

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 4

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

Редакторы:
Е.Ю. Лашкова, В.В. Россошанская
Технический редактор *Т.К. Меркулова*
Перевод на английский
А.П. Ножкиной, Т.Б. Караваевой

Проблемы особо опасных инфекций.
2024. Вып. 4. 160 с.

Подписано в печать 10.12.2024
Дата выхода в свет 19.12.2024
Формат 60×84 1/8
Бумага мелованная
Печать офсетная
Усл. печ. л. 18,6
Заказ № 6814-24

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

© Федеральное казенное учреждение науки
«Российский научно-исследовательский
противочумный институт «Микроб»
Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека, 2024

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

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

ИНОСТРАННЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА:

Абдикаримов С.Т., докт. мед. наук, доцент (Бишкек, Кыргызстан)
Мотин В.Л., профессор (Галвестон, США)
Титов Л.П., докт. мед. наук, профессор, член-корр. НАН Беларуси,
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 4

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.
<http://journal.microbe.ru>

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

- Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Кутырев В.В., Щербаклова С.А., Иванова А.В. Вклад России в формирование глобальной архитектуры здравоохранения..... 6

Обзоры

- Костюкова Т.А., Гордеева М.В., Ляпин М.Н., Девдариани З.Л., Заднова С.П. Проблемы нормирования выдачи специальной одежды, специальной обуви и средств индивидуальной защиты работникам, осуществляющим деятельность с возбудителями инфекционных болезней 15

- Магеррамов Ш.В., Матросов А.Н., Кузнецов А.А., Боcharникова Т.А., Лиджи-Гаряева Г.В., Попов Н.В., Нейштадт Я.А., Гражданов А.К., Бамматов Д.М., Куклев Е.В., Бойко А.В., Топорков В.П. Оценка многолетней динамики численности малого суслика в степных очагах чумы Северного и Северо-Западного Прикаспия 24

- Попов Н.В., Кутырев И.В., Иванова А.В., Никифоров К.А., Зубова А.А., Нейштадт Я.А., Бойко А.В., Куклев Е.В., Топорков В.П. О существовании Восточно-Африканского природного мегаочага *Yersinia pestis* основного подвида античного биовара филогенетической линии 1.ANT: эпидемическая активность, пространственная и биоценотическая структура..... 35

- Челдышова Н.Б., Заднова С.П., Абрамова Е.Г., Никифоров А.К., Девдариани З.Л. Колерные бактериофаги: история открытия, строение и применение 42

Оригинальные статьи

- Ануфриева Е.В., Останкова Ю.В., Серикова Е.Н., Щемелев А.Н., Давыденко В.С., Рейнгарт Д.Э., Зуева Е.Б., Тотолян Арег А. Распространенность серологических и молекулярно-биологических маркеров ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов В и С среди медицинских работников... 54

- Дубянский В.М., Мезенцев В.М., Ашибокоев У.М. Пространственное распределение эпизоотических проявлений чумы в связи с орографическими и эдафическими факторами в Центрально-Кавказском высокогорном природном очаге 63

- Дуванова О.В., Шипко Е.С., Писанов Р.В., Цырулина О.А., Чемисова О.С., Евдокимова В.В., Водопьянов А.С., Кругликов В.Д., Иванова И.А., Омельченко Н.Д., Филипенко А.В., Носков А.К. Композиционный состав везикул атоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 El Tor и O139 серогрупп 70

- Ерошенко Г.А., Кубанычбекова Г.К., Коврижников А.В., Джапарова А.К., Муканметесенуулу Ж., Абдыгазиева А.К., Сидорин А.С., Краснов Я.М., Кузнецов А.А., Фадеева А.В., Никифоров А.К., Девдариани З.Л., Куклев Е.В., Бойко А.В., Кутырев В.В. Молекулярная идентификация штаммов *Yersinia pestis*, выделенных в Аксайском высокогорном очаге Кыргызской Республики в 2024 г. 78

- Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Kutyrev V.V., Shcherbakova S.A., Ivanova A.V. Russia's Contribution to the Formation of the Global Healthcare Architecture

Reviews

- Kostyukova T.A., Gordeeva M.V., Lyapin M.N., Devdariani Z.L., Zadnova S.P. Standardization of Distribution of Work Clothing, Footwear and Personal Protective Equipment among Employees Working with Infectious Disease Agents

- Magerramov Sh.V., Matrosov A.N., Kuznetsov A.A., Bocharnikova T.A., Lidzhi-Garyaeva G.V., Popov N.V., Neishtadt Ya.A., Grazhdanov A.K., Bammатов D.M., Kuklev E.V., Boiko A.V., Toporkov V.P. Assessment of Long-Term Dynamics of the Little Souslik Abundance in the Steppe Plague Foci of the Northern and Northwestern Caspian Sea Region

- Popov N.V., Kutyrev I.V., Ivanova A.V., Nikiforov K.A., Zubova A.A., Neishtadt Ya.A., Boiko A.V., Kuklev E.V., Toporkov V.P. On the Existence of East African Natural Megafocus of *Yersinia pestis*, Phylogenetic Lineage 1.ANT of the Antique Biovar of the Main Subspecies: Epidemic Activity, Spatial and Biocenotic Structure

- Cheldyshova N.B., Zadnova S.P., Abramova E.G., Nikiforov A.K., Devdariani Z.L. Cholera Bacteriophages: History of Discovery, Structure and Application

Original articles

- Anufrieva E.V., Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Shchemelev A.N., Davydenko V.S., Reingardt D.E., Zueva E.B., Totolian Areg A. Prevalence of Serological and Molecular-Biological HIV-Infection, HBV and HCV Markers among Medical Workers

- Dubyansky V.M., Mezentsev V.M., Ashibokov U.M. Spatial Distribution of Epizootic Manifestations of Plague in Connection with Orographic and Edaphic Factors in the Central Caucasian High-Mountain Natural Focus

- Duvanova O.V., Shipko E.S., Pisanov R.V., Tsyurulina O.A., Chemisova O.S., Evdokimova V.V., Vodop'yanov A.S., Kruglikov V.D., Ivanova I.A., Omel'chenko N.D., Filipenko A.V., Noskov A.K. The Composition of Vesicles of Non-Toxigenic *Vibrio cholerae* Strains, O1 El Tor and O139 Serogroups

- Eroshenko G.A., Kubanychbekova G.K., Kovrizhnikov A.V., Dzhaparova A.K., Mukanmetesen uulu Zh., Abdygazieva A.K., Sidorin A.S., Krasnov Ya.M., Kuznetsov A.A., Fadeeva A.V., Nikiforov A.K., Devdariani Z.L., Kuklev E.V., Boiko A.V., Kutyrev V.V. Molecular Identification of *Yersinia pestis* Strains Isolated in the Aksai High-Mountain Focus of the Kyrgyz Republic in 2024

Ильичева Т.Н., Иванова К.И., Болдырев Н.Д., Даниленко А.В., Моисеева А.А., Колосова Н.П., Марченко В.Ю., Рыжиков А.Б. Популяционный иммунитет к гриппу и опасность появления вируса с пандемическим потенциалом	88	Ilyicheva T.N., Ivanova K.I., Boldyrev N.D., Danilenko A.V., Moiseeva A.A., Kolosova N.P., Marchenko V.Yu., Ryzhikov A.B. Population Immunity to Influenza and the Risk of Emergence of a Pandemic Virus	
Карапетыан Л.А., Балькова А.Н., Червякова Н.С., Федоров А.В., Ерошенко Г.А., Абрамова Е.Г., Германчук В.Г., Куклев Е.В., Топорков В.П. Ретроспективная молекулярная экспертиза вспышек чумы в Северном Приаралье в середине XX века	94	Karapetyan L.A., Balykova A.N., Chervyakova N.S., Fedorov A.V., Eroshenko G.A., Abramova E.G., Germanchuk V.G., Kuklev E.V., Toporkov V.P. Retrospective Molecular Investigation of Plague Outbreaks in the Northern Aral Sea Region in the Mid-20th Century	
Мелоян М.Г., Водопьянов А.С., Воскресенская Е.А., Писанов Р.В., Чеснокова М.В., Климов В.Т., Кокорина Г.И., Богумильчик Е.А., Перетолчина Н.П., Трухачев А.Л. Генотипирование штаммов <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> , выделенных на территории России, с помощью MLST	107	Meloyan M.G., Vodop'yanov A.S., Voskresenskaya E.A., Pisanov R.V., Chesnokova M.V., Klimov V.T., Kokorina G.I., Bogumil'chik E.A., Peretolchina N.P., Trukhachev A.L. Genotyping of <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> Strains Isolated in Russia Using MLST	
Семенов А.В., Смирнова С.С., Егоров И.А., Жуikov Н.Н. Результаты двухлетнего мониторинга за соблюдением требований санитарного законодательства в инфекционных госпиталях Российской Федерации для лечения больных с COVID-19	115	Semenov A.V., Smirnova S.S., Egorov I.A., Zhuikov N.N. The Results of Two-Year Monitoring of Compliance with the Requirements of Sanitary Legislation in Infectious Diseases Hospitals of the Russian Federation for the Treatment of Patients with COVID-19	
Сизова Ю.В., Погожова М.П., Гаевская Н.Е., Тюрина А.В., Водопьянов А.С. Биологическая и генетическая характеристика нового бактериофага, выделенного из холерных вибрионов, изолированных от больного (Москва, 2023 г.)	124	Sizova Yu.V., Pogozhova M.P., Gaevskaya N.E., Tyurina A.V., Vodop'yanov A.S. Biological and Genetic Characteristics of a New Bacteriophage Isolated from Cholera Vibrios from a Patient (Moscow, 2023)	
Сорокин В.М., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Аронова Н.В., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Носков А.К. Пространственно-временной анализ популяции возбудителя туляремии в Ростовской области, ДНР, ЛНР и на Украине с 1943 по 2023 год	131	Sorokin V.M., Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Aronova N.V., Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Noskov A.K. Spatio-Temporal Analysis of the Tularemia Agent Population in the Rostov Region, DPR, LPR and Ukraine from 1943 to 2023	
Тушинский А.А., Цай А.В., Анисимова А.С., Аронова Н.В., Пичурина Н.Л., Павлович Н.В., Носков А.К. Использование серологического мониторинга для оценки возможного контакта населения с возбудителем туляремии на территориях Донецкой и Луганской народных республик, Запорожской и Херсонской областей	139	Tushinsky A.A., Tsai A.V., Anisimova A.S., Aronova N.V., Pichurina N.L., Pavlovich N.V., Noskov A.K. The Use of the Serologic Monitoring for the Assessment of Possible Contact of the Population with Tularemia Pathogen in the Territories of the Donetsk and Lugansk People's Republics and Zaporozhe and Kherson Regions	
Краткие сообщения		Brief communications	
Давыдов Д.С., Парфенюк Р.Л., Дурманова З.В., Мовсесянц А.А. Основные требования к порядку ведения коллекций производственных штаммов бактериофагов	146	Davydov D.S., Parfenyuk R.L., Durmanova Z.V., Movsesyants A.A. Basic Requirements for the Procedure for Maintaining Collections of Industrial Strains of Bacteriophages	
Юбилей		Anniversaries	
Малюкова Т.А., Попов Ю.А., Сазанова Е.В., Растунцева Е.В., Шмелькова Т.П., Чеховская Г.В., Девдариани З.Л., Бойко А.В., Чекмарева С.С. Служение длиною в век: подготовка специалистов по особо опасным инфекциям в институте «Микроб»	150	Malyukova T.A., Popov Yu.A., Sazanova E.V., Rastuntseva E.V., Shmel'kova T.P., Chekhovskaya G.V., Devdariani Z.L., Boiko A.V., Chekmareva S.S. A Century-Long Service: Training of Specialists in Particularly Dangerous Infections at the Premises of the Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe"	
К юбилею Николая Викторовича Рудакова	160	To the Anniversary of Nikolay V. Rudakov	

А.Ю. Попова^{1,2}, В.Ю. Смоленский¹, В.В. Кутырев³, С.А. Щербакова³, А.В. Иванова³**Вклад России в формирование глобальной архитектуры здравоохранения**¹Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация;²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», Москва, Российская Федерация;³ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Современный этап трансформации архитектуры глобального здравоохранения диктует необходимость объединения международных усилий по созданию условий для сотрудничества и наращивания потенциала реагирования на различные угрозы биологического характера между всеми участниками на международной арене. В работе продемонстрированы преимущества российских подходов к организации санитарно-эпидемиологической службы для противодействия биологическим угрозам. Показаны наиболее яркие примеры участия страны в формирующейся архитектуре глобального здравоохранения, к которым относится участие Российской Федерации в реализации межгосударственных программ, направленных на ликвидацию опасных инфекционных болезней. Обозначена стратегия противодействия современным угрозам биологического характера, реализуемая Российской Федерацией на международной арене, ориентированная прежде всего на укрепление методологического, технологического, кадрового потенциала, усиление национальных возможностей по эпидемиологическому надзору и ответным мерам на чрезвычайные ситуации (ЧС) в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения стран-партнеров. Рассмотрены основные направления сотрудничества со странами-партнерами. Приведены основные результаты совместных международных проектов как в ближнем, так и в дальнем зарубежье, отображающие существенные успехи в укреплении национального потенциала стран – партнеров Российской Федерации в сфере оперативного реагирования на возникающие угрозы в области биологической безопасности и обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия. Достигнутые результаты межгосударственного сотрудничества в области обеспечения глобальной биологической безопасности и активное участие Российской Федерации в разработке и реализации глобальных инструментов в области мониторинга и реагирования на ЧС в сфере общественного здравоохранения определяют существенный вклад Российской Федерации в современное формирование глобальной архитектуры здравоохранения.

Ключевые слова: глобальное здравоохранение, биологические угрозы, инфекционные болезни, международное сотрудничество.

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

Для цитирования: Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Кутырев В.В., Щербакова С.А., Иванова А.В. Вклад России в формирование глобальной архитектуры здравоохранения. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:6–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-6-14

Поступила 23.10.2024. Отправлена на доработку 05.11.2024. Принята к публ. 13.11.2024.

A.Yu. Popova^{1,2}, V.Yu. Smolensky¹, V.V. Kutyrev³, S.A. Shcherbakova³, A.V. Ivanova³**Russia's Contribution to the Formation of the Global Healthcare Architecture**¹Federal Service for Surveillance on Consumers Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation;²Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation;³Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Abstract. The current stage of transformation of the global healthcare architecture dictates the need to unite international efforts to create conditions for cooperation and building up the capacity to respond to various biological threats between all participants in the international arena. The paper demonstrates the advantages of Russian approaches to organizing the sanitary and epidemiological service to counteract biological threats. The most striking examples of the country's participation in the emerging architecture of global healthcare are shown, which include the participation of the Russian Federation in the implementation of interstate programs aimed at eliminating dangerous infectious diseases. The strategy for countering modern biological threats implemented by the Russian Federation in the international arena is outlined, focused primarily on strengthening the methodological, technological, and human resources potential, enhancing national capabilities for epidemiological surveillance and response to emergencies in the field of sanitary-epidemiological well-being of the population of partner countries. The main areas of cooperation with partner countries are considered. The key results of joint international projects both in the near and far abroad are presented, reflecting significant successes in strengthening the national potential of the partner countries of the Russian Federation in the field of rapid response to emerging threats in the field of biological safety and ensuring sanitary and epidemiological well-being. The achieved results of interstate cooperation in the field of ensuring global biological security and the active participation of the Russian Federation in the development and implementation of global instruments in the field of monitoring and responding to public health emergencies constitute the significant contribution of the Russian Federation to the current formation of the global healthcare architecture.

Key words: global health, biological threats, infectious diseases, international cooperation.

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

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

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

Citation: Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Kuttyrev V.V., Shcherbakova S.A., Ivanova A.V. Russia's Contribution to the Formation of the Global Healthcare Architecture. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:6–14. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-6-14

Received 23.10.2024. Revised 05.11.2024. Accepted 13.11.2024.

Popova A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4315-5307>
Kuttyrev V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

Shcherbakova S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1143-4069>
Ivanova A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4849-3866>

Сегодня термин «глобальное здравоохранение» описывает наднациональный характер управления общественным здоровьем и означает новую интерпретацию понятия «здоровье» в общемировом контексте [1]. Глобальное здравоохранение определено как «область исследований и практики, которая уделяет приоритетное внимание улучшению здоровья и достижению равенства в отношении здоровья для всех людей во всем мире» [2]. Глобальное здравоохранение внесло значительный вклад в прогресс, достигнутый в области здравоохранения человека за последнее столетие. Создание в 1948 г. Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) ознаменовало формирование международной системы здравоохранения с суверенными государствами в качестве основных участников. С тех пор международное здравоохранение быстро развивалось с акцентом на стимулирование национальных и международных усилий по борьбе с основными заболеваниями населения планеты. Однако, несмотря на значительный прогресс в области медицины и общественного здравоохранения, сегодня глобальное здравоохранение сталкивается с рядом проблем и вызовов [3]. Современный этап трансформации архитектуры глобального здравоохранения диктует необходимость объединения международных усилий по созданию условий для сотрудничества и наращивания потенциала реагирования на различные угрозы биологического характера между всеми участниками на международной арене.

Эпидемии и пандемии XXI в. обнажили серьезные вызовы и проблемы в сфере глобального здравоохранения, и в первую очередь – в вопросах противодействия распространению инфекционных заболеваний.

В условиях глобализационных процессов, происходящих на современном этапе, и общей уязвимости к угрозам здоровью ни одно государство, действующее в одиночку, не может обеспечить биологическую безопасность своего населения. Примером этого может служить пандемия COVID-19, показавшая, что даже самые богатые страны мира были не в состоянии самостоятельно противостоять глобальным угрозам [4].

Ежегодно публикуемый Центром безопасности в области здравоохранения Джонса Хопкинса Глобальный индекс безопасности здоровья (GHSI), в котором отражена готовность систем общественного здравоохранения стран противостоять чрезвычайным ситуациям (ЧС), показывает, что даже в развитых странах с высоким уровнем дохода индекс систем здравоохранения не превышает 83 баллов из 100, что говорит о недостаточной готовности к эпидемиям и пандемиям на государственном уровне.

При этом отмеченные в «допандемийном» отчете за 2019 г. высокие показатели готовности отдельных стран показали явное противоречие между декларируемыми возможностями систем здравоохранения и их практическим применением (наивысшую оценку GHSI – 83,5 балла – получили США, по итогу пандемии оказавшиеся мировым лидером по количеству заболевших и умерших от COVID-19) [5]. Последняя оценка глобальной безопасности здоровья, опубликованная в 2021 г., декларирует, что, несмотря на извлеченные уроки пандемии COVID-19, по-прежнему «все страны мира остаются крайне неподготовленными к будущим эпидемическим и пандемическим угрозам, включая угрозы, потенциально более разрушительные, чем COVID-19» [6, 7].

Сегодня выработка действенных механизмов международного сотрудничества по вопросам противодействия глобальным биологическим угрозам актуальна как никогда. В ответ на современные биологические угрозы необходимо совершенствовать систему противодействия инфекционным болезням на глобальном уровне за счет наращивания прежде всего национального потенциала в области обеспечения готовности к ЧС и реагирования на них [8], в том числе используя опыт отдельных стран, успешнее справившихся с аналогичными обстоятельствами и добившихся наилучших экономических и социальных результатов.

В ходе противодействия новой коронавирусной инфекции были продемонстрированы преимущества российских подходов организации санитарно-эпидемиологической службы и проведения противоэпидемических мероприятий, основы которых заложены более ста лет назад. Опираясь на научные данные, в Российской Федерации применили стратегию опережающего реагирования на распространение COVID-19. Основные принципы организации противоэпидемических мероприятий, реализуемые в стране, предусматривали комплексный и системный подход – эффективное взаимодействие всех заинтересованных служб и ведомств при постоянном контроле за исполнением принятых решений. Наука стала надежной опорой как в разработках средств диагностики, профилактики и лечения COVID-19, так и в принятии решений. Все регионы нашей страны имели четкий алгоритм действий, организации ограничительных мероприятий с учетом эпидемиологической ситуации. Такой централизованный, но с учетом особенностей регионов, подход – уникальный опыт России, который впоследствии использовался и другими странами для оценки ситуации и организации противоэпидемических мероприятий [9, 10].

В рамках содействия зарубежным партнерам в борьбе с пандемией Российская Федерация оказы-

вала им комплексную поддержку, осуществив более 20 миссий в 16 странах мира. Помощь в борьбе с COVID-19 заключалась в предоставлении методических материалов, организации онлайн-консультаций и семинаров, а также визитов профильных специалистов в целях оказания содействия в проведении противоэпидемических и профилактических мероприятий на основе опыта Российской Федерации. На безвозмездной основе осуществлена передача более 4 млн тест-систем для определения COVID-19 и миллионов доз вакцин более чем в 60 стран мира [11], средств индивидуальной защиты (СИЗ), лабораторного и медицинского оборудования, мобильных лабораторий. С помощью российских тест-систем выявлены первые случаи заболевания в Республике Армения, Республике Беларусь, Республике Таджикистан и Республике Узбекистан [12]. Переданные в дар мобильные лаборатории активно использовались странами с целью увеличения национальных возможностей по лабораторному тестированию на COVID-19, особенно в удаленных территориях. Россия стала первой страной в мире, зарегистрировавшей вакцину от COVID-19, и единственной страной в мире, поделившейся технологиями ее производства.

Сегодня российский опыт востребован и применяется в десятках стран ближнего и дальнего зарубежья. Успешный опыт участия российских специалистов в борьбе с COVID-19 и вспышками других опасных инфекций стал основой научно-методического содействия странам-партнерам, а материально-техническая помощь позволила усилить национальный потенциал реагирования на биологические угрозы многих стран.

Россия, имея знания и богатый опыт, оказывала и готова оказывать в будущем содействие заинтересованным странам в реагировании на угрозы биологического характера. Разделяя необходимость укрепления механизмов международного сотрудничества в вопросах обеспечения готовности и быстрого реагирования на чрезвычайные ситуации, наша страна готова делиться своим опытом и уникальными разработками со странами-партнерами в целях дальнейшего укрепления позиций глобального здравоохранения.

Цель работы – инвентаризация отечественного инструментария обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения с позиции его применимости в странах-партнерах, определяющего вклад России в дальнейшее формирование глобальной архитектуры здравоохранения.

1. Российские подходы к обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения. В России реализуется комплексный межведомственный подход к обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения, в котором задействован ряд ведомств и федеральных органов исполнительной власти с четким разграничением полномочий в области обеспечения биологической и химической безопасности Российской Федерации (постановление Правительства РФ от 16.05.2005

№ 303, с изм. от 23.03.2006 и 13.03.2008). Вопросы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения и реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера входят в компетенцию федерального органа государственного управления – Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор) [8]. Вместе с тем в единую федеральную централизованную систему государственного санитарно-эпидемиологического надзора (постановление Правительства РФ от 15.09.2005 № 569) входят министерства здравоохранения (Минздрав), труда и социальной защиты (Минтруд), внутренних дел (МВД), обороны (Минобороны), юстиции (Минюст), Управление делами Президента Российской Федерации, федеральные службы безопасности (ФСБ), охраны (ФСО), по контролю за оборотом наркотиков (ФСКН) и Федеральное медико-биологическое агентство (ФМБА).

