа от каждого вакцинируемого человека проанализирована с применением программы Excel с учетом степени значимости признака.

Анализ динамики предикторных показателей иммунного ответа на прививку ВЧЖ подтвердил их снижение к 1 году после вакцинации в целом по всей выборке, что является обоснованием для планирования специфических профилактических мероприятий на текущий год. Установлено, что после прививки ВЧЖ иммунный ответ, особенно у лиц, вакцинируемых до 5 раз, претерпевает изменения, трансформируясь в сторону формирования клеточного типа иммунного ответа (III–IV балла, высокий тип иммунореактивности) (рис. 1). Как известно, именно выраженность специфического клеточного ответа на противочумную вакцинацию коррелирует с эффективностью защиты от чумы. Живые вакцины являются препаратами, способными обеспечить формирование как гуморального, так и клеточного иммунитета, и это подтверждают ранее полученные



Таблица 1 / Table 1

## Схема систематизации вакцинированных лиц по уровню их иммунореактивности

## Triage of vaccinated individuals according to the level of their immunoreactivity

Интенсивность иммунного ответа (в баллах) Intensity of the immune response (in grade points)	Динамика предикторных показателей поствакцинального противочумного иммунитета (через 1 год после иммунизации) Dynamics of predictor indicators of post-vaccination anti-plague immunity (one year after immunization)		Тип иммунного ответа Type of immune response
	Показатели клеточного типа иммунного ответа: – Th1 (IFN- $\gamma$ , TNF $\alpha$ ), – Th2 (IL-4) Indicators of cellular type of immune response: – Th1 (IFN- $\gamma$ , TNF $\alpha$ ), – Th2 (IL-4)	Титры специфических антител к антигену F1 <i>Y. pestis</i> Indicators of the humoral type of immune response: titers of specific antibodies to <i>Y. pestis</i> antigen F1	
I балл, отсутствие иммунного ответа на вакцинацию I point, no immune response to vaccination	Нет реакции на иммунизацию No response to immunization	Нет реакции на иммунизацию No response to immunization	Низкий Low
II балла, гуморальный ответ II points, humoral response	Нет реакции на иммунизацию No response to immunization	Титры антител 1:80 и выше Antibody titers of 1:80 or higher	Средний Moderate
III балла, смешанный ответ III points, mixed response	Показатели через 12 мес. выше допрививочных в 2 раза и более Indicators after 12 months are 2 or more times higher than pre-immunization ones	Титры антител 1:80 и выше Antibody titers of 1:80 and above	
IV балла, клеточный вариант иммунного ответа IV points, cellular immune response	Показатели через 12 мес. выше допрививочных в 5 раз и более Indicators after 12 months are 5 or more times higher than pre-immunization ones	Независимо от наличия антител Regardless of the presence of antibodies	Высокий High

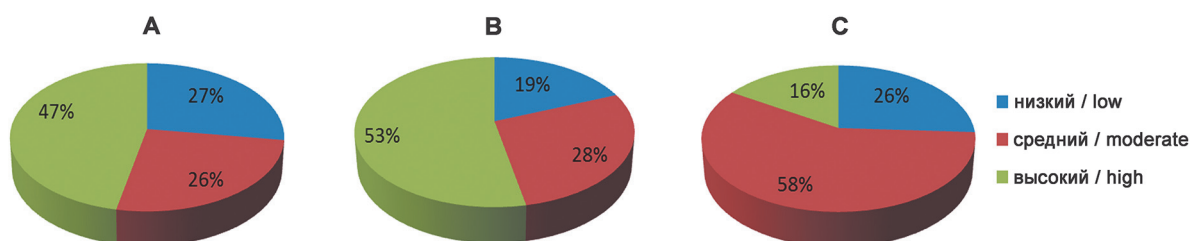


Рис. 1. Динамика интенсивности иммунного ответа в течение 1 года после вакцинации у лиц, вакцинированных 1–5 раз: A – через 1 мес.; B – через 6 мес.; C – через 12 мес.

Fig. 1. Dynamics of the intensity of the immune response in persons immunized 1–5 times, within one year after vaccination: A – after 1 month; B – after 6 months; C – after 12 months

данные комплексной характеристики реакции иммунной системы лиц, привитых ВЧЖ, собранные в процессе многолетнего мониторинга на территории трех природных очагов чумы [9].

Среди лиц, вакцинированных более 5 раз, установлен тренд на увеличение к 1 году после вакцинации доли лиц, иммунная система которых реагирует на вакцинацию по смешанному типу (III балла), и растет число людей с положительной динамикой показателей гуморального иммунного ответа (II балла) или с отсутствием динамики предикторных показателей на вакцинацию (I балл) (рис. 2).

Полученные данные косвенно подтверждают постулат о том, что бесконтрольное расширение мероприятий по вакцинопрофилактике может нарушить достаточно тонкую грань между защитой от возможной болезни и сопряженными с ней неблагоприятными последствиями для здоровья и риском

развития возможных осложнений от непродуманной вакцинации [15]. В этих условиях комплексный подход при планировании очередной прививки против чумы должен строиться не только с учетом реальных рисков заражения этой инфекцией, но и с упором на результаты оценки индивидуальных параметров иммунного ответа прививаемого контингента на предыдущую вакцинацию.

Проведенное ранжирование вакцинируемых лиц по силе иммунного ответа позволило нам оценить возможность прогнозирования результата вакцинации ВЧЖ для обеспечения гибкости принятия управленческих решений по проведению мероприятий по специфической профилактике чумы с поправкой на индивидуальный и групповой прогноз напряженности поствакцинального противочумного иммунитета. В рамках решения этой задачи нами проведен анализ повторяемости индивидуальных и групповых реак-

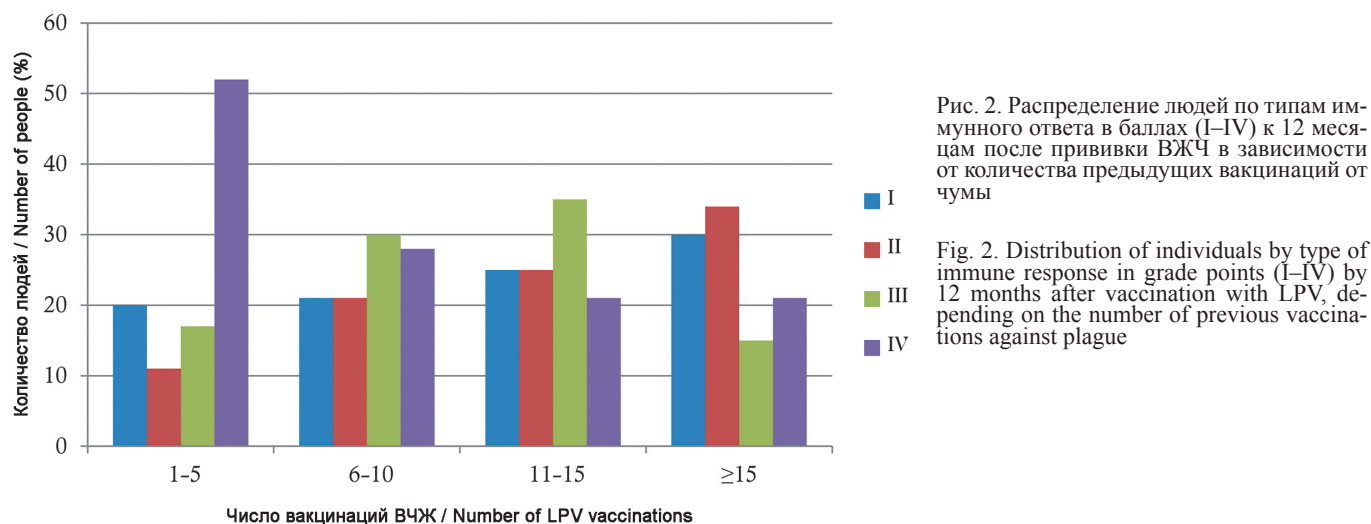


Рис. 2. Распределение людей по типам иммунного ответа в баллах (I–IV) к 12 месяцам после прививки ВЧЖ в зависимости от количества предыдущих вакцинаций от чумы

Fig. 2. Distribution of individuals by type of immune response in grade points (I–IV) by 12 months after vaccination with LPV, depending on the number of previous vaccinations against plague

ций на прививку ВЧЖ у добровольцев. Выявлено, что 65 % от общего числа наблюдаемых лиц реагируют на вакцинацию с одинаковой интенсивностью, выраженной в баллах, на протяжении всего периода наблюдения. При анализе повторяемости групповых типов иммунного ответа (высокий, средний, слабый) установлено, что у 76 % наблюдаемых лиц он остается неизменным в течение всего периода наблюдения. Таким образом, многолетний анализ динамики иммунного ответа на прививку свидетельствует не только о возможности ранжирования вакцинируемых лиц по степени реакции их иммунной системы на прививку, но и дает возможность прогнозировать иммунный ответ как на индивидуальном, так и на групповом уровне, что имеет несомненную информационную ценность для выработки более гибкой тактики проведения комплексных мероприятий по профилактике чумы на очаговых территориях.

Дифференциация иммунореактивности вакцинируемых людей дает возможность определить преимущественный тип иммунного ответа на ВЧЖ для каждого лица, планируемого на прививку против чумы, и прогнозировать эффективность поствакцинальной защищенности от заболевания к началу очередной вакцинальной кампании. На основании оценки результатов иммунологического мониторинга в предыдущем сезоне для респондентов с нормальной иммунной реактивностью (II–III балла) нет необходимости отступать от стандартной схемы применения ВЧЖ: за месяц до планируемой работы в природном очаге чумы при прогнозируемом росте эпизоотической активности. Для лиц со сниженной иммунной реактивностью (I балл) при ухудшении эпидемиологической ситуации в очаге может быть рекомендовано составление индивидуального графика в сторону уменьшения интервала между ревакцинациями в пределах, определенных производителем вакцины. Лицам с повышенной иммунной реактивностью (IV балла) для снижения риска необоснованной антигенной нагрузки рекомендован

индивидуальный подход к ревакцинации и увеличение интервала между ревакцинациями в пределах, определенных производителем вакцины.

Применение дифференцированного подхода к очередной ревакцинации с учетом гетерогенности иммунного ответа позволит не только решить прямые задачи специфической профилактики по предупреждению и/или снижению заболеваемости, но и избежать рисков необоснованной прививки ВЧЖ на фоне сохраняющего специфического иммунного ответа.

В рамках комплексного подхода к оценке иммунной реактивности на вакцинацию против чумы проведена оценка частоты побочных проявлений после иммунизации у ежегодно вакцинируемых против чумы лиц. В предыдущих исследованиях при анализе безопасности применения ВЧЖ не зарегистрировано ни одного случая обращения в медицинские организации по поводу возникновения общих или местных реакций на прививку [14]. Для оценки влияния вакцинации на общую заболеваемость изучена частота встречаемости острых и обострения хронических болезней у вакцинированных и не вакцинированных против чумы лиц по основным классам Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) за пятилетний период (табл. 2).

Установлено отсутствие статистически значимых различий по частоте встречаемости острых и обострения хронических болезней у вакцинированных и не вакцинированных против чумы лиц, а также различий регистрируемых случаев нетрудоспособности (табл. 3) у привитых и не привитых от чумы лиц. В совокупности с проведенными ранее исследованиями по оценке безопасности применения ВЧЖ, включающими изучение показателей, свидетельствующих об аллергизации и/или риске развития аутоиммунных реакций [15], полученные нами данные свидетельствуют о безопасности многократного применения ВЧЖ.

Таблица 2 / Table 2

Частота выявления причин нетрудоспособности (заболеваний) у привитых/непривитых ВЧЖ лиц, 2016–2020 гг.

Prevalence of causes of disability (diseases) in people vaccinated/unvaccinated with live plague vaccine, 2016–2020

Заболевания Diseases	2016	2017	2018	2019	2020
	Привитые/непривитые (чел.) Vaccinated/unvaccinated (persons)				
	87/316	123/275	127/289	171/279	71/381
Все случаи заболеваний (% среди привитых/непривитых) All cases of diseases (% among vaccinated/unvaccinated)	34/38	36,8/37,2	38,6/39,3	34,5/34	27,9/31,5
из них по классам МКБ-10: of which by ICD-10 classes:					
болезни органов дыхания, включая ОРВИ и COVID-19 respiratory diseases, including ARVI and COVID-19	19,7/22,6	18,4/20,8	22,6/24	17,8/19,6	21/23,3
болезни системы кровообращения diseases of blood circulatory system	6/4,5	6,2/7,2	5,8/6,3	4,3/4,6	0,9/1,7
болезни нервной системы diseases of nervous system	2,4/1,4	3,7/3,2	1,8/3,2	2,8/1,1	0,9/1,4
болезни органов пищеварения digestive diseases	1,6/2,2	1,8/0,8	0,5/0,8	0,6/0,8	0,4/1,7
болезни мочеполовой системы diseases of the genitourinary system	1,4/3,0	3,6/2,6	3,7/3,2	1,5/0	1,9/1,1
новообразования neoplastic diseases	0/1,1	0,8/0,8	0,8/0	0/1,5	0/0
другое other	2,9/3,2	2,3/1,8	3,4/1,8	7,5/6,4	2,8/2,3

Таблица 3 / Table 3

Доля лиц, представивших лист нетрудоспособности по причине острого или обострения хронического заболевания в течение года, 2016–2020 гг.

Proportion of persons who submitted a certificate of incapacity for work due to an acute or exacerbation of a chronic disease during the year, 2016–2020

Доля заболевших Share of affected persons	2016	2017	2018	2019	2020
	Привитые/непривитые (чел.) Vaccinated/unvaccinated (persons)				
	87/316	123/275	127/289	171/279	71/381
Всего заболевших (% среди привитых/непривитых) Total number of cases (% among vaccinated/unvaccinated)	42,62/41,2	41,05/46,3	41,8/42,85	40,8/45,35	53,2/54,1
по месяцам: by month:					
Январь / January	7,0/7,3	4,0/5,2	6,2/8,8	5,2/6,75	4,6/4,0
Февраль / February	6,0/5,0	5,5/6,4	5,45/6,3	4,8/5,8	2,9/3,3
Март / March	4,5/4,0	5,8/5,2	6,4/7,4	5,2/5,6	3,2/3,5
Апрель / April	5,0/4,4	4,2/4,2	3,6/5,6	4,1/5,1	4,0/3,3
Май / May	1,5/1,5	4,1/5,8	3,2/4,2	0,9/0,5	3,2/2,9
Июнь / June	1,0/0,25	3,2/3,0	2,0/2,1	2,2/1,8	1,1/0,4
Июль / July	1,5/1,0	0,25/1,6	0,2/0	1,7/2,8	0,5/0,9
Август / August	2,0/1,75	1,0/0	1,0/1,6	0,5/0,9	1,1/1,1
Сентябрь / September	1,1/3,0	1,2/1,6	1,8/1,5	4,0/4,0	1,5/1,9
Октябрь / October	6,0/5,0	2,4/4,1	3,8/6,0	2,8/2,1	10,5/11
Ноябрь / November	3,0/2,5	3,2/4,0	2,4/0	1,6/1,25	9,5/11,5
Декабрь / December	6,0/5,5	6,2/5,2	7,8/6,8	6,8/8,75	12,6/10,3



Дальнейшие скрининговые исследования по оценке иммунной реактивности на вакцинацию, включающие количественную оценку и анализ пост-вакцинальной динамики предикторов противочумного иммунитета, проводимые ежегодно или с определенной периодичностью контингенту риска и аккумулируемые в пополняемой базе данных, позволят нивелировать погрешности расчета типов иммунного ответа для адекватного прогнозирования эффективности мероприятий по вакцинации. Регулярное проведение иммунологического мониторинга, в том числе на обширных территориях природных очагов чумы, даст возможность выявить лиц, нуждающихся в индивидуальном подходе к вакцинации против чумы, расширить информационную основу для обеспечения необходимой гибкости при планировании мероприятий по специфической профилактике этой инфекции и, в конечном итоге, повысить доверие общества к проводимым вакцинальным мероприятиям за счет более качественного обеспечения профилактической функции вакцинации – предупреждения заболевания.

Таким образом, комплексная оценка эффективности противочумной вакцинации в рамках иммунологического мониторинга позволяет определять направленность индивидуального иммунного ответа и характеризовать групповую иммунореактивность прививаемых лиц, что дает возможность прогнозировать эффективность вакцинации и обосновывать меры коррекции схемы применения ВЧЖ.

**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.** Авторский коллектив выражает глубокую благодарность за помощь в работе руководителю и сотрудникам здравпункта ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора.

#### Список литературы

1. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Обеспечение эпидемиологического благополучия в природных очагах чумы на территории стран СНГ и Монголии в современных условиях. Ижевск: ООО «Принт»; 2018. 336 с.
2. Вакцина чумная молекулярная микроинкапсулированная (ВЧММ). *Бактериология*. 2018; 3(1):74–5.
3. Куница Т.Н. Чума (эпидемиология, клиника, лабораторная диагностика, лечение и профилактика). Руководство для врачей. М.: Перо; 2021. 184 с.
4. Фельдблюм И.В. Риск-менеджмент в сфере вакцинопрофилактики как одно из направлений обеспечения эпидемиологической и биологической безопасности. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018; 17(5):25–30. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-5-25-30.
5. Афонина Н.М., Михеева И.В. Об эффективности вакцинопрофилактики инфекций, общих для человека и животных, в рамках Календаря прививок по эпидемическим показаниям в Российской Федерации. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2022; 21(1):37–46. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-1-37-46.
6. Sun W., Roland K.L., Curtiss R. Developing live vaccines against *Yersinia pestis*. *J. Infect. Dev. Ctries*. 2014; 5(9):614–27.
7. Косилко С.А., Балахонов С.В., Щучинов Л.В., Мищенко А.И., Михайлов Е.П., Мадинова Н.М., Сбитнева С.В., Тагызова С.Л., Макин А.А. Массовая вакцинация населения против чумы

в Республике Алтай на фоне высоких эпидемических рисков. В кн.: Попова А.Ю., редактор. Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения. Материалы XI съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. Москва, 16–17 ноября 2017 года. СПб.: ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; 2017. С. 130.

8. Щучинов Л.В., Тагызова С.Л. Специфическая профилактика чумы в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы. В кн.: Попова А.Ю., редактор. Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения. Материалы XI съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. Москва, 16–17 ноября 2017 года. СПб.: ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; 2017. С. 243.

9. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Специфическая профилактика чумы: состояние и перспективы. Саратов: Амирит; 2021. 304 с.

10. Бугоркова С.А., Щуковская Т.Н., Микшис Н.И., Ключева С.Н., Кудрявцева О.М., Кравцов А.Л., Гончарова А.Ю., Кожевников В.А., Санджиев Д.Н., Конушева С.В., Савченко С.П., Бембеева Е.С., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Комплексное иммунологическое исследование вакцинированных живой чумной вакциной лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчаного очага чумы в Республике Калмыкия. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018; 17(3):38–50. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50.

11. Ключева С.Н., Бугоркова С.А., Щуковская Т.Н., Санджиев Д.Н., Конушева С.В., Савченко С.П., Хасыкова Б.А., Щербакова С.А. Оценка уровня гуморального и клеточного иммунитета после ревакцинации против чумы лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчаного природного очага. *Медицинская иммунология*. 2018; 20(2):241–50. DOI: 10.15789/1563-0625-2018-2-241-250.

12. Корытов К.М., Дубровина В.И., Войткова В.В., Пятидесятникова А.Б., Глушков Э.А., Акимов И.С., Ондар Н.В., Салчак Л.К., Сайды А.А., Ортеней Ю.К., Балахонов С.В. Оценка эффективности вакцинации населения против чумы в Тувинском природном очаге. Сообщение 2: динамика показателей иммунного статуса после ревакцинации. *Acta Biomedica Scientifica*. 2021; 6(5):44–56. DOI: 10.29413/ABS.2021-6-5.5.

13. Кудрявцева О.М., Бугоркова С.А., Кожевников В.А., Яшечкин Ю.И., Кравцов А.Л., Ключева С.Н., Щуковская Т.Н. Показатели иммунологического мониторинга за вакцинированными против чумы лицами. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2019620831 от 23.05.2019.

14. Бугоркова С.А., Ключева С.Н., Кудрявцева О.М., Топорков В.П., Щуковская Т.Н., Кравцов А.Л., Микшис Н.И., Тарасов М.А., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Иммунологический мониторинг вакцинированных против чумы в Прикаспийском песчаном природном очаге для оценки и управления рисками здоровья населения. *Анализ риска здоровью*. 2020; 4:121–9. DOI: 10.21668/health.risk/2020.4.14.

15. Савилов Е.Д. Управление инфекционной заболеваемостью на основе воздействия превентивных мероприятий на уязвимый период в циклическом развитии эпидемического процесса. *Вестник РАМН*. 2021; 76(1):20–7. DOI: 10.15690/vramn1349.

#### References

1. Popova A.Yu., Kuttyrev V.V., editors. [Provision of Epidemiological Welfare in Natural Plague Foci in the Territory of CIS Countries and Mongolia under Current Conditions]. Izhevsk: "Print" LLC; 2018. 336 p.
2. [Plague molecular microencapsulated vaccine (PMMV)]. *Bakteriologiya [Bacteriology]*. 2018; 3(1):74–5.
3. Kunitsa T.N. [Plague (Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnostics, Treatment and Prevention). Guidelines for Physicians]. Moscow: "Pero"; 2021. 184 p.
4. Feldblum I.V. [Risk-Management in the field of vaccine prevention as one of the directions of ensuring epidemiological and biological safety]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2018; 17(5):25–30. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-5-25-30.
5. Afonina N.M., Mikheeva I.V. [On the effectiveness of vaccination against infections common to humans and animals, as part of the immunization schedule for epidemic indications in the Russian Federation]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2022; 21(1):37–46. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-1-37-46.
6. Sun W., Roland K.L., Curtiss R. Developing live vaccines against *Yersinia pestis*. *J. Infect. Dev. Ctries*. 2014; 5(9):614–27.
7. Kosilko S.A., Balakhonov S.V., Shchuchinov L.V., Mishchenko A.I., Mikhailov E.P., Madinova N.M., Sbitneva S.V., Tagyzova S.L., Makin A.A. [Mass vaccination of the population against plague in the Altai Republic against the background of high epidemic risks]. In: Popova A.Yu., editor. [Ensuring Epidemiological

Well-Being: Challenges and Solutions. Materials of the XI Congress of the All-Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists. Moscow, November 16–17, 2017]. St. Petersburg: Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 2017. P. 130.

8. Shuchinov L.V., Tagyzova S.L. [Specific prevention of plague in the Gorno-Altai high-mountain natural plague focus]. In: Popova A.Yu., editor. [Ensuring Epidemiological Well-Being: Challenges and Solutions. Materials of the XI Congress of the All-Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists. Moscow, November 16–17, 2017]. St. Petersburg: Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 2017. P. 243.

9. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Specific Prevention of Plague: the State and Prospects]. Saratov: "Amirit"; 2021. 304 p.

10. Bugorkova S.A., Shchukovskaya T.N., Mikishis N.I., Klyueva S.N., Kudryavtseva O.M., Kravtsov A.L., Goncharova A.Yu., Kozhevnikov V.A., Sandzhiev D.N., Konusheva S.V., Savchenko S.P., Bembeeva E.S., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. [Comprehensive immunological study of persons vaccinated with live plague vaccine living on the territory of the Pre-Caspian sandy foci of the plague in the Republic of Kalmykia]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2018; 17(3):38–50. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50.

11. Klyueva S.N., Bugorkova S.A., Shchukovskaya T.N., Sandzhiev D.N., Konusheva S.V., Savchenko S.P., Khasykova B.A., Shcherbakova S.A. Evaluation of humoral and cellular immunity level among persons living in the Caspian natural sandy focus territory after anti-plague revaccination]. *Meditsinskaya Immunologiya [Medical Immunology (Russia)]*. 2018; 20(2):241–50. DOI: 10.15789/1563-0625-2018-2-241-250.

12. Korytov K.M., Dubrovina V.I., Voytkova V.V., Pyatidesyatnikova A.B., Glushkov E.A., Akimova I.S., Ondar N.V., Salchak L.K., Saydy A.A., Orteney Yu.K., Balakhonov S.V.

[Efficiency of human plague vaccination in tuvinian natural plague focus. Message 2: dynamics of immune status indicators after re-vaccination]. *Acta Biomedica Scientifica*. 2021; 6(5):44–56. DOI: 10.29413/ABS.2021-6.5.5.

13. Kudryavtseva O.M., Bugorkova S.A., Kozhevnikov V.A., Yashechkin Yu.I., Kravtsov A.L., Klyueva S.N., Shchukovskaya T.N. [Indicators of immunological monitoring of persons vaccinated against plague]. Certificate of state registration of the database No. 2019620831 dated May 23, 2019.

14. Bugorkova S.A., Klyueva S.N., Kudryavtseva O.M., Toporkov V.P., Shchukovskaya T.N., Kravtsov A.L., Mikshis N.I., Tarasov M.A., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. [Immunologic monitoring over people vaccinated against plague in Caspian sand natural focus in order to assess and manage health risks]. *Analiz Riska Zdoroviya [Health Risk Analysis]*. 2020; (4):121–9. DOI: 10.21668/health.risk/2020.4.14.

15. Savilov E.D. [Management of the incidence of infectious diseases by applying preventive measures in the weakest period in its cyclicity]. *Vestnik Rossijskoj Akademii Meditsinskikh Nauk [Annals of the Russian Academy of Sciences]*. 2021; 76(1):20–7. DOI: 10.15690/vramn1349.

# Authors:

Kudryavtseva O.M., Goncharova A.Yu., Kozhevnikov V.A., Bugorkova S.A. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

# Об авторах:

Кудрявцева О.М., Гончарова А.Ю., Кожеевников В.А., Бугоркова С.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-126-132

УДК 579.842.23:579.25

Д.А. Кузнецова, А.С. Водопьянов, А.Л. Трухачев, В.А. Рыкова, О.Н. Подладчикова

**Анализ генетических детерминантов сидерофора иерсиниахелина иерсиний**

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

Исследование посвящено изучению генетических детерминантов сидерофора иерсиниахелина (Ych), кодируемых *ysu*-кластером генов и обнаруженных только у *Yersinia pestis* и *Yersinia pseudotuberculosis*. **Цель** исследования – анализ генов, кодирующих биосинтез иерсиниахелина, и оценка возможности их использования для внутривидовой дифференциации иерсиний. **Материалы и методы.** В работе использовали полные нуклеотидные последовательности 583 штаммов *Y. pestis* и 300 штаммов *Y. pseudotuberculosis* из базы данных NCBI, а также 38 штаммов *Y. pestis* и 88 штаммов *Y. pseudotuberculosis* из коллекции ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. Геномы штаммов анализировали с помощью методов биоинформатики и ПЦР *in silico* и *in vitro*. **Результаты и обсуждение.** Сравнение генов *ysu*-кластера двух видов иерсиний выявило их высокую консервативность у чумного микроба, в то время как у псевдотуберкулезного микроба обнаружены различия в структуре терминатора транскрипции генов биосинтеза Ych. Как выяснилось, терминатор содержит тандемные повторы нуклеотидов, различающиеся по количеству у разных групп штаммов *Y. pseudotuberculosis*, что может быть использовано для внутривидовой дифференциации этих бактерий. Для оценки влияния структуры терминатора транскрипции на эффективность экспрессии Ych штаммами чумного и псевдотуберкулезного микробов сконструированы две рекомбинантные плазмиды, содержащие копии оперонов биосинтеза Ych из *Y. pestis* KIM и *Y. pseudotuberculosis* YPIII, полученные методом ПЦР. Введение рекомбинантных плазмид в штамм *Escherichia coli* H1884, лишенный собственных сидерофоров, продемонстрировало, что оперон штамма YPIII определяет значительно более высокую экспрессию Ych, чем оперон штамма KIM. Результаты проведенного исследования показывают, что структура терминатора транскрипции оперона биосинтеза Ych оказывает значительное влияние на экспрессию этого сидерофора и может быть использована для внутривидовой дифференциации *Y. pseudotuberculosis* при эпидемиологическом мониторинге.

**Ключевые слова:** *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, иерсиниахелин, сидерофор.

Корреспондирующий автор: Кузнецова Дарья Александровна, e-mail: Kuznetsova\_DA@antiplague.ru.

Для цитирования: Кузнецова Д.А., Водопьянов А.С., Трухачев А.Л., Рыкова В.А., Подладчикова О.Н. Анализ генетических детерминантов сидерофора иерсиниахелина иерсиний. Проблемы особо опасных инфекций. 2024; 3:126–132. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-126-132

Поступила 10.01.2024. Отправлена на доработку 15.01.2024. Принята к публ. 23.01.2024.

**D.A. Kuznetsova, A.S. Vodop'yanov, A.L. Trukhachev, V.A. Rykova, O.N. Podladchikova****Analysis of the Genetic Determinants of Yersiniachelin Siderophore of *Yersinia***

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

**Abstract.** The study is focused on the genetic determinants of the yersiniachelin (Ych) siderophore encoded by the *ysu* gene cluster and found only in *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis*. **The aim** of the investigation was to analyze the genes encoding the biosynthesis of Ych and to assess the possibility of their use for intraspecies differentiation of *Yersinia*. **Materials and methods.** The study used complete nucleotide sequences of 583 *Y. pestis* strains and 300 *Y. pseudotuberculosis* strains from the NCBI database, as well as 38 *Y. pestis* and 88 *Y. pseudotuberculosis* strains from culture collection at the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of the Rospotrebnadzor. The genomes were analyzed using bioinformatics methods and PCR *in silico* and *in vitro*. **Results and discussion.** A comparison of the *ysu* cluster genes in two *Yersinia* species has revealed their high conservatism in the plague microbe, while differences in the structure of the transcription terminator of the Ych biosynthesis genes have been found in the pseudotuberculosis microbe. It turned out that the terminator contains nucleotide tandem repeats that differ in the number in different groups of *Y. pseudotuberculosis* strains, thus indicating their potential use for intraspecies differentiation of these bacteria. To assess the effect of the transcription terminator structure on the Ych expression by plague and pseudotuberculosis microbes, two recombinant plasmids containing PCR copies of Ych biosynthesis operons from *Y. pestis* KIM and *Y. pseudotuberculosis* YPIII have been constructed. The introduction of both plasmids into the *Escherichia coli* H1884 strain, devoid of its own siderophores, has demonstrated that the operon of the YPIII strain determines a significantly higher expression of Ych than that of the KIM strain. The results of the study show that the structure of the transcription terminator of the Ych biosynthesis operon has a considerable impact on the expression of this siderophore and can be used for intraspecies differentiation of *Y. pseudotuberculosis* strains during epidemiological monitoring.

**Key words:** *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, yersiniachelin, siderophore.

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

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

Corresponding author: Dariya A. Kuznetsova, e-mail: Kuznetsova\_DA@antiplague.ru.

Citation: Kuznetsova D.A., Vodop'yanov A.S., Trukhachev A.L., Rykova V.A., Podladchikova O.N. Analysis of the Genetic Determinants of Yersiniachelin Siderophore of *Yersinia*. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2024; 3:126–132. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-126-132



Received 10.01.2024. Revised 15.01.2024. Accepted 23.01.2024.

Kuznetsova D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4198-0629>  
Vodop'yanov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>  
Trukhachev A.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3531-1146>Rykova V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3484-5100>  
Podladchikova O.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7178-2255>

Среди всех микроэлементов, способных влиять на исход взаимодействия патогенных бактерий с организмом хозяина, железо является одним из наиболее важных, поскольку оно необходимо для роста, деления и функционирования клеток [1]. Большинство бактерий для ассимиляции железа используют сидерофоры – разнообразные по структуре низкомолекулярные органические соединения, которые представляют собой высокоаффинные хелаторы железа, извлекающие металл из его комплексов с белками и доставляющие его клеткам с помощью специфичных для каждого сидерофора белковых рецепторов [2]. За последние годы получено много данных о структуре, путях метаболизма и роли сидерофоров в физиологии микроорганизмов. Исследование этих молекул у разных патогенных бактерий показало, что они являются важными факторами вирулентности, которые выполняют множество функций в организме хозяина, помимо обеспечения микробов железом и другими биологическими металлами [3–5].

Многие бактерии продуцируют несколько разных сидерофоров [6], способность к продукции которых коррелирует с патогенным потенциалом бактерий [7]. Однако у высокопатогенного возбудителя чумы (*Yersinia pestis*) до наших исследований был выявлен только один сидерофор – иерсиниабактин (Ybt), важный фактор вирулентности бактерий [8], широко распространенный среди энтеробактерий. На протяжении многих лет Ybt считался единственным сидерофором *Y. pestis* [9], но в полногеномных последовательностях *Y. pestis* выявлены гены биосинтеза и других сидерофоров, экспрессия которых *in vitro* и *in vivo* подтверждается результатами транскриптомных исследований [10]. Наши исследования свидетельствуют о том, что, помимо Ybt, *Y. pestis* действительно синтезирует еще один сидерофор – иерсиниахелин (Ych), который кодируется хромосомным *usi*-кластером генов [11]. Анализ этого кластера показал, что по структурной организации и нуклеотидной последовательности отдельных генов он сходен с кластером генов, кодирующих синтез и транспорт гидроксаматного сидерофора алкалигина, который является важным фактором вирулентности бордетелл [12].

В нашей предыдущей работе [11] для доказательства функциональности генов *usi*-кластера и изучения возможных функций Ych гены его биосинтеза из штамма *Y. pestis* EV76 клонированы в клетках *Escherichia coli*, не продуцирующих собственный сидерофор энтеробактин. Эти исследования показали, что Ych не только может экспрессироваться в клетках кишечной палочки, но и способствует защите бактерий от реактивных соединений кислорода. Анализ роли Ych на модели трех вариантов вакцинного штамма *Y. pestis* EV76, различающихся по продукции Ych, позволил установить, что Ych играет

важную роль в физиологии *Y. pestis*, участвуя в ассимиляции бактериями железа и защищая их от реактивных соединений кислорода [13]. Полученные в наших исследованиях результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения Ych как в фундаментальных исследованиях патогенеза чумы и псевдотуберкулеза, так и в прикладных исследованиях для разработки новых методов диагностики, профилактики и лечения вызываемых патогенными иерсиниями заболеваний.

**Целью** исследования является анализ генов, кодирующих биосинтез иерсиниахелина, и оценка возможности их использования для внутривидовой дифференциации иерсиний.

## Материалы и методы

Использованные в работе штаммы иерсиний получены из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. Штаммы культивировали на плотных и жидких средах: LB (DIFCO, США), NB (DIFCO, США) и среде Хоттингера (pH 7,2). Соответствие штаммов паспортным данным проверяли по различным дифференциально-диагностическим тестам [14], лежащим в основе идентификации и внутривидовой дифференциации иерсиний. Подтверждение видовой принадлежности штаммов иерсиний проводили также с помощью ПЦР, используя коммерческие диагностические наборы «АмплиСенс® *Yersinia enterocolitica/pseudotuberculosis*-FL» (Москва, Россия).

Отбор рекомбинантных плазмид, содержащих гены биосинтеза Ych в составе вектора pSCA-amp/kan, проводили в штамме *E. coli* Strata (Stratagene, США). Для экспрессии рекомбинантного Ych использован штамм *E. coli* H1884, не синтезирующий собственный сидерофор энтеробактин (штамм получен от доктора А. Ракина, Германия). При выращивании штаммов *E. coli*, содержащих векторную и рекомбинантные плазмиды, в среды добавляли антибиотики: ампициллин (50 мкг/мл) и канамицин (25 мкг/мл).

Анализ сидерофорной активности штаммов проводили на индикаторной среде, разработанной для выявления сидерофоров у разных видов бактерий и содержащей хромогенный хелатор железа хромазурол S (CAS), который при 30%-м насыщении железом имеет сине-зеленую окраску [15]. Среда изменяет цвет на желтый после удаления из CAS-реагента железа сидерофорами, выделяемыми бактериями. Для индукции сидерофорной активности перед посевом на индикаторную среду штаммы *E. coli* выращивали при 26 °C на железodefицитной среде NB, содержащей 50 мкМ 2-2'-дипиридила. Бактериальные взвеси для экспериментов готовили

Таблица 1 / Table 1

## Нуклеотидные последовательности использованных в работе праймеров

## Nucleotide sequences of primers used in the study

Праймер Primer	Нуклеотидные последовательности Nucleotide sequence	Происхождение Origin
<i>pM13rev</i>	5' CAGGAAACAGCTATGACC 3'	StrataClone
<i>ysuF</i>	5' CGTTGCCGGATCATTACTGACCCTGAAT 3'	Настоящее исследование Current study
<i>ysuR</i>	5' CGTTGCCGGATCATTACTGACCCTGAAT 3''	Настоящее исследование Current study
<i>ysuinterF</i>	5' AGCACATGCTGGATTAGCTGAC 3''	Настоящее исследование Current study
<i>ysu-interR</i>	5' AAGCCTTTGGTGATACCCCG 3''	Настоящее исследование Current study

на забуференном фосфатом физиологическом растворе (ЗФР), количество содержащихся в них бактерий определяли, используя оптический отраслевой стандарт мутности Тарасевича, также проводили измерение оптической плотности и высеив культур на плотную питательную среду LB для подсчета выросших колоний. На CAS-агар пятном наносили по 10 мкл суспензии ( $5 \cdot 10^9$  м.к./мл) каждого штамма и посевы инкубировали 24–48 ч при 26 или 37 °C.

Биоинформатический анализ геномов бактерий из базы данных NCBI проводили с помощью компьютерной программы BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>), а также авторского скрипта. Анализ *ysu*-кластера иерсиний проводили при использовании полных нуклеотидных последовательностей 583 штаммов *Y. pestis* и 300 штаммов *Y. pseudotuberculosis* из базы данных NCBI.

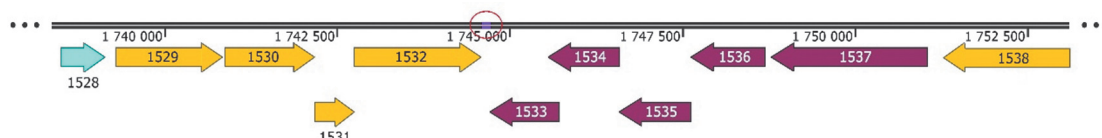
Конструирование олигонуклеотидных праймеров, структура которых приведена в табл. 1, проводили на основе нуклеотидной последовательности *ysu*-кластера штамма *Y. pestis* CO92 с помощью компьютерных программ Vector NTI11 (Invitrogen) и BLAST. Сконструированные праймеры были синтезированы в ЗАО «Синтол» (Москва, Россия) и ЗАО «Евроген» (Москва, Россия), и использованы для ПЦР *in vitro* с ДНК различных штаммов иерсиний. Режимы постановки ПЦР с праймерами определены в соответствии с характеристиками олигонуклеотидов и длиной предполагаемого ампликона.

Выделение ДНК для проведения ПЦР осуществляли с помощью наборов реактивов «РИБО-преп» («АмплиСенс®», Москва, Россия) и «ДНК-сорб АМ» (ООО «ИнтерЛабСервис», Москва, Россия). ПЦР-

анализ исследуемых штаммов иерсиний с помощью сконструированных в работе праймеров проводили в стандартной комплектации реакционной смеси, используя температурный режим, который определен в соответствии со структурой синтезированных праймеров. Для получения копий оперонов биосинтеза Ych в качестве матриц использовали хромосомную ДНК, выделенную из *Y. pestis* KIM и *Y. pseudotuberculosis* YPIII, и ДНК-полимеразу Pfu (Promega Corporation, США). Постановку ПЦР с праймерами *ysuF/R* проводили по следующей программе: 98 °C – 4 мин (1 цикл); 98 °C – 20 с / 55 °C – 30 с / 72 °C – 4 мин (30 циклов); 72 °C – 10 мин.

## Результаты и их обсуждение

**Анализ генетических детерминантов сидерофора иерсиниахелина.** Биоинформатический анализ генома *Y. pestis* CO92 (*upo1528-1538*) показал, что в нем содержатся два оперона, один из которых кодирует белки, отвечающие за синтез Ych, а другой оперон содержит гены, отвечающие за транспорт Ych (рис. 1). В опероне, содержащем гены транспортных белков, присутствует ген *upo1538*, который гомологичен генам, кодирующим сидерофор-синтетазы у других видов бактерий. Анализ нуклеотидной последовательности этого гена у штамма *Y. pestis* KIM [9] выявил в нем мутацию со сдвигом рамки считывания. Этот факт, а также отсутствие на индикаторной среде сидерофорной активности у разных штаммов чумного микроба, не продуцирующих Ybt, привели исследователей к заключению о неспособности *ysu*-кластера кодировать синтез сидерофора. Однако про-

Рис. 1. Структура *ysu*-кластера генов, кодирующих синтез и транспорт Ych в штамме *Y. pestis* CO92:

желтым цветом обозначены гены биосинтеза Ych; красным – гены, кодирующие транспорт Ych; голубым – ген ферредоксиназы

Fig. 1. The structure of the *ysu* gene cluster encoding the synthesis and transport of Ych in the *Y. pestis* CO92 strain:

Ych biosynthesis genes are indicated in yellow; Ych transport genes – in red; and the ferredoxinase gene – in blue

веденный нами анализ показал, что *уро1538* является копией гена *уро1532*, который у разных штаммов может обеспечить биосинтез Ych, что подтверждается экспериментально в наших исследованиях [11, 13].

Поиск с помощью методов биоинформатики генов, кодирующих синтез и транспорт Ych, в геномах различных видов иерсиний, полногеномные последовательности которых доступны в базе данных NCBI, позволил установить, что они присутствуют у *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*, но отсутствуют у других видов иерсиний. Наличие генетических детерминантов Ych в геномах двух видов иерсиний подтверждалось и при использовании компьютерной программы SiderophoreAnalyzer [16], которая позволяет проводить быстрый анализ результатов полногеномного секвенирования энтеробактерий и выявлять в них гены биосинтеза различных сидерофоров. Программа способна выявлять гены биосинтеза (аналоги *ypj1530*) и рецептора (аналоги *ypj1537*) Ych, а также гены биосинтеза (*irp2*) и рецептора (*fimA*) Ybt. В результате применения этой программы для анализа полногеномных последовательностей различных штаммов иерсиний из базы данных NCBI нам не удалось обнаружить ни одного штамма чумного или псевдотуберкулезного микроба, в которых бы отсутствовали гены, кодирующие Ych. Они выявлялись абсолютно во всех проанализированных штаммах независимо от присутствия генов, кодирующих Ybt. Полученные данные позволили заключить, что такие высокопатогенные бактерии, как *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*, способны синтезировать и специфичный для этих видов сидерофор Ych. Гены *usu*-кластера в геномах *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* имеют высококонсервативную структуру у обоих видов бактерий, что свидетельствует об эволюционной стабильности генов, обеспечивающих синтез и работу Ych, и важности этого сидерофора для двух видов высокопатогенных иерсиний.

Тем не менее между двумя видами иерсиний обнаружены и различия в структуре *usi*-кластера. Хотя структурные гены обоих оперонов высококонсервативны у обоих видов иерсиний, некодирующая межгенная область, разделяющая опероны биосинтеза и транспорта Ych и очевидно содержащая терминатор транскрипции обоих оперонов, различается по структуре между *Y. pestis* и разными штаммами *Y. pseudotuberculosis*. Поиск в этой области последовательностей нуклеотидов, выявленных у различных терминаторов транскрипции [17], не позволил обнаружить в ней ни шпилечных структур, характерных для

Rho-независимых терминаторов транскрипции, ни поли-С-кластеров, являющихся участком узнавания Rho-фактора. Анализ этой области показал, что она имеет идентичную структуру у всех исследованных штаммов *Y. pestis*, но у разных штаммов *Y. pseudotuberculosis* содержит небольшие делеции и инсерции нуклеотидов, которые представляют собой тандемные повторы нуклеотидов, различающиеся по количеству у разных штаммов *Y. pseudotuberculosis*. Эти данные свидетельствуют о наличии в терминаторной области *usu*-оперонов, различающихся по количеству тандемных повторов (VNTR – variable number tandem repeats). Сравнение структуры терминаторной области *usu*-локуса штамма *Y. pestis* CO92 с аналогичной структурой других секвенированных штаммов *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* показало, что содержащиеся в ней VNTR отличаются по количеству у разных групп штаммов *Y. pseudotuberculosis* (рис. 2).

Для оценки возможности использования этих VNTR в качестве маркеров для генотипирования псевдотуберкулезного микроба мы провели анализ полногеномных последовательностей иерсиний из базы данных NCBI.

**Генотипирование иерсиний с помощью VNTR-маркеров, расположенных в генах *ysu*-локуса.** С целью выявления VNTR-маркеров у разных штаммов иерсиний сконструированы праймеры (*ysu-interF/R*), которые комплементарны константным областям, обрамляющим переменные участки межгенной области *ysu*-кластеров. Эти праймеры, структура которых приведена в табл. 1, позволяли различать штаммы по величине образующегося при проведении ПЦР ампликона. Для анализа геномов иерсиний с помощью ПЦР *in silico* применяли авторский скрипт, определяющий величину виртуального ампликона, полученного на ДНК иерсиний при использовании праймеров *ysu-interF/R*. Исследование геномов 583 штаммов *Y. pestis*, доступных в настоящее время в базе данных NCBI, показало, что все штаммы, выделенные в разные годы в разных регионах мира, несмотря на принадлежность к разным подвидам и биоварам, давали одинаковую длину ампликона (239 п.н.). Более того, полученные со штаммами чумного микроба ампликоны не отличались и по нуклеотидной последовательности, что подтверждает приведенные выше данные о стабильности структуры *ysu*-локуса, даже в области, содержащей VNTR. Эти результаты позволяют предположить, что стабильность межгенной области этого локуса у чумного микроба имеет какую-то функциональную нагрузку.