Деятельность федеральных органов исполнительной власти и учреждений, осуществляющих государственный санитарно-эпидемиологический надзор в Российской Федерации, обеспечивают федеральные государственные научные учреждения гигиенического и эпидемиологического профиля, федеральные государственные учреждения – центры гигиены и эпидемиологии (ЦГиЭ), противочумные станции, дезинфекционные станции, федеральные государственные унитарные предприятия дезинфекционного профиля и иные организации, подведомственные соответствующим федеральным органам исполнительной власти (постановление Правительства РФ от 15.09.2005 № 569).

Современная концепция санитарной охраны территории России основывается на широком комплексе превентивных мер, направленных на предупреждение, раннее выявление, оперативное реагирование, локализацию и ликвидацию вспышек инфекционных болезней и массовых неинфекционных заболеваний, потенциально опасных в плане возникновения и масштабирования ЧС в области общественного здравоохранения [13].

Санитарная охрана территории Российской Федерации представляет собой двухкомпонентную систему общегосударственных мероприятий, направленных на предупреждение трансграничного заноса инфекционных заболеваний, представляющих опасность для населения, и локализацию и ликвидацию очагов этих заболеваний в случае их возникновения на территории Российской Федерации [14, 15]. Функционально санитарная охрана территории включает санитарно-карантинный контроль (СКК), проводимый Роспотребнадзором в пунктах пропуска через государственную границу России, и мероприятия на всей территории страны, интегрируемые в содержание национального эпидемиологического надзора.

На территории Российской Федерации эпидемиологический надзор за инфекционными болезнями реализуется по «проактивному» типу, основные

компоненты которого заключаются в раннем обнаружении, оповещении и оперативном реагировании на основе вертикально интегрированной трехуровневой системы мониторинга и индикации возбудителей опасных инфекционных болезней Роспотребнадзора (приказ Роспотребнадзора от 01.12.2017 № 1116).

Основу этой структуры, включающей территориальный, региональный и федеральный уровни, составляют лаборатории учреждений Роспотребнадзора: государственных научных центров, противочумных учреждений и ЦГиЭ в субъектах Российской Федерации.

На федеральном уровне в системе представлены национальные центры верификации диагностической деятельности, выполняющие функции государственных коллекций Роспотребнадзора. На региональном – центры индикации возбудителей инфекционных болезней с функциями научно-методического обеспечения. На территориальном уровне исследования выполняют лаборатории ЦГиЭ в субъектах Российской Федерации, их филиалы и лаборатории медицинских организаций [13].

Под организационной структурой системы эпидемиологического надзора понимается установленный порядок подчинения и взаимодействия субъектов надзора в процессе выполнения ими своих специфических функций [16]. Необходимо отметить, что весь цикл эпидемиологического надзора осуществляется на каждом из уровней организации эпиднадзора в стране. Сбор данных и обмен информацией о состоянии и тенденциях эпидемического процесса инфекционной болезни, причинах и условиях, поддерживающих эпидемический потенциал на конкретной территории, происходят как «по вертикали» – от нижестоящих вышестоящим уровням надзора, так и «по горизонтали» – всем заинтересованным органам и учреждениям. Эпидемиологический анализ и разработка эпидемиологического прогноза также осуществляются как на территориальных уровнях согласно конкретным локальным территориям, так и на национальном уровне. На федеральном уровне функционирует сеть референс-центров, обеспечивающих мониторинг и реагирование на все виды биологических угроз. В референс-центре аккумулируется вся информация по эпидемиологическому мониторингу, обеспечивается системный анализ и прогнозирование. Кроме того, в научном обеспечении профилактических и противоэпидемических мероприятий принимают участие научные организации, представленные широкой сетью учреждений гигиенического и эпидемиологического профиля по всей территории страны.

На региональном и территориальном уровнях функцию эпидемиологического надзора осуществляют практические учреждения Роспотребнадзора, выполняющие мониторинговые, профилактические и противоэпидемические мероприятия на территории всей страны, а также отдельные функциональные подразделения, обеспечивающие санитарно-эпидемиологический надзор на всех видах транс-

порта: управления Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации и их территориальные отделы, отделы Управления по железнодорожному транспорту, ЦГиЭ в субъектах Российской Федерации и их филиалы, в том числе на железнодорожном транспорте.

В России более 100 лет функционирует уникальная, не имеющая аналогов в мире система противочумных учреждений, предназначенных для научно-практического обеспечения государственного санитарно-эпидемиологического надзора, направленного на профилактику чумы, других особо опасных, природно-очаговых, зоонозных инфекционных болезней и санитарную охрану территории Российской Федерации, чей накопленный научный и практический потенциал позволяет эффективно противостоять рискам возникновения любых биологических угроз [17]. Сегодня противочумную систему Российской Федерации составляют 18 учреждений: Противочумный центр, 5 научно-исследовательских противочумных институтов и 12 противочумных станций. В последние годы значительно расширился спектр задач, решаемых подобными учреждениями, включая вопросы обеспечения постоянной противоэпидемической готовности к реагированию на ЧС санитарно-эпидемиологического характера и международного сотрудничества по вопросам противодействия биологическим угрозам [18]. На сегодняшний день противочумные учреждения имеют мощную производственную и учебную базы [19].

С целью оперативного реагирования на ЧС в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера в Российской Федерации имеются мобильные противоэпидемические формирования, функционирующие по экстратерриториальному принципу. Такие мобильные структуры экстренного реагирования имеются в арсенале Роспотребнадзора, Минобороны, МЧС (мобильные госпитали), Минздрава России (мобильные формирования службы медицины катастроф). Именно на принципе взаимодействия территориально закрепленных структур здравоохранения и мобильных специализированных формирований основан наиболее эффективный способ противодействия вспышкам инфекционных болезней, реализуемый в современных условиях в предупреждении и борьбе с ЧС. К мобильным формированиям Роспотребнадзора относятся санитарно-эпидемиологические отряды (СЭО), санитарно-эпидемиологические бригады (СЭБ) и группы эпидемиологической разведки (ГЭР) ЦГиЭ в субъектах Российской Федерации, а также специализированные противоэпидемические бригады (СПЭБ) противочумных институтов Роспотребнадзора. На сегодняшний день на базе пяти противочумных институтов Роспотребнадзора функционируют по две СПЭБ, оснащенные мобильным комплексом лабораторий на базе автошасси и пневмокаркасных модулей. Кроме того, с 2006 г. Роспотребнадзором продолжают активные разработки различных типов мобильных лабораторий

в зависимости от возможности реализации ими поставленных задач. В настоящее время Российская Федерация располагает всеми типами мобильных лабораторий по принятой классификации ВОЗ [20]. Уникальные разработки Российской Федерации в части противодействия биологическим угрозам – мобильные лабораторные комплексы высокого уровня биологической безопасности, способные заменить собой полноценную стационарную лабораторию, готовые работать в любой точке мира, – являются на сегодняшний день одним из наиболее эффективных инструментов оперативного контроля за биологической обстановкой и своевременного реагирования.

Способные в автономном режиме проводить в сутки несколько тысяч исследований проб биологического материала, воды, воздуха, пищевых продуктов, мобильные лаборатории Роспотребнадзора используются при работе в очагах инфекционных болезней, зонах стихийных бедствий и техногенных катастроф, а также с целью обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия при подготовке и проведении массовых мероприятий различного формата. Мобильные лаборатории Роспотребнадзора – качественно новый уровень оперативного реагирования на биологические угрозы. В настоящее время российские разработки активно используются не только на территории нашей страны, но и за ее пределами, в том числе в совместных миссиях с ВОЗ и GOARN (Глобальная сеть оповещения о вспышках заболевания и ответных действий).

С целью дальнейшего укрепления и развития проактивной системы предупреждения, профилактики, выявления и реагирования на угрозы биологической безопасности и санитарно-эпидемиологическому благополучию населения, в настоящее время в стране реализуется федеральный проект «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)». В основе проекта – модернизация системы, базирующаяся на внедрении в практику санитарно-эпидемиологического надзора достижений цифровизации, генетических технологий, коммуникаций и научных исследований. В ходе реализации проекта стремительно развивается национальная система лабораторной диагностики, с глобальной модернизацией лабораторий и научно-производственных мощностей научных и противочумных учреждений, созданием национальной сети центров секвенирования и сети лабораторий высшего уровня биологической безопасности. Разрабатываются новые технологические платформы, позволяющие в кратчайшие сроки создавать диагностические и профилактические препараты в случае появления новых опасных инфекций. Налажена возможность гибкой конверсии и масштабирования лабораторной базы. Разрабатываются и внедряются новые образовательные программы в области санитарно-эпидемиологической безопасности, а также обеспечения населения достоверной информацией в этой сфере.

Таким образом, на территории Российской Федерации методологическая (эпидемиолого-диагностическая) и технологическая цепочка скрининга, мониторинга и контроля ЧС санитарно-эпидемиологического характера прослеживается в рамках мероприятий по санитарной охране территории, осуществления эпидемиологического надзора, проведения всего комплекса санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий, направленных на обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения [8].

Все эти аспекты деятельности заинтересованных структур, функционирующих по территориальному принципу, и мобильных формирований, а также вопросы межведомственного взаимодействия интегрированы в структурно-функциональном отношении в единую систему, приведенную на основе совершенствования и модернизации к уровню, достаточному для парирования современных угроз и вызовов эпидемиологического плана – ЧС в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера.

II. Оказание содействия международному развитию в области глобального здравоохранения. В современном мире единственным глобальным инструментом предупреждения и контроля ЧС санитарно-эпидемиологического и биологического характера являются Международные медико-санитарные правила (2005 г.) (ММСП), направленные, прежде всего, на создание и поддержание уровня национального здравоохранения и противоэпидемических служб государств, адекватного современным угрозам биологического характера.

Российская Федерация полномасштабно внедрила на своей территории ММСП (2005 г.), существенно и качественно в инновационном формате укрепила свою готовность по предупреждению, оперативному реагированию и контролю ЧС с учетом современных эпидемиологических, социально-экономических и геополитических реалий [21]. При этом страна базировалась на собственном опыте борьбы с эпидемиями и пандемиями внутри страны и за рубежом, опыте активной противоэпидемической деятельности на международном уровне.

К наиболее ярким примерам участия страны в формирующейся архитектуре глобального здравоохранения относится участие Российской Федерации в реализации межгосударственных программ, направленных на ликвидацию опасных инфекционных болезней:

– ликвидация натуральной оспы. Международная программа по борьбе с оспой предложена СССР в 1958 г. на XI сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения (ВАЗ). Советский Союз, являясь инициатором программы ликвидации оспы в мире, активно участвовал в ее выполнении. Из 2,4 млрд доз вакцины, использованных для ликвидации оспы, 1,5 млрд были предоставлены СССР. Советские учреждения и специалисты участвовали в организации и проведении национальных программ иммунизации, осуществ-

влении лабораторной диагностики оспы и оспоподобных заболеваний. Благодаря широкомасштабным профилактическим мероприятиям по всему миру в 1980 г. на XXXIII сессии ВАЗ было объявлено о полной ликвидации натуральной оспы в мире [22];

– участие в Глобальной программе по ликвидации полиомиелита. В 1988 г. ВОЗ объявила Глобальную программу по ликвидации полиомиелита, целью которой стало не только снижение заболеваемости до нулевого уровня, но и доказанное прекращение циркуляции дикого полиовируса. В Российской Федерации в 1996 г. была принята Национальная программа ликвидации полиомиелита к 2000 г., достигнут высокий уровень охвата детей профилактическими прививками. Последние случаи заболевания полиомиелитом в стране зарегистрированы в 1996 г., а в 2001 г. Россия была сертифицирована ВОЗ как свободная от циркуляции диких полиовирусов [23];

– участие в Стратегическом плане ВОЗ по глобальной ликвидации кори и краснухи. В Российской Федерации в рамках выполнения Программы по ликвидации кори и краснухи была поставлена задача обеспечения и поддержания высокого уровня охвата профилактическими прививками против кори и краснухи детей и взрослых в соответствии с национальным календарем профилактических прививок. Благодаря повсеместному охвату населения прививками достигнуто значительное снижение уровня заболеваемости в России [24];

– вклад Российской Федерации в ликвидацию вспышки болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ), в Гвинейской Республике. С самого начала эпидемии БВВЭ в странах Западной Африки Россия приняла активное участие в международной деятельности по ее ликвидации. В страну была направлена мобильная бригада Роспотребнадзора, которая функционировала в очаге лихорадки Эболы, построен современный научный клинико-диагностический центр эпидемиологии и микробиологии, создан современный лабораторный комплекс для борьбы с особо опасными инфекциями, позволивший оперативно осуществлять диагностику инфекционных болезней, проведено обучение гвинейских медицинских работников по вопросам обеспечения биологической безопасности, эпидемиологического надзора, лабораторной диагностики и др., а также оказана квалифицированная медицинская помощь жителям пострадавших провинций [25].

Успешно осуществив имплементацию ММСП (2005 г.) на своей территории, в настоящее время Российская Федерация последовательно наращивает усилия в рамках межгосударственных объединений и двухсторонних соглашений по реализации программ поддержки стран-партнеров в вопросах внедрения и реализации ММСП (2005 г.) [26].

В Концепции государственной политики Российской Федерации в сфере содействия международному развитию (Указ Президента РФ от 20 апреля 2014 г. № 259) укрепление национальных систем

здравоохранения, ориентированных в том числе на борьбу с распространением инфекционных болезней, является одним из приоритетных направлений в сфере содействия международному развитию, соответствующих национальным интересам России. При поддержке Правительства Российской Федерации осуществляется реализация совместных проектов со странами – партнерами России, направленных на оказание научно-методического и материально-технического содействия в вопросах внедрения и реализации ММСП (2005 г.), укрепления сети по реагированию на ЧС санитарно-эпидемиологического характера, обеспечения эпидемиологического благополучия по чуме и другим особо опасным инфекционным болезням.

Стратегия противодействия современным угрозам биологического характера, реализуемая Российской Федерацией на международной арене, ориентирована прежде всего на укрепление методологического, технологического, кадрового потенциала, усиление национальных возможностей по эпидемиологическому надзору и ответным мерам на ЧС в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения стран-партнеров [13].

С 2015 по 2023 г. Роспотребнадзором в страны-партнеры поставлены сотни единиц лабораторного оборудования, диагностических препаратов, питательных сред, СИЗ. Поставлена 31 мобильная лаборатория различных форматов в 10 стран мира. Подготовку по вопросам эпидемиологии, биологической безопасности [8], реагирования на ЧС, современным методам лабораторной диагностики прошли более 1,5 тыс. специалистов профильных учреждений стран СНГ и более 1 тыс. специалистов дальнего зарубежья. В 2019–2023 гг. проведено 15 международных учений команд быстрого реагирования различного формата с общим охватом более 800 специалистов стран – партнеров РФ. Осуществлены сотни экспедиций на территориях зарубежных стран – налажен мониторинг за возбудителями инфекционных болезней, накоплен уникальный материал для дальнейших совместных исследований. На сегодняшний день на пространстве СНГ фактически сформирована единая система мониторинга и оперативного реагирования на ЧС в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера, объединяющая более 15 профильных учреждений 9 стран СНГ [13].

Российские подходы к обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения с опорой на развитую теоретическую и практическую базы применимы не только в регионе СНГ, но и успешно перенимаются как в экономически развитых, так и развивающихся странах. На сегодняшний день в дальнем зарубежье функционируют совместные научно-практические центры в Гвинейской Республике, Бурунди, Венесуэле и Вьетнаме для проведения научных исследований, направленных на получение новых знаний о возбудителях, совершенствование эпидемиологического надзора, диа-

гностики и профилактики инфекционных болезней с целью раннего выявления и своевременного предотвращения эпидемиологических рисков для глобального здравоохранения [8].

Усилия, предпринимаемые Российской Федерацией по укреплению систем реагирования на ЧС в странах-партнерах, опыт, накопленный в данной области, существенно востребованы на глобальном международном уровне. На базе Российского противочумного института «Микроб» Роспотребнадзора 12 ноября 2021 г. создан сотрудничающий центр ВОЗ по развитию сил быстрого реагирования GOARN (номер сотрудничающего центра в базе данных ВОЗ – RUS-138), основной задачей которого является интеграция накопленного теоретического, практического и научного опыта реагирования на биологические угрозы в страны – партнеры РФ.

III. Активное участие России в трансформации архитектуры глобального здравоохранения. Современный этап трансформации архитектуры глобального здравоохранения характеризуется признаками формирования системного кризиса ВОЗ как лидера в сфере методического и научного обеспечения реагирования на эпидемическое распространение опасных инфекционных болезней. Опыт борьбы против пандемии новой короновирусной инфекции выявил отсутствие единого подхода к оперативному реагированию и неравномерное распределение материально-технических и кадровых ресурсов в разных странах. Ведущая роль ВОЗ в формулировке научно обоснованного и эффективного перераспределения ресурсов реагирования, включая свободный доступ к полному спектру вакцинных препаратов, также была значительно ослаблена. Глобальные решения все чаще начинают приниматься в интересах определенных мировых игроков в сфере здравоохранения, которыми, в том числе, являются западные правительственные и неправительственные организации и транснациональные корпорации [27]. Под лозунгом необходимости повышения уровня готовности и защиты населения, правительств и всех слоев общества как внутри стран, так и в мировом масштабе для предотвращения и сдерживания будущих пандемий отдельными мировыми лидерами инициирован пересмотр действующих международных правовых инструментов по обеспечению готовности к пандемиям и принятию мер реагирования [28].

Рассматриваемый в настоящее время проект «документа» ВОЗ по созданию системы глобального здравоохранения с делегированием части суверенных прав государств – участников соглашения транснациональным элитам противоречит основным принципам участия Российской Федерации на международной арене – сохранению суверенного права государств-участников на защиту национальной безопасности и прав граждан [27]. Одним из основных принципов, поддерживаемых Российской Федерацией, всегда являлась идеология соблюдения суверенитета стран – членов ВОЗ в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополу-

чия населения и биологической безопасности, обеспечения равенства и солидарности, укрепления международного сотрудничества.

В заключение необходимо отметить, что обеспечение эпидемиологического благополучия на территории как отдельных стран, так и всего мира в целом возможно только в результате объединения усилий профильных ведомств в сфере эпидемиологического надзора и контроля за опасными инфекционными болезнями на межгосударственном уровне с участием ВОЗ, выполняющей лидерские и координирующие функции [11].

Россия, имея эффективно функционирующую национальную систему борьбы с биологическими угрозами, последовательно наращивает усилия по реализации программ содействия странам – партнерам России, направленных на усиление национальных структур для достижения самостоятельности в реализации мониторинговых и противоэпидемических мероприятий и построение единого эпидемиологического пространства, независимого от влияния глобальных и региональных геополитических колебаний. В последние годы значительно усилилось международное научно-практическое сотрудничество учреждений Роспотребнадзора со странами СНГ, Юго-Восточной Азии, Южной Америки, продолжен курс на расширение географии и спектра направлений по взаимодействию с Африканскими странами [11, 29–33].

В настоящее время в рамках выполнения совместных проектов со странами-партнерами как в ближнем, так и в дальнем зарубежье достигнуты существенные успехи в укреплении национального потенциала стран – партнеров России в сфере оперативного реагирования на возникающие угрозы в области биологической безопасности и обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия. Достигнутые результаты межгосударственного сотрудничества в области обеспечения глобальной биологической безопасности [11] и активное участие Российской Федерации в разработке и реализации глобальных инструментов в области мониторинга и реагирования на чрезвычайные ситуации в сфере общественного здравоохранения: Международных медико-санитарных правил (2005 г.), проекта конвенции, соглашения или другого международного инструмента ВОЗ по предотвращению пандемий – определяют существенный вклад России в современное формирование глобальной архитектуры здравоохранения.

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. Brown T.M., Cueto M., Fee E. The World Health Organization and the transition from “international” to “global” public health. *Am. J. Public Health.* 2006; 96(1):62–72. DOI: 10.2105/AJPH.2004.050831.