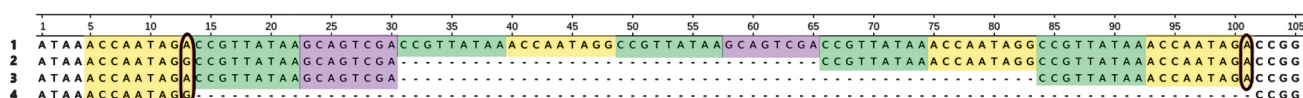


Рис. 2. Нуклеотидная последовательность фрагмента терминатора оперона биосинтеза Ych, которая различается по структуре у *Y. pestis* и различных штаммов *Y. pseudotuberculosis*. Одинаковым цветом выделены тандемные повторы, по набору которых исследуемые штаммы *Y. pseudotuberculosis* разделены на 4 группы. Все штаммы *Y. pestis* имеют структуру этой области, сходную со структурой группы 3

Fig. 2. The nucleotide sequence of the terminator fragment of the Ych biosynthesis operon, which differs in structure in *Y. pestis* and various *Y. pseudotuberculosis* strains. A set of tandem repeats are highlighted in the same color and used to divide the investigated *Y. pseudotuberculosis* strains into 4 groups. All *Y. pestis* strains have a structure of this region similar to that of group 3



В то же время анализ в ПЦР *in silico* с помощью сконструированных праймеров 300 штаммов *Y. pseudotuberculosis* из базы данных NCBI показал, что они имели различную длину ампликона (292–257–239–204 п.н.), хотя большинство штаммов (221 из 300) давали фрагмент 257 п.н. Для того чтобы определить, связаны ли различия в величине ампликонов, полученных с разными штаммами *Y. pseudotuberculosis*, с их серопринадлежностью, проведен анализ серотипов 300 исследованных штаммов. Поскольку сведения о серотипах большинства этих штаммов в базе данных отсутствуют, серотип штаммов определен на основе их геномов в ПЦР *in silico* с помощью метода гено-серотипирования [18]. При таком анализе 300 геномов серотип удалось определить только у 146 штаммов, большинство из которых принадлежат к серотипам O:1a и O:1b, но в небольшом количестве в базе данных представлены и штаммы серотипов O:2 – O:5.

Сравнение ампликонов, полученных в ПЦР *in silico* с праймерами *ysu-interF/R*, у исследованных штаммов *Y. pseudotuberculosis* показало, что большинство штаммов (221 из 300) имели одинаковый размер (257 п.н.) ампликона. Отличающуюся длину межгенной области *ysu*-локуса имели три группы штаммов *Y. pseudotuberculosis*. Первая группа давала фрагмент 292 п.н. и представлена 22 штаммами, у шести из которых с помощью гено-серотипирования

определена принадлежность к серотипу O:1a. Вторую группу (ампликон 239 п.н.) составляли семь штаммов серотипа O:2b. Интересно, что аналогичный ампликон давали все исследованные штаммы чумного микроба (583 штамма), принадлежащие к разным подвидам и биоварам. Третий вариант (204 п.н.) выявлен у 34 штаммов серотипа O:1b.

С целью оценки возможности использования праймеров *ysu-interF/R* для генотипирования штаммов двух видов иерсиний методом ПЦР *in vitro* проведено исследование имеющихся в нашем распоряжении штаммов: 38 *Y. pestis* и 88 *Y. pseudotuberculosis* (табл. 2).

При этом выяснилось, что все штаммы чумного микроба давали одинаковый ампликон в 239 п.н., а штаммы псевдотуберкулезного микроба, как и при анализе геномов в ПЦР *in silico*, можно разделить на 4 группы по длине ампликона: 292–257–239–204 п.н. (рис. 3).

ПЦР-фрагмент, соответствующий 292 п.н., наблюдали у шести штаммов серотипа O:1a, которые были выделены от людей в Западной Европе или на европейской территории России. Наименьший по величине фрагмент, соответствующий 204 п.н., давали штаммы *Y. pseudotuberculosis* серотипа O:1b, выделенные от людей в Иркутской области и Приморском крае (штаммы «дальневосточной группы»). Такие штаммы по ряду генотипических и фенотипических признаков отличаются от остальных штаммов псевдотуберкулезного микроба, вызывают дальневосточную scarlatinoподобную лихорадку и из всех штаммов псевдотуберкулезного микроба характеризуются наибольшей эпидемической опасностью [19]. Интересно, что такой же фрагмент наблюдался и у 56 штаммов, выделенных во время семи вспышек псевдотуберкулеза в разных регионах нашей страны на протяжении 40 лет (с 1981 по 2021 г.), в том числе и при вспышках 2021 г. в Томске и Красноярске.

Таблица 2 / Table 2

Результаты анализа штаммов иерсиний методом ПЦР *in vitro* с праймерами *ysu-interF/R*, комплементарными фланкирующим последовательностям терминаторной области *ysu*-локуса

The results of analysis of *Yersinia* strains using PCR *in vitro* with *ysu-interF/R* primers complementary to the flanking sequences of the terminator region of the *ysu* locus

Распределение штаммов по группам Distribution of strains by groups	Количество штаммов Number of strains	Длина ампликона (п.н.) Amplicon length (bp)
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>		
Серотип O:1a (группа 1) Serotype O:1a (group 1)	6	292
Серотип O:1a (группа 2) Serotype O:1a (group 2)	3	257
Серотип O:1b (группа 1) Serotype O:1b (group 1)	3	257
Серотип O:1b (группа 2) Serotype O:1b (group 2)	5	257
Серотип O:1b (группа 3) Serotype O:1b (group 3)	65	204
Серотип O:2b Serotype O:2b	3	239
Серотип O:3 Serotype O:3	3	257
<i>Yersinia pestis</i>		
Основной подвид Main subspecies	20	239
Неосновные подвиды Non-main subspecies	18	239

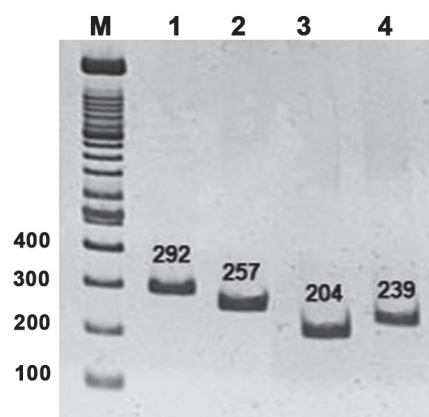


Рис. 3. Электрофореграмма в 5 % акриламидном геле ампликонов, полученных методом ПЦР *in vitro* при использовании ДНК разных штаммов *Y. pseudotuberculosis* в качестве матриц и праймеров *ysu-interF/R*. Маркеры ДНК 100 п.н. № 323-1 (BioLabs, США)

Fig. 3. Electrophoregram of amplicons obtained through PCR *in vitro* using DNA of different *Y. pseudotuberculosis* strains as matrices and *ysu-interF/R* primers in 5 % acrylamide gel. DNA markers of 100 bp № 323-1 (BioLabs, USA)

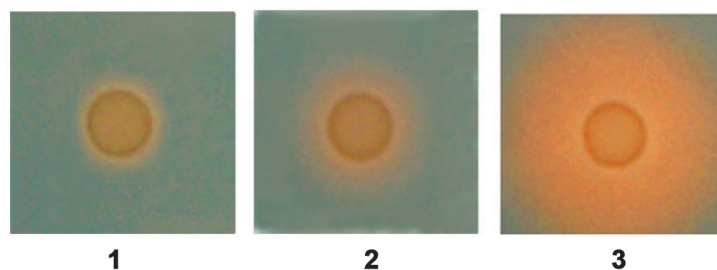


Рис. 4. Сидерофорная активность штаммов *E. coli* H1884, содержащих векторную плазмиду pSC-A-amp/kan (1) и рекомбинантные плазмиды pSC-A-KIM (2) и pSC-A-YPIII (3)

Fig. 4. Siderophore activity of *E. coli* H1884 strains containing vector plasmid pSC-A-amp/kan (1) and recombinant plasmids, pSC-A-KIM (2) and pSC-A-YPIII (3)

**Клонирование генов биосинтеза Ych из штаммов *Y. pestis* KIM и *Y. pseudotuberculosis* YPIII в клетках кишечной палочки.** Различия в структуре области терминатора транскрипции предполагали, что они могут отражаться на эффективности экспрессии генов *usu*-кластера и уровне продукции Ych у штаммов чумного и псевдотуберкулезного микробов. Для оценки влияния различий в структуре межгенной области *usu*-кластера на экспрессию Ych сконструированы две рекомбинантные плазмиды, содержащие полученные с помощью ПЦР копии оперонов биосинтеза Ych двух штаммов, *Y. pestis* KIM и *Y. pseudotuberculosis* YPIII. Праймеры для получения ПЦР-копий генов биосинтеза Ych (*usuF* и *usuR*) разработаны с помощью программы Vector NTI 11 на основе последовательности нуклеотидов обоих штаммов из базы данных NCBI. ПЦР-копии оперонов биосинтеза Ych двух штаммов включали структурные гены (аналоги *upo1528-1532* в штамме *Y. pestis* CO92), а также промоторные и терминаторные последовательности оперонов. Копии оперонов штамма KIM и YPIII имели длину 6757 и 6775 п.н. соответственно и отличались только длиной терминаторной области (239 и 257 п.н.).

В качестве вектора для клонирования генов биосинтеза Ych использовали плазмиду pSC-A-amp/kan (Stratagene, США), которая содержит участки для клонирования фрагментов ДНК, полученных с помощью ПЦР. Подтверждение конструкции рекомбинантных плазмид проведено с помощью ПЦР с праймером *pM13rev*, который комплементарен векторной плазмиде, и праймерами, использованными для клонирования ПЦР-копий *usu*-локуса (табл. 1). Введение рекомбинантных плазмид pSC-A-KIM и pSC-A-YPIII в штамм *E. coli* H1884, лишенный собственных сидерофоров, продемонстрировало, что оперон штамма YPIII определяет значительно более высокую экспрессию Ych, чем оперон штамма KIM (рис. 4).

Результаты проведенного исследования показывают, что структура терминатора транскрипции оперона биосинтеза Ych оказывает значительное влияние на экспрессию этого сидерофора, которая более активна у бактерий, содержащих оперон *usu* из *Y. pseudotuberculosis*, по сравнению с опероном *Y. pestis*. В научной литературе мы не нашли сведений о влиянии структуры терминаторов транскрипции на экспрессию генов чумного микроба. Многочисленные исследования процессов регуляции экспрессии генов *Y. pestis* сосредоточены

главным образом на инициации транскрипции и пост-транскрипционном уровне с помощью малых РНК [20]. Осознание того, что терминация транскрипции является важнейшим этапом экспрессии генов, который способствует освобождению РНК-полимеразы и вновь синтезированного транскрипта от ДНК-матрицы, в последние годы побудило исследователей уделить пристальное внимание этому механизму реализации генетической информации. С помощью методов биоинформатики и анализа терминаторов транскрипции различных генов *E. coli* был разработан алгоритм [21] для различения слабых и сильных терминаторов. Анализ активности ряда Rho-зависимых терминаторов *in vitro* и *in vivo* показал, что на их эффективность оказывает значительное влияние наличие в клетке таких факторов, как белок NusG, определенные sRNA, а также сама синтезирующаяся mRNA [22, 23].

Выявленные в настоящем исследовании различия в экспрессии оперонов биосинтеза Ych, полученных из *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*, в рекомбинантных штаммах кишечной палочки позволяют предположить, что штаммы псевдотуберкулезного микроба, у большинства которых отсутствуют гены биосинтеза Ybt [10], компенсируют этот недостаток более активной экспрессией Ych.

Полученные данные о вариабельности нуклеотидных последовательностей терминатора оперона биосинтеза Ych у разных штаммов псевдотуберкулезного микроба позволяют использовать эту область как мишень для разработки тест-систем для внутривидовой дифференциации *Y. pseudotuberculosis*.

**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. Begg S.L. The role of metal ions in the virulence and viability of bacterial pathogens. *Biochem. Soc. Trans.* 2019; 47(1):77–87. DOI: 10.1042/BST20180275.
2. Khan A., Singh P., Srivastava A. Synthesis, nature and utility of universal iron chelator – siderophore: a review. *Microbiol. Res.* 2018; 212–213:103–11. DOI: 10.1016/j.micres.2017.10.012.
3. Prabhakar P.K. Bacterial siderophores and their potential applications: a review. *Curr. Mol. Pharmacol.* 2020; 13(4):295–305. DOI: 10.2174/1874467213666200518094445.
4. Khasheii B., Mahmoodi P., Mohammadzadeh A. Siderophores: importance in bacterial pathogenesis and applications in medicine and industry. *Microbiol. Res.* 2021; 250:126790. DOI: 10.1016/j.micres.2021.126790.

5. Holden V.I., Bachman M.A. Diverging roles of bacterial siderophores during infection. *Metallomics*. 2015; 7(6):986–95. DOI: 10.1039/c4mt00333k.
6. McRose D.L., Seyedsayamdost M.R., Morel F.M.M. Multiple siderophores: bug or feature? *J. Biol. Inorg. Chem.* 2018; 23(7):983–93. DOI: 10.1007/s00775-018-1617-x.
7. Zhu J., Wang T., Chen L., Du H. Virulence factors in hyper-virulent *Klebsiella pneumoniae*. *Front. Microbiol.* 2021; 12: 642484. DOI: 10.3389/fmicb.2021.642484.
8. Perry R.D., Fetherston J.D. Yersiniabactin iron uptake: mechanisms and role in *Yersinia pestis* pathogenesis. *Microbes Infect.* 2011; 13(10):808–17. DOI: 10.1016/j.micinf.2011.04.008.
9. Forman S., Paulley J.T., Fetherston J.D. Cheng Y.-Q., Perry R.D. *Yersinia* ironomics: comparison of iron transporters among *Yersinia pestis* biotypes and its nearest neighbor, *Yersinia pseudotuberculosis*. *Biometals*. 2010; 23(2):275–94. DOI: 10.1007/s10534-009-9286-4.
10. Rakin A., Schneider L., Podladchikova O. Hunger for iron: the alternative siderophore iron scavenging systems in highly virulent *Yersinia*. *Front. Cell. Inf. Microbiol.* 2012; 2:151. DOI: 10.3389/fcimb.2012.00151.
11. Кузнецова Д.А., Подладчикова О.Н. Клонирование и экспрессия генов биосинтеза сидерофора иерсиниахелина *Yersinia pestis* в клетках *Escherichia coli*. *Бактериология*. 2018; 3(1):36–44. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-36-44.
12. Brickman T.J., Armstrong S.K. Temporal signaling and differential expression of *Bordetella* iron transport systems: the role of ferrimones and positive regulators. *Biometals*. 2009; 22(1):33–41. DOI: 10.1007/s10534-008-9189-9.
13. Кузнецова Д.А., Рыкова В.А., Подладчикова О.Н. Роль сидерофора иерсиниахелина в физиологии *Yersinia pestis*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 4:75–81. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-75-81.
14. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.
15. Schwyn B., Neilands J.B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal. Biochem.* 1987; 160(1):47–56. DOI: 10.1016/0003-2697(87)90612-9.
16. Кузнецова Д.А., Водопьянов А.С., Подладчикова О.Н., Рыкова В.А., Трухачев А.Л. SiderophoreAnalyzer – программа для выявления генов, отвечающих за синтез сидерофоров, в полногеномных нуклеотидных последовательностях энтеробактерий. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2022680676 от 03.11.2022.
17. Ray-Soni A., Bellecourt M.J., Landick R. Mechanisms of bacterial transcription termination: all good things must end. *Annu. Rev. Biochem.* 2016; 85:319–47. DOI: 10.1146/annurev-biochem-060815-014844.
18. Bogdanovich T., Carniel E., Fukushima H., Skurnik M. Use of O-antigen gene cluster-specific PCRs for the identification and O-genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia pestis*. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41(11):5103–12. DOI: 10.1128/JCM.41.11.5103-5112.2003.
19. Somova L.M., Antonenko F.F., Timchenko N.F., Lyapun I.N. Far eastern scarlet-like fever is a special clinical and epidemic manifestation of *Yersinia pseudotuberculosis* infection in Russia. *Pathogens*. 2020; 9(6):436. DOI: 10.3390/pathogens9060436.
20. Han Y., Fang H., Liu L., Zhou D. Genetic regulation of *Yersinia pestis*. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016; 918:223–56. DOI: 10.1007/978-94-024-0890-4\_8.
21. Nadiras C., Eveno E., Schwartz A., Figueroa-Bossi N., Boudvillain M. A multivariate prediction model for Rho-dependent termination of transcription. *Nucleic Acids Res.* 2018; 46(16):8245–60. DOI: 10.1093/nar/gky563.
22. Chen J., Morita T., Gottesman S. Regulation of transcription termination of small RNAs and by small RNAs: molecular mechanisms and biological functions. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019; 9:201. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00201.
23. Chhakchhuak P.I.R., Sen R. *In vivo* regulation of bacterial Rho-dependent transcription termination by the nascent RNA. *J. Biol. Chem.* 2022; 298(6):102001. DOI: 10.1016/j.jbc.2022.102001.
5. Holden V.I., Bachman M.A. Diverging roles of bacterial siderophores during infection. *Metallomics*. 2015; 7(6):986–95. DOI: 10.1039/c4mt00333k.
6. McRose D.L., Seyedsayamdost M.R., Morel F.M.M. Multiple siderophores: bug or feature? *J. Biol. Inorg. Chem.* 2018; 23(7):983–93. DOI: 10.1007/s00775-018-1617-x.
7. Zhu J., Wang T., Chen L., Du H. Virulence factors in hyper-virulent *Klebsiella pneumoniae*. *Front. Microbiol.* 2021; 12: 642484. DOI: 10.3389/fmicb.2021.642484.
8. Perry R.D., Fetherston J.D. Yersiniabactin iron uptake: mechanisms and role in *Yersinia pestis* pathogenesis. *Microbes Infect.* 2011; 13(10):808–17. DOI: 10.1016/j.micinf.2011.04.008.
9. Forman S., Paulley J.T., Fetherston J.D. Cheng Y.-Q., Perry R.D. *Yersinia* ironomics: comparison of iron transporters among *Yersinia pestis* biotypes and its nearest neighbor, *Yersinia pseudotuberculosis*. *Biometals*. 2010; 23(2):275–94. DOI: 10.1007/s10534-009-9286-4.
10. Rakin A., Schneider L., Podladchikova O. Hunger for iron: the alternative siderophore iron scavenging systems in highly virulent *Yersinia*. *Front. Cell. Inf. Microbiol.* 2012; 2:151. DOI: 10.3389/fcimb.2012.00151.
11. Kuznetsova D.A., Podladchikova O.N. [Cloning and expression of *Yersinia pestis* yersiniachelin siderophore biosynthesis genes in *Escherichia coli*]. *Bakteriologiya [Bacteriology]*. 2018; 3(1):36–44. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-36-44.
12. Brickman T.J., Armstrong S.K. Temporal signaling and differential expression of *Bordetella* iron transport systems: the role of ferrimones and positive regulators. *Biometals*. 2009; 22(1):33–41. DOI: 10.1007/s10534-008-9189-9.
13. Kuznetsova D.A., Rykova V.A., Podladchikova O.N. [The role of the yersiniachelin siderophore in the physiology of *Yersinia pestis*]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (4):75–81. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-75-81.
14. Onishchenko G.G., Kuttyrev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Dangerous Infectious Diseases. Practice Guidelines]. Moscow: CJSC “Shiko”; 2013. 560 p.
15. Schwyn B., Neilands J.B. [Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores]. *Anal. Biochem.* 1987; 160(1):47–56. DOI: 10.1016/0003-2697(87)90612-9.
16. Kuznetsova D.A., Vodop'yanov A.S., Podladchikova O.N., Rykova V.A., Trukhachev A.L. [“SiderophoreAnalyzer” – a program for identifying genes responsible for the synthesis of siderophores in full-genome nucleotide sequences of enterobacteria]. Certificate of state registration of a computer program No. 2022664662 dated 03 Nov 2022.
17. Ray-Soni A., Bellecourt M.J., Landick R. Mechanisms of bacterial transcription termination: all good things must end. *Annu. Rev. Biochem.* 2016; 85:319–47. DOI: 10.1146/annurev-biochem-060815-014844.
18. Bogdanovich T., Carniel E., Fukushima H., Skurnik M. Use of O-antigen gene cluster-specific PCRs for the identification and O-genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia pestis*. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41(11):5103–12. DOI: 10.1128/JCM.41.11.5103-5112.2003.
19. Somova L.M., Antonenko F.F., Timchenko N.F., Lyapun I.N. Far eastern scarlet-like fever is a special clinical and epidemic manifestation of *Yersinia pseudotuberculosis* infection in Russia. *Pathogens*. 2020; 9(6):436. DOI: 10.3390/pathogens9060436.
20. Han Y., Fang H., Liu L., Zhou D. Genetic regulation of *Yersinia pestis*. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016; 918:223–56. DOI: 10.1007/978-94-024-0890-4\_8.
21. Nadiras C., Eveno E., Schwartz A., Figueroa-Bossi N., Boudvillain M. A multivariate prediction model for Rho-dependent termination of transcription. *Nucleic Acids Res.* 2018; 46(16):8245–60. DOI: 10.1093/nar/gky563.
22. Chen J., Morita T., Gottesman S. Regulation of transcription termination of small RNAs and by small RNAs: molecular mechanisms and biological functions. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019; 9:201. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00201.
23. Chhakchhuak P.I.R., Sen R. *In vivo* regulation of bacterial Rho-dependent transcription termination by the nascent RNA. *J. Biol. Chem.* 2022; 298(6):102001. DOI: 10.1016/j.jbc.2022.102001.

## References

1. Begg S.L. The role of metal ions in the virulence and viability of bacterial pathogens. *Biochem. Soc. Trans.* 2019; 47(1):77–87. DOI: 10.1042/BST20180275.
2. Khan A., Singh P., Srivastava A. Synthesis, nature and utility of universal iron chelator – siderophore: a review. *Microbiol. Res.* 2018; 212-213:103–11. DOI: 10.1016/j.micres.2017.10.012.
3. Prabhakar P.K. Bacterial siderophores and their potential applications: a review. *Curr. Mol. Pharmacol.* 2020; 13(4):295–305. DOI: 10.2174/1874467213666200518094445.
4. Khasheii B., Mahmoodi P., Mohammadzadeh A. Siderophores: importance in bacterial pathogenesis and applications in medicine and industry. *Microbiol. Res.* 2021; 250:126790. DOI: 10.1016/j.micres.2021.126790.

## Authors:

Kuznetsova D.A., Vodop'yanov A.S., Trukhachev A.L., Rykova V.A., Podladchikova O.N. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

## Об авторах:

Кузнецова Д.А., Водопьянов А.С., Трухачев А.Л., Рыкова В.А., Подладчикова О.Н. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.



DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-133-143

УДК 616.98:578.833.29(470+574+55)

И.А. Лизинфельд<sup>1,2</sup>, Н.Ю. Пшеничная<sup>1,2,3</sup>, Е.В. Найденова<sup>4</sup>, Г.А. Гуркин<sup>4</sup>, К.Д. Блинова<sup>4</sup>,  
Г.Н. Абуова<sup>5</sup>, Н. Leblebicioglu<sup>6</sup>, М. Mardani<sup>7</sup>, В.Г. Акимкин<sup>1</sup>

**Оценка влияния климатических факторов на заболеваемость  
Крымской геморрагической лихорадкой: комплексный анализ данных по России,  
Казахстану, Турции и Ирану с 1999 по 2022 г.**

<sup>1</sup>ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии», Москва, Российская Федерация;

<sup>2</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Российская Федерация; <sup>3</sup>ГБУЗ Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва, Российская Федерация; <sup>4</sup>ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; <sup>5</sup>АО «Южно-Казахстанская медицинская академия», Шымкент, Республика Казахстан; <sup>6</sup>Инфекционное отделение госпиталя VM Medical Park Samsun, Самсун, Турецкая Республика;

<sup>7</sup>Исследовательский центр инфекционных болезней и тропической медицины Медицинского университета им. Шахида Бехешти, Тегеран, Исламская Республика Иран

В последние десятилетия эпидемиология инфекционных болезней, передающихся трансмиссивным путем, существенно изменилась из-за глобального потепления климата, оказывающего влияние на условия обитания переносчиков и увеличение скорости распространения возбудителей. Это может привести как к расширению границ существующих, так и к возникновению новых природных очагов инфекционных болезней, в том числе и Крымской геморрагической лихорадки (КГЛ). **Цель** исследования – комплексная оценка возможного влияния климатических факторов на заболеваемость КГЛ на эндемичных территориях России, Казахстана, Турции и Ирана в 1999–2022 гг. **Материалы и методы.** Проанализированы данные о количестве лабораторно подтвержденных случаев КГЛ в эндемичных регионах России, Казахстана, Турции и Ирана и проведено их сравнение с ежегодными климатическими показателями (среднегодовая температура, самая высокая и самая низкая среднегодовые температуры и среднегодовое количество выпавших осадков) начиная с 1999 г. **Результаты и обсуждение.** За период наблюдения заболеваемость КГЛ в рассматриваемых регионах отличалась разнонаправленной динамикой. Корреляционный анализ выявил положительную связь между среднегодовым количеством осадков и случаями КГЛ ( $r_{xy}=0,553$ ;  $p<0,001$ ), а температурные параметры не имели статистической значимости. Регрессионный анализ подтвердил важность фиктивных переменных, представляющих страны и временной период, но не показал статистически значимых взаимосвязей между климатическими факторами. Суммарное (в рассматриваемых странах) среднегодовое количество выпавших осадков – статистически значимый фактор ( $b=1,600$ ;  $s.e.=0,192$ ;  $p<0,001$ ), что подчеркивает потенциальное влияние изменения климатических условий на распространение вируса Крымско-Конго геморрагической лихорадки. Метод множественной линейной регрессии выявил статистически значимое влияние самой высокой температуры воздуха ( $b=27,645$ ;  $s.e.=7,859$ ;  $p<0,001$ ) и количества осадков ( $b=1,473$ ;  $s.e.=0,197$ ;  $p<0,001$ ) на заболеваемость КГЛ. Исследование показывает необходимость включения ежегодного прогнозирования климата в стратегии контроля за заболеваемостью КГЛ и разработки единых систем мониторинга для более точной оценки эпидемиологической ситуации в эндемичных регионах.

**Ключевые слова:** вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки, заболеваемость Крымской геморрагической лихорадкой, эндемичные регионы, глобальное потепление климата, влияние изменения климата на заболеваемость.

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

Для цитирования: Лизинфельд И.А., Пшеничная Н.Ю., Найденова Е.В., Гуркин Г.А., Блинова К.Д., Абуова Г.Н., Leblebicioglu Н., Mardani М., Акимкин В.Г. Оценка влияния климатических факторов на заболеваемость Крымской геморрагической лихорадкой: комплексный анализ данных по России, Казахстану, Турции и Ирану с 1999 по 2022 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 3:133–143. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-133-143  
Поступила 01.08.2024. Отправлена на доработку 23.08.2024. Принята к публ. 11.09.2024.

I.A. Lizinfeld<sup>1,2</sup>, N.Yu. Pshenichnaya<sup>1,2,3</sup>, E.V. Naidenova<sup>4</sup>, G.A. Gurkin<sup>4</sup>, K.D. Blinova<sup>4</sup>, G.N. Abuova<sup>5</sup>,  
H. Leblebicioglu<sup>6</sup>, M. Mardani<sup>7</sup>, V.G. Akimkin<sup>1</sup>

**Assessment of the Influence of Climatic Factors on the Incidence of Crimean Hemorrhagic  
Fever: a Comprehensive Analysis of Data for Russia, Kazakhstan, Turkey and Iran between  
1999 and 2022**

<sup>1</sup>Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation;

<sup>2</sup>Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation;

<sup>3</sup>Moscow Regional Research and Clinical Institute named after M.F. Vladimirovsky, Moscow, Russian Federation;

<sup>4</sup>Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation;

<sup>5</sup>South Kazakhstan Medical Academy, Shymkent, Republic of Kazakhstan;

<sup>6</sup>VM Medical Park Samsun Hospital, Samsun, Republic of Turkey;

<sup>7</sup>Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Islamic Republic of Iran

**Abstract.** In recent decades, the epidemiology of vector-borne infectious diseases has changed significantly due to global warming, which affects the habitats of vectors and increases the rate of spread of pathogens. This can lead to

both the expansion of the boundaries of existing and the emergence of new natural foci of infectious diseases, including Crimean hemorrhagic fever (CHF). **The aim** of the study was to comprehensively assess the possible impact of climatic factors on the incidence of CHF in the endemic areas of Russia, Kazakhstan, Turkey and Iran in 1999–2022. **Materials and methods.** The data on the number of laboratory-confirmed cases of CHF in the endemic regions of Russia, Kazakhstan, Turkey and Iran were analyzed and compared with annual climatic indicators (average annual temperature, the highest and lowest average annual temperatures and average annual precipitation) starting from 1999. **Results and discussion.** During the observation period, the incidence of CHF in the regions under consideration was featured in a variety of trends. Correlation analysis revealed a positive relation between the average annual precipitation and CHF cases ( $r_{xy}=0.553$ ;  $p<0.001$ ), while temperature parameters were not statistically significant. Regression analysis confirmed the importance of dummy variables representing countries and time period, but did not show statistically significant relations between climatic factors. The total (in the countries under consideration) average annual precipitation is a statistically significant factor ( $b=1.600$ ;  $s.e.=0.192$ ;  $p<0.001$ ), which emphasizes the potential impact of changing climatic conditions on the spread of the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. The multiple linear regression method revealed a statistically significant effect of the highest air temperature ( $b=27.645$ ;  $s.e.=7.859$ ;  $p<0.001$ ) and precipitation ( $b=1.473$ ;  $s.e.=0.197$ ;  $p<0.001$ ) on the incidence of CHF. The study shows the need to include annual climate forecasting in CHF control strategies and to develop unified monitoring systems for a more accurate assessment of the epidemiological situation in endemic regions.

**Key words:** Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, incidence of Crimean hemorrhagic fever, endemic regions, global climate warming, the impact of climate change on morbidity rates.

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

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

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

**Citation:** Lizinfield I.A., Pshenichnaya N.Yu., Naidenova E.V., Gurkin G.A., Blinova K.D., Abuova G.N., Leblebicioglu H., Mardani M., Akimkin V.G. Assessment of the Influence of Climatic Factors on the Incidence of Crimean Hemorrhagic Fever: a Comprehensive Analysis of Data for Russia, Kazakhstan, Turkey and Iran between 1999 and 2022. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 3:133–143. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-133-143  
Received 01.08.2024. Revised 23.08.2024. Accepted 11.09.2024.

Lizinfield I.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8114-1002>

Pshenichnaya N.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2570-711X>

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

Gurkin G.A., ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-1864-3009>

Blinova K.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5416-6714>

Abuova G.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1210-2018>

Leblebicioglu H., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6033-8543>

Mardani M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6082-072X>

Akimkin V.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) признала изменение климата и всеобщее глобальное потепление наиболее значимыми проблемами, стоящими перед человечеством в XXI в. По прогнозам экологов всего мира, в ближайшие десятилетия средняя температура воздуха на планете вырастет примерно на 2–5 °C, что приведет к заметным изменениям климатических и экологических условий. Процессы, связанные с экстремальными погодными явлениями, несомненно, влияют на эпидемический процесс и распространение возбудителей инфекционных болезней и представляют серьезный риск для экосистем, сложившихся в окружающей среде [1].

Эпидемиология трансмиссивных заболеваний в последние десятилетия начала меняться по ряду причин, связанных, в первую очередь, с глобальным потеплением климата, что оказывает существенное влияние на условия обитания популяций переносчиков и влечет за собой увеличение скорости распространения возбудителей и вероятности передачи возбудителей болезней человека и животных. Такие события могут привести как к расширению границ существующих, так и к возникновению новых природных очагов опасных инфекционных болезней. При этом ареал определенных видов животных продвигается как на северные территории (на сотни километров), так и на сотни метров на большие высоты [2].

В природных очагах трансмиссивных инфекций выделяют два основных аспекта влияния климата: долговременные изменения, приводящие к расши-

рению географического ареала переносчиков возбудителя, и кратковременные, которые оказывают воздействие на состояние популяции переносчика в текущем сезоне.

Границы распространения кровососущих эктопаразитов в большей степени определяют среднегодовые и/или зимние температуры и в меньшей – среднегодовое количество осадков. Порог устойчивости к низким температурам является видоспецифичным показателем, который может быть измерен.

Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ) относится к особо опасным инфекциям с трансмиссивным путем передачи возбудителя, основным переносчиками которого являются более 30 видов иксодовых клещей, в основном рода *Hyalomma*. Этиологическим агентом КГЛ является вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus [CCHF], *Orthonairovirus haemorrhagiae*), который относится к семейству *Nairoviridae*.

Случаи заболевания ежегодно регистрируются в странах Европы, Азии и Африки, расположенных ниже 50-й параллели северной широты, которая является географической границей распространения основных видов клещей-переносчиков. Летальность при КГЛ составляет 10 % при передаче трансмиссивным путем и может достигать 50 % при контактом [3].

Известно, что ряд сезонных и климатических факторов являются важными предикторами увели-

чения случаев заболевания КГЛ [4]. Исследования, проведенные в Болгарии, Иране, Турции, позволяют сделать вывод о том, что территории, расположенные в географических регионах с высокой температурой, осадками и влажностью, ассоциированы с более высокой распространенностью вируса КГЛ [5–7].

В последние годы наблюдается миграция инфицированных переносчиков в страны Южной Европы: во Францию [8], Испанию [9], Грецию [10, 11], Грузию [12]. Этот сценарий развития событий подтверждает возможность образования новых ареалов, пригодных для обитания клещей-переносчиков, в том числе и *Hyalomma marginatum*, в северных регионах Европы [13]. Так, моделирование климатических сценариев в Средиземноморском регионе показывает существенное повышение температуры и уменьшение количества выпадаемых осадков, что может привести к значительному расширению подходящей среды обитания переносчиков и вызывает опасения эпидемиологов и вирусологов [14].

Глобальное потепление климата оказывает влияние на формирование территорий с подходящими условиями для распространения клещей рода *Hyalomma* в Евразии [15]. На территории Европы расселение основных видов переносчиков с возможностью сохранения в них репликации вируса КГЛ с помощью птиц, в сочетании с изменением климата, может привести к распространению инфекции вплоть до границ Швеции [16–18].

Исследования, доказывающие влияние климатических факторов на заболеваемость КГЛ на территории Российской Федерации, проводились в разные годы. Российские специалисты доказали влияние потепления климата на расширение границ распространения вируса КГЛ в северном направлении, что создает риск возникновения инфекции на новых территориях [19]. Работа Т. Abbas *et al.* в 2017 г. позволила подтвердить корреляцию между ежемесячной температурой и количеством госпитализированных с КГЛ лиц в Пакистане [20]. Анализ данных, проведенный болгарскими исследователями, показал, что повышение средних температур в октябре-ноябре в эндемичных регионах Болгарии увеличило вероятность регистрации случаев КГЛ в следующем году [7]. Но другие ученые, например F. Duugu *et al.*, обнаружили, что повышенный уровень влажности в период роста заболеваемости КГЛ и за месяц до этого, а также увеличение количества осадков за три месяца до начала регистрации случаев этого заболевания приводят к его эскалации [21]. Несколько исследований, проведенных в Иране, также показали, что случаи инфицирования людей вирусом КГЛ имеют достоверную корреляцию с количеством осадков, средней температурой и относительной влажностью воздуха [5, 22]. Установлено, что самая высокая заболеваемость КГЛ в Захедане, одной из провинций Ирана, наблюдалась, когда количество осадков составляло от 15 до 33 мм [23]. Также на этот счет имеются данные некоторых авторов о том, что из-

менения среднемесячных температур не влияли на заболеваемость данной инфекционной болезнью, но установлена зависимость вероятности появления случаев КГЛ от увеличения количества осадков в мае, июне и июле в Средней Анатолии, Турция [24]. Недавно проведенное в Восточной Турции исследование показало, что температура, общее количество осадков и относительная влажность воздуха, как в краткосрочной, так и долгосрочной перспективе, являются значимыми детерминантами заболеваемости КГЛ ( $p < 0,05$  для всех показателей) [6].

В связи с этим важно оценить влияние климатических факторов на распространение вируса КГЛ и возникновение случаев вызванных им заболеваний на новых территориях или рост заболеваемости на эндемичных.

**Целью** исследования являлся анализ возможности влияния изменения климата на уровень заболеваемости людей КГЛ на эндемичных территориях России, Казахстана, Турции и Ирана в 1999–2022 гг.

### Материалы и методы

Выбор стран для исследования проводился на основании ежегодных сведений из открытых источников о случаях КГЛ и климатических показателях (среднегодовая температура, °С, самая высокая и самая низкая среднегодовые температуры, °С, и среднегодовое количество выпавших осадков, мм) за изученный период.

Данные о климате, используемые при ретроспективном анализе, получены из открытых источников, в частности с веб-сайта The Climate Change Knowledge Portal. На сетке с разрешением 0,5° широты и 0,5° долготы портал предоставляет глобальные сведения для всех континентов об исторических и будущих климатических условиях, которые генерируются путем интерполяции ежемесячных изменений климата с использованием метеостанций всего мира. В исследовании также использованы материалы из базы данных The CRU TS (версия 4.07), разработанной сотрудниками Климатического исследовательского центра (Climatic Research Unit, CRU) и Университета Восточной Англии (University of East Anglia, UEA) [25]. В базе аккумулируются результаты обработки данных метеорологических наблюдений с учетом тщательно контролируемых измерений температуры и количества осадков по всему миру.

Также проанализированы официальные данные о количестве лабораторно подтвержденных случаев КГЛ в эндемичных регионах России, Казахстана, Турции и Ирана начиная с 1999 г. Сведения взяты из общедоступных источников, таких как государственные доклады «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации» Роспотребнадзора за 2012–2022 гг., материалы, опубликованные на сайте Министерства здравоохранения Турции, годовые отчеты Научно-практического центра санитарно-



эпидемиологической экспертизы и мониторинга Республики Казахстан, а также из публикаций, представляющих данные об эпидемиологической ситуации в изучаемых странах (Турция [6, 26, 27], Казахстан [28–32], Иран [4, 5, 33, 34]).

Учитывая, что собранные сведения не содержат личной информации и представлены в открытом доступе, данное исследование не подлежит процедуре одобрения со стороны этического комитета.

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения StatTech v.3.1.7 (StatTech LLC, Россия) и программы для обработки данных SPSS версии 28. Количественные показатели оценивались в рамках соответствия нормальному распределению с использованием теста Колмогорова – Смирнова. Направление и сила взаимодействия между двумя количественными параметрами оценивались с использованием коэффициента корреляции Пирсона.

Оценка зависимости случаев заболевания КГЛ (изменяющаяся во времени зависимая переменная) от среднегодовой температуры, самой высокой и самой низкой среднегодовых температур и среднегодового количества выпавших осадков (все меняющиеся во времени предикторы) выполнялась с помощью регрессии с использованием панельных данных, в частности метода наименьших квадратов с фиктивными переменными. Фиктивные переменные представлены четырьмя странами: Россией, Казахстаном, Турцией и Ираном (с ежегодной оценкой числа случаев и климатических параметров). Также произведен множественный линейный регрессионный анализ методом пошагового исключения факторов. Результаты считались значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Исследование является одним из первых, которое отражает влияние климатических факторов на случаи заболевания КГЛ в комплексном анализе четырех стран (Россия, Казахстан, Турция, Иран) с 1999 по 2022 г.

При поиске данных о заболеваемости КГЛ в других эндемичных странах установлено, что информация зачастую является неточной и искаженной. Это, скорее всего, связано с отсутствием единообразного мониторинга и системы учета случаев заболевания по странам.

В ходе проведения исследования вынесены следующие положения:

– Н0 (нулевая гипотеза) – не выявлено влияния изменения климата на возникновение новых случаев КГЛ у людей, проживающих на изучаемых территориях;

– Н1 (альтернативная гипотеза) – изменения климата влияют на возникновение новых случаев КГЛ у людей, проживающих в анализируемых странах.

**Анализ данных в Российской Федерации.** На юге России природные очаги КГЛ продолжают

оставаться одними из наиболее активных на протяжении многих лет [35]. Современные тенденции изменения климата на территории Российской Федерации оказывают благоприятное воздействие на распространение иксодовых клещей вида *H. marginatum*. Интенсивная эпизоотическая активность в естественных очагах КГЛ способствует поддержанию напряженной эпидемиологической обстановки по данному заболеванию на юге европейской части Российской Федерации и распространению возбудителя на территории, где ранее случаи заболевания не регистрировались, например Волгоградская область, Республика Ингушетия и Кабардино-Балкарская Республика [19, 35].

Данные, полученные в результате проведенного анализа динамики случаев КГЛ в России с 1999 по 2022 г., представлены в табл. 1 и графически отображены на рисунке (А).

При анализе лабораторно подтвержденных случаев КГЛ видна разнонаправленная динамика в отдельные годы. Максимальное значение заболеваемости отмечалось в 2007 г., а минимальное – в 2020 г. Наивысший абсолютный прирост был в 2005 г., а наивысшая в абсолютном значении убыль – в 2020 г. Самый высокий темп прироста наблюдался в 2000 г., что составило 123,7 %.

**Анализ данных в Республике Казахстан.** В Казахстане первые официальные эпидемиологические отчеты, связанные с заболеваемостью КГЛ, были представлены в 1948 г., и начиная с этого периода и по настоящее время случаи заболевания на территории страны регистрируются практически ежегодно [28, 29, 32].

В результате проведенного анализа данных в период с 1999 по 2022 г. установлено, что максимальное количество случаев заболевания, вызванных вирусом ККГЛ, в республике отмечалось в 1999 г., а минимальное – в 2004 г. (табл. 2). На рисунке (В) представлены сведения о климатических условиях в рассматриваемый период с учетом случаев КГЛ.

**Анализ данных в Турецкой Республике.** Первый случай заболевания людей КГЛ в Турции зарегистрирован в провинции Токат в 2002 г. [26], с тех пор данная инфекционная болезнь входит в число эндемичных с наибольшим количеством подтвержденных случаев.

В результате проведенного анализа динамики случаев КГЛ в Турции с 2002 по 2022 г. получены следующие данные (рисунок, С; табл. 3).

Максимальное значение случаев КГЛ отмечалось в 2009 г., а минимальное – в 2002 г. Наивысший абсолютный прирост числа заболевших отмечался в 2008 г. (598 случаев).

**Анализ данных в Исламской Республике Иран.** В результате проведенного анализа динамики случаев КГЛ в Иране с 1999 по 2022 г. получены данные, представленные на рисунке (D) и в табл. 4.

Максимальное количество случаев КГЛ на данной территории отмечалось в 2010 г., а минималь-

Таблица 1 / Table 1

Анализ динамики случаев КГЛ в России с 1999 по 2022 г.  
Dynamics of Crimean hemorrhagic fever cases in Russia between 1999 and 2022

Год наблюдения Year of observation	Количество случаев заболевания Number of CHF cases	Абсолютный прирост/убыль Absolute increase/decrease	Показатель наглядности, % The indicator of ostensiveness, %	Показатель роста/снижения, % Growth/decrease indicator, %	Темп роста/снижения, % Growth rate/decrease, %
1999	38	–	100,0	–	–
2000	85	47	223,7	223,7	123,7
2001	59	–26	155,3	69,4	–30,6
2002	97	38	255,3	164,4	64,4
2003	77	–20	202,6	79,4	–20,6
2004	76	–1	200,0	98,7	–1,3
2005	139	63	365,8	182,9	82,9
2006	200	61	526,3	143,9	43,9
2007	234	34	615,8	117,0	17,0
2008	213	–21	560,5	91,0	–9,0
2009	116	–97	305,3	54,5	–45,5
2010	69	–47	181,6	59,5	–40,5
2011	99	30	260,5	143,5	43,5
2012	74	–25	194,7	74,7	–25,3
2013	80	6	210,5	108,1	8,1
2014	92	12	242,1	115,0	15,0
2015	139	47	365,8	151,1	51,1
2016	162	23	426,3	116,5	16,5
2017	79	–83	207,9	48,8	–51,2
2018	72	–7	189,5	91,1	–8,9
2019	134	62	352,6	186,1	86,1
2020	32	–102	84,2	23,9	–76,1
2021	49	17	128,9	153,1	53,1
2022	59	10	155,3	120,4	20,4

ное – в 1999 г. Наивысший абсолютный прирост количества больных был в 2010 г., а убыль – в 2011 г. Самый высокий темп прироста зарегистрирован в 2000 г. – 300,0 %.

При выполнении корреляционного анализа взаимосвязи климатических факторов и случаев заболевания КГЛ, регистрируемых в России, Казахстане, Турции и Иране, установлены статистически незначимые обратные связи с колебаниями температур ( $r_{xy} = -0,171$  [ $p < 0,096$ ],  $r_{xy} = -0,160$  [ $p < 0,120$ ] и  $r_{xy} = -0,151$  [ $p < 0,142$ ]), а с количеством выпавших осадков – прямая связь ( $r_{xy} = 0,553$  [ $p < 0,001$ ]) для всех стран.