2. Koplan J.P., Bond T.C., Merson M.H., Reddy K.S., Rodriguez M.H., Sewankambo N.K., Wasserheit J.N.; Consortium of Universities for Global Health Executive Board. Towards a common definition of global health. *Lancet*. 2009; 373(9679):1993–5. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60332-9.
3. Zhang X.X., Jin Y.Z., Lu Y.H., Huang L.L., Wu C.X., Lv S., Chen Z., Xiang H., Zhou X.N. Infectious disease control: from health security strengthening to health systems improvement at global level. *Glob. Health Res. Policy*. 2023; 8(1):38. DOI: 10.1186/s41256-023-00319-w.
4. Martínez-Córdoba P.J., Benito B., García-Sánchez I.M. Efficiency in the governance of the Covid-19 pandemic: political and territorial factors. *Global. Health*. 2021; 17(1):113. DOI: 10.1186/s12992-021-00759-4.
5. Boyd M.J., Wilson N., Nelson C. Validation analysis of Global Health Security Index (GHSI) scores 2019. *BMJ Glob. Health*. 2020; 5(10):e003276. DOI: 10.1136/bmjgh-2020-003276.
6. GHS Index. [Электронный ресурс]. URL: <https://ghsindex.org> (дата обращения 09.05.2024).
7. Aavitsland P., Aguilera X., Al-Abri S.S., Amani V., Aramburu C.C., Attia T.A., Blumberg L.H., Chittaganpitch M., Le Duc J.W., Li D., Mokhtariazad T., Moussif M., Ojo O.E., Okwo-Bele J.M., Saito T., Sall A.A., Salter M.W.A.P., Sohn M., Wieler L.H. Functioning of the International Health Regulations during the COVID-19 pandemic. *Lancet*. 2021; 398(10308):1283–7. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)01911-5.
8. Кутырев В.В., Щербакова С.А., Иванова А.В., Куклев В.Е., Касьян Ж.А., Карнаухов И.Г. Россия и Венесуэла: новое стратегическое партнерство в области реагирования на биологические угрозы и перспективы сотрудничества. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 2:115–21. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-115-121.
9. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Сафронов В.А., Карнаухов И.Г., Иванова А.В., Щербакова С.А. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Сообщение 1: Модели реализации профилактических и противоэпидемических мероприятий. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 1:6–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-6-13.
10. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Сафронов В.А., Карнаухов И.Г., Иванова А.В., Щербакова С.А. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Сообщение 2: особенности течения эпидемического процесса COVID-19 во взаимосвязи с проводимыми противоэпидемическими мероприятиями в мире и Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 2:6–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-6-12.
11. Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Летюшев А.Н., Карнаухов И.Г., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Современные эпидемиологические риски и вклад Российской Федерации в обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в рамках взаимодействия со странами-партнерами. В кн.: Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Сборник материалов IV Международной научно-практической конференции «Противодействие новой коронавирусной инфекции и другим инфекционным заболеваниям» и Международной конференции «Результаты и перспективы сотрудничества совместных научных центров по изучению и профилактике инфекционных болезней в странах Африки, Азии и Южной Америки» (Санкт-Петербург, 7–9 декабря 2023 г.). Саратов: Амрит; 2023. С. 7–13.
12. Иванова А.В., Карнаухов И.Г., Кутырев В.В., Поспелов М.В., Щербакова С.А., Шамалов Е.В. Динамика эпидемического процесса COVID-19 в государствах – участниках СНГ и объединение усилий стран-партнеров в борьбе с пандемией. В кн.: Анфимов Л.В., редактор. Развитие и деятельность Содружества Независимых Государств в 2021 году: Сборник информационно-аналитических материалов. Вып. 10. Минск; 2022. С. 249–56.
13. Кутырев В.В., Щербакова С.А., Карнаухов И.Г., Касьян Ж.А., Шиянова А.Е., Горбунов В.А., Красько А.Г., Лешкевич А.Л., Федорович Е.В., Семижон П.А., Рустамова Л.М., Петкевич А.С., Ерубаев Т.К., Аязбаев Т.З., Турегелдиева Д.А., Ковалева Г.Г., Бердиев С.К., Усенбаев Н.Т., Казыбаева Ж.С. Система мониторинга и реагирования на чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера в странах СНГ. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 3:95–106. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-95-106.
14. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Санитарная охрана территории Российской Федерации в современных условиях. Саратов: Буква; 2014. 460 с.
15. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Кривуля С.Д., Федоров Ю.М., Топорков В.П. Санитарная охрана территории Российской Федерации: современное нормативно-методическое, организационное и научное обеспечение. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2007; 1:5–11.
16. Брик Н.И., Онищенко Г.Г., Покровский В.И. Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней: в 2 т. М.: Медицинское информационное агентство; 2019. Т. 1. 880 с.
17. Кутырев В.В. Противоэпидемическая система Российской Федерации в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия. *Здравоохранение Российской Федерации*. 2013; 2:24–8.
18. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Подвиг во имя жизни. 125 лет противочумным учреждениям России и стран СНГ. Калининград: ПА Полиграфич; 2022. 544 с.
19. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» – 100 лет. Красноярск: ООО «Красногорский полиграфический комбинат»; 2018. 368 с.
20. Guidance for Rapid Response Mobile Laboratory (RRML) Classification. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2021.
21. Онищенко Г.Г., Пакскина Н.Д., Топорков В.П., Топорков А.В., Шиянова А.Е., Кутырев В.В. Научно-методические основы реализации Международных медико-санитарных правил (2005 г.) на территории Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2010; 3:5–12.
22. Хендерсон Д.А. Ликвидация натуральной оспы: лидирующая роль и вклад России. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; 3:86–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-3-86-89.
23. Михайлов М.И., Грачев В.П. Роль России в Глобальной программе ликвидации полиомиелита. *Здравоохранение Российской Федерации*. 2013; 2:11–4.
24. Айдыралиева Ч.К. Программа элиминации кори и краснухи и профилактики врожденной краснушной инфекции в Европейском регионе ВОЗ. *Педиатрическая фармакология*. 2009; 6(2):7–12.
25. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Ликвидация эпидемии Эбола в Гвинейской Республике: опыт работы специализированной противозидемической бригады Роспотребнадзора. М.: ООО «Творческий информационно-издательский центр»; 2016. 354 с.
26. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Реализация Международных медико-санитарных правил (2005 г.) на пространстве Восточной Европы и Центральной Азии. Саратов: Амрит; 2019. 360 с.
27. Сафронова Е.В., Петрищева Н.С. «Пандемическое соглашение» Всемирной организации здравоохранения: анализ концептуального нулевого проекта. *Актуальные проблемы государства и права*. 2023; 7(1):149–58. DOI: 10.20310/2587-9340-2023-7-1-149-158.
28. [Советование 25 глав правительств и международных агентств. Женева, 30 марта 2021 г.]. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/news/item/30-03-2021-global-leaders-unite-in-urgent-call-for-international-pandemic-treaty> (дата обращения 20.10.2024).
29. Попова А.Ю., Топорков А.В., редакторы. Актуальные направления и перспективы российско-вьетнамского сотрудничества в сфере обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия. Волгоград: Волга-Пресс; 2019. 400 с.
30. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Ликвидация эпидемии Эбола в Гвинейской Республике: опыт работы специализированной противозидемической бригады Роспотребнадзора. Изд. 2-е, перераб. и доп. Ижевск: ООО «Принт-2»; 2017. 388 с.
31. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Россия – Гвинея: итоги и перспективы сотрудничества в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Саратов: Амрит; 2020. 272 с.
32. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Россия – Африка: опыт работы Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней. Элиста: Прометей; 2023. 244 с.
33. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Международное сотрудничество по формированию единой системы мониторинга и оперативного реагирования на чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера на пространстве СНГ. Саратов: Амрит; 2022. 164 с.

References

1. Brown T.M., Cueto M., Fee E. The World Health Organization and the transition from “international” to “global” public health. *Am. J. Public Health*. 2006; 96(1):62–72. DOI: 10.2105/AJPH.2004.050831.
2. Koplan J.P., Bond T.C., Merson M.H., Reddy K.S., Rodriguez M.H., Sewankambo N.K., Wasserheit J.N.; Consortium of Universities for Global Health Executive Board. Towards a common definition of global health. *Lancet*. 2009; 373(9679):1993–5. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60332-9.
3. Zhang X.X., Jin Y.Z., Lu Y.H., Huang L.L., Wu C.X., Lv S., Chen Z., Xiang H., Zhou X.N. Infectious disease control: from health security strengthening to health systems improvement at global level. *Glob. Health Res. Policy*. 2023; 8(1):38. DOI: 10.1186/s41256-023-00319-w.
4. Martínez-Córdoba P.J., Benito B., García-Sánchez I.M. Efficiency in the governance of the Covid-19 pandemic: political and territorial factors. *Global. Health*. 2021; 17(1):113. DOI: 10.1186/s12992-021-00759-4.

5. Boyd M.J., Wilson N., Nelson C. Validation analysis of Global Health Security Index (GHSI) scores 2019. *BMJ Glob. Health*. 2020; 5(10):e003276. DOI: 10.1136/bmjgh-2020-003276.
6. GHS Index. (Cited 09 May 2024). [Internet]. Available from: <https://ghsindex.org>.
7. Aavitsland P., Aguilera X., Al-Abri S.S., Amani V., Aramburu C.C., Attia T.A., Blumberg L.H., Chittaganpitch M., Le Duc J.W., Li D., Mokhtariazad T., Moussif M., Ojo O.E., Okwo-Bele J.M., Saito T., Sall A.A., Salter M.W.A.P., Sohn M., Wieler L.H. Functioning of the International Health Regulations during the COVID-19 pandemic. *Lancet*. 2021; 398(10308):1283–7. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)01911-5.
8. Kuttyrev V.V., Shcherbakova S.A., Ivanova A.V., Kuklev V.E., Kas'yan Zh.A., Karnaukhov I.G. [Russia and Venezuela: new strategic partnership in the field of response to biological threats and prospects for cooperation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; (2):115–21. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-115-121.
9. Kuttyrev V.V., Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Safronov V.A., Karnaukhov I.G., Ivanova A.V., Shcherbakova S.A. [Epidemiological features of new coronavirus infection (COVID-19). Communication 1: Modes of implementation of preventive and anti-epidemic measures]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (1):6–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-6-13.
10. Kuttyrev V.V., Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Safronov V.A., Karnaukhov I.G., Ivanova A.V., Shcherbakova S.A. [Epidemiological peculiarities of new coronavirus infection (COVID-19). Communication 2: Peculiarities of epidemic process development in conjunction with performed anti-epidemic measures around the world and in the Russian Federation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (2):6–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-6-12.
11. Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Letyushev A.N., Karnaukhov I.G., Shcherbakova S.A., Kuttyrev V.V. [Current epidemiological risks and the contribution of the Russian Federation to ensuring sanitary and epidemiological well-being in the framework of interaction with partner countries]. In: Popova A.Yu., Kuttyrev V.V., editors. [Collection of Materials of the IV International Scientific and Practical Conference “Countering New Coronavirus Infection and other Infectious Diseases” and the International Conference “Results and Prospects of Cooperation of Joint Research Centers for the Study and Prevention of Infectious Diseases in Africa, Asia and South America” (St. Petersburg, December 7–9, 2023)]. Saratov: “Amirite”; 2023. P. 7–13.
12. Ivanova A.V., Karnaukhov I.G., Kuttyrev V.V., Pospelov M.V., Shcherbakova S.A., Shamal E.V. [Dynamics of the COVID-19 epidemic process in the CIS member states and the unification of efforts of partner countries in the fight against the pandemic]. In: Anfimov L.V., editor. [Development and Activities of the Commonwealth of Independent States in 2021: Collection of Information and Analytical Materials]. Issue 10. Minsk; 2022. P. 249–56.
13. Kuttyrev V.V., Shcherbakova S.A., Karnaukhov I.G., Kas'yan Zh.A., Shiyanova A.E., Gorbunov V.A., Kras'ko A.G., Leshkevich A.L., Fedorovich E.V., Semizhon P.A., Rustamova L.M., Petkevich A.S., Erubaev T.K., Ayazbaev T.Z., Turegeldieva D.A., Kovaleva G.G., Berdiev S.K., Usenbaev N.T., Kazybaeva Zh.S. [System of monitoring and response to public health emergencies of sanitary-epidemiological character in the CIS countries]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (3):95–106. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-95-106.
14. Onishchenko G.G., Kuttyrev V.V. editors. [Sanitary Protection of the Territory of the Russian Federation under Current Conditions]. Saratov: “Bukva”; 2014. 460 p.
15. Onishchenko G.G., Kuttyrev V.V., Krivulya S.D., Fedorov Yu.M., Toporkov V.P. [Sanitary protection of the territory of the Russian Federation: modern regulatory, methodological, organizational and scientific support]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2007; (1):5–11.
16. Briko N.I., Onishchenko G.G., Pokrovsky V.I. [Guide to the Epidemiology of Infectious Diseases: in 2 volumes]. Moscow: Medical Information Agency; 2019. Vol. 1. 880 p.
17. Kuttyrev V.V. [Anti-plague system of the Russian Federation in ensuring sanitary and epidemiological well-being]. *Zdravookhranenie Rossiiskoi Federatsii [Healthcare of the Russian Federation]*. 2013; (2):24–8.
18. Popova A.Yu., Kuttyrev V.V., editors. [Feat in the Name of Life. 125 Years of Existence of Anti-Plague Institutions of Russia and the CIS Countries]. Kaliningrad: RA “Poligrafych”; 2022. 544 p.
19. Popova A.Yu., Kuttyrev V.V., editors. [Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe” – 100th Anniversary]. Krasnogorsk: LLC “Krasnogorsk Printing Plant”; 2018. 368 p.
20. Guidance for Rapid Response Mobile Laboratory (RRML) Classification. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2021.
21. Onishchenko G.G., Paksina N.D., Toporkov V.P., Toporkov A.V., Shiyanova A.E., Kuttyrev V.V. [Scientific and methodological foundations for the implementation of the International Health Regulations (2005) in the Russian Federation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2010; (3):5–12.
22. Henderson D.A. Smallpox eradication: Russia's leading role and contribution. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; (3):86–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-3-86-89.
23. Mikhailov M.I., Grachev V.P. [The role of Russia in the Global Polio Eradication Program]. *Zdravookhranenie Rossiiskoi Federatsii [Healthcare of the Russian Federation]*. 2013; (2):11–4.
24. Aidralieva Ch.K. [Measles and rubella elimination and congenital rubella infection prevention program in the WHO European Region]. *Pediatricskaya Farmakologiya [Pediatric Pharmacology]*. 2009; 6(2):7–12.
25. Popova A.Yu., Kuttyrev V.V., editors. [Elimination of the Ebola Epidemic in the Republic of Guinea: Operational Experience of the Specialized Anti-Epidemic Team of the Rospotrebnadzor]. Moscow: LLC “Creative Information and Publishing Center”; 2016. 354 p.
26. Popova A.Yu., Kuttyrev V.V., editors. [Implementation of the International Health Regulations (2005) in Eastern Europe and Central Asia]. Saratov: “Amirite”; 2019. 360 p.
27. Safronova E.V., Petrishcheva N.S. [“Pandemic Agreement” of the World Health Organization: analysis of the conceptual zero draft]. *Aktual'nye Problemy Gosudarstva i Prava [Relevant Issues of State and Law]*. 2023; 7(1):149–58. DOI: 10.20310/2587-9340-2023-7-1-149-158.
28. [Meeting of 25 Heads of Government and International Agencies. Geneva, March 30, 2021]. (Cited 20 Oct 2024). [Internet]. Available from: <https://www.who.int/news/item/30-03-2021-global-leaders-unite-in-urgent-call-for-international-pandemic-treaty>.
29. Popova A.Yu., Toporkov A.V., editors. [Current Areas and Prospects of Russian-Vietnamese Cooperation in the Sphere of Ensuring Sanitary and Epidemiological Wellbeing]. Volgograd: “Volga-Press”; 2019. 400 p.
30. Popova A.Yu., Kuttyrev V.V., editors. [Elimination of the Ebola Epidemic in the Republic of Guinea: Operational Experience of the Specialized Anti-Epidemic Team of the Rospotrebnadzor. 2nd ed., revised and updated]. Izhevsk: “Print-2”; 2017. 388 p.
31. Popova A.Yu., Kuttyrev V.V., editors. [Russia – Guinea: Results and Prospects of Cooperation in the Sphere of Ensuring Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population]. Saratov: “Amirite”; 2020. 272 p.
32. Popova A.Yu., Kuttyrev V.V., editors. [Russia – Africa: Expertise of the Russian-Guinean Research Center for Epidemiology and Prevention of Infectious Diseases]. Elista: “Prosvet”; 2023. 244 p.
33. Popova A.Yu., Kuttyrev V.V., editors. [International Cooperation in the Formation of a Unified System for Monitoring and Rapid Response to Public Health Emergencies of Sanitary and Epidemiological Nature in the CIS]. Saratov: “Amirite”; 2022. 164 p.

Authors:

Popova A.Yu. Federal Service for Surveillance on Consumers Rights Protection and Human Wellbeing; 18, Bld. 5 and 7, 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 Wellbeing. 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Lane, Moscow, 127994, Russian Federation.

Kuttyrev V.V., Shcherbakova S.A., Ivanova A.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Об авторах:

Попова А.Ю. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский 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.

Кутырев В.В., Щербаклова С.А., Иванова А.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-15-23

УДК 614.89

Т.А. Костюкова, М.В. Гордеева, М.Н. Ляпин, З.Л. Девдариани, С.П. Заднова

Проблемы нормирования выдачи специальной одежды, специальной обуви и средств индивидуальной защиты работникам, осуществляющим деятельность с возбудителями инфекционных болезней

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

При работе с возбудителями инфекционных болезней широко используются средства индивидуальной защиты (СИЗ) персонала, что является одним из значимых элементов обеспечения биологической безопасности. Проведен обзор и анализ действующей правовой и нормативно-методической базы обеспечения рабочей одеждой, обувью и СИЗ работников, осуществляющих деятельность с возбудителями инфекционных болезней в Российской Федерации. Выдача СИЗ при работе с опасными биологическими факторами – возбудителями инфекционных болезней – определяется нормативами в сфере охраны труда, технического регулирования, биологической безопасности и оказания медицинской помощи. Выявлены проблемы применимости отдельных положений действующих нормативов в сфере охраны труда и технического регулирования в отношении выдачи СИЗ при проведении работ с патогенными микроорганизмами. Среди них основными являются: расхождения в терминологии в документах, утверждаемых различными органами исполнительной власти; необходимость уточнения количественных норм выдачи некоторых СИЗ в зависимости от особенностей рабочего процесса и требований биологической безопасности; подтверждение соответствия в отношении защитной эффективности СИЗ от опасных воздействий биологического фактора; выбор СИЗ от воздействия патогенных биологических агентов в зависимости от свойств конкретного изделия, его конструктивных особенностей, модификации, направленных на снижение риска для персонала, населения и окружающей среды; выделение понятия «рабочая одежда» при выполнении работ с возбудителями инфекционных болезней. Решение лежит в развитии нормирования и методического обеспечения биологической безопасности.

Ключевые слова: средства индивидуальной защиты, нормирование, опасный биологический фактор, возбудители инфекционных болезней.

Корреспондирующий автор: Гордеева Марина Вячеславовна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Костюкова Т.А., Гордеева М.В., Ляпин М.Н., Девдариани З.Л., Заднова С.П. Проблемы нормирования выдачи специальной одежды, специальной обуви и средств индивидуальной защиты работникам, осуществляющим деятельность с возбудителями инфекционных болезней. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:15–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-15-23

Поступила 12.08.2024. Принята к публ. 01.10.2024.

T.A. Kostyukova, M.V. Gordeeva, M.N. Lyapin, Z.L. Devdariani, S.P. Zadnova

Standardization of Distribution of Work Clothing, Footwear and Personal Protective Equipment among Employees Working with Infectious Disease Agents

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

Abstract. When working with infectious disease agents, personal protective equipment (PPE) is widely used, which is one of the significant elements of ensuring biological safety. A review and analysis of the current legal and regulatory framework for providing workers with work clothes, footwear and PPE, carrying out activities with infectious disease agents in the Russian Federation has been conducted. The issuance of PPE when working with hazardous biological factors - infectious disease agents - is determined by regulations in the field of occupational safety, technical regulation, biological safety and provision of medical care. Problems of applicability of certain provisions of current regulations in the field of labor protection and technical regulation in relation to the issuance of PPE when working with pathogenic microorganisms are identified. The main ones include: discrepancies in terminology in documents approved by various executive authorities; the need to clarify the quantitative standards for issuing some PPE depending on the specifics of the work process and biological safety requirements; confirmation of compliance with the protective effectiveness of PPE against hazardous effects of biological factors; selection of PPE against exposure to pathogenic biological agents depending on the properties of a specific product, its design features, modifications aimed at reducing the risk to personnel, population and environment; identifying the concept of “work clothing” when working with pathogens. The solution lies in the development of standardization and methodological support for biological safety.

Key words: personal protective equipment, standardization, hazardous biological factor, pathogens of infectious diseases.

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

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

Corresponding author: Marina V. Gordeeva, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Kostyukova T.A., Gordeeva M.V., Lyapin M.N., Devdariani Z.L., Zadnova S.P. Standardization of Distribution of Work Clothing, Footwear and Personal Protective Equipment among Employees Working with Infectious Disease Agents. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2024; 4:15–23. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-15-23

Received 12.08.2024. Accepted 01.10.2024.

Gordeeva M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3726-810X>
Devdariani Z.L., ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-8528-1933>

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

Наряду с инженерно-техническими средствами (коллективными): изоляция, боксирование, вентиляция, использование боксов микробиологической безопасности, герметизация производственных линий и пр., – при работе с возбудителями инфекционных болезней широко используются средства индивидуальной защиты (СИЗ) персонала как мера персональной защиты работников при выполнении работ в медицинских организациях инфекционного профиля, стационарных и мобильных микробиологических лабораториях, полевых условиях. СИЗ служат первичным барьером между опасными биологическими факторами и человеком, предупреждая контакт с возбудителем и инфицирование. Поэтому достаточное обеспечение работников, деятельность которых связана с использованием возбудителей инфекционных болезней, специальной одеждой и обувью, а также эффективными СИЗ является особенно важным. Использование СИЗ – один из значимых элементов обеспечения биологической безопасности [1–5].

Цель работы – анализ правовой и нормативно-методической базы обеспечения рабочей одеждой, обувью и СИЗ работников, осуществляющих деятельность с возбудителями инфекционных болезней в РФ.

Обеспечение специальной одеждой, обувью и другими СИЗ персонала, занятого на работах с опасными условиями труда, регулируется трудовым законодательством Российской Федерации.

Трудовой кодекс Российской Федерации от 30.12.2001 № 197-ФЗ в редакции от 06.04.2024 (ТК РФ) одним из основных принципов регулирования трудовых отношений устанавливает обеспечение права каждого работника на условия труда, отвечающие требованиям безопасности и гигиены. Обеспечивать безопасность и условия труда, соответствующие государственным нормативным требованиям охраны труда, является обязанностью работодателя. ТК РФ определяет безопасные условия труда как условия, при которых воздействие на работающих вредных и (или) опасных производственных факторов исключено либо уровни воздействия таких факторов не превышают установленных нормативов, а средство индивидуальной защиты – средство, используемое для предотвращения или уменьшения воздействия на работника вредных и (или) опасных производственных факторов, особых температурных условий, а также для защиты от загрязнения.

Решение вопроса по обеспечению работников СИЗ в первую очередь находится в области охраны труда. В соответствии со статьей 214 ТК РФ «Обязанности работодателя в области охраны труда» (в ред. Федерального закона от 02.07.2021 № 311-ФЗ)

в организации на основании систематической оценки условий труда и оценки профессиональных рисков рабочей среды разрабатывается документ, определяющий порядок приобретения за счет собственных средств работодателя и выдачи СИЗ и смывающих средств, учета, хранения, вывода из эксплуатации, утилизации выданных СИЗ. В целях обеспечения работников СИЗ работодатели вправе использовать типовые нормы, изданные в установленном порядке до дня вступления в силу настоящего федерального закона. Работник обязан правильно использовать СИЗ (ст. 215), а работодатель обязан ознакомить работника с условиями труда на рабочем месте и существующими профессиональными рисками и мерами по защите от вредных и опасных производственных факторов (ст. 216).

Согласно ст. 221 ТК РФ, для защиты от воздействия вредных и (или) опасных факторов производственной среды и (или) загрязнения, а также на работах, выполняемых в особых температурных условиях, работникам бесплатно выдаются СИЗ и смывающие средства, прошедшие подтверждение соответствия в порядке, установленном законодательством Российской Федерации о техническом регулировании. СИЗ включают в себя специальную одежду, специальную обувь, дерматологические средства защиты, средства защиты органов дыхания, рук, головы, лица, органов слуха, глаз, средства защиты от падения с высоты и другие СИЗ, требования к которым определяются в соответствии с законодательством Российской Федерации о техническом регулировании (Технические регламенты, ГОСТ, ГОСТ Р, ГОСТ ISO). В настоящее время действующими являются более 60 нормативно-правовых актов (НПА), касающихся вопросов обеспечения работников специальной одеждой, обувью и иными СИЗ [6].

Также ст. 221 ТК РФ установлено, что работодатель за счет своих средств обязан в соответствии с установленными нормами обеспечивать своевременную выдачу СИЗ, их хранение, а также стирку, химическую чистку, сушку, ремонт и замену СИЗ.

Правила обеспечения работников СИЗ и смывающими средствами на основании приказа Минтруда России от 29.10.2024 № 766н, единых Типовых норм выдачи средств индивидуальной защиты и смывающих средств устанавливаются федеральным органом исполнительной власти, осуществляющим функции по выработке и реализации государственной политики и нормативно-правовому регулированию в сфере труда, с учетом мнения Российской трехсторонней комиссии по регулированию социально-трудовых отношений.

Определяются права и обязанности работодателя в обеспечении работников СИЗ, обязанности ра-

ботников по их применению; порядок выдачи, замены, эксплуатации, хранения СИЗ; сроки нормативной эксплуатации специальной одежды и обуви для защиты от пониженных температур с учетом климатических поясов. Организация всех работ по обеспечению работников СИЗ, в том числе их приобретение, выдача, хранение, уход, вывод из эксплуатации, утилизация, осуществляется за счет средств работодателя. Работодатель обязан разработать нормы выдачи, правила эксплуатации, учета и порядка ухода за СИЗ и утилизации средств защиты. Представлен порядок определения работодателем потребности в СИЗ, осуществление выбора СИЗ, ведение индивидуального учета, порядок выдачи дежурных СИЗ, а также дерматологических СИЗ и смывающих средств. Определен порядок выдачи СИЗ работникам сторонних организаций. При формировании норм работодатель с учетом мнения выборного органа первичной профсоюзной организации или иного уполномоченного работниками представительного органа (при его наличии) может осуществлять замену одного СИЗ, указанного в Единых типовых нормах, на другое, обеспечивающее равноценную или превосходящую по своим свойствам защиту от вредных и (или) опасных производственных факторов и опасностей, установленных по результатам специальной оценки условий труда и оценки профессионального риска. В случае временного привлечения специалиста к выполнению определенных видов работы, требующих средств защиты, отличных от их обычного комплекта, ему может выдаваться дежурный комплект общего пользования (дежурные СИЗ). Дежурные СИЗ в этом случае закрепляются за рабочим местом и выдаются работнику. Приведены образец документа, утверждающего нормы выдачи СИЗ в организации, образец личной карточки учета выдачи СИЗ и выдачи дежурных СИЗ.