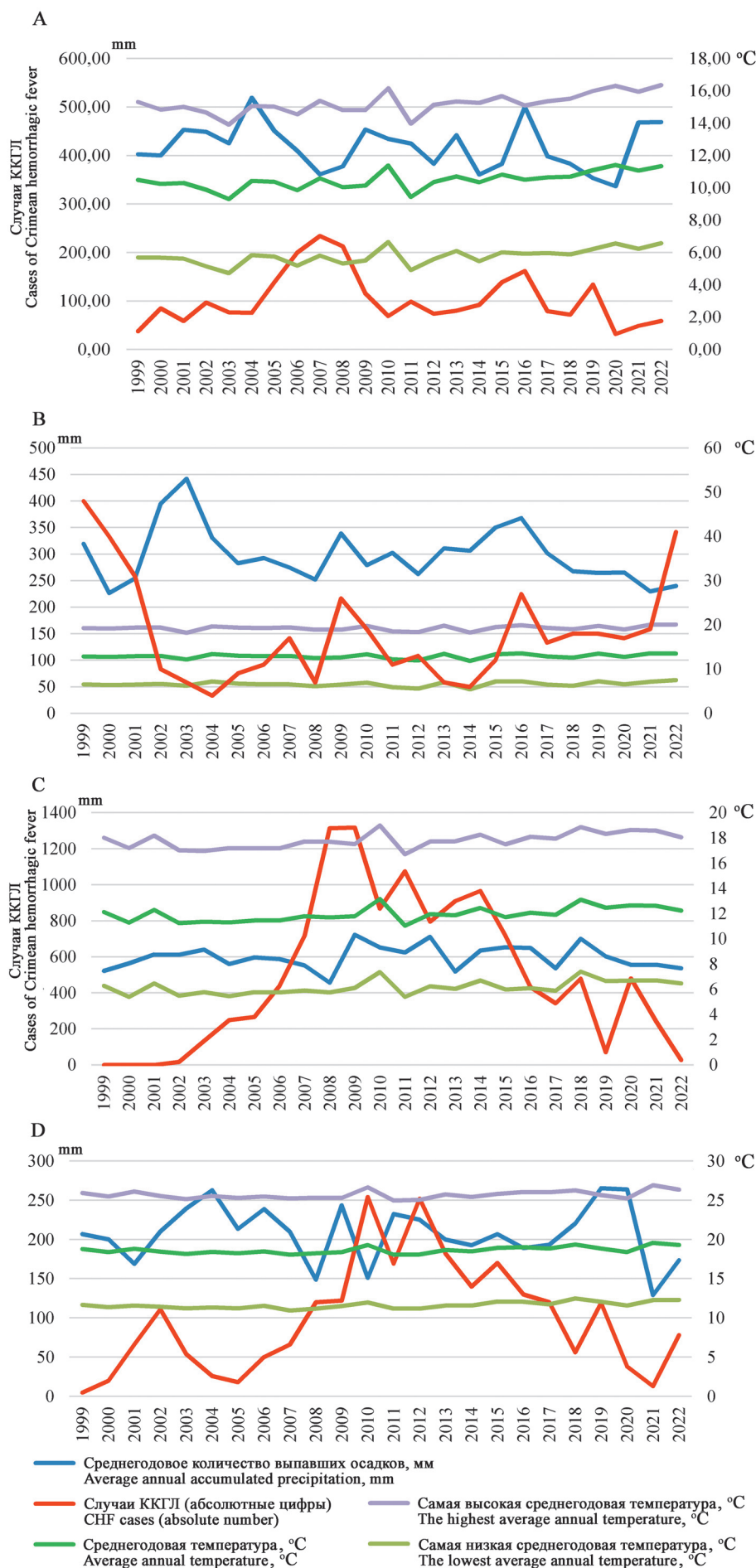
Фиктивные переменные, представляющие страны в первой модели, объясняют 43,4 % общей вариации случаев КГЛ. Эффект фиктивных переменных статистически значим, подтверждается F-тестом ( $F[3,92] = 23,539$ ;  $p < 0,001$ ), указывая на наличие различий в количестве случаев КГЛ в разных странах. R-квадрат для второй модели составляет 0,796, что говорит о том, что фиктивные переменные и изменяющиеся во времени факторы объясняют 79,6 % общей вариации зависимой переменной (количество случаев КГЛ). F-тест подтверждает статистическую значимость учтенной вариации ( $F[29,66] = 3,932$ ;  $p < 0,001$ ).

Изменение R-квадрата от первой модели ко второй составляет 0,199 ( $F[26,66] = 1,379$ ;  $p < 0,148$ ). Учет

отдельных факторов дает следующие результаты: самая низкая среднегодовая температура ( $b = 3,705$ ;  $s.e. = 148,725$ ;  $p > 0,980$ ) не оказывает статистически значимого влияния, среднегодовое количество выпавших осадков ( $b = 0,579$ ;  $s.e. = 0,626$ ;  $p > 0,358$ ) также не является статистически значимым предиктором, самая высокая среднегодовая температура ( $b = 106,191$ ;  $s.e. = 138,933$ ;  $p > 0,447$ ) не демонстрирует статистической значимости.

Таким образом, хотя климатические изменения являются положительными факторами (при общей оценке на суммарную заболеваемость в странах), их влияние на количество случаев КГЛ не является статистически значимым после учета различий между странами и временной динамики по годам.

На следующем этапе анализа проведена проверка альтернативной гипотезы  $H_1$  с помощью регрессионного панельного анализа без фиктивной переменной (страны), но с учетом периода времени – с 1999 по 2022 г. Показано, что самая низкая среднегодовая температура ( $b = 1,765$ ;  $s.e. = 33,415$ ;  $p < 0,958$ ) и самая высокая среднегодовая температура ( $b = 30,997$ ;  $s.e. = 20,673$ ;  $p < 0,138$ ) являются положительными, но незначимыми изменяющимися во времени факторами в этой модели. А среднегодовое количество выпавших осадков ( $b = 1,600$ ;  $s.e. = 0,192$ ;  $p < 0,001$ ) – положительным и значимым условием, изменяющимся во времени. Из этого следует, что среднегодовое ко-



Анализ влияния климатических факторов на случаи КГЛ с 1999 по 2022 г.:

A – Россия; B – Казахстан; C – Турция; D – Иран

Analysis of the influence of climatic factors on Crimean hemorrhagic fever cases between 1999 and 2022:

A – Russia; B – Kazakhstan; C – Turkey; D – Iran



Таблица 2 / Table 2

Анализ динамики случаев КГЛ в Казахстане с 1999 по 2022 г.  
Dynamics of Crimean hemorrhagic fever cases in Kazakhstan between 1999 and 2022

Год наблюдения Year of observation	Количество случаев заболевания Number of CHF cases	Абсолютный прирост/убыль Absolute increase/decrease	Показатель наглядности, % The indicator of ostensiveness, %	Показатель роста/снижения, % Growth/decrease indicator, %	Темп роста/снижения, % Growth rate/decrease, %
1999	48	–	100,0	–	–
2000	40	–8	83,3	83,3	–16,7
2001	31	–9	64,6	77,5	–22,5
2002	10	–21	20,8	32,3	–67,7
2003	7	–3	14,6	70,0	–30,0
2004	4	–3	8,3	57,1	–42,9
2005	9	5	18,8	225,0	125,0
2006	11	2	22,9	122,2	22,2
2007	17	6	35,4	154,5	54,5
2008	7	–10	14,6	41,2	–58,8
2009	26	19	54,2	371,4	271,4
2010	19	–7	39,6	73,1	–26,9
2011	11	–8	22,9	57,9	–42,1
2012	13	2	27,1	118,2	18,2
2013	7	–6	14,6	53,8	–46,2
2014	6	–1	12,5	85,7	–14,3
2015	12	6	25,0	200,0	100,0
2016	27	15	56,2	225,0	125,0
2017	16	–11	33,3	59,3	–40,7
2018	18	2	37,5	112,5	12,5
2019	18	0	37,5	100,0	0,0
2020	17	–1	35,4	94,4	–5,6
2021	19	2	39,6	111,8	11,8
2022	41	22	85,0	215,8	115,8

Таблица 3 / Table 3

Анализ динамики случаев КГЛ в Турции с 2002 по 2022 г.  
Dynamics of Crimean hemorrhagic fever cases in Turkey between 2002 and 2022

Год наблюдения Year of observation	Количество случаев заболевания Number of CHF cases	Абсолютный прирост/убыль Absolute increase/decrease	Показатель наглядности, % The indicator of ostensiveness, %	Показатель роста/снижения, % Growth/decrease indicator, %	Темп роста/снижения, % Growth rate/decrease, %
2002	17	–	100,0	–	–
2003	133	116	782,4	782,4	682,4
2004	249	116	1464,7	187,2	87,2
2005	266	17	1564,7	106,8	6,8
2006	438	172	2576,5	164,7	64,7
2007	717	279	4217,6	163,7	63,7
2008	1315	598	7735,3	183,4	83,4
2009	1318	3	7752,9	100,2	0,2
2010	868	–450	5105,9	65,9	–34,1
2011	1075	207	6323,5	123,8	23,8
2012	796	–279	4682,4	74,0	–26,0
2013	910	114	5352,9	114,3	14,3
2014	967	57	5688,2	106,3	6,3
2015	718	–249	4223,5	74,3	–25,7
2016	432	–286	2541,2	60,2	–39,8
2017	343	–89	2017,6	79,4	–20,6
2018	480	137	2817,6	139,9	39,9
2019	71	–409	417,6	14,8	–85,2
2020	480	409	2823,5	676,1	576,1
2021	243	–237	1429,4	50,6	–49,4
2022	27	–216	158,8	11,1	–88,9

Таблица 4 / Table 4

Анализ динамики случаев КГЛ в Иране с 1999 по 2022 г.  
Dynamics of Crimean hemorrhagic fever cases in Iran between 1999 and 2022

Год наблюдения Year of observation	Количество случаев заболевания Number of CHF cases	Абсолютный прирост/убыль Absolute increase/decrease	Показатель наглядности, % The indicator of ostensiveness, %	Показатель роста/снижения, % Growth/decrease indicator, %	Темп роста/снижения, % Growth rate/decrease, %
1999	5	–	100,0	–	–
2000	20	15	400,0	400,0	300,0
2001	66	46	1320,0	330,0	230,0
2002	111	45	2220,0	168,2	68,2
2003	54	–57	1080,0	48,6	–51,4
2004	26	–28	520,0	48,1	–51,9
2005	18	–8	360,0	69,2	–30,8
2006	50	32	1000,0	277,8	177,8
2007	66	16	1320,0	132,0	32,0
2008	120	54	2400,0	181,8	81,8
2009	122	2	2440,0	101,7	1,7
2010	254	132	5080,0	208,2	108,2
2011	169	–85	3380,0	66,5	–33,5
2012	252	83	5040,0	149,1	49,1
2013	182	–70	3640,0	72,2	–27,8
2014	140	–42	2800,0	76,9	–23,1
2015	170	30	3400,0	121,4	21,4
2016	130	–40	2600,0	76,5	–23,5
2017	120	–10	2400,0	92,3	–7,7
2018	56	–64	1120,0	46,7	–53,3
2019	119	63	2380,0	212,5	112,5
2020	38	–81	760,0	31,9	–68,1
2021	13	–25	260,0	34,2	–65,8
2022	78	65	1560,0	600,0	500,0

личество выпавших осадков значимо влияет на зависимую переменную во времени. Колебания температуры (самая низкая, самая высокая и среднегодовая) как факторы не являются статистически значимыми после удаления фиктивной переменной (страны).

Это означает, что с увеличением среднегодового количества выпавших осадков на 1 мм следует ожидать увеличения случаев КГЛ на 1,600. Полученная регрессионная модель характеризуется коэффициентом корреляции  $r_{xy}=0,776$ , что соответствует заметной силе связи по шкале Чеддока. Модель статистически значима ( $p<0,001$ ).

В последующем анализе удалены все фиктивные переменные (страны и период времени) и получены следующие результаты: самая низкая среднегодовая температура ( $b=-13,964$ ;  $s.e.=34,794$ ;  $p<0,689$ ) является отрицательным и незначимым фактором; самая высокая среднегодовая температура ( $b=36,156$ ;  $s.e.=21,826$ ;  $p<0,101$ ) – положительным, но незначимым фактором; а среднегодовое количество выпавших осадков ( $b=1,464$ ;  $s.e.=0,199$ ;  $p<0,001$ ) – и положительным, и значимым фактором в этой модели. Это означает, что среднегодовое количество выпавших осадков имеет значительное влияние на зависимую переменную без учета времени и страны.

Полученные статистические данные подтверждают теорию, что увеличение среднегодового количества выпавших осадков на 1 мм сопровождается

увеличением случаев КГЛ на 1,464. Полученная регрессионная модель характеризуется коэффициентом корреляции  $r_{xy}=0,625$ , что соответствует заметной силе связи по шкале Чеддока. Модель статистически значима ( $p<0,001$ ) и объясняет 39,1 % наблюдаемой дисперсии показателя.

В продолжение анализа, с использованием метода множественной линейной регрессии с пошаговым исключением отдельных составляющих, рассмотрено влияние климатических факторов на количество случаев КГЛ. В регрессионной модели учтены такие показатели, как среднегодовая температура, самая низкая и самая высокая среднегодовые температуры, а также среднегодовое количество выпавших осадков. Выявлены следующие закономерности: самая высокая среднегодовая температура и среднегодовое количество выпавших осадков оказались статистически значимыми факторами ( $p<0,001$ ). Увеличение самой высокой среднегодовой температуры на 1 °C сопровождается увеличением количества случаев КГЛ на 27,645. Аналогично при увеличении среднегодового количества выпавших осадков на 1 мм ожидается увеличение случаев КГЛ на 1,473. Полученная регрессионная модель характеризуется коэффициентом корреляции  $r_{xy}=0,626$ , что соответствует заметной тесноте связи по шкале Чеддока. Модель статистически значима ( $p<0,001$ ) и объясняет 39,2 % наблюдаемой дисперсии.

Таким образом, интегрируя эти результаты с предыдущей частью анализа, удалось получить комплексное представление о влиянии климатических факторов на количество случаев КГЛ в рассматриваемых регионах.

Корреляционный анализ выявил, что среднегодовое количество выпавших осадков имеет статистически значимую положительную связь с количеством случаев КГЛ, в то время как температурные параметры (среднегодовая, самая низкая и самая высокая среднегодовые температуры) демонстрируют слабую отрицательную связь, не достигая статистической значимости. Далее, регрессионный анализ с использованием панельных данных подтвердил важность фиктивных переменных, представляющих страны. Эти переменные объяснили 63,3 % факторов, влияющих на случаи КГЛ, и их эффект статистически значим ( $p < 0,001$ ). Однако при учете различий между странами и изменений во времени климатические переменные (температуры и выпавшие осадки) не оказали статистически значимого влияния на количество случаев заболевания. Это подчеркивает, что влияние климата может быть замаскировано другими факторами, такими как географические особенности, медицинская инфраструктура, регулярность и объемы акарицидных обработок территорий, уклад жизни и социальные условия на различных территориях.

Дополнительный анализ без фиктивных переменных (стран) подчеркнул важность временной динамики. В этом случае среднегодовое количество выпавших осадков ( $b=1,600$ ;  $s.e.=0,192$ ;  $p < 0,001$ ) является положительным и значимым, изменяющимся во времени фактором, подчеркивая, что изменения в климатических условиях могут влиять на распространение КГЛ во времени. А используя метод множественной линейной регрессии, установлено статистически значимое влияние самой высокой среднегодовой температуры и среднегодового количества выпавших осадков на увеличение случаев КГЛ. Определено, что увеличение самой высокой среднегодовой температуры на  $1^{\circ}\text{C}$  сопровождается возрастанием количества случаев КГЛ на 27,645. Аналогичная ситуация наблюдается и в отношении среднегодового количества выпавших осадков. Эти выводы согласуются с эпидемиологическими прогнозами, указывающими на положительную корреляцию с заболеванием КГЛ и климатическими условиями.

В нашем исследовании есть и определенные ограничения. На заболеваемость КГЛ могут оказывать влияние не только погодные условия, но и различные другие факторы, в том числе географическое положение стран, соседство с эндемичными районами, виды переносчиков, участвующих в распространении возбудителя, сельскохозяйственная деятельность человека, уровень развития животноводства, образ жизни, привычки и традиции населения, а также социальные условия. В дальнейших исследованиях мы планируем провести расширенный ана-

лиз с учетом данных параметров и дополнить спектр изучаемых эндемичных территорий.

Результаты настоящего исследования сформированы в базу данных «Сведения для анализа взаимосвязи климатических факторов и заболеваемости Крымской геморрагической лихорадкой в России, Казахстане, Турции, Иране с 1999 по 2022 г.», на которую получено свидетельство о регистрации RU 2024621357, 28.03.2024 (заявка от 15.03.2024).

Таким образом, в результате проведенного анализа показано, что заболеваемость КГЛ на эндемичных территориях России, Казахстана, Турции и Ирана в период с 1999 по 2022 г. характеризуется разнонаправленной динамикой. Установлено, что климатические факторы, такие как температура и количество выпавших осадков, оказывают влияние на заболеваемость данной инфекцией в этих странах. Полученные сведения и критический анализ свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения этой темы в разрезе влияния ежемесячной температуры и суммирования этих данных на уровне нескольких стран для лучшего понимания проблемы.

Важно подчеркнуть, что для прогнозирования эпидемиологической ситуации и получения четких данных о заболеваемости КГЛ требуются единая система мониторинга и учета случаев заболевания на эндемичных территориях, использование достоверных и надежных методов индикации и идентификации вируса ККГЛ, проведение регулярных эпизоотологических исследований, а также постоянное комплексное междисциплинарное взаимодействие органов общественного здравоохранения и ветеринарного контроля.

**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. El-Sayed A., Kamel M. Climatic changes and their role in emergence and re-emergence of diseases. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2020; 27(18):22336–52. DOI: 10.1007/s11356-020-08896-w.
2. Caminade C., McIntyre K.M., Jones A.E. Impact of recent and future climate change on vector-borne diseases. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2019; 1436(1):157–73. DOI: 10.1111/nyas.13950.
3. Nasirian H. New aspects about Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) cases and associated fatality trends: A global systematic review and meta-analysis. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2020; 69:101429. DOI: 10.1016/j.cimid.2020.101429.
4. Mostafavi E., Haghdoost A., Khakifrouz S., Chinikar S. Spatial analysis of Crimean Congo hemorrhagic fever in Iran. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2013; 89(6):1135–41. DOI: 10.4269/ajtmh.12-0509.
5. Ansari H., Shahbaz B., Izadi S., Zeinali M., Tabatabaee S.M., Mahmoodi M., Holakouie Naeni K., Mansournia M.A. Crimean-Congo hemorrhagic fever and its relationship with climate factors in southeast Iran: a 13-year experience. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2014; 8(6):749–57. DOI: 10.3855/jidc.4020.
6. Yilmaz S., Iba Yilmaz S., Alay H., Koşan Z., Eren Z. Temporal tendency, seasonality and relationship with climatic factors of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever cases (East of Turkey: 2012–2021). *Heliyon.* 2023; 9(9):e19593. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e19593.
7. Vescio F.M., Busani L., Mughini-Gras L., Khoury C., Avellis L., Taseva E., Rezza G., Christova I. Environmental correlates of



Crimean-Congo haemorrhagic fever incidence in Bulgaria. *BMC Public Health*. 2012; 12:1116. DOI: 10.1186/1471-2458-12-1116.

8. Bernard C., Joly Kukla C., Rakotoarivony I., Duhayon M., Stachurski F., Huber K., Giupponi C., Zortman I., Holzmüller P., Pollet T., Jeanneau M., Mercey A., Vachieri N., Lefrançois T., Garros C., Michaud V., Comtet L., Despois L., Pourquier P., Picard C., Journeaux A., Thomas D., Godard S., Moissonnier E., Mely S., Sega M., Pannetier D., Baize S., Vial L. Detection of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in *Hyalomma marginatum* ticks, southern France, May 2022 and April 2023. *Euro Surveill*. 2024; 29(6):2400023. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2024.29.6.2400023.

9. Lorenzo Juanes H.M., Carbonell C., Sendra B.F., López-Bernus A., Bahamonde A., Orfao A., Lista C.V., Ledesma M.S., Negro A.I., Rodríguez-Alonso B., Bua B.R., Sánchez-Seco M.P., Muñoz Bellido J.L., Muro A., Belhassen-García M. Crimean-Congo hemorrhagic fever, Spain, 2013–2021. *Emerg. Infect. Dis.* 2023; 29(2):252–9. DOI: 10.3201/eid2902.220677.

10. Efstratiou A., Karanis G., Karanis P. Tick-borne pathogens and diseases in Greece. *Microorganisms*. 2021; 9(8):1732. DOI: 10.3390/microorganisms9081732.

11. Papa A., Dalla V., Papadimitriou E., Kartalis G.N., Antoniadis A. Emergence of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Greece. *Clin. Microbiol. Infect.* 2010; 16(7):843–7. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.02996.x.

12. Mamuchishvili N., Salyer S.J., Stauffer K., Geleishvili M., Zakhshvili K., Morgan J.; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Notes from the field: Increase in reported Crimean-Congo hemorrhagic fever cases – country of Georgia, 2014. *MMWR. Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2015; 64(8):228–9.

13. Ermakova L., Pshenichnaya N., Melnik V.A., Aslanov B. Overview of Crimean-Congo hemorrhagic fever 15-year morbidity within 2005–2019 based on ProMED-RUS reports. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 101(Suppl. 1):202. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.09.542.

14. Estrada-Peña A., Venzal J.M. Climate niches of tick species in the Mediterranean region: modeling of occurrence data, distributional constraints, and impact of climate change. *J. Med. Entomol.* 2007; 44(6):1130–8. DOI: 10.1603/0022-2585(2007)44[1130:cnotsj]2.0.co;2.

15. Fernández-Ruiz N., Estrada-Peña A. Towards new horizons: Climate trends in Europe increase the environmental suitability for permanent populations of *Hyalomma marginatum* (Ixodidae). *Pathogens*. 2021; 10(2):95. DOI: 10.3390/pathogens10020095.

16. Jameson L.J., Morgan P.J., Medlock J.M., Watola G., Vaux A.G. Importation of *Hyalomma marginatum*, vector of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus, into the United Kingdom by migratory birds. *Ticks Tick Borne Dis.* 2012; 3(2):95–9. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2011.12.002.

17. Lindeborg M., Barboutis C., Ehrenborg C., Fransson T., Jaenson T.G., Lindgren P.E., Lundkvist A., Nyström F., Salaneck E., Waldenström J., Olsen B. Migratory birds, ticks, and Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(12):2095–7. DOI: 10.3201/eid1812.120718.

18. Grandi G., Chitimia-Dobler L., Choklikitumnuey P., Strube C., Springer A., Albiñá A., Jaenson T.G.T., Omazic A. First records of adult *Hyalomma marginatum* and *H. rufipes* ticks (Acari: Ixodidae) in Sweden. *Ticks Tick Borne Dis.* 2020; 11(3):101403. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2020.101403.

19. Куличенко А.Н., Прислегина Д.А. Крымская геморрагическая лихорадка: климатические предпосылки изменений активности природного очага на юге Российской Федерации. *Инфекция и иммунитет*. 2019; 9(1):162–72. DOI: 10.15789/2220-7619-2019-1-162-172.

20. Abbas T., Xu Z., Younus M. Seasonality in hospital admissions of Crimean-Congo hemorrhagic fever and its dependence on ambient temperature – empirical evidence from Pakistan. *Int. J. Biometeorol.* 2017; 61(11):1893–7. DOI: 10.1007/s00484-017-1359-4.

21. Duygu F., Sari T., Kaya T., Tavsan O., Naci M. The relationship between Crimean-Congo hemorrhagic fever and climate: does climate affect the number of patient? *Acta Clin. Croat.* 2018; 57(3):443–8. DOI: 10.2471/acc.2018.57.03.06.

22. Ansari H., Mansournia M.A., Izadi S., Zeinali M., Mahmoodi M., Holakouie-Naieni K. Predicting CCHF incidence and its related factors using time-series analysis in the southeast of Iran: comparison of SARIMA and Markov switching models. *Epidemiol. Infect.* 2015; 143(4):839–50. DOI: 10.1017/S0950268814001113.

23. Nili S., Khanjani N., Jahani Y., Bakhtiari B. The effect of climate variables on the incidence of Crimean Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) in Zahedan, Iran. *BMC Public Health*. 2020; 20(1):1893. DOI: 10.1186/s12889-020-09989-4.

24. Tunturk A. Crimean-Congo haemorrhagic fever in a middle Anatolian city: five years of experience. *Trop. Doct.* 2020; 50(2):115–7. DOI: 10.1177/0049475519891337.

25. Harris I., Osborn T.J., Jones P., Lister D. Version 4 of the CRU TS monthly high-resolution gridded multivariate climate dataset. *Sci. Data*. 2020; 7(1):109. DOI: 10.1038/s41597-020-0453-3.

26. Yilmaz G.R., Buzgan T., Irmak H., Safran A., Uzun R., Cevik M.A., Torunoglu M.A. The epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey, 2002–2007. *Int. J. Infect. Dis.* 2009; 13(3):380–6. DOI: 10.1016/j.ijid.2008.07.021.

27. Leblebicioglu H., Ozaraz R., Irmak H., Sencan I. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey: Current status and future challenges. *Antiviral Res.* 2016; 126:21–34. DOI: 10.1016/j.antiviral.2015.12.003.

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

29. Турлиев З.С., Усатаева Г.М. Эпидемиологическая ситуация в Республике Казахстан по Конго-Крымской геморрагической лихорадке. *Вестник Казахского Национального медицинского университета*. 2019; 2:20–3.

30. Абуова Г.Н., Пшеничная Н.Ю., Бостанов Ш.Б., Ережепов Б.А., Диденко Т.В. Конго-Крымская геморрагическая лихорадка в Южно-Казахстанской области. *Вестник Казахского национального медицинского университета*. 2011; 1:6–10.

31. Perfilieva Y.V., Shapiyeva Z.Z., Ostapchuk Y.O., Berdygulova Z.A., Bissenbay A.O., Kulemin M.V., Ismagulova G.A., Skiba Y.A., Sayakova Z.Z., Mamadaliyev S.M., Maltseva E.R., Dmitrovskiy A.M. Tick-borne pathogens and their vectors in Kazakhstan – A review. *Ticks Tick Borne Dis.* 2020; 11(5):101498. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2020.101498.

32. Knust B., Medetov Z.B., Kyraubaev K.B., Bumburidi Y., Erickson B.R., MacNeil A., Nichol S.T., Bayserkin B.S., Ospanov K.S. Crimean-Congo hemorrhagic fever, Kazakhstan, 2009–2010. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(4):643–5. DOI: 10.3201/eid1804.111503.

33. Keshkar-Jahromi M., Sajadi M.M., Ansari H., Mardani M., Holakouie-Naieni K. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iran. *Antiviral Res.* 2013; 100(1):20–8. DOI: 10.1016/j.antiviral.2013.07.007.

34. Zamanian M.H., Nouri R., Shirvani M., Mohseniafshar Z., Miladi R., Mehdizad R., Yavari S. Evaluation of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Kermanshah (2006–2020). *Zahedan J. Res. Med. Sci.* 2023; 25(3):e128662. DOI: 10.5812/zjrms-128662.

35. Волынкина А.С., Ткаченко Н.О., Малецкая О.В., Скударева О.Н., Тищенко И.В., Жирова А.А., Лисицкая Я.В., Шапошникова Л.И., Ростовцева Д.В., Манин Е.А., Прислегина Д.А., Петровская В.В., Яценко Е.В., Куличенко А.Н. Крымская геморрагическая лихорадка: эпидемиологическая и эпизоотологическая ситуация в Российской Федерации в 2022 г. прогноз заболеваемости на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 2:6–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-6-12.

## References

1. El-Sayed A., Kamel M. Climatic changes and their role in emergence and re-emergence of diseases. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2020; 27(18):22336–52. DOI: 10.1007/s11356-020-08896-w.

2. Caminade C., McIntyre K.M., Jones A.E. Impact of recent and future climate change on vector-borne diseases. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2019; 1436(1):157–73. DOI: 10.1111/nyas.13950.

3. Nasirian H. New aspects about Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) cases and associated fatality trends: A global systematic review and meta-analysis. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2020; 69:101429. DOI: 10.1016/j.cimid.2020.101429.

4. Mostafavi E., Haghdoust A., Khakifrouz S., Chinikar S. Spatial analysis of Crimean Congo hemorrhagic fever in Iran. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2013; 89(6):1135–41. DOI: 10.4269/ajtmh.12-0509.

5. Ansari H., Shahbaz B., Izadi S., Zeinali M., Tabatabaee S.M., Mahmoodi M., Holakouie Naieni K., Mansournia M.A. Crimean-Congo hemorrhagic fever and its relationship with climate factors in southeast Iran: a 13-year experience. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2014; 8(6):749–57. DOI: 10.3855/jidc.4020.

6. Yilmaz S., Iba Yilmaz S., Alay H., Koşan Z., Eren Z. Temporal tendency, seasonality and relationship with climatic factors of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever cases (East of Turkey: 2012–2021). *Heliyon*. 2023; 9(9):e19593. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e19593.

7. Vescio F.M., Busani L., Mughini-Gras L., Khoury C., Avellis L., Taseva E., Rezza G., Christova I. Environmental correlates of Crimean-Congo haemorrhagic fever incidence in Bulgaria. *BMC Public Health*. 2012; 12:1116. DOI: 10.1186/1471-2458-12-1116.

8. Bernard C., Joly Kukla C., Rakotoarivony I., Duhayon M., Stachurski F., Huber K., Giupponi C., Zortman I., Holzmüller P., Pollet T., Jeanneau M., Mercey A., Vachieri N., Lefrançois T., Garros C., Michaud V., Comtet L., Despois L., Pourquier P., Picard C., Journeaux A., Thomas D., Godard S., Moissonnier E., Mely S., Sega M., Pannetier D., Baize S., Vial L. Detection of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in *Hyalomma marginatum* ticks, southern France, May 2022 and April 2023. *Euro Surveill*. 2024; 29(6):2400023. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2024.29.6.2400023.

9. Lorenzo Juanes H.M., Carbonell C., Sendra B.F., López-Bernus A., Bahamonde A., Orfao A., Lista C.V., Ledesma M.S., Negro A.I., Rodríguez-Alonso B., Bua B.R., Sánchez-Seco M.P., Muñoz Bellido J.L., Muro A., Belhassen-García M. Crimean-Congo hemorrhagic fever, Spain, 2013–2021. *Emerg. Infect. Dis.* 2023; 29(2):252–9. DOI: 10.3201/eid2902.220677.

10. Efstratiou A., Karanis G., Karanis P. Tick-borne pathogens and diseases in Greece. *Microorganisms*. 2021; 9(8):1732. DOI: 10.3390/microorganisms9081732.
11. Papa A., Dalla V., Papadimitriou E., Kartalis G.N., Antoniadis A. Emergence of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Greece. *Clin. Microbiol. Infect.* 2010; 16(7):843–7. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.02996.x.
12. Mamuchishvili N., Salyer S.J., Stauffer K., Geleishvili M., Zakhshvili K., Morgan J., Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Notes from the field: Increase in reported Crimean-Congo hemorrhagic fever cases – country of Georgia, 2014. *MMWR. Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2015; 64(8): 228–9.
13. Ermakova L., Pshenichnaya N., Melnik V.A., Aslanov B. Overview of Crimean-Congo hemorrhagic fever 15-year morbidity within 2005–2019 based on ProMED-RUS reports. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 101(Suppl. 1):202. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.09.542.
14. Estrada-Peña A., Venzal J.M. Climate niches of tick species in the Mediterranean region: modeling of occurrence data, distributional constraints, and impact of climate change. *J. Med. Entomol.* 2007; 44(6):1130–8. DOI: 10.1603/0022-2585-(2007)44[1130:cnotsi]2.0.co;2.
15. Fernández-Ruiz N., Estrada-Peña A. Towards new horizons: Climate trends in Europe increase the environmental suitability for permanent populations of *Hyalomma marginatum* (Ixodidae). *Pathogens*. 2021; 10(2):95. DOI: 10.3390/pathogens10020095.
16. Jameson L.J., Morgan P.J., Medlock J.M., Watola G., Vaux A.G. Importation of *Hyalomma marginatum*, vector of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus, into the United Kingdom by migratory birds. *Ticks Tick Borne Dis.* 2012; 3(2):95–9. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2011.12.002.
17. Lindeborg M., Barboutis C., Ehrenborg C., Fransson T., Jaenson T.G., Lindgren P.E., Lundkvist A., Nyström F., Salaneck E., Waldenström J., Olsen B. Migratory birds, ticks, and Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(12):2095–7. DOI: 10.3201/eid1812.120718.
18. Grandi G., Chitima-Dobler L., Choklikitumnuey P., Strube C., Springer A., Albiñá A., Jaenson T.G.T., Omazic A. First records of adult *Hyalomma marginatum* and *H. rufipes* ticks (Acari: Ixodidae) in Sweden. *Ticks Tick Borne Dis.* 2020; 11(3):101403. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2020.101403.
19. Kulichenko A.N., Prislekina D.A. [Climatic prerequisites for changing activity in the natural Crimean-Congo hemorrhagic fever focus in the South of the Russian Federation]. *Infektsiya i Immunitet [Russian Journal of Infection and Immunity]*. 2019; 9(1):162–72. DOI: 10.15789/2220-7619-2019-1-162-172.
20. Abbas T., Xu Z., Younus M. Seasonality in hospital admissions of Crimean-Congo hemorrhagic fever and its dependence on ambient temperature – empirical evidence from Pakistan. *Int. J. Biometeorol.* 2017; 61(11):1893–7. DOI: 10.1007/s00484-017-1359-4.
21. Duygu F., Sari T., Kaya T., Tavsan O., Naci M. The relationship between Crimean-Congo hemorrhagic fever and climate: does climate affect the number of patient? *Acta Clin. Croat.* 2018; 57(3):443–8. DOI: 10.20471/acc.2018.57.03.06.
22. Ansari H., Mansournia M.A., Izadi S., Zeinali M., Mahmoodi M., Holakouie-Naieni K. Predicting CCHF incidence and its related factors using time-series analysis in the southeast of Iran: comparison of SARIMA and Markov switching models. *Epidemiol. Infect.* 2015; 143(4):839–50. DOI: 10.1017/S0950268814001113.
23. Nili S., Khanjani N., Jahani Y., Bakhtiari B. The effect of climate variables on the incidence of Crimean Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) in Zahedan, Iran. *BMC Public Health.* 2020; 20(1):1893. DOI: 10.1186/s12889-020-09989-4.
24. Tumturk A. Crimean-Congo haemorrhagic fever in a middle Anatolian city: five years of experience. *Trop. Doct.* 2020; 50(2):115–7. DOI: 10.1177/0049475519891337.
25. Harris I., Osborn T.J., Jones P., Lister D. Version 4 of the CRU TS monthly high-resolution gridded multivariate climate dataset. *Sci. Data.* 2020; 7(1):109. DOI: 10.1038/s41597-020-0453-3.
26. Yilmaz G.R., Buzgan T., Irmak H., Safran A., Uzun R., Cevik M.A., Torunoglu M.A. The epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey, 2002–2007. *Int. J. Infect. Dis.* 2009; 13(3):380–6. DOI: 10.1016/j.ijid.2008.07.021.
27. Leblebicioglu H., Ozaras R., Irmak H., Sencan I. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey: Current status and future challenges. *Antiviral Res.* 2016; 126:21–34. DOI: 10.1016/j.antiviral.2015.12.003.
28. Nurmakanov T., Sansyzbaev Y., Atshabar B., Deryabin P., Kazakov S., Zholshorinov A., Matzhanova A., Sadvakassova A., Saylaubekuly R., Kyraubaev K., Hay J., Atkinson B., Hewson R. Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Kazakhstan (1948–2013). *Int. J. Infect. Dis.* 2015; 38:19–23. DOI: 10.1016/j.ijid.2015.07.007.
29. Turliev Z.S., Usataeva G.M. [Epidemiological situation on the Congo-Crimean hemorrhagic fever in the Republic of Kazakhstan]. *Vestnik Kazakhskogo Natsional'nogo Meditsinskogo Universiteta [Bulletin of the Kazakh National Medical University]*. 2019; (2):20–3.
30. Abuova G.N., Pshenichnaya N.Yu., Bostanov Sh.B., Erezhepov B.A., Didenko T.V. [Congo-Crimean hemorrhagic fever in the South Kazakhstan Region]. *Vestnik Kazakhskogo Natsional'nogo Meditsinskogo Universiteta [Bulletin of the Kazakh National Medical University]*. 2011; (1):6–10.
31. Perfilieva Y.V., Shapiyeva Z.Z., Ostapchuk Y.O., Berdygulova Z.A., Bissenbay A.O., Kulemin M.V., Ismagulova G.A., Skiba Y.A., Sayakova Z.Z., Mamadaliyev S.M., Maltseva E.R., Dmitrovskiy A.M. Tick-borne pathogens and their vectors in Kazakhstan – A review. *Ticks Tick Borne Dis.* 2020; 11(5):101498. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2020.101498.
32. Knust B., Medetov Z.B., Kyraubaev K.B., Bumburidi Y., Erickson B.R., MacNeil A., Nichol S.T., Bayserkin B.S., Ospanov K.S. Crimean-Congo hemorrhagic fever, Kazakhstan, 2009–2010. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(4):643–5. DOI: 10.3201/eid1804.111503.
33. Keshtkar-Jahromi M., Sajadi M.M., Ansari H., Mardani M., Holakouie-Naieni K. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iran. *Antiviral Res.* 2013; 100(1):20–8. DOI: 10.1016/j.antiviral.2013.07.007.
34. Zamanian M.H., Nouri R., Shirvani M., Mohseniafshar Z., Miladi R., Mehdizad R., Yavari S. Evaluation of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Kermanshah (2006–2020). *Zahedan J. Res. Med. Sci.* 2023; 25(3):e128662. DOI: 10.5812/zjrms-128662.
35. Volynkina A.S., Tkachenko N.O., Maletskaya O.V., Skudareva O.N., Tishchenko I.V., Zhirova A.A., Lisitskaya Ya.V., Shaposhnikova L.I., Rostovtseva D.V., Manin E.A., Prislekina D.A., Petrovskaya V.V., Yatsmenko E.V., Kulichenko A.N. [Crimean-Congo hemorrhagic fever: epidemiological and epizootiological situation in the Russian Federation in 2022, incidence forecast for 2023]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (2):6–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-6-12.

# Authors:

**Lizinfeld I.A.** Central Research Institute of Epidemiology; 3a, Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russian Federation; e-mail: crie@pcr.ru. Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; 2/1, Barrikadnaya St., Moscow, 125993, Russian Federation.

**Pshenichnaya N.Yu.** Central Research Institute of Epidemiology; 3a, Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russian Federation; e-mail: crie@pcr.ru. Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; 2/1, Barrikadnaya St., Moscow, 125993, Russian Federation. Moscow Regional Research and Clinical Institute named after M.F. Vladimirsky; 61/2, Shchepkin St., Moscow, 129110, Russian Federation.

**Naidenova E.V., Gurkin G.A., Blinova K.D.** Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

**Abuova G.N.** South Kazakhstan Medical Academy. 1/1, Al-Farabi Sq., Shymkent, 160019, Republic of Kazakhstan.

**Leblebicioglu H.** Infectious Diseases Department, VM Medical Park Samsun Hospital. Samsun, Republic of Turkey.

**Mardani M.** Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences. Tehran, Islamic Republic of Iran

**Akimkin V.G.** Central Research Institute of Epidemiology. 3a, Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russian Federation. E-mail: crie@pcr.ru.

# Об авторах:

**Лизинфельд И.А.** Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии; Российская Федерация, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а; e-mail: crie@pcr.ru. Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования; Российская Федерация, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1.

**Пшеничная Н.Ю.** Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии; Российская Федерация, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а; e-mail: crie@pcr.ru. Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования; Российская Федерация, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1. Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского; Российская Федерация, 129110, Москва, ул. Щепкина, 61/2.

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

**Абуова Г.Н.** Южно-Казахстанская медицинская академия. Республика Казахстан, 160019, Шымкент, пл. Аль-Фараби, 1/1.

**Leblebicioglu H.** Инфекционное отделение госпиталя VM Medical Park Samsun. Турецкая Республика, Самсун.

**Mardani M.** Исследовательский центр инфекционных болезней и тропической медицины Медицинского университета им. Шахида Бехешти. Исламская Республика Иран, Тегеран.

**Акимкин В.Г.** Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии. Российская Федерация, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а. E-mail: crie@pcr.ru.



DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-144-153

УДК 616.932:579.25

О.А. Подойницына<sup>1</sup>, Л.В. Миронова<sup>2</sup>, В.Д. Кругликов<sup>1</sup>, И.С. Федотова<sup>2</sup>, Ю.П. Галачьянц<sup>2</sup>,  
А.С. Водопьянов<sup>1</sup>, Д.А. Левченко<sup>1</sup>, С.Ю. Темякова<sup>1</sup>, Е.А. Басов<sup>2</sup>, А.С. Пономарева<sup>2</sup>, А.К. Носков<sup>1</sup>

## Генетическое разнообразие и филогенетическое родство штаммов *Vibrio cholerae* R-варианта

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

<sup>2</sup>ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация

Среди холерных вибрионов, выделяемых из поверхностных водоемов в процессе мониторинга, встречаются штаммы, отклоняющиеся от типичных по признаку агглютинабельности диагностическими холерными сыворотками, что затрудняет отнесение их к той или иной серогруппе. Поэтому актуальной задачей представляется выявление причин этих отклонений путем изучения структуры генетических детерминант, ответственных за синтез О-антигена (*wb\** кластеров). **Цель работы** – идентификация *wb\** кластеров в геномах *Vibrio cholerae* R-варианта, изучение их структуры и проведение филогенетического анализа данных штаммов. **Материалы и методы.** Проведено полногеномное секвенирование (платформы Illumina MiSeq и MinION). Сборка осуществлялась *de novo* программой-сборщиком SPAdes (v.3.11.1). Манипуляции с последовательностями кластеров и визуализация данных проводились с помощью программы BLAST из пакета ncbi-blast-suite версии 2.13.0, скриптов на языке Python и пакетов pyGenomeViz, Biopython. Филогенетическое дерево построено с использованием программы roary (v.3.13.0). Полногеномное выравнивание проводилось программами nucmer и promer из пакета MUMmer 4 версии 4.0. **Результаты и обсуждение.** У штаммов холерного вибриона R-варианта установлено наличие в геноме *wb\** кластеров разных типов, среди которых наиболее часто встречались O23 и O59. Проведено сравнение транслированных аминокислотных последовательностей *wb\** регионов штаммов R-варианта с аминокислотными последовательностями представленных в базе данных NCBI референсных штаммов. Часть рассмотренных кластеров полностью совпадала с референсными. Для других установлена высокая вариабельность. Филогенетически штаммы группировались преимущественно в соответствии с типом *wb\** кластера, вне зависимости от S/R-фенотипа. Штаммы *V. cholerae* R-варианта сложно систематизировать по признаку агглютинабельности, и для определения их патогенного потенциала необходимо использовать молекулярные методы исследования, в частности полимеразную цепную реакцию.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, R-вариант, *wb\** кластер, серогруппа, *wbe*.

Корреспондирующий автор: Подойницына Оксана Андреевна, e-mail: podoinitsyna\_oa@antiplague.ru.

Для цитирования: Подойницына О.А., Миронова Л.В., Кругликов В.Д., Федотова И.С., Галачьянц Ю.П., Водопьянов А.С., Левченко Д.А., Темякова С.Ю., Басов Е.А., Пономарева А.С., Носков А.К. Генетическое разнообразие и филогенетическое родство штаммов *Vibrio cholerae* R-варианта. Проблемы особо опасных инфекций. 2024; 3:144–153. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-144-153

Поступила 26.01.2024. Отправлена на доработку 28.02.2024. Принята к публ. 27.03.2024.

О.А. Podoinitsyna<sup>1</sup>, L.V. Mironova<sup>2</sup>, V.D. Kruglikov<sup>1</sup>, I.S. Fedotova<sup>2</sup>, Yu.P. Galach'yants<sup>2</sup>,  
A.S. Vodop'yanov<sup>1</sup>, D.A. Levchenko<sup>1</sup>, S.Yu. Temyakova<sup>1</sup>, E.A. Basov<sup>2</sup>, A.S. Ponomareva<sup>2</sup>, A.K. Noskov<sup>1</sup>

## Genetic Diversity and Phylogenetic Relatedness of R-Variant *Vibrio cholerae* Strains

<sup>1</sup>Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation;

<sup>2</sup>Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation

**Abstract.** Cholera vibrios, isolated from surface water bodies during monitoring activities, can differ from typical ones in terms of agglutinability with diagnostic cholera sera, which makes it difficult to assign them to a specific serogroup. Therefore, the determination of the causes for these deviations through the study of the structure of genetic determinants responsible for the synthesis of O-antigen (*wb\** clusters) is considered a relevant task. **The aim** of this work was to identify *wb\** clusters in the genomes of R-variant *Vibrio cholerae*, study their structure, and conduct phylogenetic analysis of the strains. **Materials and methods.** Full genome sequencing was performed using Illumina MiSeq and MinION platforms. The assembly was conducted *de novo* using the SPAdes assembler software (v.3.11.1). Manipulation of cluster sequences and data visualization were carried out using the BLAST program from the ncbi-blast-suite package version 2.13.0, Python scripts and packages such as pyGenomeViz and Biopython. The phylogenetic tree was constructed using the roary program (v.3.13.0). Full genome alignment was carried out using the nucmer and promer programs from the MUMmer 4 package version 4.0. **Results and discussion.** R-variant *V. cholerae* contains different types of *wb\** clusters in the genome, with most commonly occurring O23 and O59. A comparison has been made between translated amino acid sequences of *wb\** regions in R-variant strains and amino acid sequences of reference strains present in the NCBI database. Some of the analyzed clusters completely match with reference strains, while others show high variability. Phylogenetically, the strains primarily group together according to the *wb\** cluster type, regardless of the S/R phenotype. Classifying R-variant *V. cholerae* strains based on agglutinability is challenging. Molecular research methods, polymerase chain reaction, in particular, are necessary to determine the pathogenic potential of such strains.

**Key words:** *Vibrio cholerae*, R-variant, *wb\** cluster, serogroup, *wbe*.



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

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

**Acknowledgements:** The authors express special gratitude to E.S. Gerasimov for his invaluable assistance in data processing.

**Corresponding author:** Oksana A. Podoinitsyna, e-mail: podoinitsyna\_oa@antiplague.ru.

**Citation:** Podoinitsyna O.A., Mironova L.V., Kruglikov V.D., Fedotova I.S., Galach'yants Yu.P., Vodop'yanov A.S., Levchenko D.A., Temyakova S.Yu., Basov E.A., Ponomareva A.S., Noskov A.K. Genetic Diversity and Phylogenetic Relatedness of R-Variant *Vibrio cholerae* Strains. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2024; 3:144–153. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-144-153

Received 26.01.2024. Revised 28.02.2024. Accepted 27.03.2024.