В отличие от ранее действовавшего приказа Минздравсоцразвития России от 01.06.2009 № 290н, согласно которому «работодатель должен обеспечивать работника СИЗ, руководствуясь типовыми отраслевыми нормами, нормами выдачи СИЗ для работников, профессии (должности) которых характерны для выполняемых работ», приказ Минтруда России от 31.10.2021 № 766н обязывает работодателя разработать локальный документ, устанавливающий «нормы бесплатной выдачи СИЗ и смывающих средств работникам организации». Локальный нормативный акт должен определять порядок обеспечения работников СИЗ, который включает: порядок выявления потребности, осуществления закупки, условия выдачи, эксплуатации, вывода из эксплуатации и утилизации, возможности изменения перечня выдачи и ряд других положений. В приказе Минздравсоцразвития России от 01.06.2009 № 290н не было требования обязательного наличия документа у работодателя по нормам выдачи СИЗ и смывающих средств. Перечень выдаваемых СИЗ был четко установлен и меняться он мог только в большую сторону и на основании результатов специаль-

ной оценки условий труда. Согласно действующим в настоящее время нормативам, устанавливается минимальный перечень в зависимости от должности, который не зависит от сферы деятельности организации. Дополнительные виды СИЗ выдаются в зависимости от рисков и опасностей на рабочем месте, выявленных по результатам специальной оценки условий труда и оценки профессиональных рисков [7]. Среди вновь введенных присутствует положение об учете срока эксплуатации СИЗ. Если раньше допускалось продление сроков эксплуатации, то по действующим НПА эти сроки не должны превышать. Работник должен возвращать работодателю СИЗ после окончания срока эксплуатации, при этом должен быть прописан порядок списания СИЗ с закончившимся сроком эксплуатации. Предусматривается необходимость изъятия из эксплуатации СИЗ, подвергшегося воздействию вредного или опасного производственного фактора или опасности, при этом предотвратив или снизив нанесение тяжелого вреда жизни или здоровью работника. Предусмотрена фиксация выдачи дежурных СИЗ в карточке учета выдачи дежурных СИЗ, изменена форма личной карточки выдачи СИЗ.

Приказом Минтруда России от 29.10.2021 № 767н утверждены «Единые типовые нормы выдачи средств индивидуальной защиты и смывающих средств» (ЕТН), включающие «Единые типовые нормы выдачи средств индивидуальной защиты по профессиям (должностям)» (около 5 тыс. наименований должностей), «Единые типовые нормы выдачи средств индивидуальной защиты в зависимости от идентифицированных опасностей», «Единые типовые нормы выдачи дерматологических средств индивидуальной защиты и смывающих средств». Документом в зависимости от профессии и от идентифицированных опасностей установлен перечень полагающихся работнику СИЗ и их количество. Нормы бесплатной выдачи средств индивидуальной защиты и смывающих средств устанавливаются и утверждаются локальным нормативным актом работодателя на основании Единых типовых норм выдачи средств индивидуальной защиты и смывающих средств с учетом результатов специальной оценки условий труда, результатов оценки профессиональных рисков, мнения выборного органа первичной профсоюзной организации или иного уполномоченного представительного органа работников (при наличии такого представительного органа) [8]. Работник, в свою очередь, обязан соблюдать правила эксплуатации СИЗ, своевременно возвращать СИЗ с истекшим сроком годности или утратившие защитную целостность до окончания срока эксплуатации. При отсутствии в перечне необходимого наименования должности следует выбирать нормы для наиболее подходящей/близкой должности. Обеспечение работников СИЗ согласно ЕТН становится обязательным с 1 января 2025 г.

Единые типовые нормы выдачи средств индивидуальной защиты представлены, в том числе, и в

отношении опасности воздействия биологического фактора (микроорганизмы, насекомые, паукообразные). Среди перечисленных в приказе, наиболее подвержены действию биологического фактора следующие профессии: врач-инфекционист, врач-эпидемиолог, помощник врача-эпидемиолога, врач-бактериолог, врач-вирусолог, врач-лабораторный миколог, врач-лаборант, лаборант-микробиолог, дезинфектор, медицинский дезинфектор, санитарка, инструктор-дезинфектор. Перечень СИЗ для данных должностей практически одинаковый, за исключением добавления перчаток и фартуков для дезинфекторов.

Следует отметить, что, в отличие от ранее действовавших, указанные приказы Минтруда России отражают современный подход к управлению охраной труда, основанный на оценке риска, а также к современной классификации СИЗ и основным требованиям, к ним предъявляемым.

Выбор СИЗ осуществляется работодателем посредством сопоставления информации, представленной в ЕТН, с данными о защитных свойствах и эксплуатационных характеристиках конкретных СИЗ, в соответствии с действующими документами о подтверждении соответствия, размещенными в Федеральной государственной информационной системе Федеральной службы по аккредитации, и (или) иными документами, действующими для данного вида продукции. СИЗ, выдаваемые работникам, должны соответствовать их полу, антропометрическим параметрам.

Одним из требований, предъявляемым к СИЗ, согласно трудовому законодательству и законодательству в области технического регулирования, является подтверждение соответствия. Базовым документом для подтверждения соответствия является Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 019/2011 «О безопасности средств индивидуальной защиты» (с изменениями на 28 мая 2019 г.), утвержденный Решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 г. № 878 (ТР ТС). Соответствие ТР ТС обеспечивается выполнением его требований безопасности непосредственно, а также путем использования стандартов, включенных в Перечень стандартов, в результате применения которых на добровольной основе обеспечивается соблюдение требований настоящего ТР ТС (Перечень международных и региональных (межгосударственных) стандартов, а в случае их отсутствия – национальных (государственных) стандартов, в результате применения которых на добровольной основе обеспечивается соблюдение требований технического регламента Таможенного союза «О безопасности средств индивидуальной защиты» (ТР ТС 019/2011) (с изменениями на 19 июля 2022 г.), утвержденный Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 3 марта 2020 г. № 30). Подтверждение соответствия СИЗ требованиям настоящего ТР ТС осуществляется в форме декларирования соответствия или обязательной сертификации. Технический

регламент устанавливает минимально необходимые требования, которые обеспечивают механическую, термическую, биологическую, химическую, электрическую и радиационную безопасность при обращении СИЗ в зависимости от класса СИЗ. В целях применения настоящего технического регламента под безопасностью СИЗ понимаются: отсутствие недопустимого воздействия на человека, обусловленного их использованием, в том числе воздействием материалов, из которых они изготовлены; обеспечение безопасности человека при воздействии на него вредных (опасных) факторов (в том числе биологических – микроорганизмы, насекомые) в процессе эксплуатации СИЗ; отсутствие недопустимого воздействия на окружающую среду. В документе перечислены типы СИЗ, на которые распространяется действие ТР, приведена классификация СИЗ и их комплектующих в зависимости от защитных свойств, указаны параметры санитарно-гигиенической безопасности материалов, из которых изготовлены СИЗ (допустимое количество миграции и предельно допустимая концентрация химических веществ).

Следует отметить, что действие настоящего ТР ТС не распространяется на виды СИЗ, требования к безопасности которых устанавливаются соответствующими законодательными и иными документами государства – члена Таможенного союза и соответствующими техническими регламентами Таможенного союза, и в частности, на специально разработанные СИЗ для использования в медицинских целях и в микробиологии, а также СИЗ, разработанные либо модифицированные для защиты от бактериологических (биологических) агентов, которые могут быть использованы в военных целях. Также в документе не выделены отдельные специальные требования к СИЗ, защищающим от действия вредных и опасных биологических факторов. Присутствует только указание на то, что на изолирующие костюмы, применяемые для защиты от биологических факторов, распространяются требования в отношении костюмов, изолирующих от химических факторов.

Перечень международных и региональных (межгосударственных) стандартов, национальных (государственных) стандартов, в результате применения которых на добровольной основе обеспечивается соблюдение требований ТР ТС включает в себя стандарты, содержащие общую и специальную классификацию СИЗ, технические условия, технические требования, требования к маркировке, методы определения защитных свойств в отношении различных вредных и опасных факторов. Однако среди них нет ни одного специального стандарта в отношении опасных биологических факторов. Подавляющая часть НПА в области стандартизации СИЗ не распространяется на средства, используемые в медицинских целях и в микробиологии.

Единственными действующими ГОСТами в РФ, касающимися СИЗ от микроорганизмов являются: ГОСТ 12.4.278-2014 (EN 374-1:2003, EN 374-2:2003,

EN 374-3:2003) «Межгосударственный стандарт. Система стандартов безопасности труда. Средства индивидуальной защиты рук. Перчатки, защищающие от химикатов и микроорганизмов. Общие технические требования. Методы испытаний»; ГОСТ 12.4.136-84 «Система стандартов безопасности труда. Средства индивидуальной защиты. Метод определения проницаемости микроорганизмами».

ГОСТ 12.4.136-84 распространяется на специальную одежду, средства защиты головы и рук и устанавливает метод определения проницаемости микроорганизмами (бактериями) швов соединения деталей, тканей и нетканых материалов.

На некоторые изделия, используемые в качестве защиты при проведении работ с патогенными биологическими агентами (ПБА) (например, перчатки медицинские, защитные халаты, шапочки, бахилы), обязательная декларация или сертификат соответствия не требуются, потому что продукция не является объектом регулирования в системе ТР ТС и постановления Правительства РФ от 23 декабря 2021 г. № 2425 «Об утверждении единого перечня продукции, подлежащей обязательной сертификации, и единого перечня продукции, подлежащей декларированию соответствия, внесении изменений в постановление Правительства Российской Федерации от 31 декабря 2020 г. № 2467 и признании утратившими силу некоторых актов Правительства Российской Федерации» (с изменениями и дополнениями). Товар используется в медицинских организациях, поэтому для его легального производства и сбыта проводится государственная регистрация. Процедура осуществляется уполномоченным государственным органом – Росздравнадзором. При ее проведении исследуются показатели безопасности изделий, их соответствие тем характеристикам, которые заявлены в эксплуатационной документации предпринимателя. Оценочные процедуры включают исследования товара в лаборатории с государственной аккредитацией. Осуществляется проверка тех свойств изделий, которые выбрал заявитель. Эталонами для сравнения являются нормативные показатели, которые прописаны в технической документации компании (ГОСТ, ТУ, СТО). При положительных итогах оценки заявителю выдается регистрационное удостоверение (РУ) на медицинское изделие (МИ).

На практике в РУ на МИ часто можно встретить подтверждение о санитарно-гигиенической безопасности изделия в отношении пользователя и окружающей среды, но не безопасности пользователя в отношении вредных и опасных факторов.

При отсутствии специальных требований ТР и ГОСТ в отношении оценки изделий на их эффективную защиту от действия опасных биологических факторов производители СИЗ для подтверждения соответствия, чаще защитной одежды (противочумные халаты, защитные комбинезоны, бахилы, шапочки, шлемы), в основном проводят оценку в соответствии с собственными Техническими условиями (ТУ) или оценку защитных свойств в отношении

механических загрязнений, химической опасности, либо проводят оценку соответствия не только ТР ТС «О безопасности средств индивидуальной защиты», но и ТР ТС 017/2011 «О безопасности продукции легкой промышленности».

В настоящее время на российском рынке производителями предлагается широкий диапазон изделий, позиционируемых в качестве защитных. Однако при отсутствии специальных требований ТР ТС и неприменимости для подтверждения соответствия специальных ГОСТов по оценке защитных свойств именно в отношении биологических факторов, отсутствии прозрачности в отношении ТУ производителей, возникает вопрос о потенциале надежности данных изделий при работе с ПБА.

При этом, например, существует европейский стандарт DIN EN 14126-2004 Protective clothing – Performance requirements and test methods for protective clothing against infective agents (Защитная одежда. Технические требования и методы испытания защитной одежды от возбудителей инфекции). Сертификация по EN 14126 включает четыре теста: ISO/DIS 22611 – устойчивость к проникновению биологически загрязненных аэрозолей, в качестве загрязнения используют золотистый стафилококк (размер частиц – до 1.0 µm); ISO 16604 – сопротивление проникновению вирусных патогенов, передающихся через кровь, с использованием бактериофага с размером частиц 0.027 µm; EN ISO 22610 – сопротивление проникновению загрязненных золотистым стафилококком жидкостей; ISO 22612 – сопротивление к загрязнению твердыми частицами, с использованием сенной палочки длиной 4–10 µm, диаметром 0.25–1.0. Предметы одежды, сертифицированные в соответствии со стандартом EN 14126, маркируются как соответствующие «типу 6» или «типу 3, 4» и к ним добавится суффикс «-b», а также пиктограммой «биологическая опасность». Тестируется проницаемость ткани [9, 10].

В условиях снижения поступления на отечественный рынок СИЗ европейских и иных производителей, проводящих оценку изделий согласно данным стандартам, внедрение подобных НПА в области стандартизации для подтверждения соответствия в России, а также их введение в Перечень ТР ТС значительно повлияло бы на снижение риска для персонала и населения при проведении работ с ПБА. Для пользователей спецодежды, защищающей от возбудителей особо опасных инфекций, применение для тестирования данного стандарта является жизненно важным. Следует отметить, что при оценке защитной одежды следует также уделять внимание проницаемости не только ткани, но и швов [1, 11, 12].

Согласно ЕТН, перечень СИЗ при воздействии биологического фактора (патогенные микроорганизмы) включает:

– одежду специальную изолирующую для защиты от химических факторов, в том числе применяемую для защиты от биологических факторов (микро-

организмов) – комбинезон ограниченного срока использования, количество определяется документами изготовителя;

– средства индивидуальной защиты рук для защиты от биологических факторов (микроорганизмов) – перчатки, 12 пар/год;

– средства индивидуальной защиты органов дыхания (СИЗОД) фильтрующего типа противоаэрозольные или средства индивидуальной защиты органов дыхания фильтрующего типа противогазоаэрозольные (комбинированные) – противоаэрозольные и противоаэрозольные с дополнительной защитой от газов и паров средства индивидуальной защиты органов дыхания с фильтрующей лицевой частью – фильтрующие полумаски (респиратор), изолирующие лицевые части (маски, полумаски, четвертьмаски) для средств индивидуальной защиты (используемые совместно со сменными фильтрами) (противогаз), количество определяется документами изготовителя.

Для профессий, перечисленных в приказе и наиболее подверженных действию биологического фактора, к СИЗОД противоаэрозольным и противоаэрозольным с дополнительной защитой от газов и паров с фильтрующей лицевой частью – фильтрующие полумаски и противоаэрозольным СИЗОД с лицевой частью из изолирующих материалов добавлена возможность использования СИЗОД с принудительной подачей воздуха, до износа. К изолирующей защитной одежде для защиты от химических факторов, в том числе применяемой для защиты от биологических факторов (микроорганизмов), добавлена одежда специальная для ограниченной защиты от токсичных веществ – 1 шт/год, костюм для защиты от общих производственных загрязнений – 2 шт/год или халат для защиты от общих производственных загрязнений – 2 шт/год. В качестве СИЗ для защиты ног установлено использование обуви специальной для защиты от общих производственных загрязнений, механических воздействий (истирания) и скольжения – 1 пара/год. Для защиты глаз установлено использование очков защитных от механических воздействий, в том числе с покрытием от запотевания – 1 пара/год.

Названия групп и изделий, определенных перечнем ЕТН, приводятся в соответствии с классификацией, установленной ТР ТС 019/2011 и различными ГОСТами, основными из которых являются ГОСТ 59123-2020 «Средства индивидуальной защиты. Общие требования и классификация», ГОСТ 12.4.103-2020 «Система стандартов безопасности труда. Одежда специальная защитная, средства индивидуальной защиты ног и рук. Классификация».

Таким образом, согласно ЕТН, при проведении работ с возбудителями инфекционных болезней применяются СИЗ от общих производственных загрязнений, механических воздействий, а также токсичных веществ, в отношении которых, как правило, установлены предельно допустимые нормы concentra-

ции (ПДК). Причем ПДК вещества является определяющим при выборе степени защиты того или иного СИЗ и/или СИЗОД [13].

Однако биологические факторы имеют свои специфические особенности, резко отличающие их от прочих опасных и вредных факторов производства и общепроизводственных загрязнений. Если в отношении изолирующих СИЗ имеется нормативно установленная ясность в возможности их применения в отношении защиты от опасных биологических факторов, то в отношении иных СИЗ работодатель, рассматривая ЕТН как базу для определения потребности в СИЗ при работе с возбудителями инфекционных болезней, скорее всего, будет испытывать затруднения в выборе СИЗ ввиду не только отсутствия прямого указания на возможность использования в отношении защиты от биологических факторов, но и различия по степени (классу) защиты и наличия множества модификаций исполнения.

Правилами обеспечения работников СИЗ и смысловыми средствами локальные нормы допускается разрабатывать также на основе иных документов, содержащих информацию о необходимости применения СИЗ.

Использование СИЗ при работе с ПБА в лабораторных условиях, в очагах инфекционных болезней при лечении, транспортировании больных и с подозрением на инфекционное заболевание, а также при патологоанатомическом исследовании трупов людей и животных, проведении полевых работ (отлов грызунов, сбор членистоногих, а также другие полевые работы с дикими позвоночными животными и членистоногими) регулируют СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Среди иных нормативно-методических документов РФ, упоминающих об использовании СИЗ в отношении возбудителей инфекционных болезней, рекомендуется использовать также приказ Минтруда от 18.12.2020 № 928н «Правила по охране труда в медицинских организациях» (ПОТ МО) [6].

Информацию о СИЗ для защиты от возбудителей инфекционных болезней также содержат некоторые методические рекомендации. Например, МР 3.5.1.0113-16 «Использование перчаток для профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в медицинских организациях», утвержденные Главным государственным санитарным врачом РФ 02.09.2016, содержат общие требования, предъявляемые к выбору и применению медицинских перчаток однократного применения для снижения риска возникновения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), и профессиональных заболеваний персонала медицинских организаций.

Кроме того, в период пандемии новой коронавирусной инфекции изданы рекомендации по выбору и использованию СИЗ, содержание которых также будет полезным для работодателя при разработке локальных норм, а именно методические рекомендации

МР 3.1.0252-21 «Изменения № 1 в МР 3.1.0229-21 «Рекомендации по организации противоэпидемических мероприятий в медицинских организациях, осуществляющих оказание медицинской помощи пациентам с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) (подозрением на заболевание) в стационарных условиях» (утв. Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 09.07.2021) и МР 3.1/3.5.0170/5-20 «Рекомендации по использованию и обработке защитной одежды и СИЗ при работе в контакте с больными COVID-19 (подозрительными на заболевание) либо при работе с биологическим материалом от таких пациентов» (утв. Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 09.04.2020). В документах Роспотребнадзор скорректировал рекомендации по использованию СИЗ работниками медицинских организаций при оказании помощи пациентам с COVID-19 в соответствии с риском проводимых работ. Представлена информация по техническим спецификациям защитной одежды и СИЗ, их использованию и обеззараживанию. Данные рекомендации вполне могут стать основой для определения потребности СИЗ при работе и с другими возбудителями особо опасных инфекций с аэрогенным механизмом передачи.

Особенностью проведения работ с ПБА является обязательное использование рабочей одежды и обуви (пижама (комбинезон), носки, закрытая обувь, медицинский халат), СИЗ надевают поверх рабочей одежды (пп. 233–234, 3466, 3469, приложение 3 СанПиН 3.3686-21).

Рабочая одежда для работ с ПБА является первичным элементом защиты персонала при нахождении в зоне потенциального воздействия опасных биологических факторов. Согласно законодательному определению, к СИЗ относят и специальную одежду. Однако рабочую одежду нельзя поставить в один ряд, например, с противочумным халатом или защитным комбинезоном, потому что она не обеспечит такой же уровень защиты. Кроме того, поверхность пижамы сама нуждается в защите. Так, ее использование, согласно СанПиН 3.3686-21, предназначено также для проведения работ на территории «заразной» зоны, не связанных с ПБА. Поэтому понятие «рабочая одежда для «заразной» зоны», на наш взгляд, не совсем подходит под определение СИЗ и применение ее при проведении работ с ПБА без использования дополнительных СИЗ является ошибкой.

Рабочая одежда – последний барьер на пути реализации риска и она используется вместе, но не вместо других способов управления рисками. До сих пор в документах встречается разночтение основных понятий: СИЗ, защитная одежда, спецодежда, санитарная одежда. Так, например, в разделе «Требования охраны труда при работе в инфекционных больницах (отделениях)» приказа Минтруда России от 18.12.2020 № 928н встречаются понятия «санитарная одежда», «спецодежда», «СИЗ».

Существует мнение, что санитарно-гигиеническая одежда – определение санитарного законодательства, спецодежда – норм трудового права и отличие санитарной одежды от СИЗ заключается в том, что СИЗ (в их числе спецодежда) выдаются для защиты от вредных и опасных производственных факторов, а санитарная одежда и санитарные принадлежности – для защиты от вредных биологических факторов (микроорганизмов), а также обеспечения санитарно-гигиенических мероприятий производственного процесса [14]. Однако по сути и то и другое защищают от вредных производственных факторов, и для тех, кто работает с возбудителями инфекционных заболеваний, биологический фактор формирует основной профессиональный риск. При этом использование СИЗ направлено и на обеспечение санитарно-гигиенических требований при оказании медицинской помощи [15].

Отсутствие единого подхода затрудняет единообразие в понимании и выполнении требований различных нормативных документов в плане обеспечения работников СИЗ и обеспечения биологической безопасности. Также неприемлемо надевать СИЗ поверх личной одежды. В соответствии с приказом Минтруда России от 29.10.2021 № 766н, СанПиН 3.3686-21, приказом от 18.12.2020 № 928н, персонал при приходе на работу меняет личные одежду и обувь на рабочие, а на рабочем месте носит предусмотренные СИЗ.

Понятие «рабочая одежда для проведения работ в «заразной» зоне» и ее количество для выдачи работнику определено в СанПиН 3686-21. В приложении № 1 приказа Министерства труда и социальной защиты Российской Федерации от 29.10.2021 № 767н для категорий профессий, связанных с потенциальным воздействием ПБА, в качестве одежды специальной защитной нормируется костюм для защиты от общих производственных загрязнений или халат для защиты от общих производственных загрязнений, а также обувь специальная для защиты от общих производственных загрязнений, механических воздействий (истирания) и скольжения. Количество выдаваемых комплектов в документах отличается: согласно СанПиН 3.3686-21 пижам – 3 комплекта, пар обуви – 2, халатов медицинских – 2, в то же время согласно приказу Минтруда России № 767н костюмов – 2, пар рабочей обуви – 1. Следует отметить, что СанПиН 3.3686-21 (п. 271) учитывает запас рабочей одежды и обуви на случай аварии при работе с ПБА.