Podoinitsyna O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9996-4189>  
Mironova L.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8481-6442>  
Kruglikov V.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6540-2778>  
Fedotova I.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9890-0960>  
Galach'yants Yu.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4764-6330>  
Vodop'yanov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>

Levchenko D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4676-0377>  
Temyakova S.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4472-0264>  
Basov E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8358-2880>  
Ponomareva A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0674-6159>  
Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Холерные вибрионы – микроорганизмы, обладающие высокой изменчивостью и пластичностью генома. Их внутривидовое разнообразие выражается в том числе в большом количестве существующих серогрупп, которых в настоящее время известно более 200. Определение таксономической принадлежности штаммов, которые при первичной серологической идентификации агглютинируются только холерной диагностической сывороткой RO и относятся к так называемым R-вариантам, может вызвать затруднение в связи с тем, что при пересевах и хранении таких культур зачастую изменяется или утрачивается их агглютинабельность холерными диагностическими сыворотками [1]. Способность штаммов к агглютинации зависит от типа О-антигена [2, 3], разница в строении которого, в свою очередь, обусловлена генетическим разнообразием детерминант, кодирующих ферменты, участвующие в его биосинтезе [4]. Вне зависимости от серогрупповой принадлежности холерных вибрионов, участки их генома, кодирующего О-антиген, фланкированы генами *rjg* и *gmhD*, ориентируясь на которые можно определить наличие всего кластера в полногеномном секвенсе. По мнению J. Xu *et al.*, мутации на участке между вышеуказанными генами могут быть причиной утраты O1-антигена, в результате чего штаммы приобретают R-фенотип, т.е. способность агглютинироваться только холерной диагностической сывороткой RO [5]. Регионы генома, кодирующие биосинтез O1- и O139-антигенов, в литературе обозначаются как *wbe* и *wbf* соответственно, или *wb\** кластеры, к которым наряду с двумя названными относятся и детерминанты О-антигенов представителей многочисленных серогрупп *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 [6].

Вибрионы, агглютинирующиеся холерными диагностическими сыворотками, характеризуются наличием на поверхности клетки как О-антигенов, так и R-антигенов [7], но в случае, если бактерия экспрессирует только R-антигены, она теряет свойство агглютинироваться холерными диагностическими сыворотками O1 и O139, но становится способна к агглютинации с диагностической сывороткой RO [8]. В липополисахаридах таких клеток отсутствуют длинные повторяющиеся звенья О-антигена, однако короткий липополисахарид сохраняется. При этом формируются колонии, морфологически не отличающиеся

от колоний в S-форме [7, 9], в противоположность ругозным (морщинистым), в которых образующие их клетки продуцируют во внешнюю среду экзополисахарид [10]. Известно, что R-антигены у холерных вибрионов серологически идентичны между собой вне зависимости от типа О-антигена [11].

В литературе есть данные о *V. cholerae* R-варианта, которые были получены от штаммов с *wb\** кластерами, строение которых соответствует таковому штаммов как серогруппы O1, так и O139 [3, 7]. Токсигенные *V. cholerae* также могут быть R-вариантами, причем продукция холерного токсина у таких штаммов бывает как низкой (чаще всего), так и высокой [7].

В связи с этим представляется актуальным изучение *wb\** кластеров штаммов *V. cholerae*, принадлежащих по фенотипу к R-вариантам, для обоснования подходов к разработке молекулярных методов для их дифференциации.

**Цель работы** – идентификация *wb\** кластеров в геномах *V. cholerae* R-варианта, изучение их структуры и проведение филогенетического анализа данных штаммов.

## Материалы и методы

**Бактериальные штаммы.** В работе проведено исследование 24 штаммов *V. cholerae* R-варианта, четырех SR-варианта и двух штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139 из коллекций Ростовского-на-Дону и Иркутского противочумных институтов. При сравнении кластеров и для проведения филогенетического анализа использовали нуклеотидные последовательности, представленные в базе NCBI в проекте, объединяющем секвенсы штаммов, относящихся более чем к 200 серогруппам (номер проекта – PRJDB8600), нуклеотидные последовательности *V. cholerae* O1 N16961, а также три штамма *V. cholerae* O1 из коллекции Ростовского-на-Дону противочумного института (таблица).

**Полногеномное секвенирование и биоинформационный анализ.** Секвенирование проведено в ходе выполнения стратегической инициативы социально-экономического развития Российской Федерации до 2030 г. «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья (предупреждение, выяв-

**Штаммы, используемые в работе**  
**Strains used in the study**

Номер штамма Strain No.	Год выделения Year of isolation	Агглютинабельность сыворотками				Генотип* Genotype*	Место и источник выделения Site and source of isolation
		O1 (1:1600)	Огава Ogawa (1:800)	Инаба Inaba (1:800)	RO (1:800)		
1	2	3	4	5	6	7	8
I-1103	1990	–	–	–	#	wbe-	Приморский край, Уссурийск, р. Комаровка Primorsky Territory, Ussuriysk, Komarovka river
I-1113	1990	–	–	–	#	wbe-	Приморский край, Находка, падь Ободная, оз. Лебяжье Primorsky Territory, Nakhodka, Obodnaya gorge, Lebyazhye lake
I-1147	1992	+++	–	–	++	wbe-	Приморский край, Уссурийск, р. Славянка Primorsky Territory, Ussuriysk, Slavyanka river
I-1158	1992	–	–	–	#	wbe-	Приморский край, Находка, старое устье р. Глиники Primorsky Territory, Nakhodka, old mouth of the river Glinka
I-1199	1994	+++	+++	#	+++ 1/4 т ** 1/4 t **	wbe-	Приморский край, Уссурийск, р. Репьевка, автодорожный мост Primorsky Territory, Ussuriysk, Rep'evka river, near the motor-road bridge
I-1329	1999	–	–	–	#	wbe-	Приморский край, Владивосток, р. Седанка Primorsky Territory, Vladivostok, Sedanka river
I-1353	2000	–	–	–	# 1/2 т *** 1/2 t ***	wbe-	Приморский край, Владивосток, р. Горностай, бухта Щитовая Primorsky Territory, Vladivostok, Gornostai river, Shchitovaya Bay
I-1357	2000	–	–	–	# 1/4 т 1/4 t	wbe-	Приморский край, Находка, бухта Отрада Primorsky Territory, Nakhodka, Otrada Bay
I-1376	2003	–	–	–	#	wbe-	Приморский край, Артем, р. Малая Дрена Primorsky Territory, Artem, Malaya Drena river
150-03-s	2003	–	–	–	+++	wbe-	Приморский край, Уссурийск Primorsky Territory, Ussuriysk
9-06	2006	–	–	++	+++	wbe-	Иркутская область, Иркутск Irkutsk Region, Irkutsk
4-06	2006	–	–	+++ 1/2 т 1/2 t	+++	wbe-	Иркутская область, Иркутск Irkutsk Region, Irkutsk
40-08-ch	2008	–	–	–	+++ 1/2 т 1/2 t	wbe-	Приморский край, Черниговский район Primorsky Territory, Chernigovsky district
I-1441	2009	–	–	–	#	wbe-	Алтайский край, Барнаул, р. Обь Altai Territory, Barnaul, Ob river
382-10-s	2010	–	–	–	#	wbe-	Приморский край, Хасанский район Primorsky Territory, Khasansky district
136-2016	2016	–	–	–	#	wbe-	Приморский край, Находка, оз. Соленое Primorsky Territory, Nakhodka, Solenoe lake
135-98	1998	–	–	–	+++	wbe-	Приморский край, Находка, оз. Соленое Primorsky Territory, Nakhodka, Solenoe lake
102-2016-n	2016	–	–	–	#	wbe-	Приморский край, Находка, оз. Соленое Primorsky Territory, Nakhodka, Solenoe lake
156-16-n	2016	–	–	–	#	wbe-	Приморский край, Находка, оз. Соленое Primorsky Territory, Nakhodka, Solenoe lake
1-18	2018	–	–	–	#	wbe-	Иркутская область, Иркутск, р. Ушаковка Irkutsk Region, Irkutsk, Ushakovka river
1-19	2019	–	–	–	#	wbe-	Иркутская область, Иркутск, р. Ушаковка Irkutsk Region, Irkutsk, Ushakovka river
3-20	2020	–	–	–	# 1/4 т 1/4 t	wbe-	Иркутская область, Иркутск, р. Ушаковка Irkutsk Region, Irkutsk, Ushakovka river
19336	2013	–	–	–	#	wbe-	Республика Калмыкия, Целинный р-н, с. Вознесеновка, пруд с. Вознесеновка Republic of Kalmykia, Tselinny district, Voznesenovka village, the pond in Voznesenovka village

Окончание таблицы / Ending of the table

1	2	3	4	5	6	7	8
18298	2000	–	–	–	#	wbe-	Приморский край, Владивосток, р. Седанка Primorsky Territory, Vladivostok, Sedanka river
15865	1991	–	–	–	#	wbe-	Республика Казахстан, Мангистаурская область, г. Шевченко, 14-й микрорайон Republic of Kazakhstan, Mangistaur Region, Shevchenko, 14th micro-district
18237	1998	–	–	–	#	wbe-	Рязанская область, Сасово, р. Сасовка Ryazan Region, Sasovo, Sasovka river
13910	1988	–	–	–	#	wbe-	Республика Казахстан, Актау, берег моря, 5-й микрорайон Republic of Kazakhstan, Aktau, seashore, 5th micro-district
16290	1993	–	–	–	#	wbe-	Забайкальский край, Читинский р-н, п. Домна Transbaikali Territory, Chita district, Domna settlement
8-19	2019	–	–	–	–	wbe-	Иркутск, оз. Юность Irkutsk, Lake Yunost'
218-16-n	2016	–	–	–	–	wbe-	Находка, оз. Солёное Nakhodka, Solenoe lake
8256	1974	#	–	–	–	wbe+	Крым, Керчь, больной Crimea, Kerch, patient
15000	1990	#	–	–	–	wbe+	Россия, Брянск, вибрионоситель Russia, Bryansk, vibrio carrier
15898	1991	#	–	–	–	wbe+	Узбекистан, Канал Uzbekistan, Kanal

Примечания: \* wbf отсутствовал у всех штаммов; ctx, tcp отсутствовали у всех штаммов кроме 8256; \*\* 1/4 т – 1/4 диагностического титра холерной сыворотки; \*\*\* 1/2 т – 1/2 диагностического титра холерной сыворотки.

Notes: \* wbf was absent in all strains; ctx, tcp were absent in all strains except 8256; \*\* 1/4 t – 1/4 diagnostic titer of cholera serum; \*\*\* 1/2 t – 1/2 diagnostic titer of cholera serum.

ление, реагирование)». Секвенирование проводилось на платформе MiSeq (Illumina) с получением ридов длиной 250 п.н. с использованием набора реагентов nextera DNA flex library prep (Illumina) и на платформе MinION (Oxford Nanopore) с получением длинных непарных ридов с использованием набора SQK-LSK109 вместе с NEBNext Companion Module E7180S (Oxford Nanopore).

Качество исходных чтений оценивали с помощью FastQC [12]. Для очистки ридов использовали программу для фильтрации данных Trimmomatic [13]. Сборка геномов исследуемых штаммов выполнена с помощью SPAdes (v.3.11.1) [14] в гибридном режиме из данных Illumina и Oxford Nanopore. Оценка качества сборки проводилась в программе Quast (v.5.0.2) [15].

Глобальное выравнивание и идентификация генов в геноме методом ДНК-белкового выравнивания при сравнении *wb\** и их аннотации выполнялись с использованием программы exonerate версии 2.4.0 [16]. Поиск границ *wb\** кластеров и сопоставление ортологических генов внутри них проводилось с помощью программы BLAST из пакета ncbi-blast-suite версии 2.13.0 [17]. Манипуляции с последовательностями кластеров и визуализация данных проводились с помощью скриптов на языке Python и пакетов pyGenomeViz, Biopython.

Филогенетическое дерево построено на основании множественного выравнивания корового генома с использованием программы goary (v.3.13.0) [18]. Полногеномное выравнивание проводилось про-

граммами nucmer и promer из пакета MUMmer 4 версии 4.0 [19].

## Результаты и обсуждение

В составе геномов, включенных в исследование штаммов *V. cholerae*, определены *wb\** кластеры, ответственные за биосинтез, транспорт и модификацию О-антигена, и проведено сравнение транслированных аминокислотных последовательностей *wb\** регионов штаммов R-варианта с аминокислотными последовательностями представленных в базе данных NCBI референсных штаммов. На рис. 1 представлено парное глобальное выравнивание аминокислотных последовательностей *wb\** регионов группы из 13 штаммов, среди которых – референсный штамм *V. cholerae* RIMD 2214261 O23-серогруппы. Его транслированными последовательностям *wb\** региона соответствовали таковые 10 штаммов *V. cholerae* R-варианта и двух – *V. cholerae* nonO1/nonO139.

Три штамма (два *V. cholerae* nonO1/nonO139 и референсный) не имели отличий в последовательностях, которые были бы свойственны только им и при этом не свойственны группе R-варианта. То есть уникальных маркеров, отличающих данные штаммы от R-варианта, в составе кластера O23 выявить не удалось.

Для другой группы, состоящей из девяти штаммов, установлено сходство с транслированными аминокислотными последовательностями *wb\** региона референсного штамма *V. cholerae* RIMD 2214297



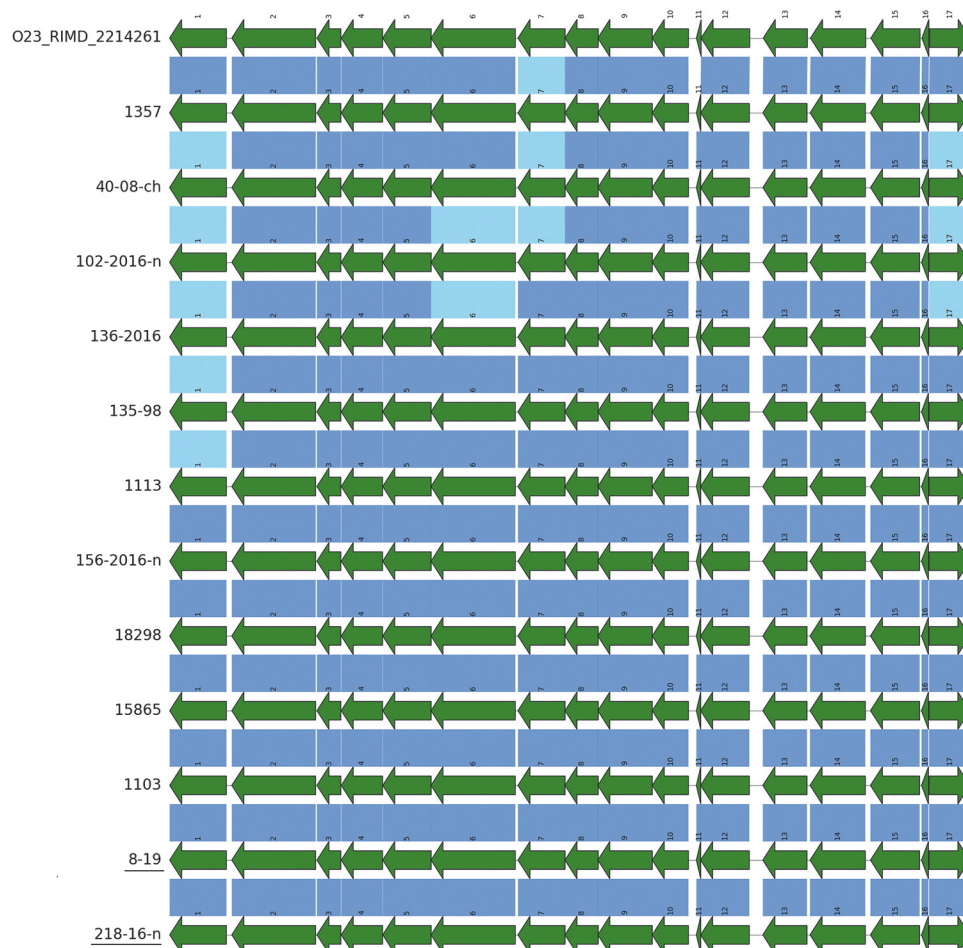


Рис. 1. Сравнение аминокислотных последовательностей продуктов генов *wb\** региона девяти штаммов R-варианта, двух – *V. cholerae* nonO1/nonO139 с белками *wb\** референсного штамма *V. cholerae* RIMD 2214261 O23-серогруппы

Пояснение: номера штаммов, отнесенных к *V. cholerae* nonO1/nonO139 подчеркнуты; соединительные линии синего цвета соответствуют 100 % идентичности между аминокислотными последовательностями белков, голубого цвета – идентичность в интервале 95,0–99,9 %; параметр покрытия для попарно сравниваемых белков – 98 %

Fig. 1. Comparison of amino acid sequences of *wb\** gene products of nine R-variants strains and two strains of *V. cholerae* nonO1/nonO139 with the proteins of the reference strain *V. cholerae* RIMD 2214261 of O23 serogroup

Clarification remark: the strains classified as *V. cholerae* nonO1/nonO139 are underlined; blue connecting lines indicate 100 % identity between protein sequences, while light blue indicates identity within the range of 95.0–99.9 %; the coverage parameter for the compared proteins is 98 %

O59-серогруппы (рис. 2, А). В составе белков внутри этой группы присутствует большее разнообразие, чем в предыдущей. Необходимо отметить, что для аминокислотных последовательностей, транслированных с *wb\** области штамма 13910, выявлена 100 % идентичность таковым референсного штамма RIMD 2214297. То есть при 100 % идентичности белковых продуктов *wb\** региона этих двух штаммов их фенотипы различаются – референсный штамм, как следует из данных NCBI, агглютинируется типовой сывороткой O59, а *V. cholerae* 13910 является R-вариантом. Это может свидетельствовать о том, что причины, по которым штаммы становятся способны агглютинироваться RO-сывороткой, могут быть различными и не всегда обусловлены изменениями генетических последовательностей внутри *wb\** региона.

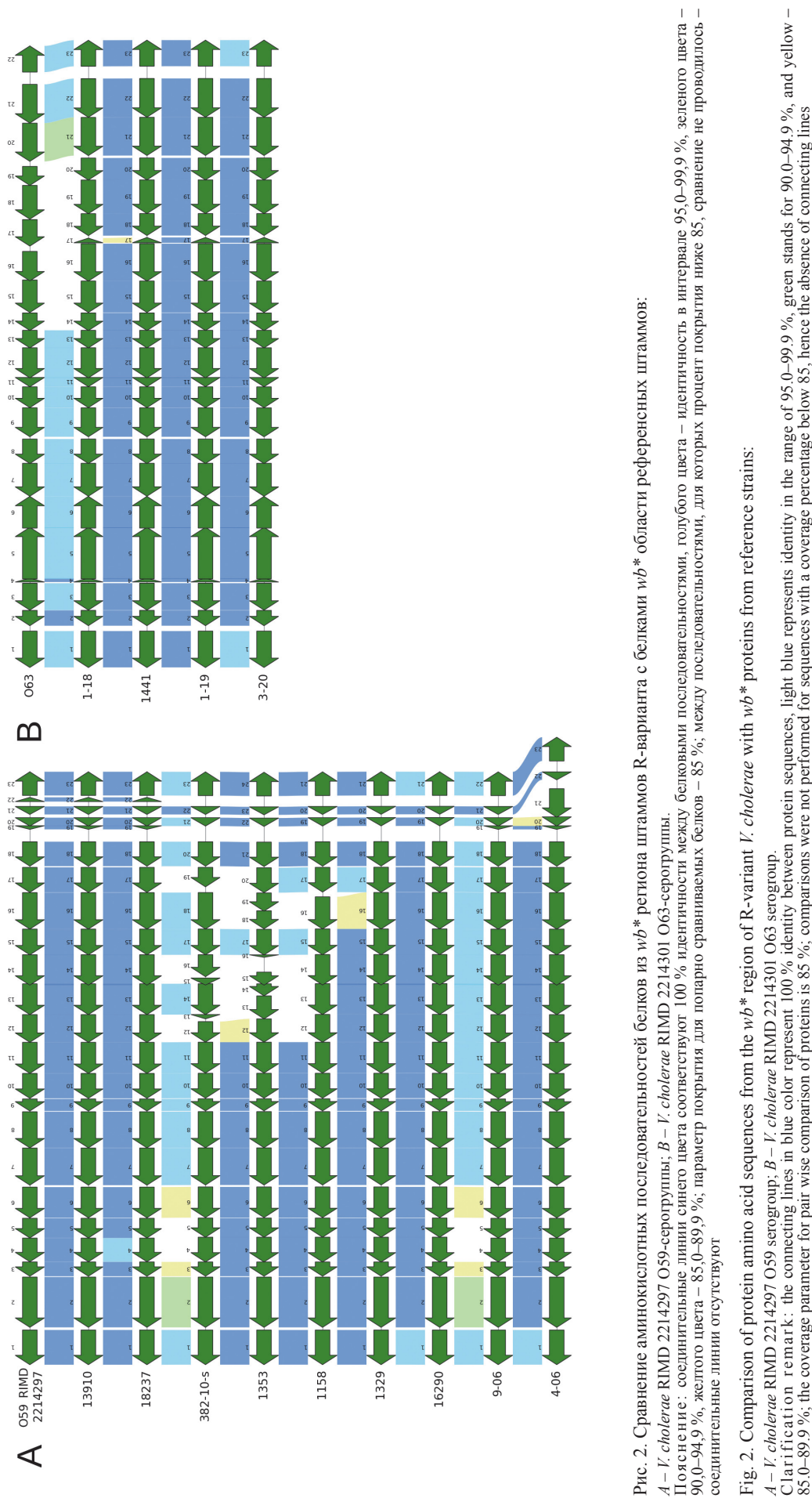
Еще одна сформировавшаяся группа состояла из четырех штаммов, продукты трансляции генов *wb\** кластера которых близки аминокислотным последовательностям *wb\** области референсного штамма *V. cholerae* RIMD 2214301 O63-серогруппы (рис. 2, В).

В данной группе три штамма из четырех выделены из р. Ушаковки (Иркутская область, г. Иркутск) в 2018, 2019, 2020 гг., а один штамм – из р. Оби (Алтайский край, г. Барнаул) в 2009 г. Для данной группы штаммов характерно меньшее сходство с

референсной последовательностью (95,0–99,9 %), чем друг с другом (преимущественно 100 %), а в середине кластера попарное выравнивание небольшой группы белков соответствовало менее чем 85 %, в связи с чем идентичность последовательностей не определена.

Кроме того, нам удалось установить соответствие *wb\** области между *V. cholerae* 1199 и штаммом RIMD 2214252 O14-серогруппы (рис. 3).

У остальных вибрионов не удалось установить тип *wb\** региона, поскольку обнаруженные у исследуемых штаммов последовательности не соответствовали полностью ни одному кластеру, имеющемуся в референсной группе. В то же время для нескольких штаммов установлено, что часть продуктов трансляции совпадали с референсными, что показано на рис. 3. Так, у штамма 150-03-s большая часть белков, кодируемых *wb\** кластером, обнаруживается у штамма *V. cholerae* RIMD 2214308 O70-серогруппы; у двух штаммов (1376 и 1147) выявлено сходство белков, транслируемых с *wb\** кластера, с референсным *wb\** кластером штамма RIMD 2214249 O11-серогруппы. Интересная особенность обнаружена у *V. cholerae* R-варианта 19336, *wb\** кластер которого кодирует белки, характерные частично для O59-серогруппы и частично для O11-серогруппы. Такое разнообразие среди последовательностей, кодирующих белки биосинтеза



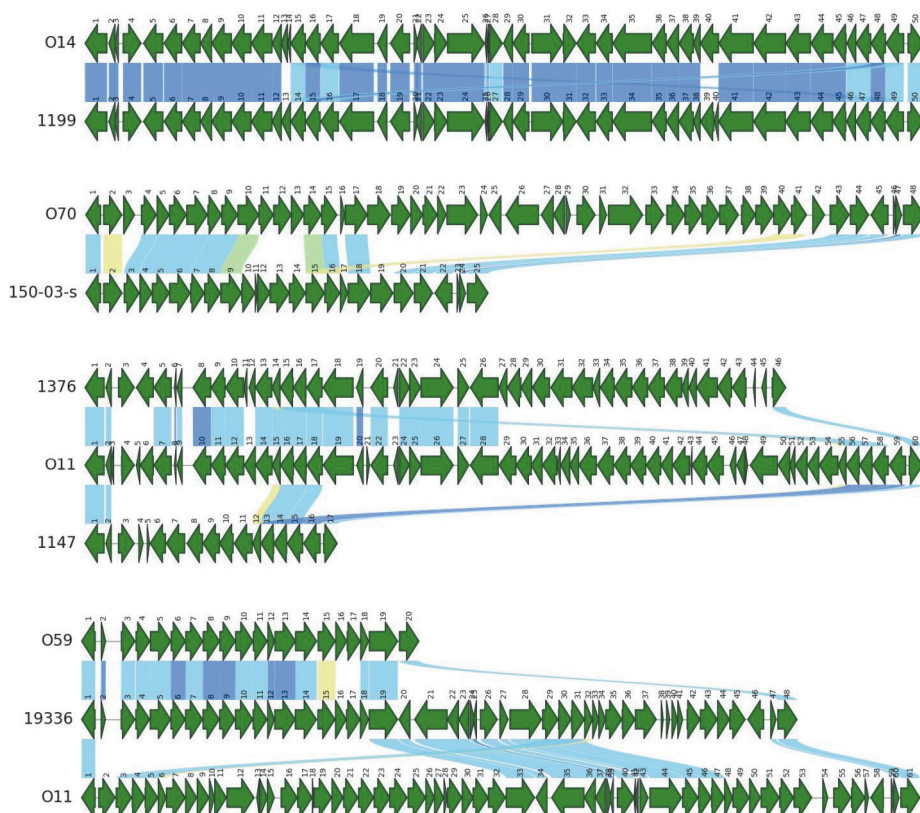


Рис. 3. Сравнение аминокислотных последовательностей белков четырех разных типов *wb\** регионов с белками *wb\** областей пяти штаммов R-варианта:

Пояснение к рисунку аналогично таковому к рис. 2

Fig. 3. Comparison of amino acid sequences of proteins in four different types of *wb\** regions with proteins in *wb\** regions of five R-variant strains:

Clarification remark for the Fig. 3 is similar to that of Fig. 2

О-антигена, свидетельствует об их высокой вариабельности, которая может быть связана с адаптационной изменчивостью вибрионов.

Для построения филогенетического дерева взяты штаммы *V. cholerae* R-варианта, *V. cholerae* O1, а также референсные штаммы серогрупп O23, O59, O14, O63, O11 и O70 и два штамма *V. cholerae* nonO1/nonO139, *wb\** кластеры которых соответствовали *V. cholerae* RIMD 2214261 O23-серогруппы.

Оказалось, что штаммы группировались преимущественно в соответствии с типом кластера (при построении филогенетического дерева гены, расположенные внутри кластера, не использовались, поскольку не входили в состав корового генома). Так, все штаммы с O23-типом *wb\** кластера, как R-варианты, так и *V. cholerae* nonO1/nonO139, а также сам референсный штамм расположились в одной кладе вне зависимости от типа агглютинации. В общей сложности в данную кладу вошли 13 штаммов — все с O23-типом *wb\** кластера (рис. 4).

Вместе с тем четыре штамма (3-20, 1441, 1-19 и 1-18) с *wb\** кластерами, проявляющими сходство с референсным штаммом *V. cholerae* RIMD 2214301 O63-серогруппы, образовали кладу (на рис. 4 отмечена серым цветом), в которую референсный штамм не вошел. Несмотря на то, что *wb\** кластер *V. cholerae* RIMD 2214301 O63 демонстрирует сходство с данной группой, в аминокислотных последовательностях белков, тем не менее, присутствуют и отличия (рис. 3). Следует отметить, что три штамма из этой группы выделены из одной стационарной точки на р. Ушаковке (г. Иркутск) в течение трех лет подряд.

Не исключено, что указанные штаммы могут относиться к новой серогруппе, проявляющей сходство с O63. Однако это предположение требует проведения дополнительных исследований геномных и фенотипических особенностей указанных изолятов.

Наиболее гетерогенной была группа из 9 штаммов с *wb\** последовательностью, соответствующей референсному штамму O59-серогруппы. Она оказалась полифилетической и разделилась на три клады (рис. 4). Гетерогенность внутри группы *V. cholerae* с кластером типа O59 может быть обусловлена тем, что эволюционно она существует более длительный период времени и претерпела большее количество эволюционных событий, повлекших изменения генома, и/или имел место горизонтальный перенос участка, кодирующего О-антиген, в результате чего близкий по строению *wb\** регион существует в филогенетически далеких друг от друга вибрионах.

В общую кладу сгруппировались референсный *V. cholerae* O11 и два штамма, в *wb\** кластере которых есть единичные гены, имеющиеся в O11-кластере. Помимо этого, отдельную самостоятельную кладу образовала также группа из двух штаммов: референсного *V. cholerae* O14 и R-варианта с *wb\** регионом O14-типа.

Кластер размером около 47 т.п.н., аналог которого отсутствовал среди 206 референсных штаммов разных серогрупп, обнаружен у штамма *V. cholerae* 19336. В его составе присутствуют участки с аминокислотными последовательностями, встречающимися у типовых *V. cholerae* серогрупп O59 и O11. Штаммы O1-серогруппы сформировали на дендро-



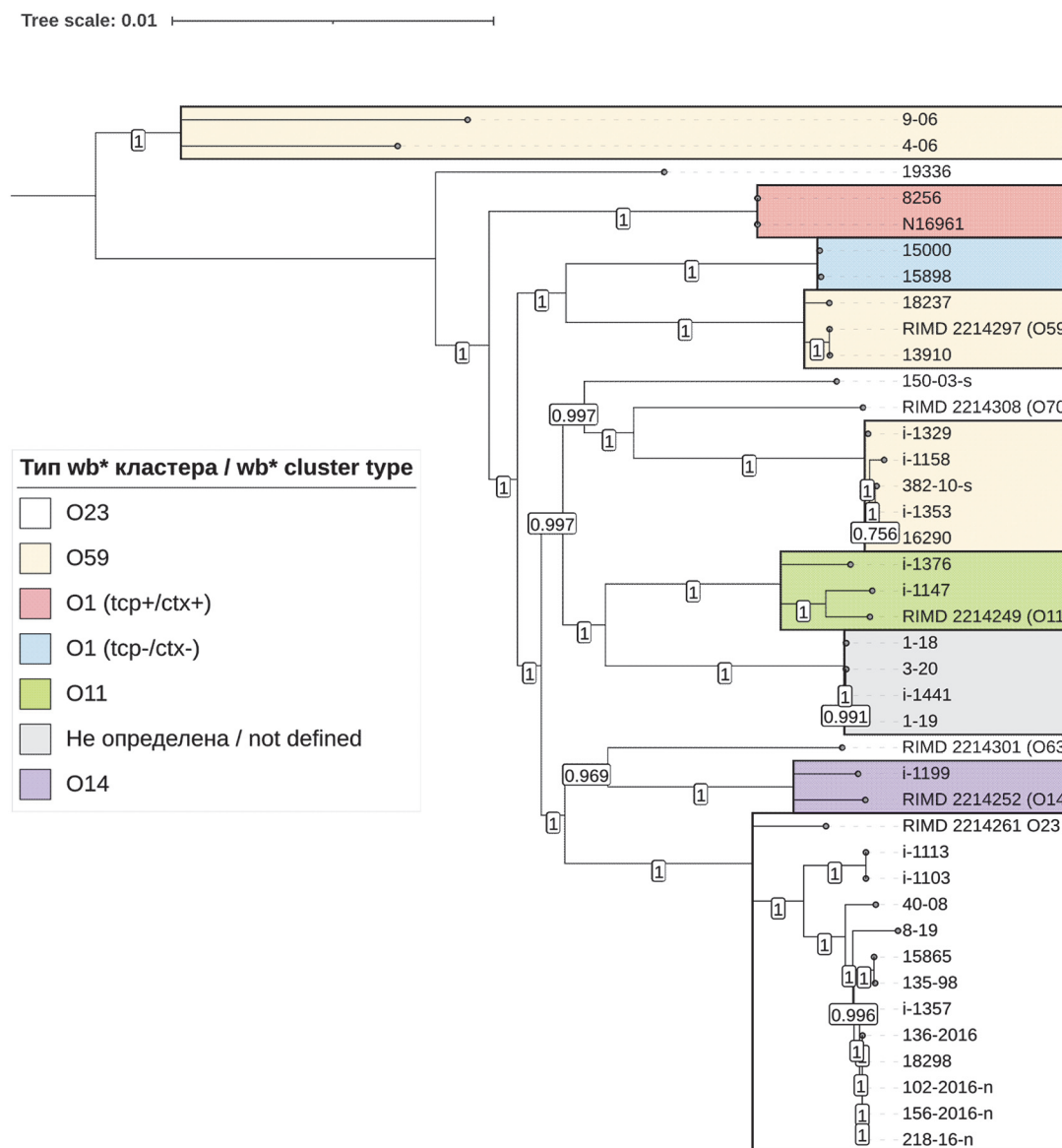


Рис. 4. Филогенетическое дерево на основании последовательностей корового генома. Значения поддержки топологии (bootstrap) указаны для внутренних узлов. Цвет фона клады обозначает тип *wb\** кластера

Fig. 4. Phylogenetic tree based on sequences of the core genome. Support values (bootstrap) are provided for internal nodes. The background color of each clade represents the type of *wb\** cluster

грамме два кластера, в составе которых отсутствуют штаммы *V. cholerae* R-варианта.

В структуре локуса *wb\** исследуемых вибрионов не удалось выявить специфических генетических изменений, свойственных только штаммам *V. cholerae* R-варианта, которые предположительно могли бы способствовать переходу в R-фенотип. Среди исследованных штаммов R-варианта не обнаружено *wb\** кластеров O1-серогруппы. С большой уверенностью можно констатировать, что все рассмотренные в данной работе штаммы R-варианта не содержат генов *wbe* кластера и не являются *V. cholerae* O1 с изменениями по признаку агглютинабельности.

Вне зависимости от того, способны штаммы к агглютинации холерной диагностической сывороткой RO или нет, филогенетически они располагают-

ся на кладограмме преимущественно в соответствии с типом *wb\** региона.

Соответственно, фенотип R-вариант – это не систематический признак, а приобретенная особенность штаммов, которая затрудняет определение серогрупповой принадлежности. Выяснение вероятных причин приобретения холерным вибрионом способности агглютинироваться RO-сывороткой при отсутствии мутаций в структуре локуса *wb\** требует проведения дополнительных исследований.

При этом штамм может обладать генами, классифицирующими его как *V. cholerae* nonO1/nonO139 либо как *V. cholerae* O1-серогруппы, различными по эпидемической значимости.

С учетом изложенного можно заключить, что отсутствие у штаммов *V. cholerae* R-варианта генов биосинтеза O1- и O139-антигенов при наличии ви-

доспецифических генетических детерминант по результатам ПЦР дает основание для отнесения их к *V. cholerae* nonO1/nonO139. При обнаружении таких вибрионов в объектах окружающей среды идентификация их должна осуществляться в соответствии с нормативно-методическими документами в лабораториях территориального уровня. В случае выделения культуры *V. cholerae* с указанными выше фенотипическими и молекулярно-генетическими характеристиками из клинического материала идентификация культуры проводится в лабораториях регионального и федерального уровней с использованием дополнительных методов, в частности секвенирования геномов и анализа локуса *wb\**, с целью уточнения принадлежности штамма к той или иной серологической группе.

**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 особую благодарность Е.С. Герасимову за оказанную неоценимую помощь в обработке данных.

#### Список литературы

- Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Архангельская И.В., Якушева О.А., Алексеева Л.П., Водопьянов С.О., Ежова М.И., Носков А.К. Изучение диапазона изменчивости по агглютинабельности штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных при мониторинговых исследованиях. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 3:107–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-107-114.
- Chatterjee S.N., Chaudhuri K. Lipopolysaccharides of *Vibrio cholerae*. I. Physical and chemical characterization. *Biochim. Biophys. Acta*. 2003; 1639(2):65–79. DOI: 10.1016/j.bbadis.2003.08.004.
- Blokesch M., Schoolnik G.K. Serogroup conversion of *Vibrio cholerae* in aquatic reservoirs. *PLoS Pathog.* 2007; 3(6):e81. DOI: 10.1371/journal.ppat.0030081.
- Aydanian A., Tang L., Morris J.G., Johnson J.A., Stine O.C. Genetic diversity of O-antigen biosynthesis regions in *Vibrio cholerae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011; 77(7):2247–53. DOI: 10.1128/AEM.01663-10.
- 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.
- Li M., Shimada T., Morris J.G. Jr, Sulakvelidze A., Sozhamannan S. Evidence for the emergence of non-O1 and non-O139 *Vibrio cholerae* strains with pathogenic potential by exchange of O-antigen biosynthesis regions. *Infect. Immun.* 2002; 70(5):2441–53. DOI: 10.1128/IAI.70.5.2441-2453.2002.
- De K., Ramamurthy T., Faruque S.M., Yamasaki S., Takeda Y., Nair G.B., Nandy R.K. Molecular characterisation of rough strains of *Vibrio cholerae* isolated from diarrhoeal cases in India and their comparison to smooth strains. *FEMS Microbiol. Lett.* 2004; 232(1):23–30. DOI: 10.1016/S0378-1097(04)00013-8.
- Алексеева Л.П., Черепакхина И.Я., Сальникова О.И., Бурлакова О.С. Изучение антигенных взаимосвязей атипичных R-форм холерного вибриона на основе моноклональных антител. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1998; (4):9–12.
- Mitra R.K., Nandy R.K., Ramamurthy T., Bhattacharya S.K., Yamasaki S., Shimada T., Takeda Y., Nair G.B. Molecular characterisation of rough variants of *Vibrio cholerae* isolated from hospitalised patients with diarrhoea. *J. Med. Microbiol.* 2001; 50(3):268–76. DOI: 10.1099/0022-1317-50-3-268.
- Заднова С.П., Смирнова Н.И. Роль внеклеточного экзополисахарида в адаптации возбудителя холеры во внешней среде. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2010; 3:13–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-3(105)-13-19.
- Shimada T., Sakazaki R. R antigen of *Vibrio cholerae*. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 1973; 26(4):155–60. DOI: 10.7883/yoken1952.26.155.
- Yang X., Liu D., Liu F., Wu J., Zou J., Xiao X., Zhao F., Zhu B. HTQC: a fast quality control toolkit for Illumina sequencing data. *BMC Bioinformatics*. 2013; 14:33. DOI: 10.1186/1471-2105-14-33.
- Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014; 30(15):2114–20. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu170.
- 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.
- Gurevich A., Saveliev V., Vyahhi N., Tesler G. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics*. 2013; 29(8):1072–5. DOI: 10.1093/bioinformatics/btt086.
- Slater G.S., Birney E. Automated generation of heuristics for biological sequence comparison. *BMC Bioinformatics*. 2005; 6:31. DOI: 10.1186/1471-2105-6-31.
- Zhang Z., Schwartz S., Wagner L., Miller W. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J. Comput. Biol.* 2000; 7(1-2):203–14. DOI: 10.1089/10665270050081478.
- Page A.J., Cummins C.A., Hunt M., Wong V.K., Reuter S., Holden M.T., Fookes M., Falush D., Keane J.A., Parkhill J. Roary: rapid large-scale prokaryote pan genome analysis. *Bioinformatics*. 2015; 31(22):3691–3. DOI: 10.1093/bioinformatics/btv421.
- Marçais G., Delcher A.L., Phillippy A.M., Coston R., Salzberg S.L., Zimin A. MUMmer4: A fast and versatile genome alignment system. *PLoS Comput. Biol.* 2018; 14(1):e1005944. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005944.
- Levchenko D.A., Kruglikov V.D., Arkhangel'skaya I.V., Yakusheva O.A., Alekseeva L.P., Vodop'yanov S.O., Ezhova M.I., Noskov A.K. [Assessment of the variation range of agglutinability in *Vibrio cholerae* strains isolated in the course of monitoring studies]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (3):107–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-107-114.
- Chatterjee S.N., Chaudhuri K. Lipopolysaccharides of *Vibrio cholerae*. I. Physical and chemical characterization. *Biochim. Biophys. Acta*. 2003; 1639(2):65–79. DOI: 10.1016/j.bbadis.2003.08.004.
- Blokesch M., Schoolnik G.K. Serogroup conversion of *Vibrio cholerae* in aquatic reservoirs. *PLoS Pathog.* 2007; 3(6):e81. DOI: 10.1371/journal.ppat.0030081.
- Aydanian A., Tang L., Morris J.G., Johnson J.A., Stine O.C. Genetic diversity of O-antigen biosynthesis regions in *Vibrio cholerae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011; 77(7):2247–53. DOI: 10.1128/AEM.01663-10.
- 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.
- Li M., Shimada T., Morris J.G. Jr, Sulakvelidze A., Sozhamannan S. Evidence for the emergence of non-O1 and non-O139 *Vibrio cholerae* strains with pathogenic potential by exchange of O-antigen biosynthesis regions. *Infect. Immun.* 2002; 70(5):2441–53. DOI: 10.1128/IAI.70.5.2441-2453.2002.
- De K., Ramamurthy T., Faruque S.M., Yamasaki S., Takeda Y., Nair G.B., Nandy R.K. Molecular characterisation of rough strains of *Vibrio cholerae* isolated from diarrhoeal cases in India and their comparison to smooth strains. *FEMS Microbiol. Lett.* 2004; 232(1):23–30. DOI: 10.1016/S0378-1097(04)00013-8.
- Alekseeva L.P., Cherepakina I.Ya., Sal'nikova O.I., Burlakova O.S. [A monoclonal antibody-based study of the antigenic interrelations of typical and R forms of *Vibrio cholerae*]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 1998; (4):9–12.
- Mitra R.K., Nandy R.K., Ramamurthy T., Bhattacharya S.K., Yamasaki S., Shimada T., Takeda Y., Nair G.B. Molecular characterisation of rough variants of *Vibrio cholerae* isolated from hospitalised patients with diarrhoea. *J. Med. Microbiol.* 2001; 50(3):268–76. DOI: 10.1099/0022-1317-50-3-268.
- Zadnova S.P., Smirnova N.I. [The Role of Extracellular exopolysaccharide in cholera agent adaptation in the environment]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2010; (3):13–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-3(105)-13-19.
- Shimada T., Sakazaki R. R antigen of *Vibrio cholerae*. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 1973; 26(4):155–60. DOI: 10.7883/yoken1952.26.155.
- Yang X., Liu D., Liu F., Wu J., Zou J., Xiao X., Zhao F., Zhu B. HTQC: a fast quality control toolkit for Illumina sequencing data. *BMC Bioinformatics*. 2013; 14:33. DOI: 10.1186/1471-2105-14-33.
- Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014; 30(15):2114–20. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu170.

#### References

- Levchenko D.A., Kruglikov V.D., Arkhangel'skaya I.V., Yakusheva O.A., Alekseeva L.P., Vodop'yanov S.O., Ezhova M.I., Noskov A.K. [Assessment of the variation range of agglutinability in *Vibrio cholerae* strains isolated in the course of monitoring studies]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (3):107–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-107-114.
- Chatterjee S.N., Chaudhuri K. Lipopolysaccharides of *Vibrio cholerae*. I. Physical and chemical characterization. *Biochim. Biophys. Acta*. 2003; 1639(2):65–79. DOI: 10.1016/j.bbadis.2003.08.004.
- Blokesch M., Schoolnik G.K. Serogroup conversion of *Vibrio cholerae* in aquatic reservoirs. *PLoS Pathog.* 2007; 3(6):e81. DOI: 10.1371/journal.ppat.0030081.
- Aydanian A., Tang L., Morris J.G., Johnson J.A., Stine O.C. Genetic diversity of O-antigen biosynthesis regions in *Vibrio cholerae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011; 77(7):2247–53. DOI: 10.1128/AEM.01663-10.
- 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.
- Li M., Shimada T., Morris J.G. Jr, Sulakvelidze A., Sozhamannan S. Evidence for the emergence of non-O1 and non-O139 *Vibrio cholerae* strains with pathogenic potential by exchange of O-antigen biosynthesis regions. *Infect. Immun.* 2002; 70(5):2441–53. DOI: 10.1128/IAI.70.5.2441-2453.2002.
- De K., Ramamurthy T., Faruque S.M., Yamasaki S., Takeda Y., Nair G.B., Nandy R.K. Molecular characterisation of rough strains of *Vibrio cholerae* isolated from diarrhoeal cases in India and their comparison to smooth strains. *FEMS Microbiol. Lett.* 2004; 232(1):23–30. DOI: 10.1016/S0378-1097(04)00013-8.
- Alekseeva L.P., Cherepakina I.Ya., Sal'nikova O.I., Burlakova O.S. [A monoclonal antibody-based study of the antigenic interrelations of typical and R forms of *Vibrio cholerae*]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 1998; (4):9–12.
- Mitra R.K., Nandy R.K., Ramamurthy T., Bhattacharya S.K., Yamasaki S., Shimada T., Takeda Y., Nair G.B. Molecular characterisation of rough variants of *Vibrio cholerae* isolated from hospitalised patients with diarrhoea. *J. Med. Microbiol.* 2001; 50(3):268–76. DOI: 10.1099/0022-1317-50-3-268.
- Zadnova S.P., Smirnova N.I. [The Role of Extracellular exopolysaccharide in cholera agent adaptation in the environment]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2010; (3):13–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-3(105)-13-19.
- Shimada T., Sakazaki R. R antigen of *Vibrio cholerae*. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 1973; 26(4):155–60. DOI: 10.7883/yoken1952.26.155.
- Yang X., Liu D., Liu F., Wu J., Zou J., Xiao X., Zhao F., Zhu B. HTQC: a fast quality control toolkit for Illumina sequencing data. *BMC Bioinformatics*. 2013; 14:33. DOI: 10.1186/1471-2105-14-33.
- Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014; 30(15):2114–20. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu170.