Использование рабочей одежды «заразной» зоны запрещено в «чистой» зоне, обеззараживание и стирка рабочей одежды должны осуществляться по мере загрязнения.

Таким образом, наличие «аварийного» запаса, организация обеззараживания, стирки и сушки рабочей одежды в учреждении должны учитываться при определении количества приобретаемых и выдаваемых комплектов рабочей одежды и обуви.

В зависимости от опасности ПБА и опасности выполняемых работ СанПиН 3.3686-21 в качестве

СИЗ устанавливает использование одного из четырех типов противочумных костюмов (ПЧК) либо изолирующего средства индивидуальной защиты (ИСИЗ). Противочумный костюм – исторически сложившийся на территории России и постсоветского пространства термин, обозначающий определенные комплекты СИЗ (ПЧК I–IV типа), обеспечивающие различный уровень защиты работника и используемые при той или иной степени опасности проводимых работ с биологическими агентами I–IV групп патогенности. Различные типы ПЧК могут при необходимости дополняться СИЗ, не входящими в установленный комплект (тип ПЧК), но использование которых нацелено на повышение защиты. Состав четырех типов ПЧК установлен СанПиН 3.3686-21. В состав ПЧК входят:

- защитная одежда: противочумный халат, защитный комбинезон, большая противочумная косынка, малая косынка, шапочка, медицинский колпак, шлем или капюшон;

- СИЗ для защиты рук: одноразовые медицинские перчатки с удлиненными манжетами (хирургические), устойчивые к действию агрессивных химических веществ (дезинфектантов), при необходимости – использование перчаток с защитой от проколов и порезов; при работе в клинично-диагностических, бактериологических лабораториях, а также при обработке загрязненных медицинских инструментов и материалов используют нестерильные перчатки (п. 3489);

- СИЗ для защиты ног: резиновые или ПВХ-сапоги, галоши, бахилы;

- СИЗ органов дыхания: респираторы, противоаэрозольные фильтры в комплекте с полнолицевой или полумаской с фильтрами класса защиты РЗ;

- СИЗ для защиты глаз: герметичные очки.

Нормированы специальные требования к исполнению противочумного халата.

При работе с ПБА III–IV групп допускается использование халата хирургического или с аналогичными характеристиками, при выполнении определенных манипуляций с ПБА III–IV групп (приготовление суспензий, органов, заражении животных, при работе с кровью и возбудителями инфекционных болезней с аэрогенным механизмом передачи) используют респиратор класса защиты FFP2, для защиты глаз – защитный щиток или очки (пп. 316, 337 СанПиН 3.3686-21).

Для проведения работ в максимально изолированных лабораториях регламентировано использование ИСИЗ, пневмокостюмов.

Таким образом, СанПиН 3.3686-21 уточняет ЕТН в отношении класса защиты СИЗОД, модификации защитной одежды (халат по типу хирургического, противочумный халат, комбинезон), модификации защитной обуви (сапоги резиновые или ПВХ, галоши, высокие водонепроницаемые бахилы), использования защитного щитка или герметичных очков, использования перчаток в зависимости от опасности ПБА и проводимых работ с его использованием.

СанПиН 3.3686-21 не устанавливает количество выдаваемых СИЗ, но регламентирует, что персонал должен быть обеспечен СИЗ в необходимом количестве в зависимости от профиля отделения и характера проводимой работы (п. 3469), а также, что предпочтение отдают средствам защиты однократного применения (п. 3466).

Рассматривая количественные нормы выдачи ЕТН, отметим, что в целом они соответствуют данному СанПиН за исключением выдачи перчаток (12 пар/год). Если относить данное требование к медицинским перчаткам, то в настоящем они предназначены для одноразового использования и утилизируются после выполнения работ с возбудителями инфекционных болезней как медицинские отходы соответствующего класса опасности (Б или В). Повторное использование одноразовых перчаток и их обеззараживание (стерилизация) недопустимы, так как они деформируются и теряют свои защитные свойства.

Таким образом, рассмотрены основные документы, регулирующие обеспечение СИЗ при воздействии опасных биологических факторов – патогенных микроорганизмов, возбудителей инфекционных болезней.

Проведенный анализ правовых, нормативных и методических документов, касающихся снабжения средствами индивидуальной защиты, рабочей одеждой, обувью работников, осуществляющих деятельность с возбудителями инфекционных болезней в РФ, показал, что в настоящее время обеспечение СИЗ и режим их эксплуатации определяются работодателем на основе потенциальных опасностей проводимых работ и оценки профессионального риска. Согласно существующему законодательству, работодатель должен разработать локальный (объектовый) документ, определяющий порядок приобретения и выдачи СИЗ определенного количества и качества, учета, хранения, вывода из эксплуатации, утилизации выданных СИЗ.

Выдача СИЗ при работе с опасными биологическими факторами – возбудителями инфекционных болезней – определяется нормативами в сфере охраны труда, технического регулирования, биологической безопасности и оказания медицинской помощи.

Изучение документов показало, что в вопросах обеспечения СИЗ при проведении работ с возбудителями инфекционных болезней тесно переплетаются требования охраны труда и обеспечения биологической безопасности. Поэтому возникают проблемы применимости отдельных положений действующих нормативов в сфере охраны труда и технического регулирования, касающихся СИЗ. Среди них:

- расхождения в терминологии в документах, утверждаемых различными органами исполнительной власти;

- необходимость уточнения количественных норм выдачи некоторых СИЗ в зависимости от особенностей рабочего процесса и требований биологической безопасности;

– подтверждение защитной эффективности СИЗ в отношении биологического фактора;

– определение предпочтений в выборе СИЗ от воздействия ПБА в зависимости от свойств конкретного изделия, его конструктивных особенностей, модификации, направленных на снижение риска для персонала, населения и окружающей среды;

– выделение понятия «рабочая одежда» при выполнении работ с возбудителями инфекционных болезней.

Решение перечисленных вопросов лежит в развитии нормирования и методического обеспечения биологической безопасности.

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. Дроздов С.Г., Гарин Н.С., Джиндоян Л.С., Тарасенко В.М. Основы техники безопасности в микробиологических и вирусологических лабораториях. М.: Медицина; 1987. 256 с.
2. Laboratory Biosafety Manual. Fourth Edition. Geneva: World Health Organization; 2020. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240011311>.
3. Meehan P.J., Potts J. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 6th Edition. 2020. CDC. [Электронный ресурс]. URL: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/97733>.
4. Canadian Biosafety Standard. Third Edition. 2022. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/canadian-biosafety-standards-guidelines/third-edition.html>.
5. National infection prevention and control manual (NIPCM) for England. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.england.nhs.uk/national-infection-prevention-and-control-manual-nipcm-for-england/>.
6. Котов В.И. Обеспечение работников СИЗ: ЕТН вместо ТОН, риск-ориентированный подход вместо списочного. *Санэпидконтроль. Охрана труда*. 2022; 1. [Электронный ресурс]. URL: https://www.profiz.ru/sec/1_2022/obespechenie_siz/.
7. Пуриков Д.Е., Жерноклеева Д.М., Кочнева Л.В., Ситдикова С.В. Особенности обеспечения работников средствами индивидуальной защиты при изменении законодательства. В кн.: Уральская горная школа регионам: Материалы научно-практической конференции (10 апреля 2023 г., Екатеринбург). Екатеринбург: Уральский гос. горный ун-т; 2023. С. 377–8.
8. Батыгин А.И., Симак Н.Н. Характеристика и условия обеспечения работающих дерматологическими средствами защиты. В кн.: Ефимов А.В., Монастырская Т.И. Общество. Наука. Образование: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Новосибирск: Сибирский гос. ун-т телекоммуникаций и информатики; 2023. С. 49–55.
9. Понимание и сложности в стандарте EN 14126. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.lakel.ru/ponimanie-standarta-en-14126/>.
10. Российский институт стандартизации. DIN EN 14126-2004. Защитная одежда. Технические требования и методы испытания защитной одежды от возбудителей инфекции. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.gostinfo.ru/catalog/Details/?id=4058604>.
11. Фатхутдинов Р.Х., Жилиев Г.Г., Моисеенко С.К. Анализ состояния отечественных методик испытаний защитных материалов и комплектов СИЗ на их основе. *Проблемы безопасности и чрезвычайных ситуаций*. 2008; 5:98–116.
12. Буянов В.В., Супрун И.П. Средства индивидуальной защиты для работ в микробиологических и вирусологических лабораториях. Черноголовка: ИПХФ РАН; 2001. 323 с.
13. Гордеева М.В., Ляпин М.Н., Костюкова Т.А. Средства защиты органов дыхания при работе с возбудителями инфекционных болезней. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 4:6–16. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-6-16.

14. Ильин С.М., Самарская Н.А., Симанович С.В. К вопросу о санитарной одежде как средстве индивидуальной защиты. *Экономика труда*. 2022; 9(11):1957–70.

15. Вершинская М.О. Защитная и санитарная одежда для медиков: 10 особенностей и ЛНА. *Санэпидконтроль. Охрана труда*. 2023; 5. [Электронный ресурс]. URL: https://www.profiz.ru/sec/5_2023/siz_v_medizine/.

References

1. Drozdov S.G., Garin N.S., Dzhindoyan L.S., Tarasenko V.M. [Fundamentals of Safety in Microbiological and Virological Laboratories]. Moscow: Medicine; 1987. 256 p.
2. Laboratory Biosafety Manual. Fourth Edition. Geneva: World Health Organization; 2020. [Internet]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240011311>.
3. Meehan P.J., Potts J. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 6th Edition. 2020. CDC. [Internet]. Available from: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/97733>.
4. Canadian Biosafety Standard. Third Edition. 2022. [Internet]. Available from: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/canadian-biosafety-standards-guidelines/third-edition.html>.
5. National infection prevention and control manual (NIPCM) for England. [Internet]. Available from: <https://www.england.nhs.uk/national-infection-prevention-and-control-manual-nipcm-for-england/>.
6. Kotov V.I. [Providing workers with PPE: Uniform standard norms (USN) instead of standard industry norms (SIN), risk-oriented approach instead of schedule one]. *Sanitary and Epidemiological Control. Labor Protection*. 2022; (1). [Internet]. Available from: https://www.profiz.ru/sec/1_2022/obespechenie_siz/.
7. Purikov D.E., Zhernokleeva D.M., Kochneva L.V., Sitdikova S.V. [Features of providing workers with personal protective equipment when legislation changes]. In: [Ural Mining School to the Regions: Proceedings of the Scientific and Practical Conference (April 10, 2023, Yekaterinburg)]. Yekaterinburg: Ural State Mining University; 2023. P. 377–8.
8. Batygin A.I., Simakova N.N. [Characteristics and conditions for providing workers with dermatological protective equipment]. In: Efimov A.V., Monastyrskaya T.I. [Society. Science. Education: Proceedings of the All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation]. Novosibirsk: Siberian State University of Telecommunications and Informatics; 2023. P. 49–55.
9. [Understanding and Complexities of EN 14126]. [Internet]. Available from: <https://www.lakel.ru/ponimanie-standarta-en-14126/>.
10. [Russian Institute for Standardization. DIN EN 14126-2004. Protective Clothing. Technical Requirements and Test Methods for Protective Clothing against Infectious Agents]. [Internet]. Available from: <https://www.gostinfo.ru/catalog/Details/?id=4058604>.
11. Fatkhutdinov R.Kh., Zhilyaev G.G., Moiseenko S.K. [Analysis of the State of Domestic Testing Methods for Protective Materials and PPE Kits Based on Them]. *Problemy Bezopasnosti i Chrezvychaynykh Situatsii [Problems of Safety and Emergencies]*. 2008; (5):98–116.
12. Buyanov V.V., Suprun I.P. [Personal Protective Equipment for Work in Microbiological and Virological Laboratories]. Chernogolovka: RAS Institute of Problems of Chemical Physics; 2001. 323 p.
13. Gordeeva M.V., Lyapin M.N., Kostyukova T.A. [Means of respiratory organs protection for work with agents of infectious diseases]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (4):6–16. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-6-16.
14. Ilyin S. M., Samarskaya N. A., Simanovich S. V. [On the issue of sanitary clothing as means of personal protection]. *Ekonomika Truda [Labor Economics]*. 2022; 9(11):1957–70.
15. Vershinskaya M.O. [Protective and sanitary clothing for medical officers: 10 features and local regulatory acts]. *Sanepidkontrol'. Okhrana Truda [Sanitary and Epidemiological Control. Labor Protection]*. 2023; (5). [Internet]. Available from: https://www.profiz.ru/sec/5_2023/siz_v_medizine/.

Authors:

Kostyukova T.A., Gordeeva M.V., Lyapin M.N., Devdariani Z.L., Zadnova S.P. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Костюкова Т.А., Гордеева М.В., Ляпин М.Н., Девдариани З.Л., Заднова С.П. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-24-34

УДК 599.32:616.9

Ш.В. Магеррамов¹, А.Н. Матросов¹, А.А. Кузнецов¹, Т.А. Бочарникова², Г.В. Лиджи-Гаряева³,
Н.В. Попов¹, Я.А. Нейштадт¹, А.К. Гражданов¹, Д.М. Бамматов², Е.В. Куклев¹,
А.В. Бойко¹, В.П. Топорков¹

Оценка многолетней динамики численности малого суслика в степных очагах чумы Северного и Северо-Западного Прикаспия

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

²ФКУЗ «Астраханская противочумная станция», Астрахань, Российская Федерация;

³ФКУЗ «Элистинская противочумная станция», Элиста, Российская Федерация

В обзоре представлены результаты изучения популяции малого суслика – основного носителя возбудителя чумы – на территории очагов Северного и Северо-Западного Прикаспия. Рассматривается влияние различных факторов на динамику численности этого вида в Прикаспийском Северо-Западном и Волго-Уральском степных природных очагах чумы. Статистически обработаны и проанализированы данные ежегодного учета плотности малого суслика, показатели интенсивности размножения вида, среднемесячные показатели температуры воздуха по метеостанциям г. Элисты за период 1960–2024 гг., а также г. Харабали за период 1940–2024 гг. Подчеркивается, что динамика численности вида определяется целым комплексом природных и антропогенных факторов. Вместе с тем в условиях полупустыни для малого суслика лимитирующим является распределение температуры воздуха и осадков по сезонам и годам. Проанализировано воздействие температур в январе – феврале, провоцирующих выход малого суслика на поверхность при пробуждении от зимней спячки. Отмечается, что основной причиной снижения численности основного носителя чумы в глинистой полупустыне являются не абсолютные зимние температуры, а чередование теплых и холодных периодов в эти месяцы. Поэтому, если температуры января и февраля близки друг к другу, последствия повышения температуры могут иметь разный характер. Негативное влияние повышения зимних температур на физическое состояние животных проявляется в основном в те годы, когда январь «теплый», а февраль «холодный» или когда теплые и холодные периоды чередуются в течение месяца. При чередовании теплых и холодных периодов рано проснувшиеся грызуны гибнут в большом количестве из-за недостатка корма и холода.

Ключевые слова: малый суслик, показатели численности, потепление климата, Прикаспийский Северо-Западный степной очаг чумы, Волго-Уральский степной очаг чумы, антропогенный фактор.

Корреспондирующий автор: Магеррамов Шамиль Валехович, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Магеррамов Ш.В., Матросов А.Н., Кузнецов А.А., Бочарникова Т.А., Лиджи-Гаряева Г.В., Попов Н.В., Нейштадт Я.А., Гражданов А.К., Бамматов Д.М., Куклев Е.В., Бойко А.В., Топорков В.П. Оценка многолетней динамики численности малого суслика в степных очагах чумы Северного и Северо-Западного Прикаспия. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:24–34. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-24-34

Поступила 29.10.2024. Отправлена на доработку 11.11.2024. Принята к публ. 21.11.2024.

Sh.V. Magerramov¹, A.N. Matrosov¹, A.A. Kuznetsov¹, T.A. Bocharnikova², G.V. Lidzhi-Garyaeva³,
N.V. Popov¹, Ya.A. Neishtadt¹, A.K. Grazhdanov¹, D.M. Bammатов², E.V. Kuklev¹, A.V. Boiko¹,
V.P. Toporkov¹

Assessment of Long-Term Dynamics of the Little Souslik Abundance in the Steppe Plague Foci of the Northern and Northwestern Caspian Sea Region

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

²Astrakhan Plague Control Station, Astrakhan, Russian Federation;

³Elista Plague Control Station, Elista, Russian Federation

Abstract. The review presents the results of a study of the little souslik population, the main carrier of the plague pathogen, in the foci of the Northern and Northwestern Caspian Sea region. The influence of various factors on the abundance dynamics of this species in the Caspian Northwestern and Volga-Ural steppe natural plague foci is considered. The data of the annual density census of little souslik, the rates of species reproduction, and the average monthly air temperature at the weather stations of Elista for the period of 1960–2024 and Kharabali for the period of 1940–2024 are statistically processed and analyzed. It is emphasized that the population dynamics of the species is determined by a whole range of natural and anthropogenic factors. At the same time, in semi-desert conditions, the distribution of air temperature and precipitation by seasons and years is limiting for little souslik. The effect of temperatures in January and February, which provoke the animal to leave the burrows upon awakening from hibernation, is analyzed. It is noted that the main reason for the decrease in the number of the main plague carrier in the clay semi-desert is not absolute winter temperatures, but the alternation of warm and cold periods during these months. Therefore, if the temperatures of January and February are alike, the consequences of an increase in temperature can be of a different nature. The negative effect of an increase in winter temperatures on the physical condition of animals is manifested mainly in those years when January is “warm”, February is “cold” or when warm and cold periods alternate during the month. When warm and cold periods alternate, early awakened rodents die in large numbers due to lack of food and chills.

Key words: little souslik, abundance indicators, climate warming, Precaspian North-Western steppe plague focus, Volga-Ural steppe plague focus, anthropogenic factor.

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

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

Corresponding author: Shamil V. Magerramov, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Magerramov Sh.V., Matrosov A.N., Kuznetsov A.A., Bocharnikova T.A., Lidzhi-Garyaeva G.V., Popov N.V., Neishtadt Ya.A., Grazhdanov A.K., Bammatov D.M., Kuklev E.V., Boiko A.V., Toporkov V.P. Assessment of Long-Term Dynamics of the Little Souslik Abundance in the Steppe Plague Foci of the Northern and Northwestern Caspian Sea Region. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2024; 4:24–34. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-24-34

Received 29.10.2024. Revised 11.11.2024. Accepted 21.11.2024.

Magerramov Sh.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2578-1558>
 Matrosov A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4893-7188>
 Kuznetsov A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0677-4846>
 Lidzhi-Garyaeva G.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1727-2689>
 Popov N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4099-9261>

Neishtadt Ya.A., ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-9249-2396>
 Grazhdanov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0022-9521>
 Kuklev E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9686-9020>
 Boiko A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9576-4959>
 Toporkov V.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9512-7415>

Малый суслик *Spermophilus pygmaeus* (Pallas, 1778) в XIX–XX столетиях был широко распространен в равнинных и низкогорных сухих степях и полупустынях Приднепровья, Предкавказья, Нижнего Поволжья, Волго-Уральского междуречья, Зауралья, Приаралья, на востоке достигая пустыни Бетпак-Дала [1].

На территории Северного и Северо-Западного Прикаспия в границах Прикаспийской низменности выделяют четыре природных очага чумы: Прикаспийский Северо-Западный степной, Волго-Уральский степной, Прикаспийский песчаный и Волго-Уральский песчаный [2]. В двух из них (Северо-Западный степной, Волго-Уральский степной) малый суслик является основным носителем чумного микроба (рис. 1). В последние 30–50 лет смена климата и интенсивная антропогенная трансформация ландшафтов Северного и Северо-Западного Прикаспия существенно изменили биоценотическую структуру степных и полупустынных комплексов. В ряде районов под влиянием ирригации произошло их преобразование в типичные агроценозы. На территориях с легкими супесчаными и песчаными почвами (южные районы Прикаспийской низменности, Ногайская степь) под влиянием перевыпаса и распашек широкое распространение получила ветровая эрозия, радикально изменившая природные комплексы, что привело к исчезновению по-

селений малого суслика на обширных территориях, вовлеченных в сферу интенсивной хозяйственной деятельности (распашка, орошение и др.), и способствовало формированию островных, мозаичных поселений этого грызуна [3–4]. В последние годы в результате потепления климата и антропогенного прессы численность его существенно сократилась [5–7].

Цель работы – оценка современного состояния популяций основного носителя чумы – малого суслика – на территории Прикаспийского Северо-Западного и Волго-Уральского степных природных очагов чумы в сравнении с ретроспективными данными.

Изучение малого суслика основано на данных полевых и лабораторных исследований, проведенных сотрудниками противочумных учреждений Российской Федерации в 1940–2024 гг. на территории двух очагов: Прикаспийского Северо-Западного степного очага чумы в административных границах Республики Калмыкия – Целинный, Сарпинский, Мало-Дербетовский, Кетченеровский, Ики-Бурульский, Приютненский, Яшалтинский, Городовиковский, Черноземельский и Яшкульский районы; Ростовской области – Заветинский и Ремонтненский районы; а также Волго-Уральского степного очага чумы в административных границах Харабалинского и Ахтубинского районов Астраханской области, Ленинского, Палласовского, Быковского и Николаевского районов

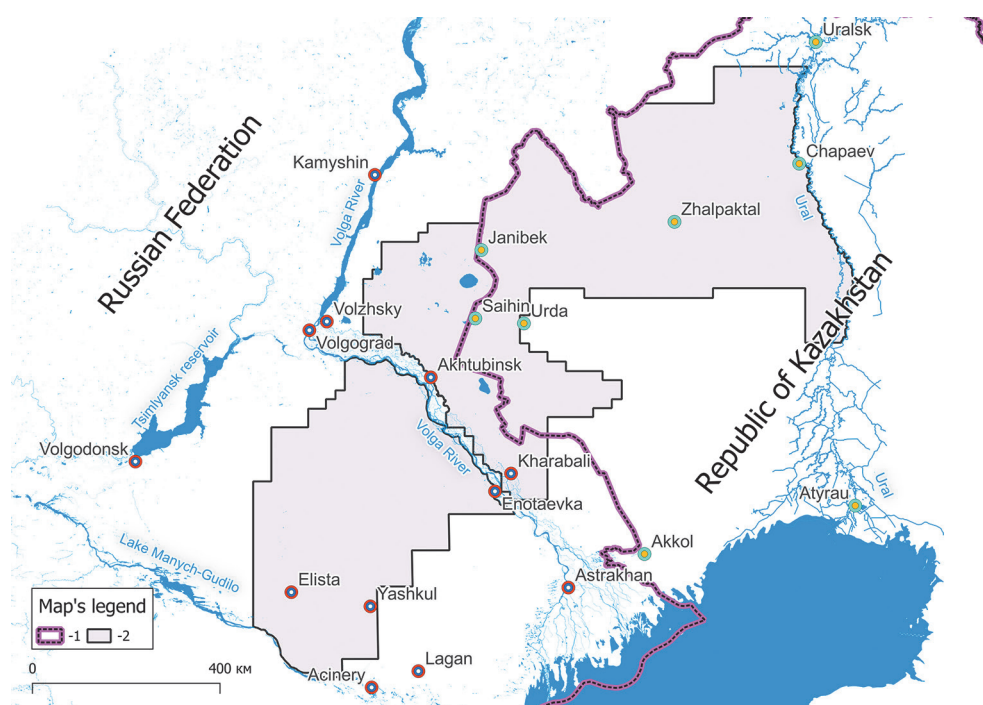


Рис. 1. Современные границы Северо-Западного и Волго-Уральского степных природных очагов чумы на территории Российской Федерации и Республики Казахстан:

1 – государственная граница; 2 – границы очагов

Fig. 1. Current boundaries of the North-Western and Volga-Ural steppe natural plague foci on the territory of the Russian Federation and the Republic of Kazakhstan:

1 – state border; 2 – boundaries of foci

Волгоградской области. В работе использованы литературные источники, архивные данные и оперативные материалы противочумных учреждений Роспотребнадзора: ФКУН Российский противочумный институт «Микроб», ФКУЗ «Элистинская противочумная станция» и ФКУЗ «Астраханская противочумная станция».

За указанный период было собрано и исследовано в лабораториях противочумных подразделений более 500 тыс. экземпляров малого суслика. При эпизоотологическом обследовании плотность пунктов отбора полевых проб в среднем за год составляла 5 точек на 100 км². В течение года обследовалось от 80 до 200 пунктов забора материала. С учетом характера распространения вида на территории очага пробы в 1940–1999 гг. располагались более или менее равномерно, в 2000–2024 гг. обследовались только территории с оставшимися поселениями сусликов.

Учеты численности малого суслика проводились общепринятыми капкано-площадочным или маршрутным методами при подсчете плотности зверьков на 1 гектар (Методические рекомендации МР 3.1.0211-20 «Отлов, учет и прогноз численности мелких млекопитающих и птиц в природных очагах инфекционных болезней»). В первые две недели после пробуждения от зимней спячки численность малого суслика оценивали по числу вертикальных нор-веснянок, в апреле – мае – при вылове зверьков капканами на открывшихся после прикопки входах нор [8–10]. Визуальные наблюдения за выходом сусликов из зимней спячки проводили на стационарных участках с января по март, за залеганием разных возрастных групп в летний период – в мае – июле.

Для анализа интенсивности размножения малого суслика использованы материалы, полученные при лабораторном исследовании зверьков на территории Элистинской и Астраханской противочумных станций. При вскрытии зверьков определялись их пол и возраст, у самок – генеративное состояние [11]. Обработаны и проанализированы метеорологические данные по метеостанциям г. Элисты (международный код метеостанции: 34861, <http://www.pogodaiklimat.ru/history/34861.htm>), г. Харабали (международный код метеостанции: 34687, <http://www.pogodaiklimat.ru/history/34687.htm>). С учетом глобального потепления климата и экологии малого суслика основное внимание обращали на температурные условия последних 24 лет. Наиболее значительный рост температур воздуха отмечался в зимний холодный период года, в то время как в период бодрствования популяции – с марта по август – большого отличия температур от средних многолетних уровней не наблюдалось.

Статистически обработаны и проанализированы данные ежегодного учета численности малого суслика, среднемесячные показатели температуры воздуха за 1940–2024 гг., показатели интенсивности размножения (ПИР). Последний представляет собой число эмбрионов на 100 половозрелых самок в по-

пуляции. Для его подсчета у полиэстральных видов грызунов определяют долю самок (в %), участвующих в размножении (сумма беременных и кормящих), перемножая на среднее количество эмбрионов у одной самки.

В качестве индикаторного показателя, определяющего степень неблагоприятного воздействия климатических факторов на состояние популяции малого суслика, использован суммарный показатель средней температуры воздуха января – февраля в указанный период. Для показателей плотности малого суслика, среднемесячных температур воздуха определялись среднее многолетнее значение и стандартная ошибка средней арифметической ($M \pm m$). Для выявления линии тренда многолетней динамики численности малого суслика использована полиномиальная аппроксимация [7].

Прикаспийский Северо-Западный степной очаг (14). В настоящее время контуры Прикаспийского Северо-Западного степного очага в основном совпадают с ареалом малого суслика, характеризующимся более или менее диффузным размещением кружева поселений с динамичной пространственной структурой. В современных границах очаг располагается на правобережье р. Волги, занимая Сарпинскую низменность с ложиной Даван, Ергенинскую возвышенность, Приволжские степи. Административно большая часть его территории принадлежит Республике Калмыкия (79,6 %), меньшая – Астраханской области (13,7 %) с незначительным охватом районов Волгоградской (0,1 %) и Ростовской (6,6 %) областей. Общая площадь очага составляет 51 152 км², площадь с эпизоотиями за весь период наблюдений – 23,7 % [12].

Специфическими эктопаразитами основного носителя, малого суслика, являются блохи – *Neopsylla setosa* (Wagner, 1898), *Citellophilus tesquorum* (Wagner, 1898), *Frontopsylla semura* (Wagner et Ioff, 1926) [2]. Поселения сусликов распределены неравномерно, численность зверьков в современный период низкая (рис. 2). В очаге циркулировали высоковирулентные штаммы чумного микроба *Yersinia pestis pestis*.

Очаг ранее характеризовался высокой эпидемической активностью. Эпизоотии регистрировались с 1913 г. Участки стойкой очаговости приурочены к ландшафтно-экологическому району Ергени. С 1913 по 1938 г. возбудителя чумы выделяли почти ежегодно. Затем после 35-летнего перерыва эпизоотии вновь выявляли в 1972–1973, 1986–1990 гг. [13]. С 1991 г. Прикаспийский Северо-Западный степной очаг находится в состоянии межэпизоотического периода. Ранее эпизоотическая активность отмечалась в мае-июне. Эпизоотии зарегистрированы на 24 % территории очага. Эпидемические проявления отмечались с 1878 по 1935 г. За этот период в 193 пунктах выявлен 1441 больной, заболевания которых были связаны с заражением в степи (охота, сельхозработы). В 19 пунктах заболевания чумой 174 человек были обусловлены заносом с других территорий [2].

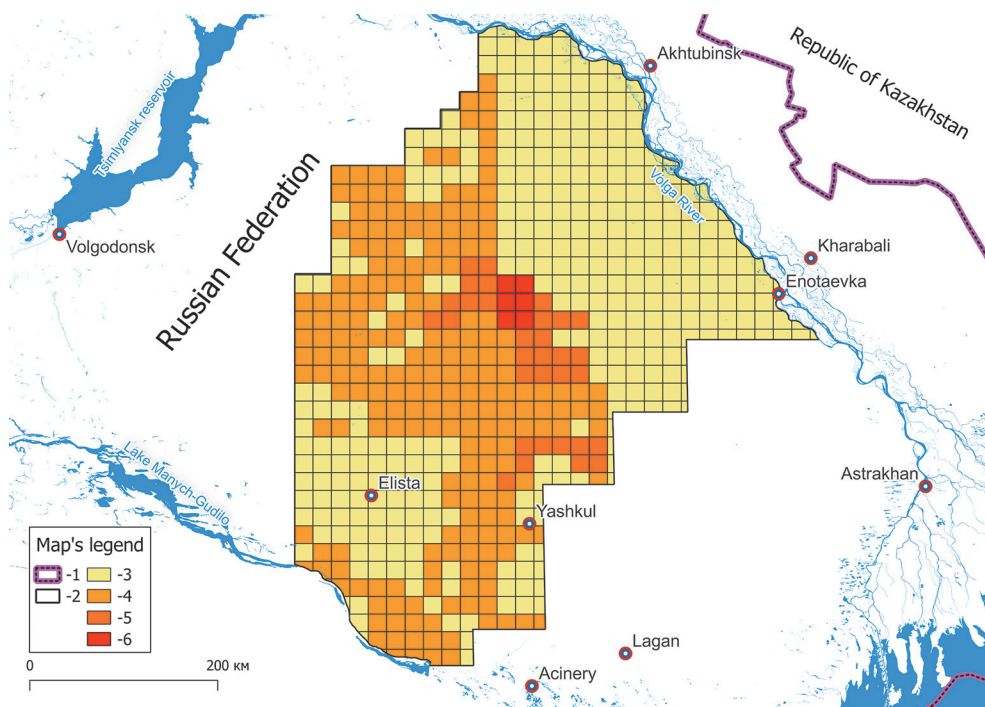


Рис. 2. Численность малого суслика в Прикаспийском Северо-Западном степном природном очаге чумы на территории Российской Федерации в 2000–2024 гг.:

1 – государственная граница; 2 – граница очага; 3 – плотность малого суслика 0–1,0 особи на 1 га; 4 – 1,1–5,0 особи на 1 га; 5 – 5,1–10,0 особи на 1 га; 6 – выше 10 особей на 1 га

Fig. 2. The number of little souslik in the Caspian North-Western steppe natural plague focus on the territory of the Russian Federation in 2000–2024:

1 – state border; 2 – focus boundary; 3 – little souslik density 0–1.0 specimens per 1 ha; 4 – 1.1–5.0 specimens per 1 ha; 5 – 5.1–10.0 specimens per 1 ha; 6 – more than 10 specimens per 1 ha

Согласно литературным данным, первое появление сусликов в Ростовской области отмечено в окрестностях сел Заветное, Федосеевка, Кичкино в конце XIX в. [14], в Ремонтненском районе – в 1908–1909 гг., а в окрестностях Зимовников – в 1919–1920 гг. [15]. В Ставропольском крае первые суслики появились в Туркменском и Благодарненском районах в 1882 г., Дивенском и Аргинском – в 1882 г., Дивенском и Арзгирском – в 1895 г., Буденновском районе – в 1910–1913 гг., Петровском и Благодарненском – в 1912 г., Александровском районе – в 1921 г. [16, 17].

Резкое расширение границ ареала малого суслика на северо-запад, запад и юго-запад с конца XIX в. подтверждается не только литературными данными, но и определенной последовательностью смены возрастных групп его поселений [18–20]. В начале XX в. территория, расположенная между реками Дон и Волга была особенно плотно заселена сусликами, так как здесь имелся оптимум экологических условий для их существования [21]. Увеличение численности и расселение малого суслика привели к значительному расширению границ очаговой по чуме территории и явились причиной эпидемических проявлений этой инфекции в регионе в 20–30-х гг. XX в.

В последующем численность малого суслика в очаге была подвержена колебаниям, вызванным климатическими факторами и антропогенным воздействием, обусловленным распахиванием целинных земель, строительством гидросооружений, беспрецедентными мерами борьбы с основным носителем чумы и вредителями сельхозкультур на полях.

В XX столетии первые признаки развития многолетней депрессии численности малого суслика в Северо-Западном Прикаспии зарегистрированы в 1946 г. [6]. Так, в период 1946–1964 гг. средние

значения фоновой плотности сусликов сократилась здесь почти в три раза, достигнув в 1963 г. 7,9 особи на 1 га. Одной из основных причин этой глубокой депрессии численности сусликов в этот период явились систематически повторявшиеся суровые бесснежные зимы, резкие колебания температур в периоды пробуждения и гона сусликов, вызывавшие нарушение прохождения основных фаз их жизнедеятельности, а также дефицит осадков в весенне-летние месяцы, сказывающийся на кормообеспеченности и, следовательно, упитанности зверьков. В отдельные годы (1947, 1949, 1951–1952, 1956–1957, 1959 и 1963 гг.) этого неблагоприятного для малых сусликов периода зарегистрирована крайне низкая интенсивность размножения зверьков, а также высокий уровень смертности молодняка в весенние месяцы. Важно отметить, что аналогичная ситуация в этот период имела место на территории всего ареала этого вида в Прикаспии: Волго-Кумского, Терско-Кумского, Калаусско-Кумского, Волго-Уральского и Урало-Эмбинского междуречий. На территориях равномерных ранее поселений сусликов в полупустынных и пустынных ландшафтах вымершие их поселения стали обычным явлением. К концу этого периода наиболее жизнеспособные популяции сусликов сохранились в западных и северных районах Прикаспийского Северо-Западного степного очага чумы, в первую очередь в балочных системах Ергенинской возвышенности и на территории Сарпинской низменности [22]. В частности, в 1946–1955 гг. на Ергенях (в пределах восточной части Ростовской области и Калмыкии) площади, занятые поселениями сусликов с плотностью от 11 до 30 особей на 1 га, составляли до 52–90 %. Вплоть до 1949 г. в центральной и северной частях Ергеней сохранялись плотности от 20 до 80 особей

на 1 га; в западной – до 65 особей на 1 га. Однако к 1950 г. фоновые показатели плотности зверьков и на Ергенинской возвышенности снизились до 20 особей на 1 га, в 1952 г. – до 13, а в 1957–1959 гг. достигли своих минимальных показателей – до 10 особей на 1 га [6, 22].

По мере стабилизации погодных и кормовых условий обитания сусликов в 60-х гг. XX столетия численность зверьков стала вновь постепенно повышаться, и в конце 60-х – начале 70-х гг. плотность сусликов в оптимальных местах вновь достигла очень высокого уровня (рис. 3) [22]. Этот подъем численности малого суслика, по всей видимости, способствовал началу нового периода активности Прикаспийского Северо-Западного степного очага. В 1972–1973 гг. эпизоотии чумы среди сусликов зарегистрированы на территории Ергенинской возвышенности и в Сарпинской низменности [22].

Однако беспрецедентная по своим масштабам весенне-летняя засуха 1975 г. крайне отрицательно сказалась на популяции сусликов, обусловив значительный спад показателей их фоновой численности. В 1975 г., по сравнению с 1972 г., на Ергенях площади с высокой плотностью сусликов (более 10 особей на 1 га) сократились почти в 5 раз. На территории Прикаспийской низменности снижение численности сусликов носило еще более катастрофический характер – в ложине Даван плотность их популяции сократилась примерно в 8 раз; на Черных землях – более чем в 10 раз [22]. В последующие 80–90-е гг. XX столетия на фоне роста увлажненности региона и повышения температуры зимних месяцев популяции малого суслика в регионе Северо-Западного Прикаспия так и не вышли из состояния глубокой депрессии. Начавшаяся в 1980 г. очередная многолетняя депрессия численности малого суслика фактически предопределила последующую низкую эпизоотическую активность Прикаспийского Северо-Западного очага, в том числе и установление здесь нового меж-эпизоотического периода с 1991 г. В 1986–1990 гг. зарегистрированы единичные проявления чумы: на Черных землях – в 1986 г. (п. Гашунский), в 1988 г. (п. Эрдниевский и Кировский); в ложине Даван – в 1990 г. (п. Сарпа) [2, 6, 22].

Необходимо отметить, что в последующие 1990–2000 гг. популяции малого суслика на Ергенинской возвышенности также не вышли из состояния глубокой депрессии – фоновая плотность зверьков к 2000 г. снизилась здесь до 5 особей на 1 га и менее. Последнее связано, по-нашему мнению, с негативными последствиями действия климатических факторов, обуславливающих пробуждение популяций малых сусликов в зимний период (январь, февраль), в условиях частого возврата холодов. Например, если в 70-х гг. XX в. пробуждение зверьков на Ергенях проходило в основном в марте, то в последнее десятилетие сроки этого явления сдвинулись на II декаду января – I декаду февраля [22]. Популяция малого суслика до настоящего времени продолжает оставаться в состоянии глубокой депрессии. В 2000–2024 гг. средняя многолетняя плотность вида составила 5,1 особи на 1 га при колебаниях в отдельные годы от 2,0 (2024 г.) до 7,4 (2001 г.) особи на 1 га. За последние 10 лет средняя плотность суслика в очаге составила всего 4,6 особи на 1 га, варьируя по годам от 2,0 (2024 г.) до 6,6 (2018 г.) особи на 1 га.

В Прикаспийском Северо-Западном степном очаге чумы на протяжении последнего десятилетия (2014–2024 гг.) популяция малого суслика выходила из состояния депрессии, однако за последние несколько лет неблагоприятные погодные условия (весенняя засуха 2018 г., бесснежная и сухая зима 2019/2020 г., недостаточное количество корма) негативно отразились на состоянии животных как перед залеганием в спячку, так и после пробуждения. Установлено, что популяция малого суслика, особенно животные генераций последних лет, не набирают достаточного количества жировых запасов перед зимовкой. В связи с этим в последние два года мы наблюдаем снижение численности малого суслика в целом по очагу: к 2024 г. плотность поселений уменьшилась и составила 2,0 особи на 1 га.

Результаты наших наблюдений показали, что наиболее выраженные негативные последствия современного потепления климата для популяций малого суслика на территории Прикаспийской низменности приходится на период 2000–2024 гг. [7]. Анализ факторов, влияющих на показатель интенсив-

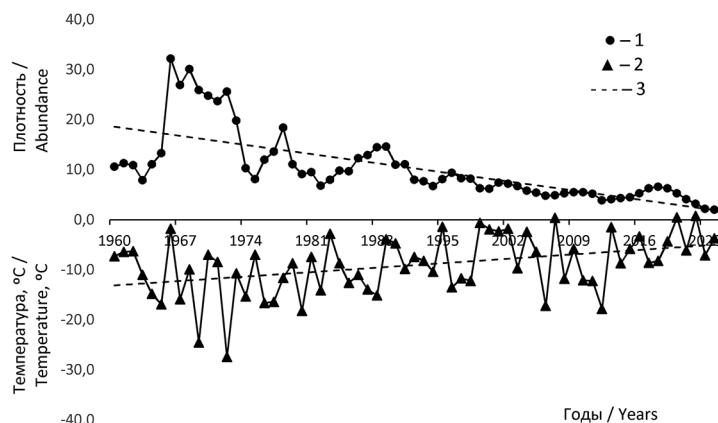


Рис. 3. Многолетняя динамика численности малого суслика в Прикаспийском Северо-Западном степном природном очаге чумы и средние среднемесячные температуры воздуха января – февраля (по метеостанции г. Элисты) в 1960–2024 гг.:

1 – число зверьков на 1 га; 2 – средняя температура января – февраля; 3 – полиномиальная линия тренда

Fig. 3. Long-term dynamics of the little souslik population abundance in the Caspian Northwestern steppe natural plague focus and average monthly air temperatures in January – February (according to the Elista meteorological station) in 1960–2023:

1 – amount of animals per 1 hectare; 2 – average January – February temperature; 3 – a polynomial trend line

ности размножения вида в Прикаспийском Северо-Западном очаге, подтверждает, что основными из них здесь являются сроки и характер пробуждения зверьков после зимней спячки и преобладающие погодные условия весны [23–26].

На территории Северо-Западного Прикаспия показатель интенсивности размножения малого суслика в период с 1970 по 2024 г. значительно варьировал. В относительно засушливый период 1970–1975 гг. он был равен в среднем 463. По мере повышения увлажненности в период 1976–1985 гг. этот показатель увеличился до 496. В наиболее влажный период 1986–1994 гг. ПИР сусликов достигал 521, затем в 2000–2005 гг. резко снизился до 354. В последующие 2006–2015 гг. ПИР вновь возрос до 403, затем (2016–2024 гг.) – до 443.

Необходимо отметить, что изменение репродуктивной активности малого суслика во многом определяется сроками и характером пробуждения зверьков от спячки, их упитанностью, погодными и кормовыми условиями текущей весны [27]. Затяжная и неустойчивая весна, резкое похолодание, снегопады и недостаток корма в период пробуждения сусликов – вот условия, которые приводят к снижению интенсивности размножения.

Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод, что ПИР малого суслика (при нынешнем низком уровне численности) определяется, в основном, экологическими факторами, а не внутривидовыми механизмами. Кроме того, существуют определенные ритмы в изменении интенсивности размножения, влияющие на динамику численности, которые также связаны с изменениями климатических условий. В период с 40-х по 60-е гг. XX в. климат в регионе Северного и Северо-Западного Прикаспия становился все более засушливым, что негативно сказалось на репродуктивной способности популяций малого суслика. Особенно в годы с неблагоприятными погодными явлениями доля беременных самок в популяции суслика на территории Прикаспийской низменности неуклонно снижалась [28].

Помимо этого, начиная с 90-х гг. происходит ослабление антропогенного пресса – появляются залежные земли, снижается поголовье скота, приостанавливаются дефляционные процессы. На территории Северо-Западного Прикаспия произошла коренная смена растительности, вызванная изменениями хозяйственной (пастбищной) деятельности человека и климата [29]. Так, в 2008–2016 гг. повышенная увлажненность привела к остепнению полупустыни, обусловившему сплошное проективное покрытие растительностью и преобладание аспекта разнотравной степи в период активности популяции, что для этого вида также явление неблагоприятное. В последующем наступил период засух и засухов, вызвавший обеднение растительного состава и снижение их питательной ценности. Например, если в прошлом веке были распространены коренные злаково-полукустарничковые фитоценозы с доминированием

мятлика луковичного – основного корма сусликов, то в настоящее время в растительном покрове стали преобладать злаковые сообщества, в ряде случаев с абсолютным господством ковылей [30].

Волго-Уральский степной очаг (15). Волго-Уральский степной природный очаг расположен на севере Прикаспийской низменности в междуречье Волги и Урала. Российская часть площадью 20 873 км² занимает северо-западную территорию очага [31] и расположена в пределах Ленинского, Палласовского, Среднеахтубинского и Быковского районов Волгоградской области, Харабалинского и Ахтубинского районов Астраханской области. Южной границей очага служит северная кромка Волго-Уральских песков. Большая часть очага (64 127 км²) расположена в степной и полупустынной зонах Западно-Казахстанской и Атырауской областей Республики Казахстан [32]. Общая площадь очага составляет 85 тыс. км² (рис. 1).

Характерными элементами рельефа очага являются различные котловины, ложбины, занятые сорами, озерами и лиманами, а также изолированные куполообразные возвышенности. Очаговая территория расположена в границах сухостепных и пустынных степей, характеризующихся резко выраженной комплексностью почвенно-растительного покрова [3, 32, 33]. Широко распространены темно-каштановые глинистые, слабозасоленные светло-каштановые почвы и суглинистые со слабыми признаками засоления, а также солонцы. Для растительного покрова характерны контрастные сочетания солонцевой пустыни с пятнами степных полынно-типчаковых, типчаково-полынных, злаково-солянковых ассоциаций. Встречаются лиманы с луговым травостоем. Климат характеризуется высокой континентальностью, которая возрастает с северо-запада на юго-восток. Годовое количество осадков на территории очага колеблется от 180 до 300 мм, часто повторяются засухи и засухов.

На северо-западе очага, начиная от р. Ахтубы до северной его кромки, произошли ощутимые изменения ландшафта, вызванные антропогенными и погодно-климатическими воздействиями. Большие массивы земель вдоль Волгоградского водохранилища заняты теперь под посевы различных сельскохозяйственных культур. Отдельные изолированные поля, находившиеся в момент картографирования в состоянии залежей, используются в качестве пастбищ для крупного рогатого скота, поскольку приобрели облик лугов или высокотравных степей. Многие залежные земли поросли рудеральной растительностью, могут распахиваться вновь и совершенно не пригодны для обитания малого суслика [6, 32, 33].

В окрестностях г. Волжский значительные площади занимают промышленные зоны, очистные сооружения с обширными испарителями, что привело к исчезновению поселений малого суслика. Отсутствие оптимальных условий для его обитания отмечено также в верховьях Волго-Ахтубинской поймы и не-

которых других ее частей. В последние десятилетия в результате антропогенной трансформации степного ландшафта площадь Волго-Уральского степного природного очага чумы значительно уменьшилась (на 6 тыс. км²) [31, 32].