14. 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.
15. Gurevich A., Saveliev V., Vyahhi N., Tesler G. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics.* 2013; 29(8):1072–5. DOI: 10.1093/bioinformatics/btt086.
16. Slater G.S., Birney E. Automated generation of heuristics for biological sequence comparison. *BMC Bioinformatics.* 2005; 6:31. DOI: 10.1186/1471-2105-6-31.
17. Zhang Z., Schwartz S., Wagner L., Miller W. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J. Comput. Biol.* 2000; 7(1-2): 203–14. DOI: 10.1089/10665270050081478.
18. Page A.J., Cummins C.A., Hunt M., Wong V.K., Reuter S., Holden M.T., Fookes M., Falush D., Keane J.A., Parkhill J. Roary: rapid large-scale prokaryote pan genome analysis. *Bioinformatics.* 2015; 31(22):3691–3. DOI: 10.1093/bioinformatics/btv421.
19. Marçais G., Delcher A.L., Phillippy A.M., Coston R., Salzberg S.L., Zimin A. MUMmer4: A fast and versatile genome alignment system. *PLoS Comput. Biol.* 2018; 14(1):e1005944. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005944.

# Authors:

Podoinitsyna O.A., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Levchenko D.A., Temyakova S.Yu., 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@aaaanet.ru.

Mironova L.V., Fedotova I.S., Galach'yants Yu.P., Basov E.A., Ponomareva A.S. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

# Об авторах:

Подойницына О.А., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Левченко Д.А., Телякова С.Ю., Носков А.К. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaaanet.ru.

Миронова Л.В., Федотова И.С., Галачянц Ю.П., Басов Е.А., Пономарева А.С. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.



DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-154-162

УДК 616.98:578.833.2:616-07

А.Г. Полтавченко, А.В. Ерш, П.В. Филатов, Н.Д. Ушкаленко, Д.В. Шаньшин, Д.Н. Щербаков

**Рекомбинантный аналог домена III оболочечного гликопротеина вируса клещевого энцефалита и его применение для дифференциальной диагностики флавивирусных инфекций**

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

Клещевой энцефалит – эндемичное для обширных территорий Европы и Азии инфекционное заболевание, вызываемое вирусом клещевого энцефалита из рода *Orthoflavivirus*, передающееся через укус клеща и характеризующееся лихорадочным состоянием с последующим развитием потенциально смертельного энцефалита. Серологическая диагностика клещевого энцефалита осложняется выраженной перекрестной реактивностью с антителами к возбудителям эндемичных и завозных флавивирусных инфекций. **Цель** исследования – получение рекомбинантного аналога домена III поверхностного белка Е вируса клещевого энцефалита (ЕDIII-ВКЭ) и оценка эффективности его применения для выявления антител класса IgG к вирусу клещевого энцефалита и дифференциации их от антител к возбудителям других флавивирусных инфекций. **Материалы и методы.** Проведено сравнительное исследование панелей, содержащих и не содержащих IgG-антитела к вирусу клещевого энцефалита, а также панелей и образцов, содержащих антитела к вирусам желтой лихорадки, денге и Зика, с использованием коммерческих наборов для иммуноферментного анализа антител к вирусу клещевого энцефалита и экспериментальных наборов в форматах иммуноферментного и дот-иммуноанализа на основе ЕDIII-ВКЭ. **Результаты и обсуждение.** Показано, что использование экспериментальных наборов на основе ЕDIII-ВКЭ позволяет эффективно выявлять антитела класса IgG к вирусу клещевого энцефалита и, в отличие от коммерческих тестов, дифференцировать их от антител к возбудителям тропических лихорадок денге, желтой и Зика. Рекомбинантный аналог домена III поверхностного белка Е вируса клещевого энцефалита может быть полезным реагентом захвата при создании диагностических тест-систем в формате иммуноферментного и дот-иммуноанализа для дифференцированного выявления антител класса IgG к вирусу клещевого энцефалита.

**Ключевые слова:** гликопротеин Е, вирус клещевого энцефалита, рекомбинантные белки, серологические маркеры, иммуноферментный анализ, дот-иммуноанализ.

Корреспондирующий автор: Филатов Павел Владимирович, e-mail: filatov\_pv@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Полтавченко А.Г., Ерш А.В., Филатов П.В., Ушкаленко Н.Д., Шаньшин Д.В., Щербаков Д.Н. Рекомбинантный аналог домена III оболочечного гликопротеина вируса клещевого энцефалита и его применение для дифференциальной диагностики флавивирусных инфекций. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 3:154–162. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-154-162

Поступила 31.05.2023. Отправлена на доработку 22.09.2023. Принята к публ. 23.05.2024.

A.G. Poltavchenko, A.V. Ersh, P.V. Filatov, N.D. Ushkalenko, D.V. Shan'shin, D.N. Shcherbakov

**Recombinant Analogue of Envelope Glycoprotein Domain III of the Tick-Borne Encephalitis Virus and its Application for the Differential Diagnosis of Flavivirus Infections**

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

**Abstract.** Tick-borne encephalitis is a flavivirus disease, endemic to vast areas of Europe and Asia, caused by the tick-borne encephalitis virus from the genus *Orthoflavivirus*, transmitted through the bite of a tick. The course of infection is characterized by fever followed by the development of potentially fatal encephalitis. Serological diagnosis of tick-borne encephalitis is complicated by severe cross-reactivity with antibodies to other endemic and imported flavivirus infections. **The aim** of the study was to obtain a recombinant analogue of domain III of the surface protein E of the tick-borne encephalitis virus (EDIII-TBEV) and assess its ability to detect antibodies to the tick-borne encephalitis virus and differentiate them from antibodies to other flavivirus infections. **Materials and methods.** A comparative study was performed using panels of sera containing and not containing antibodies to the tick-borne encephalitis virus, and panels of samples with antibodies to yellow fever, dengue, and Zika viruses. The study was conducted using commercial tests and experimental kits based on EDIII-TBEV in the ELISA format and in the dot analysis format. **Results and discussion.** It has been shown that the use of experimental kits based on EDIII-TBEV makes it possible to effectively detect IgG antibodies to tick-borne encephalitis virus and, in contrast to commercial tests, to differentiate them from antibodies to the pathogens of dengue, yellow and Zika tropical fevers. A recombinant analogue of domain III of the surface protein E in the tick-borne encephalitis virus can be a useful capture reagent when creating diagnostic test systems in the format of enzyme-linked immunosorbent assay and dot-immunoassay for the differentiated detection of IgG antibodies to the tick-borne encephalitis virus.

**Key words:** glycoprotein E, tick-borne encephalitis virus, recombinant proteins, serological markers, ELISA, dot immunoassay.

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

**Funding:** The study was carried out as part of the implementation of the state assignment of the Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being.

**Bioethics:** The collection and use of blood sera from employees of the State Scientific Center of Virology and Biotechnology “Vector” were approved at meetings of the Ethical Committee of the FBIS SSCVB “Vector” of the Rospotrebnadzor (protocol dated 04/18/2023 No. 6 and protocol dated 04/14/2022 No. 4). During the experiments, all the samples were coded.

**Corresponding author:** Pavel V. Filatov, e-mail: [filatov\\_pv@vector.nsc.ru](mailto:filatov_pv@vector.nsc.ru).

**Citation:** Poltavchenko A.G., Ersh A.V., Filatov P.V., Ushkalenko N.D., Shan'shin D.V., Shcherbakov D.N. Recombinant Analogue of Envelope Glycoprotein Domain III of the Tick-Borne Encephalitis Virus and its Application for the Differential Diagnosis of Flavivirus Infections. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 3:154–162. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-154-162

Received 31.05.2023. Revised 22.09.2023. Accepted 23.05.2024.

Poltavchenko A.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2408-5611>

Ersh A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9220-1250>

Filatov P.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7763-3808>

Ushkalenko N.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2171-7444>

Shan'shin D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9985-1582>

Shcherbakov D.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8023-4453>

Род *Orthoflavivirus* из семейства *Flaviviridae* включает оболочечные вирусы диаметром 40–50 нм со сходной молекулярной организацией, содержащие одноцепочечную РНК положительной полярности длиной от 9 до 11 тыс. нуклеотидных остатков. Представители рода ортофлавириусов (ОФВ) являются возбудителями наиболее распространенных в мире арбовирусных инфекций, многие из которых связывают с путешествиями [1–3]. Передача таких заболеваний обычно осуществляется членистоногими переносчиками – через укусы комаров или клещей. Наиболее значимые для человека ОФВ-инфекции вызываются вирусами денге, Зика, желтой лихорадки, японского энцефалита, Западного Нила и клещевого вирусного энцефалита. Для этих заболеваний характерны лихорадки, в том числе с выраженными геморрагическими проявлениями, менингиты и энцефалиты, сопровождающиеся поражениями центральной нервной системы, печени и других внутренних органов [2, 4]. На территории Российской Федерации наиболее распространенным флавирусом является вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) (около 2 тыс. случаев заболевания в год), регистрируются завозные случаи лихорадки денге [5] и других тропических лихорадок. Поскольку многие инфекционные заболевания, особенно на начальном этапе, могут иметь сходные клинические проявления, для их дифференциации требуются надежные лабораторные методы [3].

Лабораторная диагностика ОФВ-инфекций может быть выполнена с использованием различных подходов, наиболее широко используются молекулярно-биологические и серологические тесты. Надежные результаты при высокой степени чувствительности и специфичности, позволяющие дифференцировать виды и даже штаммы ОФВ, может обеспечить полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), однако реализация этого метода возможна в строго контролируемых лабораторных условиях. Кроме того, ОТ-ПЦР позволяет обнаруживать вирус только на ранней стадии инфекционного процесса (5–7 дней с начала заболевания). При возникновении клинических симптомов и обращении пациентов за медицинской помощью вирус уже может снизиться до неопределяемого уровня, что сделает метод ОТ-ПЦР малоэффективным [3, 6]. В таких случаях может быть полезной диагностика, основанная на обнаружении антител класса IgM (со второй недели заболевания) или класса IgG (с третьей неде-

ли болезни) в сыворотках крови пациентов. Для подтверждения активной инфекции исследуют парные сыворотки, отобранные с интервалом в 7–10 дней. Серологические методы проще в исполнении, менее затратны и прихотливы, чем ПЦР. Некоторые форматы методов выявления антител могут выполняться в условиях слабо оснащенных медицинских пунктов, не требуют участия квалифицированных медицинских кадров [3, 6]. Ранее нами создана автономная платформа дот-иммуноанализа на основе белковых матриц, позволяющая проводить одновременное выявление нескольких серологических маркеров инфекционных заболеваний, допускающая визуальный учет результатов и пригодная для использования вне лаборатории [7]. Такой подход может быть полезен для диагностики клещевых инфекций в наиболее уязвимых эндемичных регионах с недостаточно развитой лабораторной инфраструктурой [6, 8].

Для распознавания клещевых инфекций необходим набор, который не только способен дифференцировать возбудителей серокомплекса клещевого энцефалита (КЭ) [9], но и дает возможность отличать их от случаев с другой этиологией. В частности, значительные затруднения могут возникать при дифференциации антител к ВКЭ, вирусу лихорадки денге [10] и другим ОФВ. Ложноположительные результаты, вызванные перекрестной реактивностью ОФВ, создают большие проблемы для эпиднадзора и диагностики. Их частично перекрывающееся географическое распространение и сходные симптомы в сочетании с увеличением количества поездок в эндемичные регионы и антителами, приобретенными в результате вакцинации, увеличивают потребность в быстрых и надежных диагностических тестах в дополнение к используемым в настоящее время методам. Сейчас для серологической диагностики КЭ наиболее широко используется планшетный вариант иммуноферментного анализа (ИФА) с захватом антител на иммуносорбенте, сенсibilизированном суммарными белками ВКЭ или цельным очищенным и инактивированным вирусом [11–14]. Такой подход обеспечивает высокую чувствительность выявления антител, но сопровождается выраженной реактивностью с антителами к другим ОФВ, поскольку аминокислотная гомология белков, кодируемых геномами разных видов ОФВ, достигает 70–90 % [15, 16]. Чтобы преодолеть перекрестную реактивность в серодиагностике ОФВ, предпочтительно использование не цельного вируса, а рекомбинантных анти-

генов [3, 8, 14, 17]. Наиболее часто в тест-системах используются рекомбинантные белки оболочки (Е) [9, 18, 19], премембраны (pre М) [17] и неструктурный белок NS1 [3]. Белок Е имеет молекулярную массу около 50 кДа (496 а.о.), является основным структурным белком ВКЭ и иммунодоминантным антигеном при выработке нейтрализующих антител. При нейтральном значении рН гликопротеин Е представляет собой димер, мономеры которого состоят из трех отдельных доменов [14]. Домены I и II включают кросс-реактивные эпитопы и способны выявлять общие для ОФВ антитела [20], а домен III (EDIII) содержит наибольшее число видоспецифичных эпитопов и перспективен для изготовления дифференцирующих тестов [9, 14, 18, 19].

**Цель работы** – получение рекомбинантного аналога домена III поверхностного белка Е ВКЭ (EDIII-ВКЭ) и предварительная оценка эффективности его применения для серологической дифференциальной диагностики ОФВ-инфекций в формате ИФА и автономного дот-иммуноанализа.

### Материалы и методы

**Материалы.** В работе использовали химические реактивы и моноклональные антитела мыши против IgG человека (I9388) (Sigma, США), если по тексту не указано другое. Для изготовления подложек белковых матриц применяли синтетическую бумагу Zenofol-Print толщиной 0,5 мм («Зенон», Россия). В качестве контроля качества конъюгата и проявителя в дот-анализе использовали IgG из сыворотки человека (Igg) («Имтек», Россия).

**Исследуемые образцы.** В экспериментах использовали пул сывороток крови человека, содержащий:

- панель образцов, содержащих и не содержащих антитела к ВКЭ, включающую 40 положительных и 20 отрицательных сывороток крови, предоставленную по договору о сотрудничестве БУЗ Республики Алтай «Центр по профилактике и борьбе со СПИД»;

- панель из 20 образцов сывороток крови сотрудников ГНЦ ВБ «Вектор», привитых против ВКЭ, отбор и использование сывороток крови одобрены на заседании этического комитета ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (протокол от 18.04.2023 № 6);

- панель образцов, включающую 10 сывороток крови, полученных от сотрудников ГНЦ ВБ «Вектор», вакцинированных против желтой лихорадки (ЖЛ), участие в исследовании одобрено на заседании этического комитета ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (протокол от 14.04.2022 № 4), при формировании панели отбирали образцы у пациентов с подтвержденным наличием специфических антител к вирусу ЖЛ [21] и не имевших вакцинации или перенесенного КЭ в анамнезе;

- коммерческую панель из 9 образцов сыворотки крови, содержащих маркеры лихорадки

денге (Dengue Fever Verification panel, KZMC028; ZeptoMetrix®, LLC, США);

- коммерческую контрольную панель, включающую два образца, содержащие IgG и IgM к вирусу Зика, а также негативный контроль (Zika IgM/IgG Control Pack [IgM, IgG & Negative Controls], 0801020; ZeptoMetrix®, LLC, США), предоставленную ООО «Имбиан-Лаб» (Россия);

- панель из 10 образцов больных вирусным гепатитом С (ВГС), предоставленную ООО «Имбиан-Лаб» (Россия) в закодированном виде.

При проведении экспериментов все образцы подвергались кодированию.

**Получение рекомбинантного аналога домена III гликопротеина Е вируса клещевого энцефалита (EDIII-ВКЭ)**

**Получение рекомбинантной конструкции EDIII-ВКЭ.** Синтез гена, кодирующего фрагмент оболочного белка Е вируса клещевого энцефалита с 586–679 а.о., соответствующий домену III (EDIII-ВКЭ) штамма Glubinnoe/2004 [GenBank: DQ862460.1], осуществлялся в ООО «ДНК-Синтез» (Россия). Синтезированную нуклеотидную последовательность gEDIII-ВКЭ клонировали в составе экспрессионной плазмиды pET32a по сайтам рестрикции BamHI и CciNI в единой рамке считывания с последовательностью, кодирующей белок тиоредоксин (Trx). Рекомбинантной плазмидой pET32-EDIII-ВКЭ трансформировали клетки *Escherichia coli* штамма Stbl3 (Thermo Fisher Scientific, США) методом химической трансформации [22]. Клетки *E. coli* высевали на селективную среду, содержащую агар LB и 100 мкг/мл ампициллина. Полученные колонии *E. coli* использовали для наработки плазмидной ДНК. Целостность рамки считывания проверяли с помощью рестрикционного анализа, ПЦР и секвенирования по Сенгеру.

**Наработка и очистка рекомбинантных белков.** Для экспрессии гена, кодирующего белок EDIII-ВКЭ, плазмидой pET32-EDIII-ВКЭ трансформировали клетки *E. coli* штамма BL21(DE3). Клетки культивировали в среде LB, содержащей 100 мкг/мл ампициллина, до достижения оптической плотности OD=0,6–0,8. В культуру клеток вносили изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозид (IPTG; Sigma, США) до конечной концентрации 0,5 мМ и инкубировали в термостатируемом шейкере роторного типа в течение 16 ч при температуре 37 °С, 180 об/мин. Биомассу осаждали центрифугированием (6000 g, 15 мин, 4 °С), ресуспендировали в лизирующем буферном растворе (30 мМ NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,5 М NaCl, 20 мМ имидазол, 8 М Urea, 1 % TritonX100, pH 7,4) и обрабатывали ультразвуком циклами по 2 мин с частотой 100 мHz до достижения оптической плотности OD=0,2. Для удаления клеточного дебриса культуру после обработки ультразвуком центрифугировали (25000 g, 25 мин, 4 °С). Очистку целевого белка из лизата выполняли методом металл-хелатной аффинной хроматографии на сорбенте Ni-IMAC



сефарозы (GE Healthcare, США), объем сорбента в колонке – 5 мл. Элюцию проводили фракциями по 10 мл с контролем целевого белка методом электрофоретического разделения белков в денатурирующих условиях в 15 % полиакриламидном геле по методу Лэммли [23].

**Экспериментальный набор для дот-иммуноанализа «Вектор ВКЭ IgG-дот».** Для получения белковых матриц на поверхность подложки из синтетической бумаги Zenofol-Print дискретно наносили аликвотами по 3 мкл раствор рекомбинантного белка EDIII-ВКЭ с концентрацией 2,6 мкг/мл в 0,01 М боратном буферном растворе (pH 6,0) – тестовая точка и IgG человека (Sigma, США), с концентрацией 2,5 мкг/мл в том же растворе – контрольная точка. Матрицы блокировали погружением в раствор 0,2 % казеина на 2 ч при комнатной температуре, просушивали, упаковывали в полиэтилен и хранили до использования при температуре 4 °С. Конъюгат коллоидного золота (30 нм), связанного с моноклональными антителами мыши против IgG человека получали так, как описано ранее [24]. Для проявления результатов применяли таблетки сухой смеси,

содержащие 2,5 мг лимонной кислоты и 2 мг метола, а также жидкий компонент в виде 0,4 % раствора нитрата серебра. Дот-анализ выполняли в многоячеечной аналитической ванне, заполненной готовыми к применению растворами (табл. 1).

В первый ряд ячеек ванны вносили по 15 мкл исследуемых образцов сывороток человека (разведение 1/20), а в 9-й ряд – 200 мкл очищенной воды (для растворения сухого компонента проявителя). Белковые матрицы погружали в первый ряд ячеек, инкубировали в течение 30 мин, а затем последовательно перемещали по следующим рядам ячеек согласно алгоритму, представленному в табл. 2. Непосредственно перед внесением матриц в ячейки 9-го ряда в них добавляли по 200 мкл 0,4 % раствора нитрата серебра. После выемки из последнего ряда ячеек матрицы подсушивали на воздухе и визуальнo учитывали результаты. Положительными считали образцы, дающие отчетливо различимое темное пятно в тестовой точке. Для оценки достоверности субъективного визуального учета результатов дот-анализа изображения матриц оцифровывали с применением планшетного сканера, проводили анализ

Таблица 1 / Table 1

Содержимое ячеек аналитической ванны и алгоритм выполнения анализа  
Analytical bath wells content and time of each stage of analysis

Ряд Row	Состав раствора + реагенты, внесенные в ходе анализа Composition of the working solution and reagents added during the analysis	Объем, мкл Volume, $\mu$ L	Время стадии, мин Duration of each stage, minutes
1	Раствор для разведения образца – ФСБ-Т с 0,02 % казеина, pH 8,0 + 15 мкл исследуемого образца Solution for sample dilution – (PBS-T with 0,02 % casein, pH 8.0) + 15 $\mu$ L of the sample	300	30
2	Отмывочный раствор – ФСБ-Т Washing solution PBS-T	350	1
3	Отмывочный раствор – ФСБ-Т Washing solution PBS-T	350	1
4	Рабочее разведение конъюгата Au-a/IgG в ФСБ-Т Working dilution of colloidal gold in PBS-T (20 nm) associated with monoclonal antibodies to human IgG	300	30
5	Отмывочный раствор – ФСБ-Т Washing solution PBS-T	350	1
6	Отмывочный раствор – ФСБ-Т Washing solution PBS-T	350	1
7	Вода очищенная Purified water	400	1
8	Вода очищенная Purified water	400	1
9	Таблетка сухого компонента проявителя + 20 мкл воды очищенной + 200 мкл 0,4 % раствора нитрата серебра Tablet of a dry mixture of citric acid and metol + 20 $\mu$ L of purified water + 200 $\mu$ L of 0.4 % silver nitrate solution	4 мг 4 mg	7
10	Вода очищенная Purified water	400	1
11	Стабилизатор окраски – 1 % тиомочевины и 1 % NaOH в воде очищенной Color stabilizer, i.e. 1 % thiourea in 1 % dilution NaOH based on purified water	300	1
12	Вода очищенная Purified water	400	1

Примечание: ФСБ-Т – 0,02 М натрий-фосфатный буферный раствор с 0,8 % NaCl, 0,1 % Твин-20 и 0,1 % азиды натрия, pH 7,2.

Note: PBS-T – 0.02 M sodium phosphate buffer solution with 0.8 % NaCl, 0.1 % Tween-20 and 0.1 % sodium azide, pH 7.2.

сканов с использованием компьютерной программы DOTREADER 2000 [25], регистрировали оптические сигналы (ОС) в относительных единицах и выполняли их статистическую обработку.

**Экспериментальный набор для ИФА «Вектор ИФА ВКЭ IgG».** 96-луночные высокосорбционные полистироловые планшеты NEST (Nest Biotechnology, Китай) сенсибилизировали рекомбинантным белком EDIII-ВКЭ с концентрацией 1 мкг/мл в 0,01 М карбонатном буферном растворе (pH 9,4) из объема 100 мкл/яч. Планшеты инкубировали 16–18 ч при температуре 4 °С, блокировали в течение 2 ч при комнатной температуре 0,2 % раствором казеина, высушивали, упаковывали в полиэтилен и хранили до использования при 4 °С. Анализ выполняли в объеме 100 мкл с инкубациями по 30 мин с образцами и конъюгатом на основе моноклональных антител к IgG человека, меченных пероксидазой хрена («Имтек», Россия) в термошейкере (Biosan, Латвия) при температуре 37 °С и 600 об/мин. После каждой инкубации планшет 5-кратно вручную промывали фосфатно-солевым буферным раствором с 0,1 % Твин-20 (ФСБ-Т). Проявление результатов субстратом на основе ТМБ (Tetramethylbenzidine liquid substrate system for ELISA, Sigma, США) выполняли в течение 15 мин при комнатной температуре и после внесения стоп-реагента, учитывали результаты с использованием спектрофотометра Tecan Sunrise RC (Tecan Austria GmbH, Австрия) при длине волны 450 нм.

**Тесты сравнения.** Для сравнения использовали коммерческие наборы для ИФА:

– «ВектоВКЭ-IgG» (D-1156). Набор реагентов для иммуноферментного выявления и количественного определения иммуноглобулинов класса G к вирусу клещевого энцефалита (ПУ от 11.04.2017 № РЗН 2017/5605, АО «Вектор-Бест»);

– «БиоСкрин-КЭ (комплект G)» (E-1145). Набор реагентов для выявления антигенов вируса клещевого энцефалита и антител к нему методом иммуноферментного анализа (ТУ 9398-019-10839330-2012, АО БТК «Биосервис»).

Анализ с использованием этих наборов выполняли в соответствии с инструкциями производителей.

**Статистическая обработка.** Все эксперименты выполняли в пяти повторях. Статистическую обработку полученных данных проводили стандартными методами (оценка среднего, стандартное отклонение, доверительный интервал, коэффициент вариации для вероятности 95 %) с помощью программного продукта Microsoft Excel. Количественные данные представлены в виде  $M \pm \varepsilon$ , где  $M$  – среднее значение,  $\varepsilon$  – полуширина доверительного интервала для вероятности 95 % ( $p=0,95$ ,  $\alpha=0,05$ ).

### Результаты и обсуждение

Настоящая работа направлена на исследование эффективности применения полученного рекомбинантного аналога белка ВКЭ в качестве реагента

захвата для выявления антител класса IgG в мультиплексном автономном тесте. Основой этого теста служит дот-иммуноанализ на белковых матрицах, выполняющийся в многоячеечных ваннах, заполненных готовыми растворами. Ранее мы использовали аналогичный подход при диагностике лихорадки денге [26]. Такой тест прост в использовании, допускает применение вне лаборатории и может оказаться полезным в отдаленных сельских районах или во время экспедиций в труднодоступные регионы, где вероятность укуса инфицированного клеща высока, а возможности квалифицированного лабораторного обследования ограничены. Одной из основных задач этой работы являлось изыскание иммунореагентов захвата, обеспечивающих высокую селективность выделения на матрицах специфических антител из образца. Известно, что тест-системы, изготовленные с использованием цельных вирионов различных штаммов ВКЭ, значительно различаются по чувствительности, но все обладают высокой перекрестной реактивностью с антителами к другим флавивирусам, что не позволяет дифференцировать специфические антитела к возбудителю [11–13]. Появившиеся в последнее время публикации свидетельствуют о том, что проблема специфичности анализа может быть решена применением рекомбинантных белков, содержащих высокоселективные антигенные детерминанты, в частности фрагментом III поверхностного гликопротеида E [9, 14, 18, 19]. В предыдущих публикациях мы оценивали применение аналогичного белка вируса денге для дифференциации антител к вирусам денге, Зика, желтой лихорадки и ВКЭ и показали высокую селективность такого подхода [26]. В настоящей работе получен рекомбинантный белок (EDIII-ВКЭ) и на его основе изготовлены экспериментальные наборы для ИФА и дот-анализа. Эти тесты сравнивали с двумя коммерчески доступными наборами для ИФА. Сравнение проводили с использованием: панелей сывороток крови от вакцинированных лиц со сроком после вакцинации не менее 2 мес., образцов, содержащих и не содержащих антитела к ВКЭ, и панелей образцов, содержащих серологические маркеры других ОФВ-инфекций. Результаты параллельного исследования приведены в табл. 2. Положительными результатами при инструментальном учете результатов ИФА и дот-анализа считали данные М–ε, превышающие значения  $OP_{крит}$  а при визуальном учете результатов дот-анализа – отчетливо различимое темное пятно в тестовой точке на белковой матрице.

Видно, что образцы панели, содержащей отрицательные сыворотки доноров крови и положительные образцы от больных или перенесших заболевание КЭ пациентов, адекватно определяются всеми использованными наборами. При этом набор «ВектоВКЭ-IgG» выявляет антитела во всех образцах вакцинированных лиц, в то время как другой коммерческий набор, «БиоСкрин-КЭ», одну сыворотку определяет как отрицательную, а оба экспери-

Таблица 2 / Table 2

Результаты сравнительного определения антител к вирусу клещевого энцефалита коммерческими и экспериментальными наборами для ИФА и дот-иммуноанализа

Results of comparative determination of antibodies to tick-borne encephalitis virus using commercial and experimental kits for ELISA and dot-immunoassay

Панель образцов Sample panel		Результаты ИФА, ОП <sub>450</sub> Results of ELISA (OD 450 nm)			Результаты дот-анализа Results of dot-analysis	
		«ВектоБКЭ- IgG» “VectoTBEV- IgG”	«БиоСкрин- КЭ» “BioScreen- TBE”	Экспериментальный набор «Вектор ИФА БКЭ IgG» Experimental kit “Vector ELISA TBEV-IgG”	Экспериментальный набор «Вектор БКЭ IgG-дот» Experimental kit “Vector TBEV-IgG-dot”	
					ИУ* IR*	ВУ** VR**
Содержащих и не содержащих антитела против БКЭ Containing and not containing antibodies against TBEV	+	40	40	40	40	40
	–	0	0	0	0	0
От пациентов, вакцинированных против КЭ From patients vaccinated against TBE	+	20	19	17	17	17
	–	0	1	3	3	3
От пациентов, вакцинированных против желтой лихорадки From patients vaccinated against yellow fever	+	8	8	0	0	0
	–	2	2	10	10	10
Содержащих маркеры лихорадки денге Containing markers of dengue fever	+	7	7	0	0	0
	–	2	2	9	9	9
Содержащих маркеры лихорадки Зика Containing markers of Zika fever	+	2	2	0	0	0
	–	1	1	3	3	3
От больных гепатитом С From patients with hepatitis C	+	0	0	0	0	0
	–	10	10	10	10	10

Примечания: \* данные, полученные с использованием инструментального учета результатов; \*\* данные, полученные при визуальном учете результатов.

Notes: \* data obtained through instrumental registration of results; \*\* data obtained by visual recording of results.

ментальных набора не выявляют антитела в трех образцах этой панели. Это может быть как следствием применения более избирательных реагентов захвата, так и индивидуальных особенностей иммунной системы пациентов [20, 27] или того факта, что содержание IgG в негативных сыворотках еще не достигло определяемых экспериментальными наборами уровней. Ранее некоторые авторы отмечали значительные отличия при исследовании крови вакцинированных в зависимости от использования гомологичных или гетерологичных антигенов захвата по отношению к вакцине [11, 28].

При исследовании панели образцов, содержащих антитела к вирусу желтой лихорадки, оба коммерческих набора показывают положительные результаты со всеми образцами, за исключением двух сывороток, формирующих, как было показано ранее, самые слабые оптические сигналы в ИФА. В панели образцов, содержащих маркеры лихорадки денге, эти наборы положительно определяют 7 из 9 образцов. Две сыворотки, показавшие отрицательные результаты, как показано в предыдущей работе [26], содержат не IgG к вирусу денге, а другие маркеры (IgM и белок NS1). В панели образцов с антителами к вирусу Зика коммерческие наборы дают позитивный сигнал с сыворотками, содержащими IgG и IgG+IgM антитела, но не реагируют с негативным контролем. Таким образом, использованные коммерческие наборы не обеспечивают дифференциацию

антител к разным видам возбудителей внутри рода *Orthoflavivirus*, однако не реагируют с антителами к вирусу гепатита С – представителю рода *Hepacivirus* семейства *Flaviviridae*.

Оба экспериментальных набора не обнаруживают взаимодействия с образцами гетерогенных панелей, что свидетельствует о высокой специфичности белка EDIII-БКЭ, позволяющей отличать антитела к БКЭ от антител к другим представителям рода *Orthoflavivirus*.

Сравнение чувствительности использованных наборов при выявлении антител к БКЭ приведено в табл. 3 на примере двух позитивных образцов с высоким (образец 1) и низким (образец 2) содержанием специфических антител.

По данным табл. 3 видно, что набор «ВектоБКЭ-IgG» обеспечивает более высокие показатели оптической плотности положительных образцов и более высокую чувствительность по сравнению с другими тестами. Вероятно, это обстоятельство объясняет более эффективное выявление специфических антител в сыворотках от вакцинированных пациентов (см. табл. 2). Оба экспериментальных набора (ИФА и дот-иммуноанализ с инструментальным и визуальным учетом результатов) показывают идентичные результаты выявления IgG к БКЭ, обеспечивают достаточную чувствительность и высокую специфичность при адекватной воспроизводимости (коэффициент вариации в рабочем диапазоне для того и другого



Таблица 3 / Table 3

Сравнительные результаты чувствительности определения специфических антител коммерческими и экспериментальными наборами для ИФА и дот-иммуноанализа

Comparison of results of specific antibody determination using commercial and experimental kits for ELISA and dot-immunoassay

Образец Sample	Разведение Dilution	Результаты ИФА, ОП <sub>450</sub> Results of ELISA, OD 450 nm (M±ε)			Результаты дот-анализа Results of dot-analysis	
		«ВектоВКЭ-IgG» “VectoTBEV-IgG”	«БиоСкрин-КЭ» “BioScreen-TBE”	Экспериментальный набор «Вектор ИФА ВКЭ IgG» Experimental kit “Vector ELISA TBEV-IgG”	Экспериментальный набор «Вектор ВКЭ IgG-дот» Experimental kit “Vector TBEV-IgG-dot”	
					ИУ* (усл. ед., [M±ε]) IR* (condit. unit, [M±ε])	ВУ** VR**
1	1:10	<b>2,501±0,142</b>	<b>1,888±0,147</b>	<b>1,719±0,104</b>	<b>1341±69</b>	+
	1:20	<b>1,965±0,212</b>	<b>1,479±0,121</b>	<b>1,209±0,160</b>	<b>1140±58</b>	+
	1:40	<b>1,505±0,145</b>	<b>1,184±0,119</b>	<b>1,103±0,190</b>	<b>773±77</b>	+
	1:80	<b>0,945±0,069</b>	<b>0,749±0,084</b>	<b>0,669±0,109</b>	<b>542±82</b>	+
	1:160	<b>0,596±0,072</b>	<b>0,443±0,051</b>	<b>0,381±0,042</b>	<b>336±27</b>	+
	1:320	<b>0,398±0,023</b>	0,209±0,016	0,225±0,041	172±27	–
	1:640	0,078±0,017	0,162±0,044	0,106±0,035	124±12	–
2	1:10	<b>0,631±0,074</b>	<b>0,498±0,100</b>	<b>0,362±0,028</b>	<b>311±38</b>	+
	1:20	<b>0,339±0,009</b>	0,250±0,053	0,233±0,015	191±30	–
	1:40	0,152±0,013	0,178±0,014	0,104±0,023	155±27	–
ОП <sub>крит</sub> / OD <sub>critical</sub>		<b>0,300</b>	<b>0,300</b>	<b>0,280</b>	<b>250</b>	

Примечания: жирным шрифтом выделены положительные результаты анализа; \* данные, полученные с использованием инструментального учета результатов; \*\* данные, полученные при визуальном учете результатов; + положительный результат, – отрицательный результат.

Notes: positive test results are indicated in bold lettering; \* data obtained by instrumental registration of results; \*\* data obtained by visual recording of results; + positive result, – negative result.

набора не превышает 7 %). Полученные результаты согласуются с ранее опубликованными данными по сравнению эффективности выявления антител наборами, изготовленными с использованием полных вирусных частиц, крупных вирусных субъединиц и рекомбинантного белка в качестве реагентов захвата [8]. Авторы делают вывод, что с уменьшением количества сайтов связывания на используемом антигене захвата чувствительность непрямого ИФА снижается, что мы и видим при исследовании панели вакцинированных. С другой стороны, ограничение сайтов связывания специфичными антигенными детерминантами, присутствующими на рекомбинантном белке EDIII-ВКЭ, обеспечивает высокую селективность детекции антител к ВКЭ.

Полученные данные позволяют сделать выводы о перспективности использования рекомбинантного белка EDIII-ВКЭ в диагностических наборах для дифференциальной диагностики КЭ на поздних стадиях заболевания, ретроспективной диагностики при эпидемиологических исследованиях и оценки иммунного статуса пациента после вакцинации. Кроме того, эти результаты открывают возможность использования белка EDIII-ВКЭ при разработке автономных наборов на основе дот-анализа для одновременного дифференциального определения антител к нескольким возбудителям клещевых инфекций или нескольких маркеров (IgG, IgM и ранних белков) клещевого энцефалита, что позволит сделать диагностику клещевых инфекций более информативной и доступной.

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

**Финансирование.** Исследование проведено в рамках выполнения государственного задания Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

**Биоэтика.** Отбор и использование сывороток крови сотрудников ГНЦ ВБ «Вектор» одобрены на заседаниях этического комитета ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (протокол от 18.04.2023 № 6 и от 14.04.2022 № 4). При проведении экспериментов все образцы подвергались кодированию.

#### Список литературы

1. Wilson M.E., Weld L.H., Boggild A., Keystone J.S., Kain K.C., von Sonnenburg F., Schwartz E.; GeoSentinel Surveillance Network. Fever in returned travelers: results from the GeoSentinel Surveillance Network. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 44(12):1560–8. DOI: 10.1086/518173.
2. Cleton N., Koopmans M., Reimerink J., Godeke G.-J., Reusken C. Come fly with me: review of clinically important arboviruses for global travelers. *J. Clin. Virol.* 2012; 55(3):191–203. DOI: 10.1016/j.jcv.2012.07.004.
3. Cleton N.B., Godeke G.-J., Reimerink J., Beersma M.F., van Doorn H.R., Franco L., Goeijenbier M., Jiménez-Clavero M.A., Johnson B.W., Niedrig M., Papa A., Sambri V., Tami A., Velasco-Salas Z.I., Koopmans M.P., Reusken C.B. Spot the difference: development of a syndrome based protein microarray for specific serological detection of multiple flavivirus infections in travelers. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(3):e0003580. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003580.
4. Sips G.J., Wilschut J., Smit J.M. Neuroinvasive flavivirus infections. *Rev. Med. Virol.* 2012; 22(2):69–87. DOI: 10.1002/rmv.712.
5. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2021 году:

Государственный доклад. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/594/sqyww14tg5arqff6xv15dss017vuuank/Gosudarstvennyy-doklad.-O-sostoyanii-sanitarno-epidemiologicheskogo-blagopoluchiya-naseleniya-v-Rossiyskoy-Federatsii-v-2021-godu.pdf> (дата обращения 21.04.2023).

6. Darwish N., Alias Y., Khor S. An introduction to dengue-disease diagnostics. *Trends in Analytical Chemistry*. 2015; 67:45–55. DOI: 10.1016/j.trac.2015.01.005.

7. Poltavchenko A.G., Nechitaylo O.V., Filatov P.V., Ersh A.V., Gureyev V.N. Multiplex method for initial complex testing of antibodies to blood transmitted diseases agents. *J. Virol. Methods*. 2016; 236:231–6. DOI: 10.1016/j.jviromet.2016.08.003.

8. Guzmán M.G., Kourí G. Dengue diagnosis, advances and challenges. *Int. J. Infect. Dis.* 2004; 8(2):69–80. DOI: 10.1016/j.ijid.2003.03.003.

9. Holbrook M.R., Shope R.E., Barrett A.D.T. Use of recombinant E protein domain III-based enzyme-linked immunosorbent assays for differentiation of tick-borne encephalitis serocomplex flaviviruses from mosquito-borne flaviviruses. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42(9):4101–10. DOI: 10.1128/JCM.42.9.4101-4110.2004.

10. Терновой В.А., Плясунова И.В., Семенцова А.О., Карташов М.Ю., Швалов А.Н., Чаусов Е.В., Еремеева Л.И., Протопопова Е.В., Чуб Е.В., Баяндин Р.Б., Пьянков О.В., Локтев В.Б., Агафонов А.П., Максютов Р.А. Выявление маркеров лихорадки денге у пациентов после посещения эндемичных по денге стран. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2019; 37(3):140–8. DOI: 10.17116/molgen201937031140.

11. Niedrig M., Vaisviliene D., Teichmann A., Klockmann U., Biel S.S. Comparison of six different commercial IgG-ELISA kits for the detection of TBEV-antibodies. *J. Clin. Virol.* 2001; 20(3):179–82. DOI: 10.1016/s1386-6532(00)00178-5.

12. Weissbach F.H., Hirsch H.H. Comparison of two commercial tick-borne encephalitis virus igg enzyme-linked immunosorbent assays. *Clin. Vaccine Immunol.* 2015; 22(7):754–60. DOI: 10.1128/CVI.00096-15.

13. Ackermann-Gäumann R., Tritten M.L., Hassan M., Lienhard R. Comparison of three commercial IgG and IgM ELISA kits for the detection of tick-borne encephalitis virus antibodies. *Ticks Tick Borne Dis.* 2018; 9(4):956–62. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2018.03.031.

14. Барышников В.С., Турченко Ю.В., Шишова А.А., Климентов А.С., Тучинская К.К., Карганова Г.Г. Рекомбинантный гликопротеин E вируса клещевого энцефалита для создания дифференцирующей тест-системы. *Биотехнология*. 2022; 38(6):72–83. DOI: 10.56304/S0234275822060023.

15. Heinz F.X., Stiasny K. Flaviviruses and their antigenic structure. *J. Clin. Virol.* 2012; 55(4):289–95. DOI: 10.1016/j.jcv.2012.08.024.

16. Pulkkinen L.I.A., Barrass S.V., Domanska A., Överby A.K., Anastasina M., Butcher S.J. Molecular organisation of tick-borne encephalitis virus. *Viruses*. 2022; 14(4):792. DOI: 10.3390/v14040792.

17. Inagaki E., Sakai M., Hirano M., Muto M., Kobayashi S., Kariwa H., Yoshii K. Development of a serodiagnostic multi-species ELISA against tick-borne encephalitis virus using subviral particles. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016; 7(5):723–9. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2016.03.002.

18. Ludolfs D., Reinholz M., Schmitz H. Highly specific detection of antibodies to tick-borne encephalitis (TBE) virus in humans using a domadewsin III antigen and a sensitive immune complex (IC) ELISA. *J. Clin. Virol.* 2009; 45(2):125–8. DOI: 10.1016/j.jcv.2009.03.016.

19. Sanina N., Chopenko N., Mazeika A., Davydova L., Leonova G., Stenkova A., Üversky V.N., Kostetsky E. Immunogenicity and protective activity of a chimeric protein based on the domain III of the tick-borne encephalitis virus E protein and the OmpF porin of *Yersinia pseudotuberculosis* incorporated into the TI-complex. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(10):2988. DOI: 10.3390/ijms19102988.

20. Jarmer J., Zlatkovic J., Tsouchnikas G., Vratskikh O., Strauß J., Aberle J.H., Chmelik V., Kundi M., Stiasny K., Heinz F.X. Variation of the specificity of the human antibody responses after tick-borne encephalitis virus infection and vaccination. *J. Virol.* 2014; 88(23):13845–57. DOI: 10.1128/JVI.02086-14.

21. Кривошеина Е.И., Карташов М.Ю., Найденова Е.В., Ушкаленко Н.Д., Пьянков С.А., Терновой В.А., Локтев В.Б. Разработка способа выявления специфических антител к белку E вируса желтой лихорадки (Flaviviridae: *Flavivirus*) методом иммуноферментного анализа. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(4):341–50. DOI: 10.36233/0507-4088-123.

22. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир; 1984. 479 с.

23. 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.

24. Poltavchenko A., Zaitsev B., Ersh A., Korneev D., Taranov O., Filatov P., Nechitaylo O. The selection and optimization of the detection system for self-contained multiplexed dot-immuno-

assay. *J. Immunoassay Immunochem.* 2016; 37(5):540–54. DOI: 10.1080/15321819.2016.1174134.

25. Кунгурцев К.С., Гунгер А.К., Филатов П.В. Программа для инструментального учета результатов дот-иммуноанализа «DOTREADER 2000». Программа для ЭВМ. Свидетельство РФ № 2020611545, опублик. 04.02.2020. Бюл. № 2.

26. Полтавченко А.Г., Ерш А.В., Филатов П.В., Баяндин Р.Б., Ушкаленко Н.Д. Разработка метода одновременного выявления серологических маркеров лихорадки денге. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2023; 12(1):75–83. DOI: 10.33029/2305-3496-2023-12-1-75-83.

27. Lindblom P., Wilhelmsson P., Fryland L., Matussek A., Haglund M., Sjöwall J., Vene S., Nyman D., Forsberg P., Lindgren P.-E. Factors determining immunological response to vaccination against tick-borne encephalitis virus in older individuals. *PLoS One*. 2014; 9(6):e100860. DOI: 10.1371/journal.pone.0100860.

28. Kuno G. Serodiagnosis of flaviviral infections and vaccinations in humans. *Adv. Virus Res.* 2003; 61:3–65. DOI: 10.1016/s0065-3527(03)61001-8.

## References

1. Wilson M.E., Weld L.H., Boggild A., Keystone J.S., Kain K.C., von Sonnenburg F., Schwartz E.; GeoSentinel Surveillance Network. Fever in returned travelers: results from the GeoSentinel Surveillance Network. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 44(12):1560–8. DOI: 10.1086/518173.

2. Cleton N., Koopmans M., Reimerink J., Godeke G.-J., Reusken C. Come fly with me: review of clinically important arboviruses for global travelers. *J. Clin. Virol.* 2012; 55(3):191–203. DOI: 10.1016/j.jcv.2012.07.004.

3. Cleton N.B., Godeke G.-J., Reimerink J., Beersma M.F., van Doorn H.R., Franco L., Goeijenbier M., Jiménez-Clavero M.A., Johnson B.W., Niedrig M., Papa A., Sambri V., Tami A., Velasco-Salas Z.I., Koopmans M.P., Reusken C.B. Spot the difference: development of a syndrome based protein microarray for specific serological detection of multiple flavivirus infections in travelers. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(3):e0003580. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003580.

4. Sips G.J., Wilschut J., Smit J.M. Neuroinvasive flavivirus infections. *Rev. Med. Virol.* 2012; 22(2):69–87. DOI: 10.1002/rmv.712.

5. [On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2021. State report]. (Cited 21 Apr 2023). [Internet]. Available from: <https://www.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/594/sqyww14tg5arqff6xv15dss017vuuank/Gosudarstvennyy-doklad.-O-sostoyanii-sanitarno-epidemiologicheskogo-blagopoluchiya-naseleniya-v-Rossiyskoy-Federatsii-v-2021-godu.pdf>.

6. Darwish N., Alias Y., Khor S. An introduction to dengue-disease diagnostics. *Trends in Analytical Chemistry*. 2015; 67:45–55. DOI: 10.1016/j.trac.2015.01.005.

7. Poltavchenko A.G., Nechitaylo O.V., Filatov P.V., Ersh A.V., Gureyev V.N. Multiplex method for initial complex testing of antibodies to blood transmitted diseases agents. *J. Virol. Methods*. 2016; 236:231–6. DOI: 10.1016/j.jviromet.2016.08.003.