Эпизоотии чумы на малом суслике на территории Волго-Уральского степного природного очага чумы, как на российской части, так и на казахстанской, выявлялись почти ежегодно с 1912 по 1950 г. [13]. Затем, после длительного перерыва, в 1978–2001 гг. эпизоотии чумы неоднократно развивались в разных частях этого очага. В границах Казахстана устойчивый характер эпизоотий чумы в Урало-Кушумском междуречье отмечался с 1978 по 1990 г. В 1979 и 1981 гг. на территории Казахстана в ур. Токай (в 30 км западнее п. Новый Уштаган) выявлены эпизоотии на малых сусликах на площади около 600 тыс. км² [32]. В историческом плане последние эпизоотии чумы в поселениях малых сусликов зарегистрированы в 1997 г., когда на юге Урало-Кушумского междуречья в границах Волго-Уральского степного очага были выделены два штамма возбудителя чумы от малых сусликов и один штамм – от блох этих грызунов. Однако последние проявления чумы в Волго-Уральском степном очаге установлены в 2001 г. [34]. Это положение основывается на том, что в 2001 г. на самой южной оконечности степного очага, в непосредственной близости с Волго-Уральским песчаным очагом были обнаружены зараженными чумой блохи песчанок рода *Meriones*. Находки зараженных животных на российской части степного очага завершились в 1927 г. [13].

Эпидемические вспышки известны в этом очаге с 1878 г. и периодически отмечались по 1933 г. В этот период в 54 пунктах было зарегистрировано 774 случая чумы, связанных с первичными заражениями, и в 17 пунктах – 308 случаев, обусловленных заносом из других очагов. Значительная доля зараже-

ний была обусловлена непосредственным контактом людей с сусликами и инфицированными блохами в жилье человека. Известны случаи заражения людей от верблюдов [13].

В целом по всему трансграничному Волго-Уральскому степному очагу доля площади с зарегистрированными эпизоотиями за весь период наблюдения составила около 3 тыс. км² (10 % территории). В границах Российской Федерации этот показатель еще ниже – 6,6 % [32].

Ареал малого суслика в обозримом прошлом на территории Волго-Уральского междуречья достигал широты г. Вольска Саратовской области, отмечался в 1980-е гг. по границе русла р. Большой Иргиз. В последние годы в результате потепления климата и антропогенного пресса численность его существенно сократилась: граница ареала вида сместилась до 100 км к югу (рис. 4) [6, 35–37]. По результатам исследований, современный нозоареал Волго-Уральского степного природного очага чумы из-за вымирания вида в границах России сократился на 30 % [31].

В 40–90-х гг. XX столетия на территории Волго-Уральского степного природного очага чумы неоднократно имели место значительные подъемы и спады численности малого суслика (рис. 5).

В период 1940–1968 гг. на всей территории Волго-Уральского междуречья отмечена глубокая депрессия численности малого суслика. При этом особенно неблагоприятным в климатическом отношении стало десятилетие 1953–1962 гг., на протяжении которого численность сусликов во многих районах Северного Прикаспия значительно снизилась, причем наиболее значительное падение численности зверьков отмечено здесь в подзонах полупустыни и северной пустыни. Опустевшие поселения сусликов в этих ландшафтах стали обычными на обширных

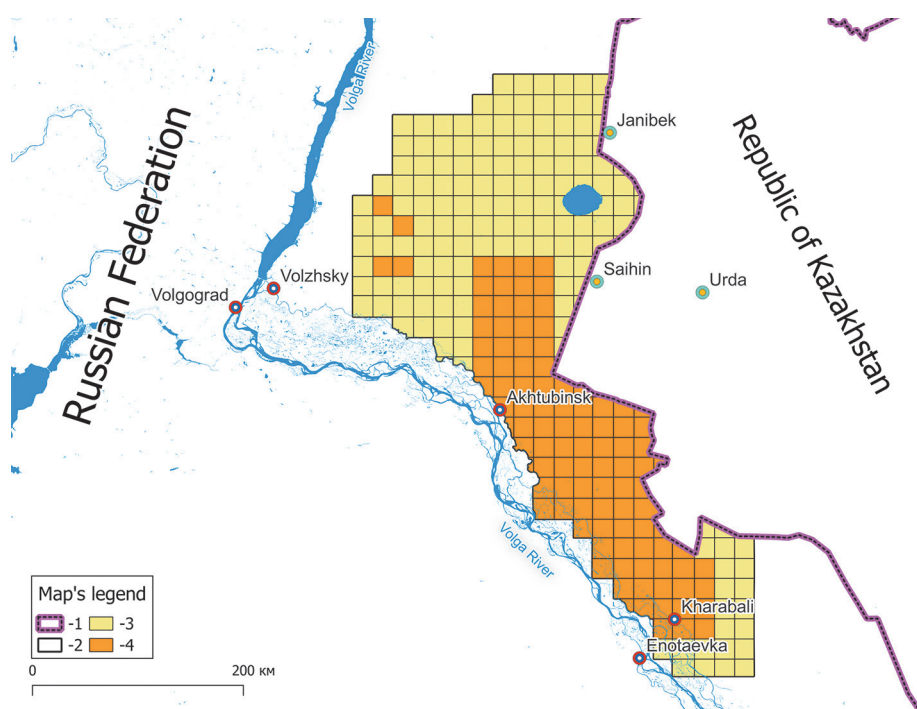


Рис. 4. Численность малого суслика в Волго-Уральском степном природном очаге чумы на территории Российской Федерации в 2000–2024 гг.

1 – государственная граница; 2 – границы Волго-Уральского степного природного очага чумы; 3 – плотность малого суслика 0–1,0 особи на 1 га; 4 – 1,1–5,0 особи на 1 га

Fig. 4. The number of little souslik in the Volga-Ural steppe natural plague focus in the territory of the Russian Federation:

1 – state border; 2 – the boundaries of the Volga-Ural steppe natural plague focus; 3 – the density of the little souslik population 0–1.0 specimens per hectare; 4 – 1.1–5.0 specimens per hectare

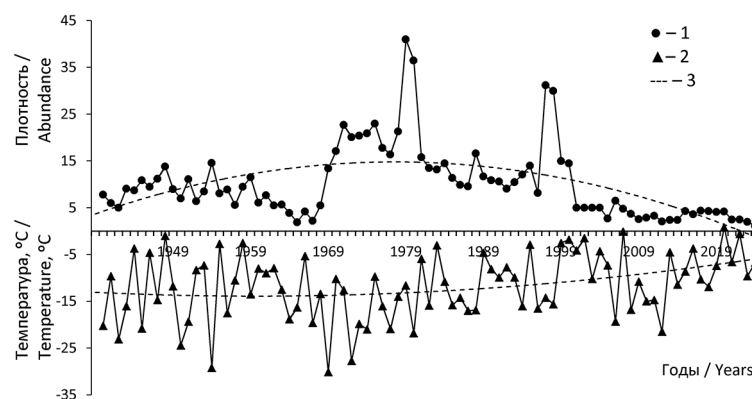


Рис. 5. Многолетняя динамика численности малого суслика в Волго-Уральском степном природном очаге чумы и средние среднемесячные температуры воздуха января – февраля (по метеостанции г. Харабали) в 1940–2024 гг.:

1 – число зверьков на 1 га; 2 – средняя температура января – февраля; 3 – полиномиальная линия тренда

Fig. 5. Long-term dynamics of the little souslik population in the Volga-Ural steppe natural plague focus and average monthly air temperatures in January – February (according to the Kharabali meteorological station) in 1940–2024:

1 – number of animals per 1 hectare; 2 – average January – February temperature, 3 – a polynomial trend line

территориях. Аналогичная ситуация – почти полное вымирание сусликов – отмечалась в начале 1960-х гг. и на ашиках (остепненные понижения) в Волго-Уральских песках.

В 70-х гг. прошлого столетия, по мере наступления более благоприятных для жизнедеятельности малых сусликов погодных и кормовых условий, их численность стала вновь постепенно повышаться.

В 1969–1981 гг. на рассматриваемой территории наблюдалось заметное и продолжительное увеличение плотности малого суслика. Отметим, что до 70-х гг. XX столетия фоновые показатели численности зверьков не превышали здесь 14 особей на 1 га, а в данный период выросли почти втрое – до 15–41 особи на 1 га [38]. Однако этот длительный подъем численности малых сусликов был остановлен погодными условиями 1982 г., когда вследствие неустойчивой холодной весны в их популяциях имел место чрезвычайно низкий приплод молодняка, дальнейшая подготовка которого к спячке («нажировка») проходила в условиях последовавшей весенне-летней засухи. В связи с похолоданием период размножения сусликов сильно растянулся. Если в обычные годы он был равен одному месяцу, то в 1982 г. продолжительность его составила около двух месяцев.

С начала 1980-х гг. отмечалось постепенное сокращение плотности малых сусликов на всей территории очага, что объясняется влиянием аридизации климата и воздействием интенсивного сельскохозяйственного освоения – распахов, ирригации и других антропогенных причин [37, 39]. В связи с этим поселения малого суслика стали носить локальный, мозаичный характер. Депрессия численности сохраняется до настоящего времени на протяжении последних 40 лет. В 1980–2024 гг. средняя многолетняя плотность вида составила 9,1 особи на 1 га при колебаниях в отдельные годы от 1,1 (2024 г.) до 36,5 особи на 1 га (1980 г.). За последние 10 лет средняя плотность суслика в российской части очага составила всего 3,2 особи на 1 га, варьируя по годам от 1,1 (2024 г.) до 4,4 (2017 г.) особи на 1 га.

В современное время на территории Волгоградской области поселения малого суслика достаточно разрежены. В Ленинском районе участки с

повышенной численностью встречаются в окрестностях поселков Степной, Путь Ильича, Рассвет, Тракторострой, Маяк Октября, в Палласовском районе – Кайсацкое, Золотари, Приозерный, Венгеловка. Более плотно населены территории в административных границах Астраханской области. К настоящему времени территории с плотностью 1–5 особей на 1 га встречаются в основном в Ахтубинском районе и на севере Харабалтинского района. Участки с повышенной плотностью малого суслика отмечаются на небольших площадях (от нескольких десятков до сотен гектаров) с плотностью 10–12 особей на 1 га в урочищах Широкий бугор, Мишкина лощина, Конферма, Телячий, Опытная станция. Вдоль автодорог Харабали – Волгоград встречаются ленточные поселения суслика с плотностью около 10 особей на 1 га.

Результаты наших наблюдений показали, что наиболее выраженные негативные последствия современного потепления климата для популяций малого суслика на территории Прикаспийской низменности приходится на период 2000–2024 гг. Анализ факторов, влияющих на показатель интенсивности размножения вида в Волго-Уральском междуречье, подтверждает, что основными из них здесь являются сроки и характер пробуждения зверьков после зимней спячки и преобладающие погодные условия весны. Возвращение холодов в конце весны, выпадение снега и связанный с этим недостаток питания приводят к резкому снижению ПИР грызунов.

На территории Северного Прикаспия количество самок, участвующих в размножении, в период с 1940 по 2024 г. варьировало от 18,7 % (2023 г.) до 91,3 % (1988 г.). По данным наблюдений, в 1940–1969 гг. среднее число участвующих в размножении самок малого суслика составляло 61,9 %, в 1970–1999 гг. – 53,9 %, в 2000–2019 гг. – 34,7 %, в 2020–2023 гг. – всего 26,7 %. Таким образом, ПИР популяции основного носителя возбудителя чумы постепенно падал. Так, в 1940–1969 гг. среднее число эмбрионов на одну самку составляло 6,3; в 1970–1999 гг. – 5,8; в 2000–2019 гг. сократилось до 5,4; в 2020–2024 гг. этот показатель составил 5,7.

Таким образом, в современный период состояние популяций малого суслика в разных частях его

ареала определяется комплексом антропогенных и климатических факторов [12, 31]. Однако даже в результате масштабных истребительных мероприятий, направленных на ослабление естественного заражения чумой на территории Прикаспийского Северо-Западного и Волго-Уральского степных очагов чумы за последние 100 лет, не удалось снизить численность малого суслика до современного низкого уровня. Мы считаем, что решающим фактором является современное глобальное потепление климата. Основной причиной снижения численности основного носителя чумы в глинистой полупустыне являются не абсолютные зимние температуры, а чередование теплых и холодных периодов в эти месяцы. Поэтому, если температуры января и февраля близки друг к другу, последствия повышения температуры могут иметь разный характер. Негативное влияние повышения зимних температур на физическое состояние животных проявляется в основном в те годы, когда январь «теплый», а февраль «холодный» или когда теплые и холодные периоды чередуются в течение месяца. При чередовании теплых и холодных периодов рано проснувшиеся грызуны гибнут в большом количестве из-за недостатка корма и холода. С нашей точки зрения, именно более частое повторение таких неблагоприятных сочетаний погодных условий в зимние месяцы в начале XXI столетия и явилось одной из главных причин развития современной глубокой депрессии численности малого суслика и, как следствие, его специфических эктопаразитов – блох *N. setosa*, *C. tesquorum*, *F. semura* [40]. Вследствие депрессивного состояния популяций малого суслика – основного носителя чумы – на территории приведенных выше очагов отмечено снижение их эпизоотической активности, вплоть до полного прекращения развития эпизоотий чумы.

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. Павлинов И.Я. Звери России: справочник-определитель: в 2 ч. Часть 1. Насекомоядные, Рукокрылые, Зайцеобразные, Грызуны. М.: Товарищество научных изданий КМК; 2019. 340 с.
2. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М.: Медицина; 2004. 191 с.
3. Доскач А.Г. Природное районирование Прикаспийской полупустыни. М.: Наука; 1979. 142 с.
4. Дмитриев А.И. Палеоэкологический анализ костных остатков мелких млекопитающих Прикаспия и генезис природных очагов чумы. Н. Новгород: Нижегородский государственный педагогический университет; 2001. 168 с.
5. Попов Н.В., Безсмертный В.Е., Удовиков А.И., Кузнецов А.А., Слудский А.А., Матросов А.Н., Князева Т.В., Федоров Ю.М., Попов В.П., Гражданов А.К., Аязбаев Т.З., Яковлев С.А., Караваева Т.Б., Кутырев В.В. Влияние современного изменения климата на состояние природных очагов чумы России и других стран СНГ. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; 3:23–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-3-23-28.
6. Попов Н.В., редактор. Малый суслик (*Spermophilus pygmaeus* Pallas, 1778, *Rodentia*) в Прикаспии и Предкавказье. Саратов: Амирит; 2016. 236 с.

7. Маггеррамов Ш.В., Марцоха К.С., Яковлев С.А., Манджиева В.С., Бондарев В.А., Лиджи-Гаряева Г.В., Матросов А.Н., Попов Н.В. Влияние современного потепления климата на динамику численности малого суслика (*Spermophilus pygmaeus* Pallas, 1778) (*Rodentia*, *Mammalia*) в Ильменно-Придельтовом районе Прикаспийской низменности. *Поволжский экологический журнал*. 2022; 1:17–33. DOI: 10.35885/1684-7318-2022-1-17-33.
8. Ралль Ю.М. Некоторые методы экологического учета грызунов. *Вопросы экологии и биоценологии*. 1936; 3:140–57.
9. Варшавский С.Н. Современные методы учета сусликов и больших песчанок. В кн.: Методы учета и географического распределения наземных позвоночных. М.: Академия наук СССР; 1952. С. 47–67.
10. Фенюк Б.К., Пастухов Б.Н., Семенов Н.М. Организация и методические принципы учета численности грызунов противочумными учреждениями. В кн.: Организация и методы учета птиц и вредных грызунов. М.: Академия наук СССР; 1963. С. 152–8.
11. Тупикова Н.В. Изучение размножения и возрастного состава популяций мелких млекопитающих. В кн.: Методы изучения природных очагов болезней человека. М.: Медицина; 1964. С. 154–91.
12. Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Поршаков А.М., Чекашов В.Н., Шилов М.М. Изменение границ природных очагов чумы Северо-Западного Прикаспия. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 3:38–43. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-38-43.
13. Кутырев В.В., Попова А.Ю., редакторы. Кадастр эпидемических и эпизоотических проявлений чумы на территории Российской Федерации и стран Ближнего Зарубежья (с 1876 по 2016 год). Саратов: Амирит; 2016. 248 с.
14. Никаноров С.М. Чумные вспышки 22 и 23 годов на юго-востоке России. *Вестник микробиологии и эпидемиологии*. 1923; 11(1-2):38–41.
15. Свириденко П.А. Грызуны. В кн.: Яцута К.З., редактор. Природа Ростовской области. Ростов н/Д: Ростиздат; 1940. С. 281–90.
16. Лебедев Ф. Несколько слов об Астраханской чуме (письма из России). *Русский врач*. 1912; 2(51):2087–9.
17. Иоффе И.Г. О географическом распространении сусликовых блох в связи с историей расселения сусликов. В кн.: Паразитологический сборник / Зоологический институт АН СССР. Л.: Изд-во АН СССР; 1936. С. 313–61.
18. Варшавский С.Н. Возраст поселений малого суслика в разных ландшафтных зонах в связи с расселением и историей ареала вида. *Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический*. 1963; 68(5):3–14.
19. Варшавский С.Н., Лавровский А.А., Шилов М.Н., Рожков А.А., Денисов П.С., Попов Н.В. Изменение ареала и расселение малого суслика в связи с колебаниями уровня Каспийского моря в голоцене. В кн.: Колебание увлажненности Арало-Каспийского региона в голоцене. М.: Наука; 1980. С. 163–9.
20. Варшавский С.Н., Попов Н.В., Шилов М.Н., Сурвилло А.В., Лавровский А.А., Денисенко И.И., Денисов П.С., Викулина А.Е., Козакевич В.П., Варшавский Б.С. Численность и площадь поселений малого суслика в западной части Прикаспийского Северо-Западного очага. В кн.: Эпизоотология природно-очаговых инфекций. Саратов; 1985. С. 50–4.
21. Бируля Н.Б. О природе факторов, ограничивающих численность малого суслика в ковыльных степях. *Зоологический журнал*. 1942; 20(1):135–53.
22. Попов Н.В., Санджиев В.Б.-Х., Сангаджиева Г.В., Удовиков А.И., Яковлев С.А., Караваева Т.Б., Подсвинов А.В., Кутырев В.В. Влияние современного потепления климата на развитие нового межэпизоотического периода Прикаспийского Северо-Западного степного природного очага чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2008; 1:31–3.
23. Федосенко А.К., Ефременко А.Т. О влиянии особенностей весны 1958 г. на периодические явления в жизни малого суслика. В кн.: Материалы юбилейной конференции Уральской противочумной станции. 1914–1964 годы. Уральск; 1964. С. 216–20.
24. Sheriff M.J., Kenagy G.J., Richter M., Lee T., Toien Ø., Kohl F., Buck C.L., Barnes B.M. Phenological variation in annual timing of hibernation and breeding in nearby populations of Arctic ground squirrels. *Proc. Biol. Sci.* 2011; 278(1716):2369–75. DOI: 10.1098/rspb.2010.2482.
25. Sheriff M.J., Richter M.M., Buck C.L., Barnes B.M. Changing seasonality and phenological responses of free-living male arctic ground squirrels: the importance of sex. *Philos. Trans. R. Soc. B. Biol. Sci.* 2013; 368(1624):20120480. DOI: 10.1098/rstb.2012.0480.
26. Kucheravsky C.E., Waterman J.M., Dos Anjos E.A.C., Hare J.F., Enright C., Berkvens C.N. Extreme climate event promotes phenological mismatch between sexes in hibernating ground squirrels. *Sci. Rep.* 2021; 11(1):21684. DOI: 10.1038/s41598-021-01214-5.