8. Guzmán M.G., Kourí G. Dengue diagnosis, advances and challenges. *Int. J. Infect. Dis.* 2004; 8(2):69–80. DOI: 10.1016/j.ijid.2003.03.003.

9. Holbrook M.R., Shope R.E., Barrett A.D.T. Use of recombinant E protein domain III-based enzyme-linked immunosorbent assays for differentiation of tick-borne encephalitis serocomplex flaviviruses from mosquito-borne flaviviruses. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42(9):4101–10. DOI: 10.1128/JCM.42.9.4101-4110.2004.

10. Ternovoi V.A., Plyasunova I.V., Sementsova A.O., Kartashov M.Yu., Shvalov A.N., Chaurov E.V., Eremeeva L.I., Protopenova E.V., Chub E.V., Bayandin R.B., P'yankov O.V., Loktev V.B., Agafonov A.P., Maksyutov R.A. [Identification of dengue infection markers in patients after visiting dengue endemic countries]. *Молекулярная Генетика, Микробиология и Вирусология [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2019; 37(3):140–8. DOI: 10.17116/molgen201937031140.

11. Niedrig M., Vaisviliene D., Teichmann A., Klockmann U., Biel S.S. Comparison of six different commercial IgG-ELISA kits for the detection of TBEV-antibodies. *J. Clin. Virol.* 2001; 20(3):179–82. DOI: 10.1016/s1386-6532(00)00178-5.

12. Weissbach F.H., Hirsch H.H. Comparison of two commercial tick-borne encephalitis virus igg enzyme-linked immunosorbent assays. *Clin. Vaccine Immunol.* 2015; 22(7):754–60. DOI: 10.1128/CVI.00096-15.

13. Ackermann-Gäumann R., Tritten M.L., Hassan M., Lienhard R. Comparison of three commercial IgG and IgM ELISA kits for the detection of tick-borne encephalitis virus antibodies. *Ticks Tick Borne Dis.* 2018; 9(4):956–62. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2018.03.031.

14. Baryshnikova V.S., Turchenko Yu.V., Shishova A.A., Klimentov A.S., Tuchynskaya K.K., Karganova G.G. [Recombinant

glycoprotein E of tick-borne encephalitis virus for developing a differentiating test system]. *Biotehnologiya [Biotechnology]*. 2022; 38(6):72–83. DOI: 10.56304/S0234275822060023.

15. Heinz F.X., Stiasny K. Flaviviruses and their antigenic structure. *J. Clin. Virol.* 2012; 55(4):289–95. DOI: 10.1016/j.jcv.2012.08.024.

16. Pulkkinen L.I.A., Barrass S.V., Domanska A., Överby A.K., Anastasina M., Butcher S.J. Molecular organisation of tick-borne encephalitis virus. *Viruses*. 2022; 14(4):792. DOI: 10.3390/v14040792.

17. Inagaki E., Sakai M., Hirano M., Muto M., Kobayashi S., Kariwa H., Yoshii K. Development of a serodiagnostic multi-species ELISA against tick-borne encephalitis virus using subviral particles. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016; 7(5):723–9. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2016.03.002.

18. Ludolfs D., Reinholz M., Schmitz H. Highly specific detection of antibodies to tick-borne encephalitis (TBE) virus in humans using a domadewsin III antigen and a sensitive immune complex (IC) ELISA. *J. Clin. Virol.* 2009; 45(2):125–8. DOI: 10.1016/j.jcv.2009.03.016.

19. Sanina N., Chopenko N., Mazeika A., Davydova L., Leonova G., Stenkova A., Uversky V.N., Kostetsky E. Immunogenicity and protective activity of a chimeric protein based on the domain III of the tick-borne encephalitis virus E protein and the OmpF porin of *Yersinia pseudotuberculosis* incorporated into the TI-complex. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(10):2988. DOI: 10.3390/ijms19102988.

20. Jarmer J., Zlatkovic J., Tsouchnikas G., Vratskikh O., Strauß J., Aberle J.H., Chmelik V., Kundi M., Stiasny K., Heinz F.X. Variation of the specificity of the human antibody responses after tick-borne encephalitis virus infection and vaccination. *J. Virol.* 2014; 88(23):13845–57. DOI: 10.1128/JVI.02086-14.

21. Krivosheina E.I., Kartashov M.Yu., Naidenova E.V., Ushkalenko N.D., Pyankov S.A., Ternovoi V.A., Loktev V.B. [Development of a method for detection of specific antibodies to E protein of yellow fever virus (Flaviviridae: *Flavivirus*) by enzyme immunoassay]. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2022; 67(4):341–50. DOI: 10.36233/0507-4088-123.

22. Maniatis T., Frisch E.E., Sambrook J. [Molecular Cloning. A Laboratory Manual]. Moscow: “Mir” Publ.; 1984. 479 p.

23. 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.

24. Poltavchenko A., Zaitsev B., Ersh A., Korneev D., Taranov O., Filatov P., Nechitaylo O. The selection and optimization of the detection system for self-contained multiplexed dot-immunoassay. *J. Immunoassay Immunochem.* 2016; 37(5):540–54. DOI: 10.1080/15321819.2016.1174134.

25. Kungurtsev K.S., Gunger A.K., Filatov P.V. [Program for instrumental recording of the results of dot-immunoassay “DOTREADER 2000”. The computer program]. RF Certificate No. 2020611545, publ. April 02, 2020. Bull. No. 2.

26. Poltavchenko A.G., Ersh A.V., Filatov P.V., Bayandin R.B., Ushkalenko N.D. [Development of the method for simultaneous detection of serological markers of dengue fever]. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]*. 2023; 12(1):75–83. DOI: 10.33029/2305-3496-2023-12-1-75-83.

27. Lindblom P., Wilhelmsson P., Fryland L., Matussek A., Haglund M., Sjöwall J., Vene S., Nyman D., Forsberg P., Lindgren P.-E. Factors determining immunological response to vaccination against tick-borne encephalitis virus in older individuals. *PLoS One*. 2014; 9(6):e100860. DOI: 10.1371/journal.pone.0100860.

28. Kuno G. Serodiagnosis of flaviviral infections and vaccinations in humans. *Adv. Virus Res.* 2003; 61:3–65. DOI: 10.1016/s0065-3527(03)61001-8.

#### Authors:

Poltavchenko A.G., Ersh A.V., Filatov P.V., Ushkalenko N.D., Shan'shin D.V., Shcherbakov D.N. State Scientific Center of Virology and Biotechnology “Vector”. Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

#### Об авторах:

Полтавченко А.Г., Ерш А.В., Филатов П.В., Ушкаленко Н.Д., Шаньшин Д.В., Щербаков Д.Н. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.



DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-163-169

УДК 616.98:579.834.115+616.98:579.841.93(470.23)

Е.Г. Рябико<sup>1</sup>, Д.И. Гречишкина<sup>1</sup>, Р.Р. Баимова<sup>1</sup>, И.А. Кармоков<sup>1</sup>, Л.В. Буц<sup>2</sup>, Э.С. Халилов<sup>1</sup>,  
И.С. Лызенко<sup>1</sup>, Н.К. Токаревич<sup>1</sup>

### Оценка распространенности лептоспирозов и геморрагической лихорадки с почечным синдромом в Ленинградской области

<sup>1</sup>ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация; <sup>2</sup>Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Ленинградской области, Санкт-Петербург, Российская Федерация

**Цель работы** – определить распространенность лептоспирозов и геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) среди жителей ряда административных районов Ленинградской области. **Материалы и методы.** Методом иммуноферментного анализа исследовано 958 образцов сывороток крови практически здоровых лиц, проживающих на следующих территориях Ленинградской области: в Бокситогорском, Волосовском, Выборгском, Кингисеппском, Лодейнопольском, Лужском, Подпорожском, Приозерском, Сланцевском и Тихвинском районах. Проведен ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости лептоспирозами и ГЛПС населения Ленинградской области за период 2011–2020 гг. на основании данных Управления Роспотребнадзора по Ленинградской области, а также форм № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях». **Результаты и обсуждение.** Всего за период 2011–2020 гг. в Ленинградской области зарегистрировано 54 случая лептоспирозов и 104 случая ГЛПС. Среднегодовой показатель заболеваемости (СМПЗ) лептоспирозами составил 0,32. В Бокситогорском, Выборгском, Лодейнопольском, Подпорожском и Сланцевском районах случаи лептоспирозов не регистрировались, однако у жителей данных районов обнаруживались IgG-антитела к *Leptospira interrogans*. СМПЗ ГЛПС составил 0,63. В Кингисеппском, Подпорожском и Сланцевском районах отсутствуют зарегистрированные случаи заболеваний ГЛПС. IgG-антитела к *Orthohantavirus* обнаружены у волонтеров во всех исследуемых районах. Выявление специфических антител в сыворотках крови практически здоровых людей, проживающих на территории Ленинградской области, свидетельствует о контактах населения с возбудителями лептоспирозов и ГЛПС. Отсутствие регистрируемой заболеваемости в некоторых районах, вероятно, связано с их гиподиагностикой, о чем свидетельствует обнаружение антител к возбудителям данных инфекций у лиц, проживающих на соответствующих территориях.

**Ключевые слова:** лептоспирозы, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, заболеваемость, серопревалентность, Ленинградская область.

Корреспондирующий автор: Рябико Екатерина Геннадьевна, e-mail: riabiko@pasteurorg.ru.

Для цитирования: Рябико Е.Г., Гречишкина Д.И., Баимова Р.Р., Кармоков И.А., Буц Л.В., Халилов Э.С., Лызенко И.С., Токаревич Н.К. Оценка распространенности лептоспирозов и геморрагической лихорадки с почечным синдромом в Ленинградской области. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 3:163–169. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-163-169

Поступила 28.05.2024. Отправлена на доработку 06.06.2024. Принята к публ. 10.06.2024.

E.G. Riabiko<sup>1</sup>, D.I. Grechishkina<sup>1</sup>, R.R. Baimova<sup>1</sup>, I.A. Karmokov<sup>1</sup>, L.V. Buts<sup>2</sup>, E.S. Khalilov<sup>1</sup>,  
I.S. Lyzenko<sup>1</sup>, N.K. Tokarevich<sup>1</sup>

### Assessment of the Prevalence of Leptospiroses and Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the Leningrad Region

<sup>1</sup>Saint Petersburg Pasteur Institute, Saint Petersburg, Russian Federation;

<sup>2</sup>Rospotrebnadzor Administration in the Leningrad Region, Saint Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** The aim of the study was to determine the prevalence of leptospiroses and hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) among residents of some administrative districts of the Leningrad Region. **Materials and methods.** 958 blood serum samples of conventionally healthy individuals living in the following territories of the Leningrad Region: Boksitogorsky, Volosovsky, Vyborgsky, Kingiseppsky, Lodeynopolsky, Lushsky, Podporozhsky, Priozersky, Slantsevsky and Tikhvinsky districts – were analyzed by enzyme immunoassay. The retrospective epidemiological analysis of the incidence of leptospirosis and HFRS in the population of the Leningrad Region in 2011–2020 was carried out based on the data from the Rospotrebnadzor Administration and Forms No. 2 “Information on infectious and parasitic diseases”. **Results and discussion.** All in all, 54 cases of leptospirosis and 104 cases of HFRS were registered in the Leningrad Region in 2011–2020. The long-term average annual incidence rate (LTAAIR) for leptospirosis was 0.32. In Boksitogorsky, Vyborgsky, Lodeynopolsky, Podporozhsky and Slantsevsky districts, cases of leptospirosis were not recorded, but IgG-antibodies to *Leptospira interrogans* were detected in residents of those areas. The LTAAIR for HFRS was 0.63. There are no registered cases of HFRS in the Kingiseppsky, Podporozhsky, and Slantsevsky districts. IgG-antibodies to *Orthohantavirus* were detected in volunteers in all surveyed areas. The detection of specific antibodies in the blood sera of conventionally healthy people living in the Leningrad Region indicates contact of the population with pathogens of leptospirosis and HFRS. The lack of registered morbidity in some areas is probably due to their hypo-diagnosis, as evidenced by the detection of antibodies to the pathogens of these infections in people living in the corresponding territories.

**Key words:** leptospirosis, hemorrhagic fever with renal syndrome, incidence, seroprevalence, Leningrad Region.

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

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

*Bioethics:* The study was conducted with the voluntary informed consent of patients. The study protocol was approved by the commission of the Local Ethics Committee of the Pasteur St. Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being (protocol dated February 14, 2023 No. 83).

*Corresponding author:* Ekaterina G. Ryabiko, e-mail: ryabiko@pasteurorg.ru.

*Citation:* Ryabiko E.G., Grechishkina D.I., Baimova R.R., Karmakov I.A., Buts L.V., Khalilov E.S., Lyzenko I.S., Tokarevich N.K. Assessment of the Prevalence of Leptospirosis and Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the Leningrad Region. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 3:163–169. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-163-169

Received 28.05.2024. Revised 06.06.2024. Accepted 10.06.2024.

Ryabiko E.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8738-3021>

Grechishkina D.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7295-5736>

Baimova R.R., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0145-2653>

Karmakov I.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3820-7106>

Buts L.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2631-0256>

Khalilov E.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0599-4302>

Lyzenko I.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8112-7879>

Tokarevich N.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6433-3486>

Лептоспирозы и геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) являются широко распространенными зоонозными инфекциями [1, 2]. Лептоспирозы вызываются спирохетами рода *Leptospira*, ГЛПС – вирусами рода *Orthohantavirus*. Несмотря на различную этиологию, данные инфекции имеют схожие эпидемиологические и клинические проявления: характерна сходная сезонность заболеваемости, основным резервуаром данных инфекций являются грызуны, также свойственен полиморфизм клинических проявлений, существенно усложняющий раннюю диагностику и, соответственно, своевременное лечение больных [3, 4]. Знания о реальном распространении этих инфекций важны для их диагностики, лечения и профилактики.

**Цель** исследования – определить распространенность лептоспирозов и ГЛПС среди жителей ряда административных районов Ленинградской области (ЛО).

### Материалы и методы

Методом иммуноферментного анализа (ИФА) исследовано 958 образцов сывороток крови практически здоровых лиц, проживающих на следующих территориях ЛО: в Бокситогорском, Волосовском, Выборгском, Кингисеппском, Лодейнопольском, Лужском, Подпорожском, Приозерском, Сланцевском и Тихвинском районах.

Забор крови для исследования производился после информированного добровольного согласия волонтеров в 2019–2020 гг. Исследование одобрено комиссией Локального этического комитета ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 14.02.2023 № 83).

Среди обследованных волонтеров – 230 (24 %) мужчин и 728 (76 %) женщин; 96 детей до 17 лет, 662 человека в возрасте 18–59 лет, а также 200 лиц старше 60 лет.

Определение IgG-антител к *Leptospira interrogans* осуществляли с помощью коммерческой иммуноферментной тест-системы «Лептоспироз-ИФА-IgG» (ООО «Omnix», Санкт-Петербург). Наличие IgG-антител к *Orthohantavirus* определяли с ис-

пользованием коммерческой тест-системы «Векто-Ханта-IgG» (АО «Вектор-Бест», Новосибирск). Все исследования проводились согласно инструкциям производителей.

Проведен ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости лептоспирозами и ГЛПС населения ЛО за период с 2011 по 2020 г. на основании официальных данных Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзора) по Ленинградской области, опубликованных в государственных докладах «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения» в 2011–2020 гг. [5], а также форм статистической отчетности № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях».

Полученные данные обработаны стандартными методами вариационной статистики с применением пакетов прикладных программ Microsoft Excel 2010 и R-studio. Тенденции развития эпидемического процесса проанализированы методом линейной регрессии с вычислением коэффициента детерминации ( $R^2$ ) и проверкой значимости наклона линии регрессии с помощью  $p$ -value (уровень значимости  $\alpha=0,05$ ).

### Результаты и обсуждение

Установлено, что в 33 образцах (3,44 %) исследованных сывороток обнаружены антитела IgG к *L. interrogans*, распределение данных образцов по районам ЛО представлено на рис. 1, А. Самый высокий уровень серопревалентности отмечался в Сланцевском районе (6,38 %), у жителей Кингисеппского и Приозерского районов IgG-антитела к *L. interrogans* не обнаружены.

IgG-антитела к *Orthohantavirus* обнаружены у 76 волонтеров (7,93 %) во всех исследуемых районах (рис. 2, А). Уровень серопревалентности по отдельным районам ЛО варьировал от 3,57 % в Тихвинском районе до 11,93 % в Волосовском районе.

В 3 (0,3 %) пробах обнаружены IgG-антитела одновременно к *L. interrogans* и *Orthohantavirus*.

Распределение по полу, возрасту и направлению деятельности волонтеров, образцы сывороток крови которых оказались положительными на IgG-антитела к *L. interrogans* и *Orthohantavirus*, представлено в таблице.

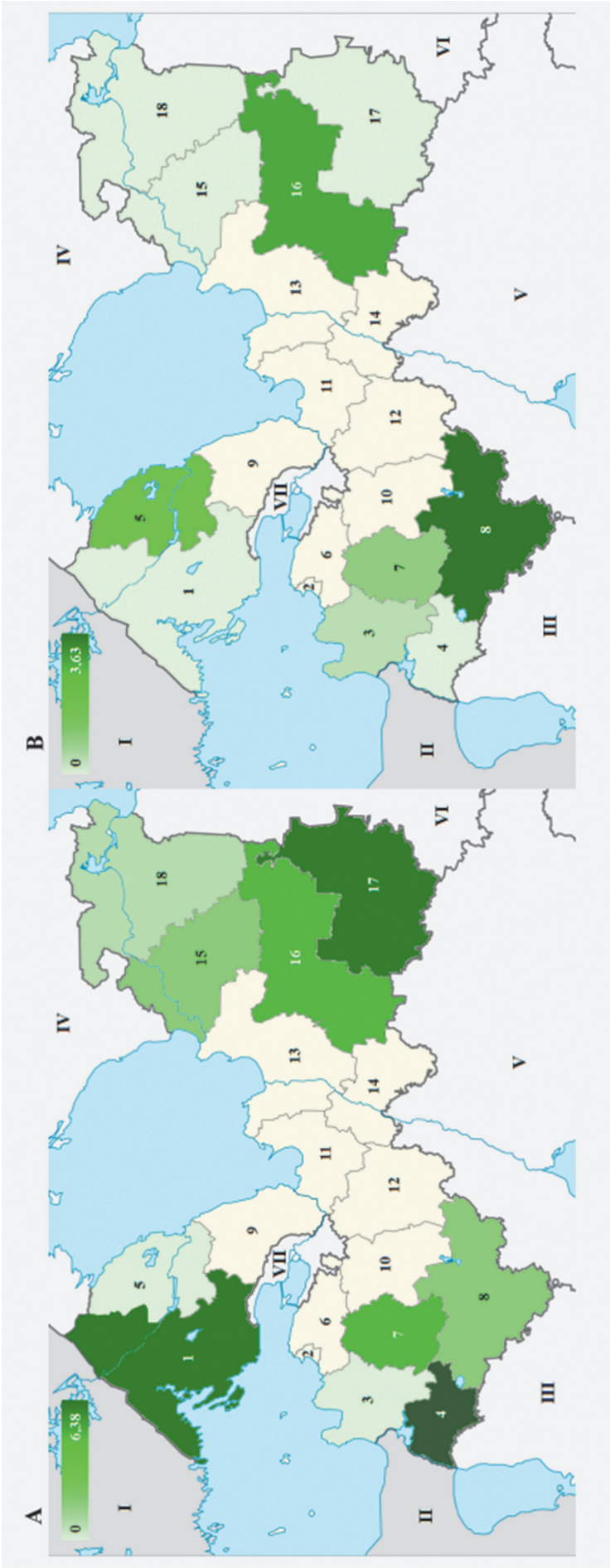


Рис. 1. Показатели эпидемической ситуации по лептоспирозам в Ленинградской области:  
А – уровень серопреvalентности к *L. interrogans* среди лиц, проживающих в различных районах ЛО; В – СМРПЗ лептоспирозами в административных районах ЛО в период с 2011 по 2020 г.  
Примечания: 1 – Выборгский район (р-н), 2 – Сосновоборский городской округ, 3 – Кингисеппский р-н, 4 – Сланцевский р-н, 5 – Приозерский р-н, 6 – Ломоносовский р-н, 7 – Волосовский р-н, 8 – Лужский р-н, 9 – Всеволожский р-н, 10 – Гатчинский р-н, 11 – Кировский р-н, 12 – Тосненский р-н, 13 – Волховский р-н, 14 – Киришский р-н, 15 – Лодейнопольский р-н, 16 – Тихвинский р-н, 17 – Бокситогорский р-н, 18 – Подпорожский р-н; I – Финляндия, II – Эстония, III – Псковская область, IV – Новгородская область, V – Вологодская область, VI – г. Санкт-Петербург

Fig. 1. Indicators characterizing the leptospirosis epidemic situation in the Leningrad Region:  
A – level of seroprevalence to *L. interrogans* among people living in different areas of the Leningrad Region; B – distribution of administrative districts of the Leningrad Region according to leptospirosis LTAAIR between 2011 and 2020

Notes: 1 – Vyborgsky district, 2 – Sosnovoborsky urban district, 3 – Kingiseppsky district, 4 – Slantsevsky district, 5 – Priozersky district, 6 – Lomonosovsky district, 7 – Volosovsky district, 8 – Luzhsky district, 9 – Vsevolozhsky district, 10 – Gatchinsky district, 11 – Kirovsky district, 12 – Tosnensky district, 13 – Volkhovsky district, 14 – Kirishsky district, 15 – Lodeynopolsky district, 16 – Tikhvinsky district, 17 – Boksitogorsky district, 18 – Podporozhsky district; I – Finland, II – Estonia, III – Pskov Region, IV – Novgorod Region, V – Vologda Region, VI – St. Petersburg



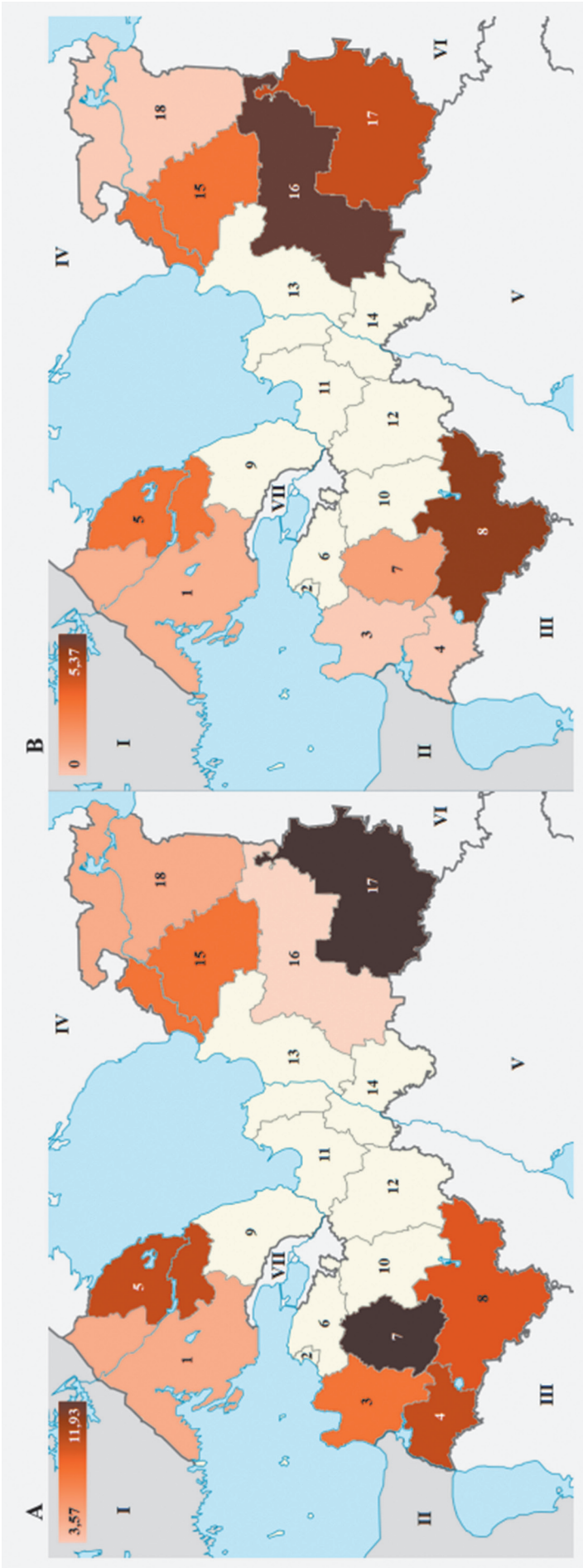


Рис. 2. Показатели эпидемической ситуации по ГЛПС в Ленинградской области:

A – Уровень серопреvalентности к *Orthohantavirus* среди лиц, проживающих в различных районах ЛО; B – СМПЗ ГЛПС в административных районах ЛО в период с 2011 по 2020 г.  
Примечания: 1 – Выборгский р-н, 2 – Сосновоборский городской округ, 3 – Кингисеппский р-н, 4 – Сланцевский р-н, 5 – Приозерский р-н, 6 – Ломоносовский р-н, 7 – Вологовский р-н, 8 – Лужский р-н, 9 – Всеволожский р-н, 10 – Гатчинский р-н, 11 – Кировский р-н, 12 – Тосненский р-н, 13 – Волховский р-н, 14 – Киришский р-н, 15 – Лодейнопольский р-н, 16 – Тихвинский р-н, 17 – Бокситогорский р-н, 18 – Подпорожский р-н, 19 – Финляндия, II – Эстония, III – Псковская область, IV – Новгородская область, V – Вологодская область, VI – г. Санкт-Петербург

Fig. 2. Indicators characterizing the HFRS epidemic situation in the Leningrad Region:

A – distribution of administrative districts of the Leningrad Region according to HFRS LTAAIR between 2011 and 2020; B – level of seroprevalence to Orthohantavirus among people living in different areas of the Leningrad Region

Notes: 1 – Vyborgsky district, 2 – Sosnovoborsky urban district, 3 – Kingiseppsky district, 4 – Slantsevsky district, 5 – Priozersky district, 6 – Lomonosovsky district, 7 – Volosovsky district, 8 – Luzhsky district, 9 – Vsevolozhsky district, 10 – Gatchinsky district, 11 – Kirovsky district, 12 – Tosnensky district, 13 – Volkhovsky district, 14 – Kirishsky district, 15 – Lodeynopolsky district, 16 – Tikhvinsky district, 17 – Boksitogorsky district, 18 – Podporozhsky district, 19 – Finland, II – Estonia, III – Pskov Region, IV – Novgorod Region, V – Vologda Region, VI – St. Petersburg

Статистически значимых различий в распределении сывороток, положительных на наличие IgG-антител к *L. interrogans* и *Orthohantavirus*, по полу не выявлено ( $p>0,05$ ). Уровень серопревалентности к *L. interrogans* среди лиц старше 60 лет статистически значимо выше, чем среди лиц в возрасте 18–59 лет ( $p=0,01$ ). Различия в распределении образцов сывороток крови, положительных на наличие IgG-антител к *Orthohantavirus*, по возрасту выявлены между детьми до 18 лет и лицами старше 60 лет ( $p=0,002$ ). Более частое обнаружение антител у пожилых людей можно объяснить увеличением числа контактов человека с источниками инфекции в течение жизни [6, 7]. Инфицированность волонтеров возбудителями лептоспирозов и ГЛПС не связана с их профессиональной деятельностью, так как лица, у которых выявлены соответствующие антитела, не относились к группам риска.

Всего за период с 2011 по 2020 г. в ЛО зарегистрировано 54 случая лептоспирозов, из них 27 случаев (50 %) приходится на Лужский район, 10 случаев (19 %) – на Тихвинский, 5 (9 %) – на Приозерский, 2 (4 %) – на Волосовский и 1 (2 %) –

на Кингисеппский район. Остальные 9 случаев заболевания лептоспирозами зарегистрированы в районах ЛО, не вошедших в настоящее исследование. На протяжении данного периода наблюдалась выраженная тенденция к снижению заболеваемости ( $R^2=31,7\%$ ;  $p=0,09$ ). Среднегодовой темп снижения составил 28,7 %. Максимальный показатель заболеваемости – 0,97 – зарегистрирован в 2012 г., а в 2019 и 2020 гг. случаи заболеваний лептоспирозами не регистрировались. За весь исследуемый период зарегистрирован 1 летальный исход в 2013 г.

За аналогичный промежуток времени в ЛО зарегистрировано 104 случая ГЛПС, из них 39 случаев (38 %) приходится на Тихвинский район, 30 (29 %) – на Лужский, 14 (13 %) – на Бокситогорский, 7 (7 %) – на Приозерский, 3 (3 %) – на Лодейнопольский и по 1 (1 %) – на Волосовский и Выборгский районы. Остальные 9 случаев заболевания ГЛПС зарегистрированы в районах ЛО, не вошедших в настоящее исследование. На протяжении данного периода наблюдалась тенденция к снижению заболеваемости ( $R^2=54,2\%$ ;  $p=0,02$ ). Среднегодовой темп снижения составил 6 %. Пик заболеваемости – 1,08 – зарегистри-

Распределение по полу, возрасту и социально-профессиональному фактору волонтеров, серопозитивных к *L. interrogans* и *Orthohantavirus*  
Distribution by gender, age and socio-occupational factor of volunteers seropositive to *L. interrogans* and *Orthohantavirus*

Характеристика Characteristic	Число обследованных The number of people examined	Распространенность IgG к <i>L. interrogans</i> среди волонтеров, N (%) Prevalence of IgG to <i>L. interrogans</i> among volunteers, N (%)	Распространенность IgG к <i>Orthohantavirus</i> среди волонтеров, N (%) Prevalence of IgG to <i>Orthohantavirus</i> among volunteers, N (%)
Пол / Gender			
Мужской Male	230	8 (3,5)	18 (7,8)
Женский Female	728	25 (3,4)	58 (7,9)
Возрастная группа / Age group			
≤17	96	5 (5,2)	4 (0,4)
18–59	662	15 (2,3)	45 (6,8)
≥60	200	13 (6,5)	27 (13,5)
Вид деятельности / Occupation			
Без работы Unemployed	128	7 (5,5)	12 (9,4)
Государственная служба Civil service	85	1 (1,2)	8 (9,4)
Медицина Medicine	282	13 (4,6)	21 (7,4)
Образование Education	95	2 (2,1)	8 (8,4)
Офис Office work	98	2 (2,0)	10 (10,2)
Производство Industry	82	2 (2,4)	4 (4,9)
Дети Children	96	5 (5,2)	4 (4,2)
Транспорт Transport	25	1 (4)	1 (4,0)
Бизнес Business sector	46	0	6 (13,0)
Искусство/творчество Art/Creative work	21	0	2 (9,5)

стрирован в 2015 г., а в 2020 г. случаи заболевания ГЛПС не регистрировались.

Среднегодовалый показатель заболеваемости (СМПЗ) лептоспирозами в ЛО за 2011–2020 гг. составил 0,32 (0,11÷0,54), что превышает аналогичный показатель по РФ (0,12 [0,09÷0,15]) в 2,5 раза.

СМПЗ лептоспирозами в отдельных районах ЛО представлены на рис. 1, В. Самый высокий уровень СМПЗ лептоспирозами на территории ЛО зафиксирован в Лужском районе (3,63 [1,14÷6,13]). В Бокситогорском, Выборгском, Лодейнопольском, Подпорожском и Сланцевском районах случаи лептоспирозов не регистрировались, однако у жителей данных районов обнаруживались IgG-антитела к *L. interrogans*.

СМПЗ ГЛПС в ЛО за 2011–2020 гг. составил 0,63 (0,42÷0,84), что ниже аналогичного показателя по РФ (5,23 [3,47÷6,99]) в 9 раз. СМПЗ ГЛПС в отдельных районах ЛО представлены на рис. 2, В. Наиболее высокий уровень СМПЗ ГЛПС на территории ЛО зарегистрирован в Тихвинском районе (5,4 [2,85÷7,95]). В Кингисеппском, Подпорожском и Сланцевском районах случаи заболевания ГЛПС не зарегистрированы.

Возможной причиной отсутствия регистрации случаев заболеваний лептоспирозами и ГЛПС в ЛО в 2020 г. стала пандемия COVID-19. Во-первых, были ограничены перемещения населения. Во-вторых, перераспределение объемов оказания стационарной и амбулаторной медицинской помощи в пользу больных COVID-19 могло привести к снижению эффективности выявления других заболеваний [8].

После 2020 г. в ЛО регистрируются единичные случаи заболеваний людей данными инфекциями: в 2021 г. зарегистрировано 3 случая лептоспирозов и 5 случаев ГЛПС, в 2022 г. – 0 и 5 случаев соответственно, а в 2023 г. зарегистрировано 4 случая лептоспирозов, заболеваемость ГЛПС не регистрировалась [5, 9, 10].

Отсутствие регистрируемой заболеваемости лептоспирозами в период 2011–2020 гг. в Бокситогорском, Выборгском, Лодейнопольском, Подпорожском и Сланцевском районах и ГЛПС в Кингисеппском, Подпорожском и Сланцевском районах, вероятно, связаны с недостаточно эффективной диагностикой. Это подтверждается выявлением на данных территориях высоких уровней серопревалентности к возбудителям данных инфекций.

Пациенты часто обращаются за медицинской помощью поздно, что ведет к задержке в назначении лечения и возможным серьезным осложнениям, включая летальные исходы [11]. Кроме того, на основании сходной клинической картины лептоспирозов и ГЛПС с другими лихорадочными заболеваниями, у части больных этиология инфекции трактуется ошибочно [12–14]. Отсутствие регистрации лептоспирозов и ГЛПС в отдельных районах ЛО не отражает реальной картины распространения этих инфекций, создавая ложное впечатление эпидемического благополучия. Комплексное применение

показателей серопревалентности и заболеваемости позволяет более полно оценить распространенность этих инфекций и создает фундамент для их эффективной профилактики.

Выявление специфических антител к возбудителям лептоспирозов и ГЛПС в сыворотках крови практически здоровых людей, проживающих в ЛО, свидетельствует о наличии широкого распространения очагов этих инфекции на данной территории.

Впервые проведено исследование, сравнивающее уровни серопревалентности и показатели заболеваемости лептоспирозами и ГЛПС в конкретных административных районах ЛО.

Отсутствие регистрируемой заболеваемости лептоспирозами и ГЛПС в некоторых районах ЛО, вероятно, связано с их гиподиагностикой, о чем свидетельствует обнаружение антител к возбудителям данных инфекций у проживающих там лиц. Это может быть связано с трудностями клинической диагностики и недостаточными объемами лабораторных исследований на соответствующих территориях.

Наша работа в определенной степени позволяет судить о качестве диагностики данных инфекций в некоторых районах ЛО, в частности в Бокситогорском, Выборгском, Кингисеппском, Лодейнопольском, Подпорожском и Сланцевском, где диагностика является недостаточной и требует повышения эффективности. Для более полного представления об эпидемической ситуации по лептоспирозам и ГЛПС целесообразно наряду с показателями заболеваемости анализировать данные серопревалентности. Такой комплексный подход может быть применен и на других территориях.

**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 проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен комиссией Локального этического комитета ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 14.02.2023 № 83).

#### Список литературы

1. Березняк Е.А., Тришина А.В., Пичурина Н.Л., Егиазарян Л.А., Симонова И.Р., Добровольский О.П., Лях О.В., Кузнецов Д.В., Носков А.К. Эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в Ростовской области (2020–2022 гг.). *Медицинский вестник Юга России*. 2023; 14(3):73–81. DOI: 10.21886/2219-8075-2023-14-3-73-81.
2. Троценко А.А., Коврижко М.В., Яговкин Э.А., Ванжа В.С., Решетов А.А. Изучение биологических свойств штаммов *Leptospira interrogans* серогруппы *Canicola* в качестве кандидатных для включения в состав вакцины лептоспирозной концентрированной инактивированной жидкой для людей. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2021; 21(1):64–9. DOI: 10.30895/2221-996X-2021-21-1-64-69.
3. Sunil-Chandra N.P., Clement J., Maes P., De Silva H.J., Van Esbroeck M., Van Ranst M. Concomitant leptospirosis-hantavirus co-



infection in acute patients hospitalized in Sri Lanka: implications for a potentially worldwide underestimated problem. *Epidemiol. Infect.* 2015; 143(10):2081–93. DOI: 10.1017/S0950268814003707.

4. Демидова Т.Н., Шарапова Н.Е., Горшенко В.В., Михайлова Т.В., Семихин А.С., Иванова А.Е. Эпидемиологическое проявление сочетанных природных очагов туляремии, лептоспирозов и геморрагической лихорадки с почечным синдромом: микстинфекции. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2022; 21(2):38–45. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-2-38-45.

5. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Ленинградской области. Государственный доклад. СПб.: Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Ленинградской области; 2011–2023. [Электронный ресурс]. URL: <https://47.rosпотребнадzor.ru/document/doclad> (дата обращения 15.04.2024).

6. Нечаев В.В., Яровая И.И., Горбунова И.В., Мео О.В., Федуняк И.П., Чмырь А.П., Литвинова Н.С., Чхинджерия И.Г., Чунаева Н.Э. Эпидемиологическая, экологическая и клинико-лабораторная характеристика геморрагической лихорадки с почечным синдромом в Санкт-Петербурге и его пригородах. *Журнал инфектологии*. 2021; 13(2):126–34. DOI: 10.22625/2072-6732-2021-13-2-126-134.

7. Tkachenko E., Kurashova S., Balkina A., Ivanov A., Egorova M., Leonovich O., Popova Y., Teodorovich R., Belyakova A., Tkachenko P., Trankvilevsky D., Blinova E., Ishmukhametov A., Dzagurova T. Cases of hemorrhagic fever with renal syndrome in Russia during 2000–2022. *Viruses*. 2023; 15(7):1537. DOI: 10.22625/2072-6732-2021-13-2-126-134.

8. Пеньевская Н.А., Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Блох А.И., Транквилевский Д.В., Савельев Д.А., Штрек С.В., Санников А.В. Обзор эпидемиологической ситуации по клещевым риккетсиозам в 2022 г. в Российской Федерации в сравнении с 2013–2021 гг., прогноз на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 2:35–48. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-35-48.

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

10. Савицкая Т.А., Иванова А.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Трифонов В.А., Зиятдинов В.Б., Магерамов 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.

11. Петрова О.А., Стоянова Н.А., Басина В.В., Дзюбан Д.В., Любимов Н.Е., Арсентьева Н.А., Токарев Н.К., Семенов А.В., Тотолан А.А. Основные клинические, лабораторные и иммунологические показатели у пациентов с лептоспирозом в Санкт-Петербурге. *Российский иммунологический журнал*. 2018; 21(4):725–7. DOI: 10.31857/S102872210002653-3.

12. Sehgal A., Mehta S., Sahay K., Martynova E., Rizvanov A., Baranwal M., Chandy S., Khaiboullina S., Kabwe E., Davidyuk Y. Hemorrhagic fever with renal syndrome in Asia: history, pathogenesis, diagnosis, treatment, and prevention. *Viruses*. 2023; 15(2):561. DOI: 10.3390/v15020561.

13. Морозов В.Г., Ишмухаметов А.А., Дзагурова Т.К., Ткаченко Е.А. Клинические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом в России. *Медицинский совет*. 2017; 5:156–61. DOI: 10.21518/2079-701X-2017-5-156-161.

14. Самсонова А.П., Петров Е.М., Савельева О.В., Иванова А.Е., Шарапова Н.Е. Анализ документированных результатов исследования сывороток крови больных, подозрительных на заболевание лептоспирозом, в реакции микроагглютинации. *Инфекция и иммунитет*. 2022; 12(5):875–90. DOI: 10.15789/2220-7619-ATD-1758.

## References

- Bereznayak E.A., Trishina A.V., Pichurina N.L., Egiazaryan L.A., Simonova I.R., Dobrovolsky O.P., Liakh O.V., Kuznetsov D.V., Noskov A.K. [Epizootic and epidemiological situation of hemorrhagic fever with renal syndrome in the Rostov Region (2020–2022)]. *Meditsinskij Vestnik Yuga Rossii [Medical Herald of the South of Russia]*. 2023; 14(3):73–81. DOI: 10.21886/2219-8075-2023-14-3-73-81.
- Trotsenko A.A., Kovrizhko M.V., Yagovkin E.A., Vanzha V.S., Reshetov A.A. [Study of biological properties of *Leptospira interrogans* serovar *Canicola* strains as candidate components of human leptospirosis concentrated inactivated vaccine]. *BIOpreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie [BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment]*. 2021; 21(1):64–9. DOI: 10.30895/2221-996X-2021-21-1-64-69.
- Sunil-Chandra N.P., Clement J., Maes P., De Silva H.J., Van Esbroeck M., Van Ranst M. Concomitant leptospirosis-hantavirus co-

infection in acute patients hospitalized in Sri Lanka: implications for a potentially worldwide underestimated problem. *Epidemiol. Infect.* 2015; 143(10):2081–93. DOI: 10.1017/S0950268814003707.

4. Demidova T.N., Sharapova N.E., Gorschenko V.V., Mikhailova T.V., Semihin A.S., Ivanova A.E. [Epidemiological manifestation of combined natural foci of tularemia, leptospirosis and hemorrhagic fever with renal syndrome: mixed infections]. *Epidemiologiya i Vaksino profilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2022; 21(2):38–45. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-2-38-45.

5. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Leningrad Region. State Report]. Saint Petersburg: Rosпотребнадzor Administration in the Leningrad Region, 2011–2021. (Cited 15 Apr 2024). [Internet]. Available from: <https://47.rosпотребнадzor.ru/document/doclad>.

6. Nechaev V.V., Yarovaya I.I., Gorbunova I.V., Meo O.V., Fedunjk I.P., Chmir A.P., Litvinova N.C., Chineria I.C., Chunaeva N.E. [Epidemiological, ecological and clinical-laboratory characteristics of hemorrhagic fever with renal syndrome in Saint-Petersburg and its suburbs]. *Zhurnal Infektologii [Journal of Infectology]*. 2021; 13(2):126–34. DOI: 10.22625/2072-6732-2021-13-2-126-134.

7. Tkachenko E., Kurashova S., Balkina A., Ivanov A., Egorova M., Leonovich O., Popova Y., Teodorovich R., Belyakova A., Tkachenko P., Trankvilevsky D., Blinova E., Ishmukhametov A., Dzagurova T. Cases of hemorrhagic fever with renal syndrome in Russia during 2000–2022. *Viruses*. 2023; 15(7):1537. DOI: 10.22625/2072-6732-2021-13-2-126-134.

8. Pen'evskaya N.A., Rudakov N.V., Shpynov S.N., Blokh A.I., Trankvilevsky D.V., Savel'ev D.A., Shtrek S.V., Sannikov A.V. [Review of epidemiological situation on rickettsioses in the Russian Federation in 2022 as compared with 2013–2021, forecast for 2023]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (2):35–48. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-35-48.

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

10. Savitskaya T.A., Ivanova A.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Trifonov V.A., Ziatdinov V.B., Magerramov Sh.V., Khusainova R.M., Trankvilevsky D.V. [Analysis of the epidemiological situation of hemorrhagic fever with renal syndrome in the Russian Federation in 2022 and forecast of its development for 2023]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (1):85–95. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-85-95.

11. Petrova O., Stoyanova N., Basina V., Dzyuban D., Lubimova N., Arsentieva N., Tokarevich N., Semenov A., Totolyan A. [The main clinical, laboratory and immunological parameters in patients with leptospirosis in Saint-Petersburg]. *Rossiiskij Immunologicheskij Zhurnal [Russian Journal of Immunology]*. 2018; 21(4):725–7. DOI: 10.31857/S102872210002653-3.

12. Sehgal A., Mehta S., Sahay K., Martynova E., Rizvanov A., Baranwal M., Chandy S., Khaiboullina S., Kabwe E., Davidyuk Y. Hemorrhagic fever with renal syndrome in Asia: history, pathogenesis, diagnosis, treatment, and prevention. *Viruses*. 2023; 15(2):561. DOI: 10.3390/v15020561.

13. Morozov V.G., Ishmukhametov A.A., Dzagurova T.K., Tkachenko E.A. [Clinical manifestations of hemorrhagic fever with renal syndrome in Russia]. *Meditsinsky Sovet [Medical Council]*. 2017; (5):156–61. DOI: 10.21518/2079-701X-2017-5-156-161.

14. Samsonova A.P., Petrov E.M., Savelyeva O.V., Ivanova A.E., Sharapova N.E. [Analyzing the documented results by using microscopic agglutination test to examine sera from patients suspected of leptospirosis]. *Infektsiya i Immunitet [Russian Journal of Infection and Immunity]*. 2022; 12(5):875–90. DOI: 10.15789/2220-7619-ATD-1758.

## Authors:

Riabiko E.G., Grechishkina D.I., Baimova R.R., Karmakov I.A., Khalilov E.S., Lyzenko I.S., Tokarevich N.K. Saint Petersburg Pasteur Institute, 14, Mira St., St. Petersburg, 197101, Russian Federation. E-mail: [pasteur@pasteurorg.ru](mailto:pasteur@pasteurorg.ru).

Buts L.V. Rosпотребнадzor Administration in the Leningrad Region, 27, Ol'minskogo St., St. Petersburg, 192029, Russian Federation.

## Об авторах:

Рябико Е.Г., Грешишкина Д.И., Баимова Р.Р., Кармоков И.А., Халилов Э.С., Лызенко И.С., Токарев Н.К. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Российская Федерация, 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14. E-mail: [pasteur@pasteurorg.ru](mailto:pasteur@pasteurorg.ru).

Буц Л.В. Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Ленинградской области. Российская Федерация, 192029, Санкт-Петербург, ул. Ольминского, 27.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-170-177

УДК 578.833.29:614.4

Л.Н. Яшина<sup>1</sup>, Н.А. Сметанникова<sup>1</sup>, Н.И. Здановская<sup>2</sup>, Д.Н. Полещук<sup>2</sup>, А.С. Лапин<sup>2</sup>, А.Г. Ковальский<sup>2</sup>

## Новый очаг хантавируса Сеул на Дальнем Востоке России

<sup>1</sup>ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Российская Федерация;<sup>2</sup>ФКУЗ «Хабаровская противочумная станция», Хабаровск, Российская Федерация

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) ежегодно диагностируется среди жителей г. Хабаровска. **Целью** исследования является анализ хантавирусов – возбудителей ГЛПС у жителей Хабаровска и серых крыс (*Rattus norvegicus*) – природных носителей вируса Сеул, отловленных в Хабаровске и его окрестностях. **Материалы и методы.** Исследованы образцы сывороток крови (в 2017 г. – плазмы крови) от 75 больных ГЛПС за 2016–2023 гг. и образцы ткани легких от 1468 крыс, отловленных в 2011–2023 гг. **Результаты и обсуждение.** Генетически доказано присутствие вируса Сеул (SEOV) в образцах от серых крыс из г. Хабаровска и пригородного поселка Приамурский Еврейской автономной области, выявлено 2 РНК изолята вируса SEOV, 33 изолята вируса Хантаан (HTNV), 9 изолятов вируса Амур (AMRV) у больных ГЛПС из г. Хабаровска. Филогенетический анализ фрагментов L- и S-сегментов генома показал, что три РНК-изолята от *R. norvegicus*, отловленных в г. Хабаровске и его окрестностях, и два изолята от больных ГЛПС являются вариантом вируса SEOV, наиболее близким к штаммам вируса из Китая (99 % гомологии) и отличающимся от варианта этого вируса из г. Владивостока. Предполагается, что городской очаг вируса Сеул в Хабаровске и его окрестностях сформировался в результате завоза носителей вируса из Китая, где этот вариант вируса широко распространен. Полученные данные свидетельствуют, что заболеваемость ГЛПС у жителей Хабаровска, обусловленная заражением вирусами HTNV и AMRV, связана с поездками в различные сельские районы Дальнего Востока.

**Ключевые слова:** хантавирус, вирус Сеул, *Rattus norvegicus*, ГЛПС, Хабаровск, Россия.

Корреспондирующий автор: Яшина Людмила Николаевна, e-mail: yashina@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Яшина Л.Н., Сметанникова Н.А., Здановская Н.И., Полещук Д.Н., Лапин А.С., Ковальский А.Г. Новый очаг хантавируса Сеул на Дальнем Востоке России. Проблемы особо опасных инфекций. 2024; 3:170–177. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-170-177

Поступила 24.04.2024. Отправлена на доработку 07.05.2024. Принята к публ. 16.05.2024.

L.N. Yashina<sup>1</sup>, N.A. Smetannikova<sup>1</sup>, N.I. Zdanovskaya<sup>2</sup>, D.N. Poleshchuk<sup>2</sup>, A.S. Lapin<sup>2</sup>, A.G. Koval'sky<sup>2</sup>

## New Focus of Hantavirus Seoul in the Far East of Russia

<sup>1</sup>State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tovo, Russian Federation;<sup>2</sup>Khabarovsk Plague Control Station, Khabarovsk, Russian Federation

**Abstract.** Hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) is registered annually among residents of Khabarovsk city, Russia. **The aim** of the study was to conduct a genetic analysis of hantaviruses, the causative agents of HFRS, in residents of Khabarovsk city and in Norway rats (*Rattus norvegicus*), a natural reservoir of Seoul virus (SEOV), captured in Khabarovsk and its suburbs. **Materials and methods.** Blood sera samples from 75 patients with HFRS, collected in 2016–2023 (blood plasma – in 2017) and samples from 1468 Norway rats, captured during 2011–2023, were investigated. **Results and discussion.** We have demonstrated the presence of the Seoul virus (SEOV) in samples of Norway rats from the city of Khabarovsk and the suburban settlement Priamursky, Jewish Autonomous Region; 2 RNA isolates of the SEOV virus, 33 isolates of the Hantaan virus (HTNV), 9 isolates of the Amur virus (AMRV) – in patients with HFRS from Khabarovsk. Phylogenetic analysis of partial S and L segments of the genome has revealed that three RNA isolates of SEOV from Norway rats and two isolates from HFRS patients are most closely related (99 % homology) to strains from China and are different from the variant of SEOV from Vladivostok. It is assumed that the urban focus of the Seoul virus in Khabarovsk and its environs was formed as a result of the importation of virus carriers from China, where this variant of the virus is widespread. The data obtained indicate that the incidence of HFRS in residents of Khabarovsk, caused by infection with the HTNV and AMRV viruses, is associated with visits to various rural areas of the Far East.

**Key words:** hantavirus, Seoul virus, *Rattus norvegicus*, hemorrhagic fever with renal syndrome, Khabarovsk, Russia.

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

**Funding:** The study was carried out within the framework of the State assignment of the Rospotrebnadzor SA-8/21.

**Bioethics:** Informed voluntary consent was obtained from each patient in accordance with Article 20 of the Federal Law dated November 21, 2011 No. 323-FL "On the fundamentals of protecting the health of citizens in the Russian Federation." Trapping and sampling of Norway rats were carried out in accordance with national and international guidelines for the care and humane use of animals.

Corresponding author: Liudmila N. Yashina, e-mail: yashina@vector.nsc.ru.

Citation: Yashina L.N., Smetannikova N.A., Zdanovskaya N.I., Poleshchuk D.N., Lapin A.S., Koval'sky A.G. New Focus of Hantavirus Seoul in the Far East of Russia. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2024; 3:170–177. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-170-177

Received 24.04.2024. Revised 07.05.2024. Accepted 16.05.2024.

Yashina L.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2844-7835>  
Smetannikova N.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5082-8071>  
Zdanovskaya N.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5507-7521>

Poleshchuk D.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3964-2724>  
Lapin A.S., ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-7446-9958>  
Koval'sky A.G., ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-3173-6254>

Хантавирусы, принадлежащие к роду *Orthohantavirus* семейства *Hantaviridae*, широко распространены во многих регионах мира и являются возбудителями двух клинических форм хантавирусного заболевания человека, из которых в России регистрируется геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) [1, 2]. Заражение происходит через аэрозоль экскретов природных хозяев вирусов – грызунов, входящих в семейства *Muridae* и *Cricetidae*.

ГЛПС регистрируется в различных географических регионах Российской Федерации и занимает одно из первых мест среди всех природно-очаговых заболеваний человека в России. Показано, что основным возбудителем ГЛПС на территории европейской части России является вирус Пуумала (PUUV), циркулирующий в популяциях рыжих полевых (Myodes glareolus), и 3 % случаев ГЛПС ассоциированы с вирусом Добrava-Белград (DOBV), носителями которого являются два вида мышей рода *Apodemus*: *A. agrarius agrarius* и *A. ponticus* [2, 3]. На Дальнем Востоке России ГЛПС характеризуется более тяжелым течением по сравнению с очагами на европейской территории: тяжелые и среднетяжелые формы в регионе составляют более 80 % [4]. Возбудителями заболевания являются вирусы Хантаан (HTNV), его генетический вариант Амур (AMRV) и Сеул (SEOV) [5, 6]. Природными резервуарами возбудителей являются полевые мыши (*A. agrarius mantchuricus*), восточноазиатские мыши (*A. peninsulae*) и серые крысы (*Rattus norvegicus*) соответственно.

Географическое распространение очагов ГЛПС, ассоциированных с разными вирусами, соответствует распространению их природных носителей. Единственным хантавирусом, распространение которого не отражает наземной миграции природных хозяев, является вирус SEOV, распространившийся по всему миру вместе с носителями вируса, серыми крысами, благодаря глобальной торговле и миграции человека [7, 8]. К настоящему времени SEOV выявлен в Азии (Китай, Южная Корея, Япония, Индонезия, Камбоджа, Сингапур, Вьетнам, Россия), на Американском континенте (США, Бразилия, Перу, Аргентина), в Африке (Египет) и Европе (Франция, Бельгия, Швеция, Нидерланды, Германия, Англия), преимущественно в портовых городах. SEOV является возбудителем более легкой клинической формы ГЛПС по сравнению с вирусом HTNV, как правило, при заражении вирусом регистрируют клинические формы ГЛПС легкой и средней тяжести [9].

При анализе нуклеотидных последовательностей SEOV от *R. norvegicus* отмечалось, что вирус отличался наименьшим генетическим разнообразием по сравнению с другими хантавирусами, различие последовательностей генома не превышало 5 % для нуклеотидных и 1,8 % для аминокислотных последовательностей [7]. Филогенетический анализ

изолятов SEOV из разных стран установил циркуляцию не менее 7 генетических вариантов SEOV [10]. Способ распространения SEOV привел к тому, что филогенетическое группирование штаммов не отражает их географического распространения, как это имеет место с другими хантавирусами. Так, европейские штаммы из Франции и Бельгии группируются совместно со штаммами из Вьетнама, Камбоджи, Сингапура и Индонезии [10–12].

На территории России присутствие антител к хантавирусам у серых крыс выявляли на Дальнем Востоке России [13–15]. Однако случаи инфицирования человека вирусом SEOV регистрировались начиная с 1992 г. только в г. Владивостоке [13]. Вирус из Владивостока вызывал в основном легкие или средней тяжести клинические формы хантавирусного заболевания (ГЛПС), однако 5,7 % случаев имели тяжелое клиническое течение. Долгое время портовый город Владивосток был единственным генетически подтвержденным очагом циркуляции вируса Сеул на территории РФ. При анализе материала от серых крыс – носителей вируса SEOV и больных ГЛПС установлено, что вариант вируса, обнаруженный во Владивостоке, оказался наиболее близок штаммам из Камбоджи и Вьетнама и, как предполагается, был завезен с серыми крысами из Юго-Восточной Азии в результате морских перевозок [16]. Также было показано, что заболеваемость ГЛПС у жителей Владивостока связана с заражением вирусами HTNV и его вариантом AMRV во время поездок в сельские районы. Исследования показали, что на территории Хабаровского и Приморского краев циркулируют не менее трех генетических вариантов вируса HTNV и двух вариантов вируса AMRV [6]. Изучение возбудителей ГЛПС среди жителей г. Хабаровска на основе анализа сывороток с использованием реакции нейтрализации показало, что заболевание вызвано вирусом HTNV [17]. Такие же результаты получены при генетическом типировании патогенов в образцах больных ГЛПС из Хабаровска [5, 6]. Целью исследования являлся дальнейший генетический анализ возбудителей среди больных ГЛПС из Хабаровска и тестирование серых крыс, отловленных в городе и его окрестностях, как возможных носителей вируса SEOV.

## Материалы и методы

Отлов серых крыс и отбор образцов осуществляли в соответствии с протоколом и рекомендациями по безопасной работе, согласно методическим рекомендациям 3.1.0211-20 «Отлов, учет и прогноз численности мелких млекопитающих и птиц в природных очагах инфекционных болезней». Отобранные ткани легких помещали в жидкий азот либо в стабилизирующий раствор RNAlater (QIAGEN GmbH, Германия) для последующего выделения РНК и ее



анализа методом обратной транскрипции – полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР). Для скрининга специфической РНК в тканях легких крыс использован набор реагентов для выявления и идентификации РНК хантавирусов «ОМ-Скрин-ГЛПС-РВ» (ООО «Синтол», Россия). Антиген в образцах выявляли набором Hantagnost (ФГУП «Предприятие по производству бактерийных и вирусных препаратов Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова», Россия).

Специфические антитела у животных также определяли непрямой методом флуоресцирующих антител (НМФА).

Клинический диагноз «ГЛПС» или «подозрение на ГЛПС» у больных из Хабаровска подтвержден увеличением титров специфических иммуноглобулинов в парных сыворотках крови, исследованных методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов «ВектоХанта-IgG» и «ВектоХанта-IgM» (АО «Вектор-Бест», Россия) либо с помощью НМФА с применением «Диагностикума геморрагической лихорадки с почечным синдромом, поливалентного для непрямого метода иммунофлуоресценции» (ФГУП «Предприятие по производству бактерийных и вирусных препаратов Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова», Россия). От каждого пациента получено информированное добровольное согласие в соответствии со статьей 20 Федерального закона от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».

Основным критерием отбора образцов для генетического исследования вирусов – возбудителей ГЛПС был лабораторно подтвержденный диагноз и наличие образцов крови, взятых не позднее 16 дней после начала заболевания. Сгустки крови больных ГЛПС помещали в стабилизирующий раствор RNAlater (QIAGEN GmbH, Германия) для последующего выделения РНК и ее анализа методом ОТ-ПЦР. В 2017 г. анализировали плазму крови больных. Выделение РНК проводили набором «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии, Россия).

Вирусную кДНК синтезировали с использованием обратной транскриптазы RevertAid Premium (Thermo Scientific, США) либо M-MuLV-RN («Диа-М», Россия). Продукты двухраундовой амплификации получали по стандартному протоколу с использованием серии праймеров и Taq ДНК-полимеразы Hot Start («Диа-М», Россия). Серия праймеров к L-сегменту генома и условия проведения реакции описаны ранее [18]. Набор праймеров для получения и секвенирования S-сегмента генома выбран авторами (табл. 1). Полученные ампликоны разделяли электрофорезом в 1,2 % агарозном геле, затем проводили их очистку набором Zymoclean Gel DNA Recovery Kit (Zymo Research, США). Секвенирование ДНК по Сэнгеру осуществляли с помощью генетического анализатора ABI Prism 310 (Applied Biosystems, США).

Таблица 1 / Table 1

Последовательности олигонуклеотидных праймеров, использованных для анализа S-сегмента генома хантавируса от крыс

Sequences of oligonucleotide primers used to amplify the S segment of rat-borne hantavirus genome

Праймер Primer	Позиция*, ориентация, последовательность (5'-3') Position, polarity, sequence (5'-3')
S2FR	1(+/-) TAG TAG TAK RCT CCC TAA ARA G
SH1	369(+) TTGATGARCCACAGGACARACWGC
SH3	585(+) TGCCMAATGCACARTCWAGYATGAA
SH4	958(-) ACCCAKATTGAKGATGGTGAYTCRAT
S2	1260(-) AGCTCAGGATCCATGTCATC

Примечание: \* номер позиции относительно генома вируса HTN, штамм 76-118.

Note: \* position number across the genome of the HTN virus, strain 76-118.

Выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью алгоритма ClustalW в программе Mega5. Для построения филогенетических деревьев использован метод ближайших соседей (NJ). Вычисления проводили для 1000 итераций.

## Результаты и обсуждение

Первичный скрининг сывороток крови больных ГЛПС из Хабаровска за 2016–2023 гг. проведен методами НМФА либо ИФА. Для дальнейшего молекулярно-генетического анализа отобраны 75 образцов крови больных, у которых лабораторно подтвержден диагноз ГЛПС. Все образцы исследованы методом двухраундовой ОТ-ПЦР с использованием праймеров к L-сегменту вирусного генома. Вирусная РНК выявлена в 44 образцах (табл. 2). Анализ полученных последовательностей показал, что в 33 образцах от больных ГЛПС выявлен вирус HTNV, в 9 образцах – вирус AMRV, вирус SEOV обнаружен в 2 образцах. За истекший период заболевшие инфицированы преимущественно вирусом HTNV, и лишь в 2022 г. выявили равное количество HTNV- и AMRV-инфицированных больных. Впервые помимо случаев, ассоциированных с вирусами HTNV и AMRV, выявлены два образца от больных ГЛПС, инфицированных вирусом SEOV. Первый больной (образец 1619) обнаружен в 2018 г. в п. Приамурский Еврейской автономной области (АО), расположенном в пригороде Хабаровска. Второй больной ГЛПС (образец 977), у которого в 2019 г. установлено инфицирование вирусом SEOV, проживал на территории г. Хабаровска.

С 2011 г. в Хабаровском крае проводился анализ инфицированности серых крыс – природных хозяев вируса SEOV. За период 2011–2023 гг. отловлено и протестировано методом НМФА 1439 особей. Отловы проводились в Хабаровске и на лугополевом участке, расположенном в 20 км к востоку от Хабаровска в сельскохозяйственной зоне вблизи с. Галкино (табл. 3). Сероположительные животные

Таблица 2 / Table 2

**Результаты тестирования образцов крови от больных ГЛПС из г. Хабаровска за 2016–2023 гг. методом ОТ-ПЦР и выявленные вирусы-возбудители**

**Results of RT-PCR testing of blood samples from HFRS patients, Khabarovsk city, Russia (2016–2023) and identified viral agents**

Дата заболевания (год) Date of infection (year)	Число ОТ-ПЦР положительных/исследованных образцов Number of hantavirus positive/tested samples	Вирусы (количество случаев) Viruses (number of cases)		
		HTNV	AMRV	SEOV
2016	7/21	7	–	–
2017	3/7	3	–	–
2018	8/11	5	2	1
2019	12/14	9	2	1
2020	1/5	1	–	–
2021	6/6	4	2	–
2022	6/10	3	3	–
2023	1/1	1	–	–

ежегодно выявлялись в Хабаровске, в сельском районе специфические антитела у крыс выявляли sporadически. Из 1239 особей серых крыс, отловленных в Хабаровске, 65 (5,2 %) животных имели антитела к хантавирусам. Уровень инфицированности варьировал от 1,1 % в 2021 г. до 15,6 % в 2012 г.

Данные серологического анализа серых крыс, а также выявление больных ГЛПС из Хабаровска и его окрестностей (п. Приамурский Еврейской АО), обусловленных инфицированием хантавирусом SEOV, дало основание выдвинуть и подтвердить гипотезу о существовании на территории Дальнего Востока России ранее неизвестного городского очага SEOV-инфекции. Для генетического подтвержде-

ния этой гипотезы нами исследованы образцы вирусной РНК от серых крыс – природных носителей вируса.

Поскольку первый выявленный больной ГЛПС, инфицированный вирусом SEOV, проживал в п. Приамурский Еврейской АО, наши усилия были направлены на выявление и в этом поселке инфицированных хантавирусом крыс. Поселок Приамурский территориально относится к Еврейской АО, но расположен в приграничной зоне с Хабаровским краем – в 10 км от Хабаровска. Поселок стоит на Пемзенской протоке реки Амур, окружен пойменными озерами. В окрестностях поселка – разнотравные луга, лесокустарник. Ближе к поселку – сельхозугодья, не-

Таблица 3 / Table 3

**Показатели инфицированности хантавирусами серых крыс в Хабаровском крае за 2011–2023 гг. на основе выявления специфических антител методом НМФА**

**Annual dynamics of Norway rat infection rate, as determined by indirect fluorescent antibody method, in Khabarovsk region, Russia (2011–2023)**

Год Year	Луго-полевой биотоп Meadow-field biotope		г. Хабаровск Khabarovsk city		Всего Total
	Число хантавирус-сероположительных/исследованных Number of hantavirus seropositive/tested samples	%	Число хантавирус-сероположительных/исследованных Number of hantavirus seropositive/tested samples	%	% хантавирус-сероположительных %, hantavirus seropositive
2011	2/53	3,8	3/101	3,0	3,2
2012	1/14	7,1	12/77	15,6	14,3
2013	0/5	0	6/114	5,3	5,0
2014	0/11	0	7/94	7,4	6,7
2015	0/13	0	3/121	2,5	2,2
2016	0/18	0	13/126	10,3	9,0
2017	0/17	0	4/89	4,5	3,8
2018	2/24	8,3	2/76	2,7	4,0
2019	1/8	12,5	2/75	2,7	3,6
2020	0/3	0	1/52	1,9	1,8
2021	2/9	22,2	1/87	1,1	3,1
2022	1/14	7,1	3/95	3,6	3,7
2023	0/11	0	12/132	9,1	5,6
<i>Итого</i> Total	9/200	4,5	65/1239	5,2	5,1

санкционированные свалки. Территория загрязнена бытовыми отходами.

Отловы проведены в 2020–2022 гг. в окрестностях поселка, всего добыто и исследовано иммунологически методом НМФА 29 экземпляров серых крыс. Серопозитивными оказались 1 серая крыса из 8 отловленных в 2020 г., 1 из 10 – в 2021 г. и 2 серые крысы из 11 – в 2022 г. Методом ПЦР в реальном времени тестированы пробы легочной ткани 11 серых крыс за 2022 г., у одной серопозитивной особи (образец 1405) с титром антител 1:320 выявлена хантавирусная РНК. Этот образец использован для дальнейшего генетического анализа и получения полноразмерного сегмента генома. Также проведен скрининг антител, антигена и вирусной РНК среди крыс, отловленных в 2023 г. на территории Хабаровска. Среди 132 отловленных животных обнаружено 12 серопозитивных крыс, одна из которых (образец 795) была антиген-позитивной, а в образце 1481, наряду с наличием антител в титре 1:320, методом ПЦР в реальном времени обнаружена РНК хантавируса. Анализ, выполненный методом ОТ-ПЦР, подтвердил, что в образцах от крыс из п. Приамурский (1405) и Хабаровска (795 и 1481) выявлен вирус SEOV.

Филогенетический анализ последовательностей фрагмента L-сегмента (346 н.о.) показал, что вирусные последовательности от серых крыс и больных с SEOV-инфекцией группируются вместе и представляют генетический вариант вируса с уровнем гомологии нуклеотидных/кодируемых аминокислотных последовательностей 98,8–100 % (рисунок, А). Новые изоляты вируса SEOV оказались близки ранее выявленным изолятам из Китая и отличались от варианта VDV вируса SEOV из Владивостока. Уровень различия двух российских вариантов вируса SEOV из Хабаровска и Владивостока составил 4,7–5,0 %, тогда как между изолятами из Хабаровска и Китая – 0,3–1,2 %.

Для более точной генетической характеристики выявленного варианта вируса Сеул получен ген нуклеокапсидного белка, расположенный в S-сегменте генома вируса. Сравнение полученной последовательности (1290 н.о.) от серой крысы (Priamursk-Rn1405/Russia/2022) с международной базой данных GenBank показало, что последовательность вируса Сеул из п. Приамурский наиболее близка (99,1–99,3 % гомологии) нескольким штаммам вируса Сеул из Китая, при этом кодируемые аминокислотные последовательности нуклеокапсидного (N) белка полностью идентичны. Вывод об общем происхождении SEOV из Хабаровска и Китая подтверждает и результат филогенетического анализа полученных нами фрагментов S-сегмента генома для изолятов от больных ГЛПС и крыс (рисунок, В). Уровень гомологии выявленных нуклеотидных последовательностей S-сегмента от серых крыс и последовательностей вируса Сеул, полученных от больных из Хабаровска и п. Приамурский, составил 99,7–100 %, тогда как

с изолятами вируса из Владивостока – 97,5–97,9 %. Изоляты из Хабаровска группируются с китайскими вариантами вируса Сеул (гомология 98,9–99,3 %), тогда как РНК-изоляты из Владивостока – со штаммами из Камбоджи и Вьетнама (гомология 99,4–100 %). Совокупность полученных данных свидетельствует о выявлении и генетическом подтверждении нового городского очага SEOV-инфекции на территории РФ, вероятно, связанного с завозом инфицированных крыс вместе с сельскохозяйственными товарами из Китая, где этот вариант вируса широко распространен [7].

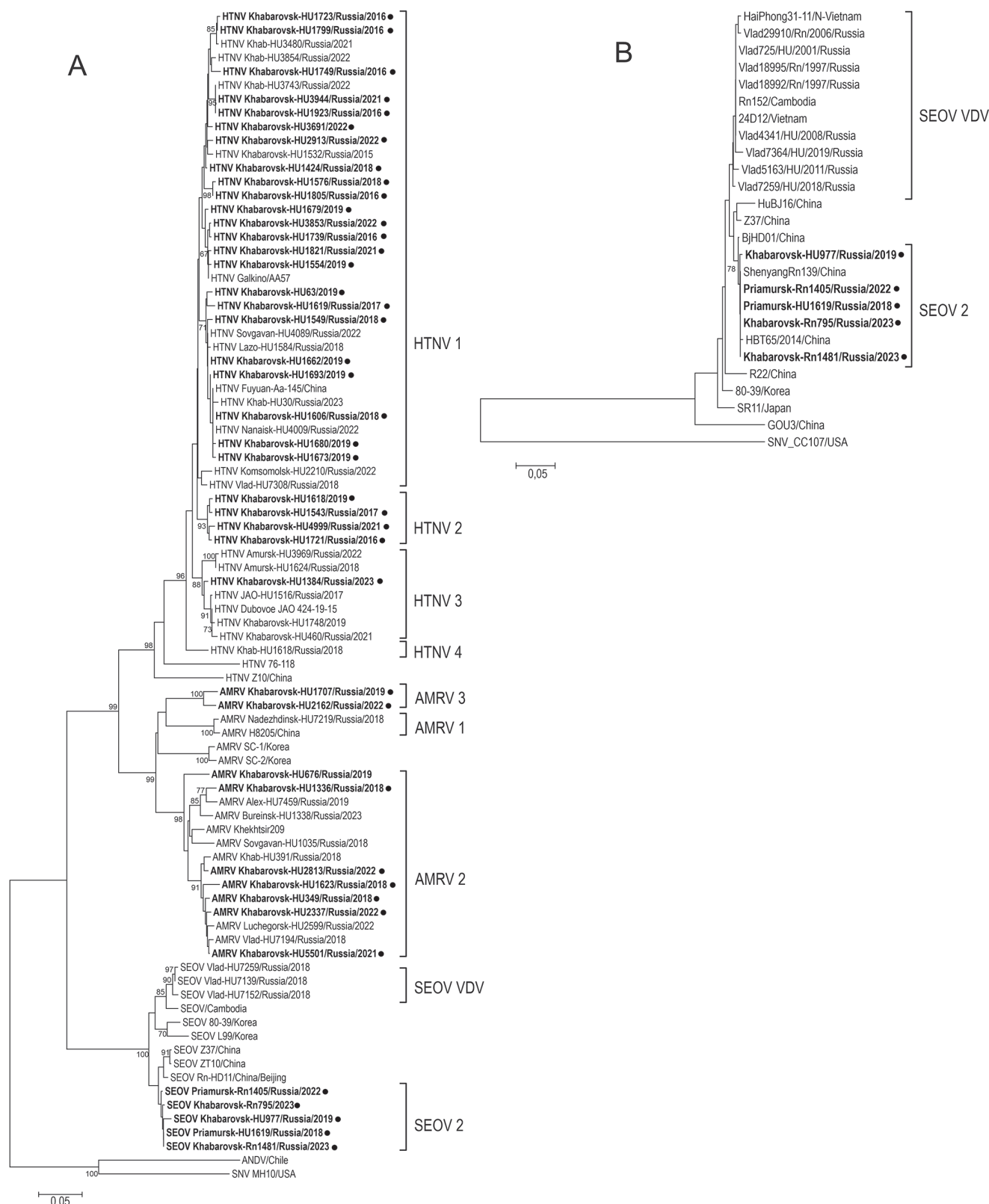
Филогенетический анализ последовательностей фрагментов L-сегмента генома двух других возбудителей ГЛПС, HTNV и AMRV, выявленных среди больных из Хабаровска, установил инфицирование тремя генетическими вариантами вируса HTNV и двумя вариантами AMRV (рисунок, А). Большая часть (25 из 33) новых последовательностей из Хабаровска относятся к описанному ранее варианту HTNV-1, куда входят изоляты от жителей удаленных районов Хабаровского и Приморского краев, а также изолят из приграничной китайской провинции Фуянь (Fuyan-Aa-145). Изоляты из Хабаровска объединяются в группу HTNV-2. Изоляты из Хабаровска, Еврейской АО и Амурского района Хабаровского края формируют филогенетическую ветвь HTNV-3. Уровни различия нуклеотидных последовательностей между вариантами HTNV составили 4,7–7,0 %.

Новые 9 изолятов вируса AMRV от больных ГЛПС из Хабаровска филогенетически разделяются на два варианта с уровнем различия 11,3–13,5 %. Эти цифры сравнимы с различиями российских вариантов AMRV с опубликованными последовательностями вирусов из Кореи и Китая. Вариант AMRV-3 объединяет два РНК-изолята из Хабаровска. В состав более многочисленного варианта AMRV-2, помимо изолятов из Хабаровска, входят изоляты из различных районов Приморского и Хабаровского краев. Ранее больных ГЛПС, инфицированных вирусом AMRV, среди жителей Хабаровска не регистрировали.

Поскольку новые последовательности вирусов HTNV и AMRV, обнаруженные от больных, проживающих в Хабаровске, существенно различаются и группируются с ранее выявленными вариантами этих вирусов из отдаленных районов Хабаровского и Приморского краев, полученные данные свидетельствуют, что инфицирование людей происходило во время их выездов из города в различные ландшафтно-экологические зоны Дальнего Востока.

Иная ситуация наблюдается для вируса SEOV. Эпидемиологический анализ показал, что оба заболевших постоянно проживали на этих территориях, не выезжали в другие регионы и имели контакты с крысами по месту проживания. Редкое выявление среди больных ГЛПС инфекции, вызванной вирусом SEOV, может быть связано с несколькими причинами: низкой инфицированностью носителей вируса –





Филогенетические деревья, отображающие взаимосвязи новых изолятов хантавирусов из Хабаровска и других регионов мира. Использован метод NJ, индексы поддержки рассчитаны для 1000 повторов, индексы поддержки (>70 %) отображены в соответствующих узлах. Масштабная линейка указывает количество нуклеотидных замен на сайт. Новые изоляты выделены жирным шрифтом и звездочкой (\*):

A – дерево построено на основе нуклеотидных последовательностей L-сегмента генома (346 н.о.); B – дерево построено на основе нуклеотидных последовательностей S-сегмента генома (1290 н.о.)

Phylogenetic trees of hantaviruses identified in Khabarovsk city, Russia, in relation to strains from other regions of the world. The trees were generated by NJ method with 1000 bootstrap replicates; bootstrap values (>70%) are shown at corresponding nodes. The scale bar depicts the number of nucleotide substitutions per site. Strains from this study are shown in bold lettering and marked with asterisk (\*):

A – tree was based on the partial L segment sequences (346 bp); B – tree was based on the partial S segment sequences (1290 bp)

серых крыс, ограниченной распространенностью инфицированных животных на территории Хабаровска, а также преимущественно легким клиническим течением заболевания у больных ГЛПС, которые не обращались за медицинской помощью или получили другой клинический диагноз. Наши серологические исследования за период 2011–2023 гг., выявившие присутствие специфических антител к хантавирусам у 5,1 % серых крыс, отловленных в Хабаровске и его окрестностях, а также ранее опубликованные данные о выявлении антигена хантавируса у 7,9 % серых крыс из южных районов Хабаровского края начиная с 1982 г. [15] свидетельствуют о достаточно длительной циркуляции SEOV в Хабаровске. Наиболее вероятно, что более легкие формы заболевания, вызванные инфицированием SEOV, проходили под другими клиническими диагнозами, что и привело к тому, что до 2018 г. среди больных ГЛПС из Хабаровска случаев SEOV-инфекции не зарегистрировано.

Таким образом, нами впервые получено генетическое подтверждение инфицирования больных ГЛПС вирусом SEOV, циркулирующим среди серых крыс в Хабаровске и его окрестностях. Также генетически установлено, что среди жителей Хабаровска, помимо случаев, ассоциированных с вирусом HTNV, заболеваемость ГЛПС вызывает и вирус AMRV, а заражение этими вирусами происходит при выездах в различные ландшафтно-экологические зоны края.

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

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках Государственного задания Роспотребнадзора ГЗ-8/21.

**Биоэтика.** От каждого пациента получено информированное добровольное согласие в соответствии со статьей 20 Федерального закона от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации». Отлов серых крыс и отбор образцов проводились в соответствии с национальными и международными руководящими принципами по уходу и гуманному использованию животных.

## Список литературы

- Jonsson C.B., Figueiredo L.T., Vapalahti O. A global perspective on hantavirus ecology, epidemiology, and disease. *Clin. Microbiol. Rev.* 2010; 23(2):412–41. DOI: 10.1128/CMR.00062-09.
- Tkachenko E.A., Ishmukhamedov 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.
- Klempa B., Tkachenko E.A., Dzagurova T.K., Yunicheva Y.V., Morozov V.G., Okulova N.M., Slyusarenko G.P., Smirnov A., Kruger D.H. Hemorrhagic fever with renal syndrome caused by 2 lineages of Dobrava hantavirus, Russia. *Emerg. Inf. Dis.* 2008; 14(4):617–25. DOI: 10.3201/eid1404.071310.
- Слонова Р.А., Кушнарева Т.В., Компанец Г.Г., Максема И.Г., Симонова Т.Л., Симонов С.Б. Хантавирусная инфекция в Приморском крае – эпидемиологическая ситуация в очагах циркуляции разных серотипов вируса. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 2006; 53:74–7.
- Yashina L.N., Patrushev N.A., Ivanov L.I., Slonova R.A., Mishin V.P., Kompanez G.G., Zdanovskaya N.I., Kuzina I.I., Safronov P.F., Chizhikov V.E., Schmaljohn C., Netesov S.V. Genetic

diversity of hantaviruses associated with hemorrhagic fever with renal syndrome in the Far East of Russia. *Virus Res.* 2000; 70(1-2):31–44. DOI: 10.1016/S0168-1702(00)00203-3.

6. Яшина Л.Н., Сметанникова Н.А., Компанец Г.Г., Здановская Н.И., Иванов Л.И. Молекулярная эпидемиология патогенных хантавирусов на Дальнем Востоке России, 2015–2018 гг. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2019; 4:102–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-102-108.

7. Lin X.D., Guo W.P., Wang W., Zou Y., Hao Z.Y., Zhou D.J., Dong X., Qu Y.G., Li M.H., Tian H.F., Wen J.F., Plyusnin A., Xu J., Zhang Y.Z. Migration of Norway rats resulted in the worldwide distribution of Seoul hantavirus today. *J. Virol.* 2012; 86(2):972–81. DOI: 10.1128/JVI.00725-11.

8. Clement J., LeDuc J.W., Lloyd G., Reynes J.-M., McElhinney L., Van Ranst M., Lee H.-W. Wild rats, laboratory rats, pet rats: global Seoul hantavirus disease revisited. *Viruses.* 2019; 11(7):652. DOI: 10.3390/v11070652.

9. Clement J., LeDuc J.W., McElhinney L.M., Reynes J.M., Van Ranst M., Calisher C.H. Clinical characteristics of ratborne Seoul hantavirus disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(2):387–8. DOI: 10.3201/eid2502.181643.

10. Plyusina A., Heyman P., Baert K., Stuyck J., Cochez C., Plyusnin A. Genetic characterization of Seoul hantavirus originated from Norway rats (*Rattus norvegicus*) captured in Belgium. *J. Med. Virol.* 2012; 84(8):1298–303. DOI: 10.1002/jmv.23321.

11. Reynes J.M., Carli D., Bour J.B., Boudjeltia S., Dewilde A., Gerbier G., Nussbaumer T., Jacomo V., Rapt M.P., Rollin P.E., Septfons A. Seoul virus infection in humans, France, 2014–2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23(6):973–7. DOI: 10.3201/eid2306.160927.

12. Dupinay T., Pounder K.C., Ayral F., Laaberk M.H., Marston D.A., Lacôte S., Rey C., Barbet F., Voller K., Nazaret N., Artois M., Marianneau P., Lachuer J., Fooks A.R., Pépin M., Legras-Lachuer C., McElhinney L.M. Detection and genetic characterization of Seoul virus from commensal brown rats in France. *Virol. J.* 2014; 11:32. DOI: 10.1186/1743-422X-11-32.

13. Слонова Р.А., Компанец Г.Г., Подогова Л.М., Астахова Т.И., Перминова Л.А., Хоменко Т.В., Трофимчук Г.Д., Тимофеев А.А., Шереметьев И.С., Иванис В.А., Сокотун О.А. Циркуляция хантавируса Сеул в популяциях синантропных грызунов и его значение в заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в Приморском крае. *Вопросы вирусологии.* 1999; 5:213–7.

14. Марунин Н.А., Гавриловская И.Н., Горбачкова Е.А., Алекина Н.С., Фигурнов В.А., Якунин К.Ф., Бурлакова Н.Г., Лопатин А.И. Заболевание геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в Амурской области, связанные с крысиным серотипом вируса. *Журнал микробиологии эпидемиологии иммунологии.* 1990; 3:48–52.

15. Иванов Л.И., Здановская Н.И., Ткаченко Е.А., Резапкин Г.В., Рыльцева Е.В., Гапонова Л.К., Воробьева Р.Н., Волков В.И. Ареал и природные резервуары вируса геморрагической лихорадки с почечным синдромом на Дальнем Востоке СССР. *Вопросы вирусологии.* 1989; 34(5):595–8.

16. Yashina L.N., Hay J., Smetannikova N.A., Kushnareva T.V., Iunikhina O.V., Kompanets G.G. Hemorrhagic fever with renal syndrome in Vladivostok city, Russia. *Front. Public Health.* 2021; 9:620279. DOI: 10.3389/fpubh.2021.620279.

17. Kariwa H., Yoshikawa K., Tanikawa Y., Seto T., Sanada T., Saasa N., Ivanov L.I., Slonova R., Zakharycheva T.A., Nakamura I., Yoshimatsu K., Arikawa J., Yoshii K., Takashima I. Isolation and characterization of hantaviruses in Far East Russia and etiology of hemorrhagic fever with renal syndrome in the region. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2012; 86(3):545–53. DOI: 10.4269/ajtmh.2012.11-0297.

18. 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.

## References

- Jonsson C.B., Figueiredo L.T., Vapalahti O. A global perspective on hantavirus ecology, epidemiology, and disease. *Clin. Microbiol. Rev.* 2010; 23(2):412–41. DOI: 10.1128/CMR.00062-09.
- Tkachenko E.A., Ishmukhamedov 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.
- Klempa B., Tkachenko E.A., Dzagurova T.K., Yunicheva Y.V., Morozov V.G., Okulova N.M., Slyusarenko G.P., Smirnov A., Kruger D.H. Hemorrhagic fever with renal syndrome caused by 2 lineages of Dobrava hantavirus, Russia. *Emerg. Inf. Dis.* 2008; 14(4):617–25. DOI: 10.3201/eid1404.071310.
- Slonova R.A., Kushnareva T.V., Kompanets G.G., Maksema I.G., Simonova T.L., Simonov S.B. [Hantavirus infection in the Primorsky Territory – epidemiological situation in the foci, where

various serotype circulate]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2006; (S3):74–7.

5. Yashina L.N., Patrushev N.A., Ivanov L.I., Slonova R.A., Mishin V.P., Kompanets G.G., Zdanovskaya N.I., Kuzina I.I., Safronov P.F., Chizhikov V.E., Schmaljohn C., Netesov S.V. Genetic diversity of hantaviruses associated with hemorrhagic fever with renal syndrome in the Far East of Russia. *Virus Res.* 2000; 70(1-2): 31–44. DOI: 10.1016/S0168-1702(00)00203-3.

6. Yashina L.N., Smetannikova N.A., Kompanets G.G., Zdanovskaya N.I., Ivanov L.I. [Molecular epidemiology of pathogenic hantaviruses in the Far East of Russia, 2015–2018]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2019; (4):102–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-102-108.

7. Lin X.D., Guo W.P., Wang W., Zou Y., Hao Z.Y., Zhou D.J., Dong X., Qu Y.G., Li M.H., Tian H.F., Wen J.F., Plyusnin A., Xu J., Zhang Y.Z. Migration of Norway rats resulted in the worldwide distribution of Seoul hantavirus today. *J. Virol.* 2012; 86(2):972–81. DOI: 10.1128/JVI.00725-11.

8. Clement J., LeDuc J.W., Lloyd G., Reynes J.-M., McElhinney L., Van Ranst M., Lee H.-W. Wild rats, laboratory rats, pet rats: global Seoul hantavirus disease revisited. *Viruses.* 2019; 11(7):652. DOI: 10.3390/v11070652.

9. Clement J., LeDuc J.W., McElhinney L.M., Reynes J.M., Van Ranst M., Calisher C.H. Clinical characteristics of ratborne Seoul hantavirus disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(2):387–8. DOI: 10.3201/eid2502.181643.

10. Plyusnina A., Heyman P., Baert K., Stuyck J., Cochez C., Plyusnin A. Genetic characterization of Seoul hantavirus originated from Norway rats (*Rattus norvegicus*) captured in Belgium. *J. Med. Virol.* 2012; 84(8):1298–303. DOI: 10.1002/jmv.23321.

11. Reynes J.M., Carli D., Bour J.B., Boudjeltia S., Dewilde A., Gerbier G., Nussbaumer T., Jacomo V., Rapt M.P., Rollin P.E., Septfons A. Seoul virus infection in humans, France, 2014–2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23(6):973–7. DOI: 10.3201/eid2306.160927.

12. Dupinay T., Pounder K.C., Ayral F., Laaberk M.H., Marston D.A., Lacôte S., Rey C., Barbet F., Voller K., Nazaret N., Artois M., Marianneau P., Lachuer J., Fooks A.R., Pépin M., Legras-Lachuer C., McElhinney L.M. Detection and genetic characterization of Seoul virus from commensal brown rats in France. *Virol. J.* 2014; 11:32. DOI: 10.1186/1743-422X-11-32.

13. Slonova R.A., Kompanets G.G., Podogova L.M., Astachova T.I., Perminova L.A., Khomenko T.V., Trofimchuk G.D., Timofeev A.A., Sheremetiev I.S., Ivanis V.A., Sokotun O.A. [Circulation of

Seoul hantavirus in populations of synanthropic rodents and its significance in the incidence of hemorrhagic fever with renal syndrome in the Primorye territory]. *Voprosy Virusologii* [Problems of Virology]. 1999; (5):213–7.

14. Marunich N.A., Gavrillovskaya I.N., Gorbachkova E.A., Apekina N.S., Figurnov V.A., Yakunin K.F., Burlakova N.G., Lopatin A.I. [Cases of hemorrhagic fever with the renal syndrome, caused by virus of serotype Rattus, in the Amur region]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 1990; (3):48–52.

15. Ivanov L.I., Zdanovskaya N.I., Tkachenko E.A., Rezapkin G.V., Ryltseva E.V., Gaponova L.K., Vorobieva R.N., Volkov V.I. [Distribution area and natural reservoirs of hemorrhagic fever with renal syndrome virus in the Far East, USSR]. *Voprosy Virusologii* [Problems of Virology]. 1989; 34(5):595–8.

16. Yashina L.N., Hay J., Smetannikova N.A., Kushnareva T.V., Iunikhina O.V., Kompanets G.G. Hemorrhagic fever with renal syndrome in Vladivostok city, Russia. *Front. Public Health.* 2021; 9:620279. DOI: 10.3389/fpubh.2021.620279.

17. Kariwa H., Yoshikawa K., Tanikawa Y., Seto T., Sanada T., Saasa N., Ivanov L.I., Slonova R., Zakharycheva T.A., Nakamura I., Yoshimatsu K., Arikawa J., Yoshi K., Takashima I. Isolation and characterization of hantaviruses in Far East Russia and etiology of hemorrhagic fever with renal syndrome in the region. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2012; 86(3):545–53. DOI: 10.4269/ajtmh.2012.11-0297.

18. 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.

# Authors:

Yashina L.N., Smetannikova N.A. State Scientific Center of Virology and Biotechnology “Vector”. Kol’tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Zdanovskaya N.I., Poleshchuk D.N., Lapin A.S., Koval’sky A.G. Khabarovsk Plague Control Station, 7, Sanitarny Lane, Khabarovsk, 680031, Russian Federation. E-mail: chum@chum.khv.ru.

# Об авторах:

Яшина Л.Н., Сметанникова Н.А. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Здановская Н.И., Полещук Д.Н., Лапин А.С., Ковальский А.Г. Хабаровская противочумная станция. Российская Федерация, 680031, Хабаровск, Санитарный пер. 7. E-mail: chum@chum.khv.ru.



DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-178-181

УДК 616.98:579.842.23:614.4

С.А. Бугоркова, О.М. Кудрявцева, С.А. Щербакова, В.В. Кутырев

**Возможности мобильной лаборатории для обеспечения задач  
иммунологического мониторинга на территориях природных очагов чумы**

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

Мобильные лаборатории для решения задач по осуществлению противоэпидемических мероприятий на территориях природных очагов чумы выполняют важную функцию обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия страны. **Цель** исследования – определение спектра направлений и тактики применения мобильных лабораторий для обеспечения текущих задач иммунологического мониторинга за состоянием здоровья контингента риска на территории природного очага чумы. Проведен ретроспективный анализ результатов многолетнего иммунологического мониторинга за контингентом риска, прививаемым против чумы. Определены возможности и перспективы применения мобильной лаборатории для иммунологического мониторинга в рамках обеспечения задач и функций Роспотребнадзора. Мобильные лаборатории для иммунологического мониторинга расширяют возможность решения оперативных вопросов, связанных с обеспечением специфической профилактики особо опасных инфекционных болезней, а применение их в составе других мобильных формирований санитарно-эпидемиологической службы будет способствовать более точному определению территории, объема, направленности и приоритетности тех или иных профилактических мероприятий.

**Ключевые слова:** мобильная лаборатория, иммунологический мониторинг, противочумная вакцинация.

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

*Для цитирования:* Бугоркова С.А., Кудрявцева О.М., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Возможности мобильной лаборатории для обеспечения задач иммунологического мониторинга на территориях природных очагов чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 3:178–181. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-178-181

*Поступила 11.06.2024. Принята к публ. 21.06.2024.*

S.A. Bugorkova, O.M. Kudryavtseva, S.A. Shcherbakova, V.V. Kuttyrev

**Performance Capabilities of a Mobile Laboratory for Supporting Immunological Monitoring  
in Natural Plague Foci**

*Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation*

**Abstract.** Mobile laboratories for implementing anti-epidemic measures in the territories of natural plague foci perform an important function of ensuring sanitary-epidemiological well-being of the country. **The aim** of the study was to determine the range of areas and tactics for deploying mobile laboratories to ensure the current tasks of immunological monitoring over the health status of the population at risk in the territory of a natural plague focus. Retrospective analysis of the results of long-term immunological monitoring of the risk contingent vaccinated against plague was carried out. The possibilities and prospects for using a mobile laboratory for immunological monitoring within the framework of ensuring the tasks and functions of the Rospotrebnadzor have been determined. Mobile laboratories for immunological monitoring expand the capacities to solve operational issues related to the provision of specific prophylaxis of particularly dangerous infectious diseases, and their deployment as part of other mobile units of the Sanitary-Epidemiological Service will contribute to a more accurate delimitation of the territory, volume, scope and priority of any given preventive measure.

**Key words:** mobile laboratory, immunological monitoring, anti-plague vaccination.

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

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

*Corresponding author:* Svetlana A. Bugorkova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

*Citation:* Bugorkova S.A., Kudryavtseva O.M., Shcherbakova S.A., Kuttyrev V.V. Performance Capabilities of a Mobile Laboratory for Supporting Immunological Monitoring in Natural Plague Foci. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 3:178–181. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-178-181

*Received 11.06.2024. Accepted 21.06.2024.*

Bugorkova S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7548-4845>  
Kudryavtseva O.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9894-3394>

Shcherbakova S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1143-4069>  
Kuttyrev V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

Востребованность передвижных мобильных лабораторий (МЛ) резко возрастает в современных эпидемиологических, социально-экономических и геополитических условиях, развивающихся на фоне

увеличения спектра инфекционных болезней, включая новые и возвращающиеся инфекции. Наглядным примером служит использование МЛ в период распространения новой коронавирусной инфекции

(COVID-19) и эффективное их применение как для решения широкого круга вопросов, связанных с задачами лабораторной диагностики SARS-CoV-2, так и, при необходимости, для оценки состояния гуморального иммунного ответа у лиц, перенесших COVID-19 и/или планирующих пройти вакцинацию [1].

Природные очаги чумы на территории Российской Федерации, занимающие более 220 тыс. км<sup>2</sup>, включают отдаленные и труднодоступные районы [2]. Адекватное применение профилактических мероприятий на такой территории требует привлечения значительных сил и средств. Ключевой этап оптимизации мероприятий по специфической профилактике чумы в современных условиях заключается в обеспечении возможности проведения иммунологического мониторинга на территориях природных очагов этой инфекции с целью сбора и анализа данных относительно специфической резистентности к чуме в различных группах населения и характеристики состояния иммунной системы у контингента риска.

Создание специальной мобильной лаборатории для обеспечения нужд иммунологического мониторинга открывает возможность для выполнения высокотехнологичных исследований по оценке состояния иммунной системы на отдаленных от крупных населенных пунктов и исследовательских центров территориях.

**Цель** исследования состояла в определении спектра направлений и тактики применения мобильных лабораторий для обеспечения текущих задач иммунологического мониторинга за состоянием здоровья контингента риска на территории природного очага чумы.

Проведен ретроспективный анализ результатов проспективного наблюдательного исследования за контингентом риска, вакцинируемым против чумы в рамках национального календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям за период 2016–2021 гг. на территории трех природных очагов чумы (Горно-Алтайский высокогорный, Тувинский горный и Прикаспийский песчаный), и оценка возможности применения для проведения иммунологического мониторинга разработанной нами модели мобильной лаборатории (МЛИМ) [3].

В настоящее время для обеспечения мероприятий по специфической профилактике чумы, реализуемых в рамках исполнения календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям (приложение № 2 к приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 06.12.2021 № 1122н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок, календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям и порядка проведения профилактических прививок»), населению, проживающему на территориях природных очагов чумы в период обострения эпизоотической активности или прогнозируемого ее повышения, а также всем лицам, въезжающим на

эти территории, применяют вакцину живую чумную (ВЧЖ) [4]. Препарат используется накожно, обеспечивая, согласно инструкции по его применению, формирование напряженного специфического иммунитета продолжительностью до 12 месяцев. Такая характеристика ВЧЖ обуславливает необходимость, в случае сохранения эпизоотической активности в следующем сезоне, проведения ежегодной ревакцинации контингента риска.

Задача вакцинации против чумы с учетом эпидемических показаний заключается в своевременном формировании напряженного иммунитета, желательно, чтобы сформированный иммунитет был длительным, но, к сожалению, ВЧЖ не обеспечивает длительной защиты [5]. В то же время применение живых вакцин на фоне сохраняющегося специфического иммунного ответа резко снижает эффективность профилактических мероприятий, так как в иммунном организме вакцинный штамм не может обеспечить должной перестройки [6]. Ключевая роль в формировании специфического противочумного иммунитета принадлежит клеточным факторам защиты, в частности Т-лимфоцитам, синтезирующим ИФН-γ и ФНО-α для активации бактерицидной активности макрофагов, но и гуморальное звено (специфические антитела) участвует в обеспечении протективного иммунного ответа [7]. Предпринятая в период с 2016 по 2021 г. попытка всесторонней характеристики иммунологических реакций на ВЧЖ у привитых лиц в период становления специфической защиты (1, 3, 6, 12 месяцев) позволила по-новому взглянуть на проблему проведения специфических профилактических мероприятий против чумы на территории природных очагов этой инфекции [8]. Например, анализ результатов серологического мониторинга, проводимого в современных условиях, позволил сделать заключение, что сформированного иммунитета после первичной вакцинации ВЧЖ по истечении 6 месяцев уже не достаточно для полноценной защиты от инфекции, что диктует необходимость смещения сроков очередной ревакцинации [9]. В то же время, согласно результатам исследования иммунного ответа, среди вакцинированных часто встречаются лица с высоким уровнем показателей клеточного иммунитета, сохраняющимся до 12 месяцев [8].

Другой аспект специфической профилактики чумы, связанный с необходимостью мониторингирования иммунного ответа на ВЧЖ, обусловлен возрастающими в современном мире угрозами биологического характера, когда все чаще возникает необходимость определения первоочередности применения тех или иных вакцин для профилактики инфекционных заболеваний. Наглядный тому пример – ситуация, сложившаяся с необходимостью вакцинации против SARS-CoV-2, что потребовало, с одной стороны, определенных усилий по интеграции вакцинации против новой коронавирусной инфекции в национальный календарь прививок по эпидемическим показаниям, а с другой – пересмотра приоритетов

вакцинации с учетом реальных рисков распространения той или иной инфекции [10].

Возможности МЛИМ [3], с учетом ее функционала, позволяют в полевых условиях проводить забор клинического материала, его подготовку и анализ с применением современного высокоточного оборудования для оценки всех звеньев иммунной системы в рамках поставленной задачи. Например, возникает необходимость оценить клеточное звено иммунитета у контингента риска, для этого необходимы современные диагностические программные комплексы (стационарные проточные цитофлуориметры, ИФА-анализаторы) – сложные и дорогостоящие системы, требующие для своего обслуживания высококвалифицированного персонала и доступные в крупных населенных пунктах или специализированных медицинских организациях, посещение которых сопряжено с необходимостью прерывания производственного процесса. В этих условиях комплектация разработанной нами МЛИМ, способной обеспечивать весь комплекс иммунологических исследований в рамках существующего алгоритма наблюдения за контингентом риска, становится единственно доступным средством для всесторонней оценки состояния иммунной системы у лиц, проживающих на территории природного очага чумы.

Следующий аспект применения МЛИМ связан с решением оперативных вопросов обеспечения специфической профилактики особо опасных инфекционных болезней, когда возникает необходимость динамического наблюдения за контингентом риска, рассредоточенным на значительной территории природного очага инфекции с целью пополнения базы данных по состоянию иммунитета у вакцинируемого контингента и формирования тактических подходов (определение сроков и объемов вакцинации) к применению ВЧЖ в очередной эпидемиологический сезон.

Применение МЛИМ в составе других мобильных формирований санитарно-эпидемиологической службы открывает перспективу для осуществления комплексного мониторинга за эпизоотологической, эпидемиологической ситуациями и состоянием иммунного статуса у контингента риска, давая возможность сбора и одновременного анализа результатов иммунологического наблюдения, что необходимо для более точного определения территории, объема, содержания и направленности профилактических мероприятий, определения приоритетности применения прививки против той или иной инфекционной болезни конкретному человеку.

Возможности разработанной нами МЛИМ позволяют проводить анализ любого биологического материала с применением иммунологических методов, включая забор и последующую подготовку проб биологического материала, и осуществлять сложный информативный анализ в любых природных условиях, повышая скорость, качество и результативность

профессионального заключения о состоянии иммунной системы лиц, планируемых на очередную прививку ВЧЖ, способствуя выявляемости состояний иммунной системы, требующих немедленной или плановой коррекции. Возможно расширение функций МЛИМ за счет увеличения перечня оцениваемых показателей в рамках используемого портативного высокотехнологичного проточного цитофлуориметра, включая исследования не только базовых и специфических показателей иммунного статуса, но и банальное общеклиническое исследование крови, что позволит обеспечить доступность медицинского наблюдения для контингента риска, рассредоточенного на значительной территории природных очагов опасных и особо опасных инфекционных болезней.

Реальная перспектива применения результатов иммунологического мониторинга, проводимого в природных очагах чумы, – возможность прогнозирования характера и интенсивности иммунного ответа у лиц, вакцинированных ВЧЖ. Методически с использованием МЛИМ оценку иммунологической эффективности противочумной вакцинации можно осуществлять выборочно (среди различных групп населения, проживающих на территории природных очагов чумы) или прицельно, ориентируясь на индикаторные группы либо группы риска (медицинские работники; персонал специализированных лабораторий; лица, осуществляющие определенные виды деятельности, сопряженные с риском заражения чумой, – охотники, чабаны и др.).

Существующая проблема применения МЛИМ и оснащения ими специализированных формирований Роспотребнадзора связана с отсутствием специальной нормативной базы для обеспечения мероприятий по проведению иммунологического мониторинга (наравне с эпизоотологическим и микробиологическим) на территориях природных очагов чумы, включения единого алгоритма обследования вакцинируемого контингента в порядок организации и проведения наблюдения за лицами, вакцинируемыми ВЧЖ по эпидемическим показаниям.

Таким образом, мобильные лаборатории для иммунологического мониторинга расширяют возможности для решения оперативных вопросов, связанных с обеспечением специфической профилактики особо опасных инфекционных болезней, а их применение в составе других мобильных формирований санитарно-эпидемиологической службы будет способствовать более точному определению территории, объема, содержания, направленности и приоритетности тех или иных профилактических мероприятий.

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

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



# Список литературы

1. Касьян Ж.А., Le Thi Lan Anh, Шарова И.Н., Vo Viet Cuong, Оглодин Е.Г., Trinh Van Toan, Голубев С.Н., Проскурякова М.В., Bui Thi Lan Anh, Hoang Duc Hau, Dang Thi Viet Huong, Pham Thi Ha Giang, Duong Van Nghia, Bui Thi Thanh Nga, Ляпин М.Н., Щербакова С.А. Опыт использования мобильной лаборатории мониторинга и диагностики в Социалистической Республике Вьетнам. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 3:90–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-90-94.
2. Попов Н.В., Карнаухов И.Г., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Иванова А.В., Марцоха К.С., Куклев Е.В., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Чипанин Е.В., Холин А.В., Лопатин А.А., Дубянский В.М., Ашибокон 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.
3. Бугоркова С.А., Кудрявцева О.М., Морозов К.М., Шарова И.Н., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Мобильная лаборатория для проведения иммунологического мониторинга. Патент РФ № 2786711, опубл. 26.12.2022. Бюл. № 36.
4. Витязева С.А., Балахонов С.В., Дубровина В.И., Марков Е.Ю., Половинкина В.С. Актуальные вопросы совершенствования специфической профилактики чумы и сибирской язвы. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2013; 4:63–6.
5. Дентовская С.В., Копылов П.Х., Иванов С.А., Агеев С.А., Анисимов А.П. Молекулярные основы вакцинопрофилактики чумы. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2013; 28(3):3–12. DOI: 10.3103/S089141681303004X.
6. Медунитын Н.В. Проблемы коррекции иммунитета при вакцинации. *Иммунология*. 2017; 38(3):148–54. DOI: 10.18821/0206-4952-2017-38-3-148-154.
7. Фирстова В.В., Дятлов И.А., Караулов А.В. Иммунологические аспекты чумы. *Иммунология*. 2016; 37(1):61–3. DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-1-61-63.
8. Бугоркова С.А., Шуковская Т.Н., Микшис Н.И., Ключева С.Н., Кудрявцева О.М., Кравцов А.Л., Гончарова А.Ю., Кожевников В.А., Санджиев Д.Н., Конушева С.В., Савченко С.П., Бембеева Е.С., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Комплексное иммунологическое исследование вакцинированных живой чумной вакциной лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчаного очага чумы в Республике Калмыкия. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018; 17(3):38–50. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50.
9. Sagiye Z., Berdibekov A., Bolger T., Merekenova A., Ashirova S., Nurgozhin Z., Dalibayev Zh. Human response to live plague vaccine EV, Almaty region, Kazakhstan, 2014–2015. *PLoS One*. 2019; 14(6):e0218366. DOI: 10.1371/journal.pone.0218366.
10. Иозефович О.В. Вакцинопрофилактика во время пандемии COVID-19. Специфическая профилактика коронавирусной инфекции. *Педиатрия*. 2020; 99(6):172–7. DOI: 10.24110/0031-403X-2020-99-6-172-177.

# References

1. Kas'yan Zh.A., Le Thi Lan Anh, Sharova I.N., Vo Viet Cuong, Ogloodin E.G., Trinh Van Toan, Golubev S.N., Proskuryakova M.V., Bui Thi Lan Anh, Hoang Duc Hau, Dang Thi Viet Huong, Pham Thi Ha Giang, Duong Van Nghia, Bui Thi Thanh Nga, Lyapin M.N., Shcherbakova S.A. [Experience in using mobile laboratory for monitoring and diagnostics in the Socialist Republic of Vietnam].

*Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (3):90–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-90-94.

2. 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.

3. Bugorkova S.A., Kudryavtseva O.M., Morozov K.M., Sharova I.N., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. [Mobile laboratory for immunological monitoring]. RF Patent No. 2786711, publ. 26.12.2022. Bull. No. 36.

4. Vityazeva S.A., Balakhonov S.V., Dubrovina V.I., Markov E.Yu., Polovinkina V.S. [Actual problems of plague and anthrax prevention improvement]. *Epidemiologiya i Vaksino profilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2013; (4):63–6.

5. Dentovskaya S.V., Kopylov P.K., Ivanov S.A., Ageev S.A., Anisimov A.P. [Molecular bases of vaccine-prevention of plague]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2013; (3):3–12. DOI: 10.3103/S089141681303004X.

6. Medunitsyn N.V. [The problem of correction of immunity in vaccination center of expertise of medical application]. *Immunologiya [Immunology]*. 2017; 38(3):148–54. DOI: 10.18821/0206-4952-2017-38-3-148-154.

7. Firstova V.V., Dyatlov I.A., Karaulov A.V. [Plague immunological aspects]. *Immunologiya [Immunology]*. 2016; 37(1):61–3. DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-1-61-63.

8. Bugorkova S.A., Shchukovskaya T.N., Mikishis N.I., Klyueva S.N., Kudryavtseva O.M., Kravtsov A.L., Goncharova A.Yu., Kozhevnikov V.A., Sandzhiev D.N., Konusheva S.V., Savchenko S.P., Bembeeva E.S., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. [Comprehensive immunological study of persons vaccinated with live plague vaccine living on the territory of the Pre-Caspian sand foci of the plague in the Republic of Kalmykia]. *Epidemiologiya i Vaksino profilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2018; 17(3):38–50. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50.

9. Sagiye Z., Berdibekov A., Bolger T., Merekenova A., Ashirova S., Nurgozhin Z., Dalibayev Zh. Human response to live plague vaccine EV, Almaty region, Kazakhstan, 2014–2015. *PLoS One*. 2019; 14(6):e0218366. DOI: 10.1371/journal.pone.0218366.

10. Iozefovich O.V. [Vaccine prophylaxis during the COVID-19 pandemic. Specific prevention of coronavirus infection]. *Pediatrics [Pediatrics]*. 2020; 99(6):172–7. DOI: 10.24110/0031-403X-2020-99-6-172-177.

## Authors:

Bugorkova S.A., Kudryavtseva O.M., 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:

Бугоркова С.А., Кудрявцева О.М., 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: 10.21055/0370-1069-2024-3-182-185

УДК 614.3:340(575.3)

А.З. Суфиев<sup>1</sup>, О.Д. Назарова<sup>2</sup>, Н.Дж. Джафаров<sup>3</sup>, Г.Б. Анварова<sup>4</sup>**Сравнительный анализ нормативно-правовой базы Республики Таджикистан в соответствии с положениями Международных медико-санитарных правил (2005 г.)**

<sup>1</sup>Агентство по химической, биологической, радиационной и ядерной безопасности Национальной академии наук Таджикистана, Душанбе, Республика Таджикистан; <sup>2</sup>ГУ «Республиканский центр по борьбе с карантинными заболеваниями» Министерства здравоохранения и социальной защиты населения Республики Таджикистан, Душанбе, Республика Таджикистан; <sup>3</sup>Служба государственного санитарно-эпидемиологического надзора Министерства здравоохранения и социальной защиты населения Республики Таджикистан, Душанбе, Республика Таджикистан; <sup>4</sup>НПО «Центр экологии и инновационных технологий в Таджикистане», Душанбе, Республика Таджикистан

**Цель** работы – проведение сравнительного анализа действующей национальной нормативно-правовой базы в соответствии с положениями Международных медико-санитарных правил (ММСП) (2005 г.). Определены основные проблемы гармонизации имеющейся документации в соответствии с современными международными требованиями. Выявлен ряд пробелов и несоответствий в законодательных актах, не в полной мере соответствующих требованиям международных правовых актов, признанных Республикой Таджикистан. Представлены предложения по оптимизации и усовершенствованию национальной правовой базы и документов нормативного регулирования и их адаптации к требованиям ММСП (2005 г.).

**Ключевые слова:** ММСП (2005 г.), глобальная угроза, нормативно-правовая база, биологическая угроза, документы нормативного регулирования, чрезвычайная ситуация в области общественного здравоохранения.

Корреспондирующий автор: Назарова Орзул Домулоджановна, e-mail: orzugul@gmail.com.

Для цитирования: Суфиев А.З., Назарова О.Д., Джафаров Н.Дж., Анварова Г.Б. Сравнительный анализ нормативно-правовой базы Республики Таджикистан в соответствии с положениями Международных медико-санитарных правил (2005 г.). *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 3:182–185. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-182-185

Поступила 13.05.2024. Принята к публ. 20.05.2024.

A.Z. Sufiev<sup>1</sup>, O.D. Nazarova<sup>2</sup>, N.Dzh. Dzhaifarov<sup>3</sup>, G.B. Anvarova<sup>4</sup>**Comparative Analysis of the Legal Framework of the Republic of Tajikistan against the Provisions of the International Health Regulations (2005)**

<sup>1</sup>Agency for Chemical, Biological, Radiation and Nuclear Safety of the National Academy of Sciences of Tajikistan, Dushanbe, Republic of Tajikistan;

<sup>2</sup>Republican Center for Combating Quarantine Diseases of the Ministry of Health and Social Protection of Population of the Republic of Tajikistan, Dushanbe, Republic of Tajikistan;

<sup>3</sup>State Sanitary and Epidemiological Surveillance Service of the Ministry of Health and Social Protection of Population of the Republic of Tajikistan, Dushanbe, Republic of Tajikistan;

<sup>4</sup>Center for Ecology and Innovative Technologies in Tajikistan, Dushanbe, Republic of Tajikistan

**Abstract.** The aim of the work was to conduct a comparative analysis of the existing national legal framework against the provisions of the International Health Regulations (IHR) (2005). The main issues of harmonization of the existing documentation in accordance with modern international requirements have been identified. A number of gaps and inconsistencies in the legislative acts that do not fully comply with the requirements of international legal acts recognized by the Republic of Tajikistan are revealed. Proposals for optimization and improvement of the national legal framework and regulatory documents, as well as for adaptation to the requirements of the IHR (2005) are presented.

**Keywords:** IHR (2005), global threat, legal framework, biological threat, regulatory documents, public health emergency.

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

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

Corresponding author: Orzugul Domulodzhanovna Nazarova, e-mail: orzugul@gmail.com.

Citation: Sufiev A.Z., Nazarova O.D., Dzhaifarov N.Dzh., Anvarova G.B. Comparative Analysis of the Legal Framework of the Republic of Tajikistan against the Provisions of the International Health Regulations (2005). *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 3:182–185. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-182-185

Received 13.05.2024. Accepted 20.05.2024.

Nazarova O.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9647-4195>

Международные медико-санитарные правила (ММСП) (2005 г.), принятые 58-й сессией Всемирной ассамблеи здравоохранения, вступили в силу 15 июня 2007 г. Основным предназначением документа является приведение национальных возможностей по противодействию чрезвычайным ситуациям (ЧС) в области общественного здравоохранения, имеющим международное значение, к уровню, соответствующему

основным требованиям ММСП (2005 г.) [1, 2]. Концептуальные основы ММСП прошли успешную апробацию в 2003 г. в процессе борьбы с SARS (Severe acute respiratory syndrome), что в немалой степени способствовало их принятию на национальном и международном уровнях. В 2009 г. ММСП (2005 г.) успешно были применены в противодействии распространению пандемического гриппа А/Н1N1/09.

Цель применения ММСП (2005 г.) – предотвращение международного распространения болезней. Основной принцип – упреждающее управление риском, направленное на раннее выявление и ликвидацию вспышки инфекционной болезни до формирования международной угрозы. При этом оценка национальных возможностей и выбор подходов к их реализации были предоставлены самим странам с постоянной поддержкой Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в формате подготовки пакета рекомендаций, рассматривающих вопросы основных направлений работы по имплементации ММСП (2005 г.) на национальном уровне.

Всем странам – членам ВОЗ было рекомендовано провести оценку своих действующих законодательств, нормативно-правовых и иных документов в соответствии с предложенными рекомендациями для определения целесообразности их пересмотра в интересах облегчения всестороннего и эффективно-го внедрения ММСП (2005 г.) [3].

Правительство Республики Таджикистан определило уполномоченным органом государственной исполнительной власти по реализации ММСП (2005 г.) Министерство здравоохранения и социальной защиты населения Республики Таджикистан, которое координирует деятельность заинтересованных министерств и ведомств по выполнению основных требований. Национальным координатором по внедрению ММСП (2005 г.) в стране является заместитель Министра здравоохранения и социальной защиты населения, Главный государственный санитарный врач Республики Таджикистан. Однако в законодательном порядке не определены его правовой статус, структура и функции по имплементации ММСП (2005 г.).

Исследования проведены на основании матрицы ММСП и обзора нормативно-правовой базы, выполненной в рамках Проекта 53 Центра передового опыта Европейского Союза по химической, биологической, радиационной и ядерной безопасности (ЦПО ЕС ХБРЯ), дополненных в ходе обсуждений на национальных и региональных семинарах, а также с учетом комментариев международных экспертов. Результаты полученного анализа использованы для усовершенствования правовой базы, разработки национальной стратегии обеспечения биологической безопасности Республики Таджикистан, а также могут быть использованы в перспективном плане для внесения предложений при разработке региональной стратегии биобезопасности и биозащиты в Центральной Азии.

Комплексная правовая и политическая основа законодательства Республики Таджикистан, позволяющая реализовать возможности в рамках ММСП (2005 г.), включает в себя стратегические и руководящие документы, в том числе: Национальную стратегию развития Республики Таджикистан на период до 2030 года, Национальную стратегию здоровья населения Республики Таджикистан на период

2010–2020 гг., Кодекс здравоохранения Республики Таджикистан (2017 г.), а также Национальную стратегию Республики Таджикистан по снижению риска стихийных бедствий на 2019–2030 годы [4].

Развитие, укрепление и поддержание основных возможностей для осуществления ММСП (2005 г.) в Республике Таджикистан обеспечивается при совместной работе четырех основных ведомств: Министерства здравоохранения и социальной защиты населения (МЗ и СЗН) Республики Таджикистан, Министерства сельского хозяйства Республики Таджикистан, Комитета по продовольственной безопасности при Правительстве Республики Таджикистан и Комитета по чрезвычайным ситуациям и гражданской обороне при Правительстве Республики Таджикистан [4]. Но, на наш взгляд, необходимо включить еще одно ведомство, а именно Таможенную службу при Правительстве Республики Таджикистан, которая контролирует весь экспорт и импорт товаров народного потребления.

Сравнительный анализ соответствия законодательной базы Республики с основными положениями ММСП (2005 г.) проводили с учетом требований упомянутых рекомендаций ВОЗ [3] и инструмента оценки (матрицы), подготовленной рядом международных организаций, в том числе Verification Research, Training and Information Centre (VERTIC) (<https://www.vertic.org>).

При проведении сравнительного анализа терминологий ММСП (2005 г.) с нормативно-правовой базой страны рассмотрены более 20 различных законов, постановлений Правительства Республики Таджикистан и ведомственных нормативно-правовых актов. В результате работы установлено, что в нормативно-правовых актах Таджикистана применяются только 23,1 % ключевых терминов, принятых в ММСП (2005 г.). В законодательстве Республики Таджикистан используется несколько ключевых понятий, представленных в ММСП (2005 г.), но не в полной мере им соответствующих.

Некоторые термины и определения, используемые в законах Республики Таджикистан, в отдельных статьях не соответствуют по понятийному смыслу определениям ММСП (2005 г.). Например, в Таможенном кодексе определения «багаж, груз и товары» в статье основных понятий приняты как «товары и ввоз товаров», соответственно «оператор перевозки» – как «перевозчик», а в статье 114 Кодекса здравоохранения [5] «медико-санитарное наблюдение» – как «санитарно-эпидемиологический мониторинг». На наш взгляд, с целью формирования единой понятийной базы в рамках гармонизации национального законодательства с определениями, закрепленными в ММСП (2005 г.), рекомендуется включить в законодательные и нормативно-правовые документы республики ряд новых терминов, для повышения степени совместимости терминологии, законодательных и правовых дефиниций на международном уровне.



Для имплементации ММСП (2005 г.) в законодательную республиканскую базу создана межведомственная рабочая группа, которая должна предпринять шаги по устранению этих пробелов, усовершенствованию национальной нормативно-правовой базы и ее гармонизации с требованиями ММСП и рекомендовать профильным министерствам и ведомствам пересмотреть и устранить эти противоречия в ведомственных документах.

При проведении оценки национального потенциала в рамках эпидемиологического надзора за заболеваемостью, предупреждения, информирования и реагирования на ЧС в области общественного здравоохранения, а также принятия ответных медико-санитарных мер выявлено, что требования ММСП (2005 г.) утверждены на уровне законов и постановлений правительства, но их реализация не обеспечена подзаконными, методическими и регуляторными документами.

Обмен информацией в случае возникновения ЧС в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение, осуществляется согласно распоряжению МЗ и СЗН от 28.02.2019 № 133 «Об утверждении Порядка регистрации, специального контроля за инфекционными, паразитарными, профессиональными заболеваниями, травмами, отравлениями, а также заболеваниями и чрезвычайными ситуациями, в отношении которых предоставляется экстренное сообщение», в приложении к которому добавлен Перечень болезней и ситуаций, при которых представляется информация в Министерство здравоохранения, а при подтверждении опасности трансграничного характера в срок, установленный ММСП (2005 г.), информируется отделение ВОЗ через Национального координатора. В настоящее время в связи с появлением новых инфекционных болезней и иных биологических угроз требуется дополнительный пересмотр данного распоряжения с перечнем событий в соответствии с ММСП (2005 г.).

Меры по укреплению национальной системы эпидемиологического надзора за болезнями, а также вопросы профилактики, контроля и реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера, мониторинга и контроля за актуальными природно-очаговыми инфекционными болезнями, противодействия распространению устойчивости к противомикробным препаратам рассмотрены в Кодексе здравоохранения в следующих статьях:

– статья 107 «Предупреждение возникновения и распространения массовых инфекционных, паразитарных и неинфекционных заболеваний»;

– статья 110 «Обеспечение санитарно-эпидемиологической безопасности», предусматривающая меры по своевременному предупреждению населения о возникновении массовых инфекционных, паразитарных и неинфекционных заболеваний, состоянии окружающей среды и проводимых профилактических мероприятиях.

Конкретные меры существуют также в области санитарно-ветеринарного надзора и санитарно-фитосанитарного контроля. С этой целью произведено усиление технической возможности и кадрового потенциала лабораторных служб по выявлению факторов болезни и их идентификации для принятия координированных ответных действий в случаях, представляющих угрозу в области общественного здравоохранения и имеющих международное значение. Кроме того, принятый в 2018 г. Национальный план действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам (УПП) в Республике Таджикистан приведен в соответствие с Глобальным планом действий по УПП и содержит описание стратегических вмешательств во всех секторах [6], а также утверждено Национальное руководство по профилактике инфекционных заболеваний в медицинских учреждениях Республики Таджикистан, которое подкрепляется программой повышения квалификации медицинских работников, что способствует внедрению положений ММСП (2005 г.).

В области санитарно-ветеринарного надзора нормативно-методические и регуляторные документы, а также руководства по контролю, профилактике и борьбе с болезнями разработаны не по всем зоонозным инфекционным болезням, представляющим потенциальную угрозу в области общественного здравоохранения.

Для полной реализации положений ММСП (2005 г.) в Республике Таджикистан считаем целесообразным активизировать координацию между различными учреждениями и деятельность межведомственной рабочей группы по укреплению нормативно-правовой базы на постоянной основе.

Таким образом, проведенный анализ показал, что для успешного внедрения Международных медико-санитарных правил (2005 г.) в нормативно-правовую систему Республики Таджикистан необходимо выполнить следующие этапы работы по оптимизации и усовершенствованию нормативного регулирования:

1. Укрепление в законодательном порядке правового мандата Национального координатора по ММСП (2005 г.) (НК ММСП) с утверждением Положения НК, обеспечение его структуры кадровым ресурсами, ответственными за выполнение функции по эффективной межсекторальной координации в целях внедрения требований ММСП (2005 г.) на территории Республики Таджикистан, с обязанностью информирования всех заинтересованных сторон, в том числе внутри МЗ и СЗН.

2. Усовершенствование национальной законодательной базы путем подкрепления их нормативно-регуляторными документами, операционными процедурами для межсекторальной координации и обмена информацией по осуществлению ММСП (2005 г.) между НК ММСП и другими секторами, в том числе путем назначения контактных лиц в соответствующих учреждениях.

3. Выделение соответствующей бюджетной линии для осуществления всех возможностей ММСП (2005 г.) и увеличение финансирования деятельности, связанной с ММСП (2005 г.) во всех секторах.

4. Повышение осведомленности об основных положениях ММСП (2005 г.), а также уровня взаимодействия соответствующих заинтересованных ведомств министерств здравоохранения, сельского хозяйства и транспорта, Комитета по продовольственной безопасности, Комитета по чрезвычайным ситуациям и гражданской обороне, Комитета по охране окружающей среды, а также органов национальной безопасности и таможенной службы.

5. Укрепление возможностей для обнаружения, регистрации событий в области общественного здравоохранения и немедленного уведомления о них путем улучшения координации между секторами здравоохранения, ветеринарии и охраны окружающей среды.

6. Организация и проведение регулярных имитационных учений с целью обучения и тестирования функций НК ММСП (2005 г.), включая многоотраслевую координацию.

**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. Международные медико-санитарные правила (2005 г.). Второе издание. Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2008.
2. Международные медико-санитарные правила (2005 г.): Направления работы по выполнению правил. Июнь 2007 г. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.who.int/ihr/finalversion9Nov07.pdf> (дата обращения 02.05.2024).
3. Международные медико-санитарные правила (2005 г.). Пособие по осуществлению на уровне национального законодательства. Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2009. [Электронный ресурс]. URL: [http://www.who.int/ihr/Toolkit\\_Legislative\\_Implementation.pdf](http://www.who.int/ihr/Toolkit_Legislative_Implementation.pdf) (дата обращения 02.05.2024).
4. Отчет о совместной внешней оценке основных возможностей по осуществлению ММСП, Республика Таджикистан, 21–25 октября 2019 года. Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2021. Лицензия: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
5. Кодекс здравоохранения Республики Таджикистан от 30 мая 2017 года № 1413. [Электронный ресурс]. URL: <https://ncc.tj/wp-content/uploads/2024/02/Кодекс-здравоохранения-Республики-Таджикистан.pdf> (дата обращения 02.05.2024).

[ncc.tj/wp-content/uploads/2024/02/Кодекс-здравоохранения-Республики-Таджикистан.pdf](https://ncc.tj/wp-content/uploads/2024/02/Кодекс-здравоохранения-Республики-Таджикистан.pdf) (дата обращения 02.05.2024).

6. Национальный план действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам в Республике Таджикистан на 2018–2022 годы. [Электронный ресурс]. URL: [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/antimicrobial-resistance/amr-spc-npm/nap-library/tajikistan-amr-nap-\(russian\).pdf?sfvrsn=8d4e4e68\\_3](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/antimicrobial-resistance/amr-spc-npm/nap-library/tajikistan-amr-nap-(russian).pdf?sfvrsn=8d4e4e68_3) (дата обращения 02.05.2024).

### References

1. International Health Regulations (2005). Second edition. Geneva: World Health Organization; 2008.
2. International Health Regulations (2005): Directions for implementation. June 2007. (Cited 02 May 2024). [Internet]. Available from: <http://www.who.int/ihr/finalversion9Nov07.pdf>.
3. International Health Regulations (2005). Toolkit for implementation at the national level. Geneva: World Health Organization; 2009. (Cited 02 May 2024). [Internet]. Available from: [http://www.who.int/ihr/Toolkit\\_Legislative\\_Implementation.pdf](http://www.who.int/ihr/Toolkit_Legislative_Implementation.pdf).
4. Joint external evaluation of IHR core capacities of Tajikistan: mission report, 21–25 October 2019. Geneva: World Health Organization; 2021. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
5. Health Code of the Republic of Tajikistan dated May 30, 2017 No. 1413. (Cited 02 May 2024). [Internet]. Available from: <https://ncc.tj/wp-content/uploads/2024/02/Кодекс-здравоохранения-Республики-Таджикистан.pdf>.
6. National Action Plan to Combat Antimicrobial Resistance in the Republic of Tajikistan for 2018–2022. (Cited 02 May 2024). [Internet]. Available from: [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/antimicrobial-resistance/amr-spc-npm/nap-library/tajikistan-amr-nap-\(russian\).pdf?sfvrsn=8d4e4e68\\_3](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/antimicrobial-resistance/amr-spc-npm/nap-library/tajikistan-amr-nap-(russian).pdf?sfvrsn=8d4e4e68_3).

### Authors:

*Sufiev A.Z.* Agency for Chemical, Biological, Radiation and Nuclear Safety of the National Academy of Sciences of Tajikistan. 33, Rudaki Ave., Dushanbe, 734025, Republic of Tajikistan. E-mail: [info@cbrn.tj](mailto:info@cbrn.tj).

*Nazarova O.D.* Republican Center for Combating Quarantine Diseases of the Ministry of Health and Social Protection of Population of the Republic of Tajikistan. 7, 2<sup>nd</sup> Driveway, T. Zehni St., Dushanbe, 734013, Republic of Tajikistan. E-mail: [karantintj@mail.ru](mailto:karantintj@mail.ru).

*Dzhafarov N.Dzh.* State Sanitary and Epidemiological Surveillance Service of the Ministry of Health and Social Protection of Population of the Republic of Tajikistan. Dushanbe, Republic of Tajikistan.

*Anvarova G.B.* Center for Ecology and Innovative Technologies in Tajikistan. Dushanbe, Republic of Tajikistan.

### Об авторах:

*Суфиев А.З.* Агентство по химической, биологической, радиационной и ядерной безопасности Национальной академии наук Таджикистана. Республика Таджикистан, 734025, Душанбе, пр-т Рудаки, 33. E-mail: [info@cbrn.tj](mailto:info@cbrn.tj).

*Назарова О.Д.* Республиканский центр по борьбе с карантинными заболеваниями Министерства здравоохранения и социальной защиты населения Республики Таджикистан. Республика Таджикистан, 734013, Душанбе, ул. Т. Зехни, 2-й проезд, 7. E-mail: [karantintj@mail.ru](mailto:karantintj@mail.ru).

*Джафаров Н.Дж.* Служба государственного санитарно-эпидемиологического надзора Министерства здравоохранения и социальной защиты населения Республики Таджикистан. Республика Таджикистан, Душанбе.

*Анварова Г.Б.* Центр экологии и инновационных технологий в Таджикистане. Республика Таджикистан, Душанбе.

2024 год – юбилейный для трех научно-исследовательских учреждений Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Девяносто лет исполнилось со дня основания ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» и ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока». Пятьдесят лет исполнилось ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии».

*Редакционный совет и редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» сердечно поздравляют коллективы учреждений-юбиляров и желают им дальнейших успехов и достижений в научной и практической деятельности.*

### **Ростовскому-на-Дону противочумному институту Роспотребнадзора – 90 лет**

Ростовский-на-Дону противочумный институт образован в 1934 г. для разработки и осуществления мероприятий по ликвидации эпизоотий чумы на территории Азово-Черноморского края и Северного Кавказа (приказ НКЗ РСФСР от 14.04.1934 № 152 и приказ Уполномоченного Совета Труда и Оборона от 05.06.1934 № 1). Директором института назначен М.И. Любашевский (1934–1939 гг.). Период становления учреждения связан с именами таких крупных ученых, как Н.Н. Жуков-Вережников, Г.П. Руднев, П.Н. Ступницкий, И.С. Тинкер.

В трудные годы Великой Отечественной войны институт внес большой вклад в ликвидацию эпидемических вспышек туляремии и холеры в Ростовской, Сталинградской и Астраханской областях. Мировым достижением является создание на базе института и внедрение в практику живой туляреминой вакцины под руководством Б.Я. Эльберта и И.С. Тинкера.

В 1971 г. приказом министра здравоохранения СССР 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 эпидемиологического надзора за холерой. С этого времени исследования, посвященные возбудителю холеры, стали приоритетными. Сотрудниками института разработан препарат «Глюкосолан» для оральной регидратационной терапии холеры, признанный крупным достижением медицины XX столетия. С 2008 г. на базе Ростовского-на-Дону противочумного института функционирует Референс-центр по мониторингу за холерой.

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 период пандемии COVID-19 институт принял активное участие в масштабной работе по диагностике новой коронавирусной инфекции, опреде-

лению популяционного иммунитета и изучению генетики возбудителя. Проведено полногеномное и фрагментарное секвенирование более 10 700 образцов SARS-CoV-2 на территории пяти субъектов РФ; изучены особенности этиологии внебольничных пневмоний, ассоциированных с COVID-19.

В настоящее время специализированная противозидемическая бригада (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 Донецкой Народной Республики и Геничesk Херсонской области. Специалисты института также участвуют в проведении эпизоотологического обследования данных территорий.

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, в том числе в рамках федерального проекта «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)», Государственной программы «Обеспечение химической и биологической безопасности Российской Федерации», распоряжений Правительства РФ.

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; 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, 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 программных платформ биоинформационного анализа результатов полногеномного секвенирования; исследование генетических маркеров антибиотикорезистентности, а также иммунопатогенетических аспектов особо опасных и других инфекций.

### **Иркутскому научно-исследовательскому противочумному институту Роспотребнадзора – 90 лет**

В 2024 г. Иркутскому научно-исследовательскому противочумному институту исполняется 90 лет. В 1934 г. принято Постановление Правительства РСФСР «О создании Государственного противочумного института Сибири и Дальнего Востока с противочумными станциями в Чите и Хабаровске с сетью периферических противочумных пунктов», первым директором института (1934–1937 гг.) назначен доктор медицинских наук, профессор А.М. Скородумов. В 1984 г. за заслуги в противоэпидемической, научно-исследовательской и научно-производственной работе институт к 50-летию юбилею награжден орденом Трудового Красного Знамени.

За минувшие девять десятилетий коллективом института проделана огромная работа в области изучения эпидемиологии, экологии, микробиологии, иммунопатогенеза и патоморфологии чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, клещевого вирусного энцефалита, иерсиниозов, лептоспирозов и других опасных инфекционных болезней. Институт сыграл важнейшую роль в изучении энзоотии чумы в Сибири, открытии природных очагов этой опасной болезни в Туве и Горном Алтае, радикальном оздоровлении Забайкальского природного очага, исследовании природной очаговости чумы и организации противочумных мероприятий в соседней Монголии. Получены приоритетные данные по плазмидному составу сибирских и монгольских штаммов чумного микроба, в том числе уникальных внехромосомных маркеров.

Институт и функционирующие на его базе СПЭБ проводят большую практическую работу по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения при чрезвычайных ситуациях природного характера, а также в период подготовки и проведения массовых мероприятий с международным участием.

Во время пандемии COVID-19 институт, наряду с проведением лабораторных исследований и научно-методической работы, осуществлял молекулярно-генетический мониторинг геновариантов вируса SARS-CoV-2, принял участие в реализации проекта

Роспотребнадзора по изучению коллективного иммунитета жителей страны к COVID-19.

На базе института функционируют Референс-центр по мониторингу за клещевым вирусным энцефалитом; аккредитованный Испытательный лабораторный центр; Центр индикации возбудителей инфекционных болезней I–II групп патогенности и обеспечения противоэпидемической готовности; Научно-методический центр по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II–IV групп патогенности; Центр секвенирования.

В настоящее время активно развиваются направления исследований, связанные с изучением молекулярно-биологических и протеометрических свойств, генодиагностики, таксономии, генетического разнообразия и изменчивости возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, клещевого вирусного энцефалита, бешенства и других опасных инфекционных болезней на основе современных молекулярно-генетических (ПЦР в реальном времени, полногеномное и фрагментарное секвенирование), иммуносерологических методов и протеомного анализа (MALDI TOF масс-спектрометрия). На производственной базе учреждения осуществляется серийный выпуск шести медицинских изделий для диагностики холеры, туляремии, бруцеллеза, бактериологических плотных и жидких питательных сред.

Сегодня ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора является современным многопрофильным научно-методическим и противоэпидемическим учреждением, успешно выполняющим ключевые задачи по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения Сибири и Дальнего Востока России по особо опасным, опасным и природно-очаговым инфекционным болезням, в том числе в рамках федерального проекта «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)», Государственной программы «Обеспечение химической и биологической безопасности Российской Федерации», распоряжений Правительства РФ.

**Государственному научному центру прикладной микробиологии и биотехнологии – 50 лет**

Всесоюзный научно-исследовательский институт прикладной микробиологии (в настоящее время Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии – ГНЦ ПМБ) образован приказом Главного Управления микробиологической промышленности при Совете Министров СССР (от 04.12.1973 № 67) на основании Постановления Правительства о развитии молекулярной биологии и биотехнологии. Со дня основания научно-исследовательская деятельность учреждения направлена на проведение фундаментальных и прикладных исследований в области молекулярной биологии, геномной инженерии, биотехнологии, медицины, экологии и ветеринарии. Его первым директором (1975–1982 гг.) стал Д.В. Виноградов-Волжинский – известный ученый-паразитолог, доктор медицинских наук, профессор.

Постановлением Правительства РФ от 05.06.1994 № 648 институту присвоен статус государственного научного центра Российской Федерации.

В 1990-е гг. при участии ГНЦ ПМ на базе совместного Советско-Вьетнамского Тропического научно-исследовательского и технологического центра создана лаборатория биотехнологии, занимавшаяся обучением вьетнамских специалистов, сбором и изучением местной микрофлоры, передачей технологий производства средств защиты растений от вредителей на основе бактерий.

С 1994 по 2012 г. институт работает по программам Международного научно-технического центра. За этот период выполнено более 80 исследовательских проектов в области мониторинга возбудителей инфекционных заболеваний, экологии, диагностики, профилактики и лечения заболеваний бактериальной природы, разработки нового оборудования и материалов. Проведено несколько международных конференций и семинаров. Значительные средства вложены в модернизацию инфраструктуры института: закупку современного научно-исследовательского оборудования, ремонт лабораторных и вспомогательных помещений, создание локальной вычислительной сети с доступом в интернет. Десятки сотрудников обучались на курсах GMP и GLP, по управлению проектами и интеллектуальной собственностью.

Центр дал начало нескольким научным организациям и биотехнологическим производствам: Научно-исследовательскому центру токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов, Институту инженерной иммунологии, группе компаний MIRRA, «Герофарм-БИО», REBION и др.

В 2005 г. распоряжением Правительства Российской Федерации от 26.09.2005 № 1514-р Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии переходит в ведомственное подчинение Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Предметом и целью деятельности центра является

проведение фундаментальных и прикладных научных исследований и работ в области эпидемиологии, бактериологии и биотехнологии, направленных на обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения, включая опытно-промышленное производство биотехнологической продукции.

В 2006 г. на базе ФБУН ГНЦ ПМБ открыт факультет биологической безопасности Пущинского государственного естественно-научного института, деканом которого стал директор ГНЦ ПМБ академик РАН И.А. Дятлов. Многие выпускники этого факультета впоследствии становятся сотрудниками центра.

В 2008 г. приказом Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 17.03.2008 № 88 на ФБУН ГНЦ ПМБ возложены функции:

- Центра индикации возбудителей и диагностики опасных инфекционных болезней Роспотребнадзора для субъектов Центрального федерального округа;

- Референс-центра по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней (туляремия, клостридиозы, боррелиозы, легионеллезы, листериоз);

- Национального центра верификации диагностической деятельности (генетически модифицированные микроорганизмы, возбудители «новых» бактериальных инфекций);

- Национального центра, осуществляющего функции государственных коллекций (генетически модифицированные микроорганизмы, возбудители «новых» бактериальных инфекций).

В 2016 г. ГНЦ ПМБ учреждает и начинает издавать научно-практический журнал «Бактериология». В 2018 г. образовано Национальное научно-практическое общество бактериологов «Ассоциация бактериологов», президентом которого становится директор ФБУН ГНЦ ПМБ академик РАН И.А. Дятлов.

В 2019 г. распоряжением Правительства Российской Федерации от 26.10.2019 № 2535-р на базе консорциума научных подразделений трех научных организаций: ФБУН ГНЦ ПМБ, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора – создан Центр генетических исследований мирового уровня (ЦГИМУ) по обеспечению биологической безопасности и технологической независимости в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий.

В настоящее время ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора – уникальный научно-производственный комплекс, оснащенный современными приборами и оборудованием для проведения научно-исследовательских работ с различными патогенными микроорганизмами, включая возбудителей особо опасных инфекционных заболеваний человека и животных бактериальной природы.