27. Шевченко В.Л., Попов Н.В., Шевченко Г.В., Медзыховский Г.А., Ефимов С.В., Удовиков А.И., Матюков М.Л. Состояние численности и фенология малого суслика в 1978–1983 гг. на территориях Волго-Уральского и Зауральского степных очагов чумы. В кн.: Вопросы эпизоотологии природноочаговых инфекций. Саратов: 1984. С. 63–70.
28. Попов Н.В., Удовиков А.И., Яковлев С.А., Санджиев В.Б.-Х., Сангаджиева Г.В. Оценка влияния современного потепления климата на формирование нового природного очага чумы песчаночного типа на территории европейского юго-востока России. *Поволжский экологический журнал*. 2007; 1:34–43.
29. Абатуров Б.Д., Ларионов К.О., Джапова Р.Р., Колесников М.П. Качество кормов и обеспеченность сайгаков (*Saiga tatarica*) пищей в условиях восстановительной смены растительности на Черных землях Калмыкии. *Зоологический журнал*. 2008; 87(12):1524–30.
30. Золотокрылин А.Н., Виноградова В.В. Соотношение между климатическими и антропогенными факторами восстановления растительного покрова юго-востока Европейской России. *Аридные экосистемы*. 2007; 13(33-34):7–16.
31. Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Поршаков А.М., Чекашов В.Н., Шилов М.М. Изменение границ природных очагов чумы Волго-Уральского междуречья. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; 2:19–22. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-2-19-22.
32. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Атлас природных очагов чумы России и зарубежных государств. Калининград: РА Полиграфич; 2022. 348 с.
33. Карпузида К.С. Волго-Уральский природный очаг чумы. Сообщение 3. Современное состояние. *Труды Ростовского-на-Дону государственного научно-исследовательского противочумного института*. 1959; 15(1):45–52.
34. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Обеспечение эпизоотического благополучия в природных очагах чумы на территории стран СНГ и Монголии в современных условиях. Ижевск: Принт; 2018. 336 с.
35. Завьялов Е.В., редактор. Млекопитающие севера Нижнего Поволжья: в 3 кн. Кн. 1: Состав териофауны. Саратов: Изд-во Саратовского ун-та; 2009. 248 с.
36. Опарин М.Л., Опарина О.С. Трансформация комплекса птиц и млекопитающих степных экосистем под воздействием распашки (на примере саратовских степей). *Поволжский экологический журнал*. 2010; 4:361–73.
37. Опарин М.Л., Опарина О.С., Матросов А.Н., Кузнецов А.А. Динамика фауны млекопитающих степей Волго-Уральского междуречья за последнее столетие. *Поволжский экологический журнал*. 2010; 1:71–85.
38. Удовиков А.И., Матросов А.Н., Яковлев С.А., Попов Н.В. Тенденция многолетней динамики численности и распространения малого суслика в природных очагах чумы в XX столетии. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2005; 1:33–7.
39. Окулова Н.М., Гражданов А.К., Неронов В.В. Структура и динамика сообществ млекопитающих Западного Казахстана. М.; 2016. 920 с.
40. Маггерамов Ш.В., Марцоха К.С., Манджиева В.С., Смолянкина М.Г., Григорьев М.П., Кузнецов А.А., Попов Н.В. Оценка влияния современного потепления климата на динамику численности блох малого суслика в Северо-Западном Прикаспии. *Паразитология*. 2023; 57(2):124–36. DOI: 10.31857/S003118472320035.
41. Pavlinov I.Ya. [Animals of Russia: Reference Book: in 2 parts. Part 1. Insectivores, Bats, Lagomorphs, Rodents]. Moscow: Partnership of Scientific Publications KMK; 2019. 340 p.
42. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Natural Plague Foci in the Territory of Caucasus, Caspian Sea Region, Central Asia and Siberia]. Moscow: "Medicine"; 2004. 191 p.
43. Doskach A.G. [Natural Zoning of the Caspian Semi-Desert]. Moscow: "Science"; 1979. 142 p.
44. Dmitriev A.I. [Paleoecological Analysis of Bone Remains of Small Mammals in the Caspian Sea Region and the Genesis of Natural Plague Foci]. Nizhny Novgorod: Nizhny Novgorod State Pedagogical University; 2001. 168 p.
45. Popov N.V., Bezsmertny V.E., Udobikov A.I., Kuznetsov A.A., Sludsky A.A., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Fedorov Yu.M., Popov V.P., Grazhdanov A.K., Ayazbaev T.Z., Yakovlev S.A., Karavaeva T.B., Kutyrev V.V. [Impact of the present-day climate changes on the natural plague foci condition, situated in the territory of the Russian Federation and other CIS countries]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; (3):23–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-3-23-28.
46. Popov N.V., editor. [Little Ground Squirrel (*Spermophilus pygmaeus* Pallas, 1778, *Rodentia*) in the Caspian Sea Region and Ciscaucasia]. Saratov: "Amirit"; 2016. 236 p.
47. Magerramov Sh.V., Martsoha K.S., Yakovlev S.A., Mandzhieva V.S., Bondarev V.A., Lidzhi-Garyeva G.V., Matrosov A.N., Popov N.V. [The impact of modern climate warming on the population dynamics of the little ground squirrel (*Spermophilus pygmaeus* Pallas, 1778) (*Rodentia*, *Mammalia*) in the Imen-Delta region of the Caspian Lowland]. *Povolzhsky Ekologichesky Zhurnal [Volga Region Ecological Journal]*. 2022; (1):17–33. DOI: 10.35885/1684-7318-2022-1-17-33.
48. Rall' Yu.M. [Some methods of ecological census of rodents]. *Voprosy Ekologii i Biotsenologii [Issues of Ecology and Biocenology]*. 1936; (3):140–57.
49. Varshavsky S.N. [Modern methods of census of gophers and great gerbils. In: Methods of Census and Geographical Distribution of Terrestrial Vertebrates]. Moscow: USSR Academy of Sciences; 1952. P. 47–67.
50. Fenyuk B.K., Pastukhov B.N., Semenov N.M. [Organization and methodological principles of census of rodents through efforts of anti-plague institutions]. In: [Organization and Methods of Census of Birds and Harmful Rodents]. Moscow: USSR Academy of Sciences; 1963. P. 152–8.
51. Tupikova N.V. [Study of reproduction and age composition of small mammal populations]. In: [Methods of Studying Natural Foci of Human Diseases]. Moscow: "Medicine"; 1964. P. 154–91.
52. Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Porshakov A.M., Chekashov V.N., Shilov M.M. [Boundary changes of natural plague foci in the North-Western Pre-Caspian]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; (3):38–43. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-38-43.
53. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., editors. [Cadastre of Epidemic and Epizootic Manifestations of Plague in the Territory of the Russian Federation and Former Soviet Union (1876–2016)]. Saratov: "Amirit"; 2016. 248 p.
54. Nikanorov S.M. [Plague outbreaks of 1922 and 1923 in the southeast of Russia]. *Vestnik Mikrobiologii i Epidemiologii [Bulletin of Microbiology and Epidemiology]*. 1923; 11(1-2):38–41.
55. Sviridenko P.A. [Rodents]. In: Yatsuta K. Z., editor. [Nature of the Rostov Region]. Rostov-on-Don: "Rostizdat"; 1940. P. 281–90.
56. Lebedev F. [A few words about the Astrakhan plague (letters from Russia)]. *Russkii Vrach [Russian Doctor]*. 1912; 2(51):2087–9.
57. Ioff I.G. [On the geographic distribution of souslik fleas in connection with the history of the souslik dissemination]. In: [Parasitological Collection / Zoological Institute of the USSR Academy of Sciences]. Leningrad: Publishing house of the USSR Academy of Sciences; 1936. P. 313–61.
58. Varshavsky S.N. [The age of little souslik settlements in different landscape zones in connection with the dissemination and history of the species range]. *Byulleten' Moskovskogo Obshchestva Ispytatelei Prirody. Otdel Biologicheskii [Bulletin of the Moscow Society of Naturalists. Biological Department]*. 1963; 68(5):3–14.
59. Varshavsky S.N., Lavrovsky A.A., Shilov M.N., Rozhkov A.A., Denisov P.S., Popov N.V. [Changes in the range and dispersal of little souslik in connection with fluctuations in the Caspian Sea level in the Holocene]. In: [Fluctuations in Humidity of the Aral-Caspian Region during the Holocene]. Moscow: "Nauka"; 1980. P. 163–9.
60. Varshavsky S.N., Popov N.V., Shilov M.N., Survillo A.V., Lavrovsky A.A., Denisenko I.I., Denisov P.S., Vikulina A.E., Kozakevich V.P., Varshavsky B.S. [Number and area of little ground squirrel settlements in the western part of the Caspian North-Western focus]. In: [Epizootiology of Natural-Focal Infections]. Saratov; 1985. P. 50–4.
61. Birulya N.B. [On the nature of factors limiting the numbers of little ground squirrel in feather-grass steppes]. *Zoologicheskii Zhurnal [Zoological Journal]*. 1942; 20(1):135–53.
62. Popov N.V., Sandzhiev V.B.-Kh., Sangadzhieva G.V., Udobikov A.I., Yakovlev S.A., Karavaeva T.B., Podsvirov A.V., Kutyrev V.V. [The influence of modern climate warming on the development of a new inter-epizootic period of the Caspian Northwestern steppe natural plague focus]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2008; (1):31–3.
63. Fedosenko A.K., Efremenko A.T. [On the influence of the peculiarities of the spring of 1958 on periodic phenomena in the life of the little ground squirrel]. In: [Proceedings of the jubilee conference of the Ural Plague Control station. 1914–1964]. Uralsk; 1964. P. 216–20.
64. Sheriff M.J., Kenagy G.J., Richter M., Lee T., Toien Ø., Kohl F., Buck C.L., Barnes B.M. Phenological variation in annual timing of hibernation and breeding in nearby populations of Arctic ground squirrels. *Proc. Biol. Sci.* 2011; 278(1716):2369–75. DOI: 10.1098/rspb.2010.2482.
65. Sheriff M.J., Richter M.M., Buck C.L., Barnes B.M. Changing seasonality and phenological responses of free-living male arctic ground squirrels: the importance of sex. *Philos. Trans. R. Soc. B. Biol. Sci.* 2013; 368(1624):20120480. DOI: 10.1098/rstb.2012.0480.

References

26. Kucheravy C.E., Waterman J.M., Dos Anjos E.A.C., Hare J.F., Enright C., Berkvens C.N. Extreme climate event promotes phenological mismatch between sexes in hibernating ground squirrels. *Sci. Rep.* 2021; 11(1):21684. DOI: 10.1038/s41598-021-01214-5.
27. Shevchenko V.L., Popov N.V., Shevchenko G.V., Medzykhovskiy G.A., Efimov S.V., Udovikov A.I., Mastuykov M.L. [The state of the population and phenology of the little ground squirrel in 1978–1983 in the territories of the Volga-Ural and Trans-Ural steppe plague foci]. In: [Issues of Epizootiology of Natural-Focal Infections]. Saratov; 1984. P. 63–70.
28. Popov N.V., Udovikov A.I., Yakovlev S.A., Sandzhiev V.B.-Kh., Sangadzhieva G.V. [Assessment of the impact of modern global warming on the formation of a new natural plague focus of the gerbil-type in the territory of the European south-east of Russia]. *Povolzhskii Ekologicheskii Zhurnal [Volga Region Ecological Journal]*. 2007; (1):34–43.
29. Abaturonov B.D., Larionov K.O., Dzhapova R.R., Kolesnikov M.P. [Food quality and food security of saigas (*Saiga tatarica*) under conditions of vegetation restoration in the Black Lands of Kalmykia]. *Zoologicheskii Zhurnal [Zoological Journal]*. 2008; 87(12):1524–30.
30. Zolotokrylin A.N., Vinogradova V.V. [Ratio between climatic and anthropogenic factors of restoration of vegetation cover in the southeast of European Russia]. *Aridnye Ekosistemy [Arid Ecosystems]*. 2007; 13(33-34):7–16.
31. Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Porshakov A.M., Chekashov V.N., Shilov M.M. [Changing the boundaries of natural plague foci in the Volga-Ural interfluvium]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; (2):19–22. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-2-19-22.
32. Popova A.Yu., Kutuyev V.V., editors. [Atlas of Natural Plague Foci in Russia and Foreign Countries]. Kaliningrad: RA "Poligrafich"; 2022. 348 p.
33. Karpuzidi K.S. [Volga-Ural natural plague focus. Communication 3. Current status]. *Trudy Rostovskogo-na-Donu Gosudarstvennogo Nauchno-Issledovatel'skogo Protivochumnogo Instituta [Proceedings of the Rostov-on-Don State Anti-Plague Research Institute]*. 1959; 15(1):45–52.
34. Popova A.Yu., Kutuyev V.V., editors. [Provision of Epidemiological Welfare in Natural Plague Foci in the Territory of the CIS Countries and Mongolia under Current Conditions]. Izhevsk: "Print"; 2018. 336 p.
35. Zav'yalov E.V., editor. [Mammals of the Northern Lower Volga Region: in 3 books. Book 1: Composition of the Theriofauna]. Saratov: Publishing house of Saratov University; 2009. 248 p.
36. Oparin M.L., Oparina O.S. [Transformation of the complex of birds and mammals of steppe ecosystems under the influence of plowing (by the example of the Saratov steppes)]. *Povolzhskii Ekologicheskii Zhurnal [Volga Region Ecological Journal]*. 2010; (4):361–73.
37. Oparin M.L., Oparina O.S., Matrosov A.N., Kuznetsov A.A. [Dynamics of the mammal fauna of the steppes of the Volga-Ural interfluvium over the past century]. *Povolzhskii Ekologicheskii Zhurnal [Volga Region Ecological Journal]*. 2010; (1):71–85.
38. Udovikov A.I., Matrosov A.N., Yakovlev S.A., Popov N.V. [Trends in the long-term dynamics of abundance and distribution of the little ground squirrel in natural plague foci in the 20th century]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2005; (1):33–7.
39. Okulova N.M., Grazhdanov A.K., Neronov V.V. [Structure and Dynamics of Mammal Communities in Western Kazakhstan]. Moscow; 2016. 920 p.
40. Magerramov Sh.V., Martsokha K.S., Mandzhieva V.S., Smolyankina M.G., Grigoriev M.P., Kuznetsov A.A., Popov N.V. [Assessment of the impact of modern climate warming on the population dynamics of the little ground squirrel fleas in the North-Western Caspian region]. *Parazitologiya [Parasitology]*. 2023; 57(2):124–36. DOI: 10.31857/S0031184723020035.

Authors:

Magerramov Sh.V., Matrosov A.N., Kuznetsov A.A., Popov N.V., Neishtadt Ya.A., Grazhdanov A.K., Kuklev E.V., Boiko A.V., Toporkov V.P. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Bocharnikova T.A., Bamatov D.M. Astrakhan Plague Control Station. 3, Kubanskaya St., Astrakhan, 414000, Russian Federation.

Lidzhi-Garyeva G.V. Elista Plague Control Station. P.O. Box 28, Main Post Office, Elista, 358000, Russian Federation.

Об авторах:

Магерамов Ш.В., Матросов А.Н., Кузнецов А.А., Попов Н.В., Нейштадт Я.А., Гражданов А.К., Куклев Е.В., Бойко А.В., Топорков В.П. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Бочарникова Т.А., Баматов Д.М. Астраханская противочумная станция. Российская Федерация, 414000, Астрахань, ул. Кубанская, 3.

Лиджи-Гаряева Г.В. Элистинская противочумная станция. Российская Федерация, 358000, Элиста, Главпочтамт, а/я 28.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-35-41

УДК 616.98:579.842.23(676/679)

Н.В. Попов¹, И.В. Кутырев², А.В. Иванова¹, К.А. Никифоров¹, А.А. Зубова¹, Я.А. Нейштадт¹,
А.В. Бойко¹, Е.В. Куклев¹, В.П. Топорков¹

**О существовании Восточно-Африканского природного мегаочага
Yersinia pestis основного подвида античного биовара филогенетической линии 1.ANT:
эпидемическая активность, пространственная и биоценотическая структура**

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

²ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии», Москва, Российская Федерация

Полученные результаты анализа эпидемиологических, эпизоотологических и филогенетических данных позволяют предположить, что территория Восточно-Африканского плоскогорья является единым природным мегаочагом античного биовара 1.ANT основного подвида *Yersinia pestis*. Циркуляция различных геновариантов (1.ANT1, 1.ANT2, 1.ANT3) античного биовара основного подвида *Y. pestis* происходит в популяциях различных видов дикоживущих и полусинантропных крыс и их специфических эктопаразитов. В границах установленного ареала античного биовара 1.ANT основного подвида *Y. pestis* эпизоотические проявления приурочены к густо-заселенным районам Демократической Республики Конго (ДРК), Уганды, Кении, Танзании, Замбии и Малави. К потенциально энзоотичным по чуме регионам следует относить территории Руанды и Бурунди, а также северные районы Мозамбика. В 2000–2024 гг. в восточафриканских странах (ДРК, Замбия, Малави, Танзания, Уганда) зарегистрировано более 15,5 тыс. случаев инфицирования чумой, что составляет 54 % от общего числа заболевших на Африканском континенте. Максимальная эпидемическая активность (в среднем 1326 человек в год) восточафриканских очагов отмечена в 2000–2009 гг. В 2010–2019 гг. показатели заболеваемости в ДРК, Уганде, Танзании значительно снизились (в среднем до 103 человек в год), в Замбии и Малави случаев инфицирования чумой не выявлено. В 2020–2024 гг. эпидемические осложнения по чуме продолжали регистрировать только на территории ДРК. Сохранение постоянных рисков инфицирования обусловлено высокой плотностью и интенсивностью контактов сельского населения с природно-очаговыми комплексами Восточно-Африканского плоскогорья. Высокая заболеваемость чумой определяется также вспышками антропонозной бубонной чумы, связанными с обилием блох *Pulex irritans* в сельских населенных пунктах.

Ключевые слова: чума, природный мегаочаг *Yersinia pestis* основного подвида, Восточно-Африканское плоскогорье, эпидемическая активность, пространственная и биоценотическая структура, риски инфицирования.

Корреспондирующий автор: Попов Николай Владимирович, e-mail: rusrap1@microbe.ru.

Для цитирования: Попов Н.В., Кутырев И.В., Иванова А.В., Никифоров К.А., Зубова А.А., Нейштадт Я.А., Бойко А.В., Куклев Е.В., Топорков В.П. О существовании Восточно-Африканского природного мегаочага *Yersinia pestis* основного подвида античного биовара филогенетической линии 1.ANT: эпидемическая активность, пространственная и биоценотическая структура. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:35–41. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-35-41

Поступила 04.10.2024. Отправлена на доработку 31.10.2024. Принята к публ. 07.11.2024.

N.V. Popov¹, I.V. Kutyrev², A.V. Ivanova¹, K.A. Nikiforov¹, A.A. Zubova¹, Ya.A. Neishtadt¹,
A.V. Boiko¹, E.V. Kuklev¹, V.P. Toporkov¹

**On the Existence of East African Natural Megafocus of *Yersinia pestis*,
Phylogenetic Lineage 1.ANT of the Antique Biovar of the Main Subspecies:
Epidemic Activity, Spatial and Biocenotic Structure**

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

²Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. The obtained results of the epidemiological, epizootiological, and phylogenetic data analysis suggest that the territory of the East African plateau is a one natural mega-focus of *Yersinia pestis* belonging to antique biovar 1.ANT of the main subspecies. The circulation of various genovariants (1.ANT1, 1.ANT2, 1.ANT3) of *Y. pestis*, antique biovar of the main subspecies, occurs in populations of various species of wild-living and semi-synanthropic rats and their specific ectoparasites. Within the boundaries of the established areal of antique biovar 1.ANT of the main subspecies of *Y. pestis* epizootic manifestations are confined to densely populated areas of the Democratic Republic of the Congo (DRC), Uganda, Kenya, Tanzania, Zambia and Malawi. Potentially plague enzootic regions should include the territories of Rwanda and Burundi, as well as the northern regions of Mozambique. In 2000–2024, more than 15.5 thousand cases of plague infection were registered in East African countries (DRC, Zambia, Malawi, Tanzania, Uganda), which is 54 % of the total number of cases on the African continent. The maximum epidemic activity (on average 1,326 people per year) of the East African megafocus was noted in 2000–2009. In 2010–2019, the incidence rates in the DRC, Uganda, and Tanzania decreased significantly (to an average of 103 people per year), and no cases of plague infection were detected in Zambia and Malawi. In 2020–2024, epidemic complications of plague continued to be recorded only in the territory of the DRC. The persistence of constant risks of infection is determined by the high population density and intensity of contacts between the rural population and the natural-focal complexes of the East African plateau. The high incidence of plague is also due to the development of outbreaks of anthroponotic bubonic plague associated with the abundance of *Pulex irritans* fleas in rural areas.

Key words: plague, natural megafocus of *Yersinia pestis* of the main subspecies, East African plateau, epidemic activity, spatial and biocenotic structure, risks of infection.

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

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

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

Citation: Popov N.V., Kutuyev I.V., Ivanova A.V., Nikiforov K.A., Zubova A.A., Neishtadt Ya.A., Boiko A.V., Kuklev E.V., Toporkov V.P. On the Existence of East African Natural Megafocus of *Yersinia pestis*, Phylogenetic Lineage 1.ANT of the Antique Biovar of the Main Subspecies: Epidemic Activity, Spatial and Biocenotic Structure. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:35–41. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-35-41

Received 04.10.2024. Revised 31.10.2024. Accepted 07.11.2024.

Popov N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4099-9261>

Kutuyev I.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1119-6267>

Ivanova A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4849-3866>

Nikiforov K.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4115-9486>

Zubova A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8741-5756>

Neishtadt Ya.A., ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-9249-2396>

Boiko A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9576-4959>

Kuklev E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9686-9020>

Toporkov V.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9512-7415>

В настоящее время чума продолжает оставаться актуальной угрозой санитарно-эпидемиологическому благополучию населения в разных странах [1–3]. Проявления чумы, в том числе эпидемические, практически ежегодно регистрируют в странах Африканского и Американского континентов, а также в азиатских государствах [4–6]. По данным Всемирной организации здравоохранения, только с начала XXI в. в 16 странах мира зарегистрировано более 29 тыс. случаев заболевания чумой, в том числе 2589 с летальным исходом (коэффициент летальности – 8,7 %) [7, 8]. В последние 20 лет наиболее напряженная эпидемиологическая обстановка по чуме сохраняется на Африканском континенте (98 % от общего числа случаев, зарегистрированных в мире) [9]. Сохранение постоянной напряженной эпидемиологической ситуации по чуме и другим особо опасным инфекционным болезням в странах Африканского региона во многом обусловлено нехваткой квалифицированного медицинского персонала, пренебрежением правилами личной гигиены и низким уровнем жизни населения [10].

Согласно историческим данным первые упоминания о чуме на Африканском континенте в Ливии, Египте и Сирии датируются примерно I в. н.э., в то время как проявления чумы были отмечены еще в конце III в. до н.э. [11]. Наличие природных очагов чумы установлено на территории 18 государств: Алжира, Анголы, Ботсваны, Ганы, Демократической Республики Конго (ДРК), Замбии, Зимбабве, Кении,

Лесото, Мавритании, Малави, Марокко, Мозамбика, Намибии, Сенегала, Танзании, Уганды и Южно-Африканской Республики (ЮАР) [12, 13]. В границах установленного ареала *Yersinia pestis* (*Zona pestica*) на территории Африки распространены высоковирулентные и эпидемически значимые штаммы основного подвида античного (филогенетические ветви 1.ANT1, 1.ANT2, 1.ANT3 – ДРК, Уганда, Замбия), средневекового (2.MED – Ливия) [14] и восточного (1.ORI2 – Алжир, ЮАР; 1.ORI3 – Мадагаскар) биоваров [15, 16]. Кроме того, на территории Анголы был выделен единственный штамм «Ангола» филогенетической линии 0.PE3 [17]. Сохраняется вероятность существования природных очагов чумы и на территориях других африканских государств, в отношении которых эндемичность по чуме не установлена.

В начале XXI столетия наиболее напряженная эпидемиологическая ситуация по чуме сохраняется в регионе Восточной Африки [18, 19, 20]. В 2000–2024 гг. (рис. 1) в Уганде, Танзании, Замбии, Малави и восточной части ДРК зарегистрировано более 15,5 тыс. случаев инфицирования чумой, что составляет 54 % от общего числа заболевших на Африканском континенте.

В 2000–2009 гг. в ДРК, Замбии, Малави, Танзании, Уганде имел место значительный подъем заболеваемости чумой. Общее число случаев инфицирования в этих странах достигало в среднем 1326 в год. В 2010–2019 гг. показатели заболеваемости в ДРК, Уганде, Танзании значительно снизились (в среднем

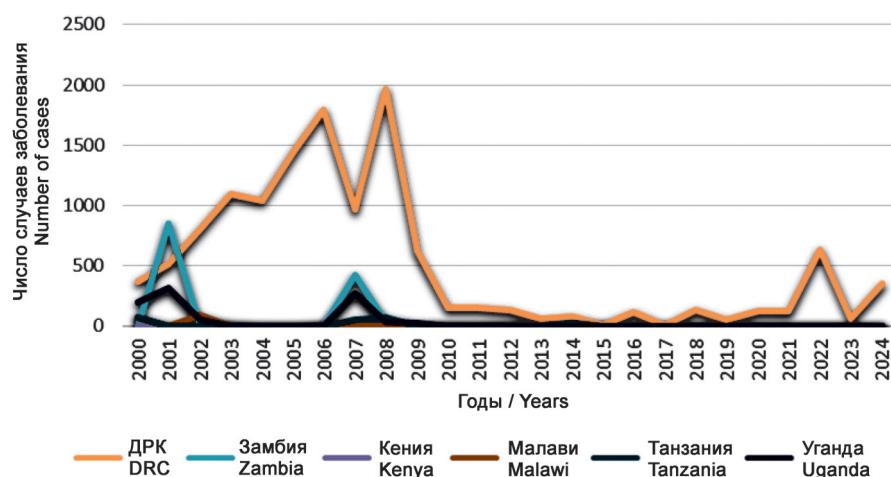


Рис. 1. Эпидемиологические проявления чумы в странах Восточной Африки в 2000–2024 гг.

Fig. 1. Epidemiological manifestations of plague in East African countries in 2000–2024

до 103 человек в год), в Замбии и Малави случаев инфицирования чумой не выявлено. В 2020–2024 гг. эпидемические осложнения по чуме продолжали регистрировать только на территории ДРК.

Первая информация о регистрации случаев заболеваний чумой среди населения Уганды относится к 1902 г. [21]. В последующие годы чума ежегодно проявлялась до 1947 г. в виде вспышек с постепенным снижением активности до единичных случаев [22]. В 1960–1981 гг. случаев заболевания чумой не зарегистрировано. С 1982 г. отмечен значительный рост заболеваемости чумой. Крупные вспышки в 1982 г. (153 случая), 1986 г. (340), 1993 г. (167), 2000 г. (202), 2001 г. (319), 2007 г. (277). В общей сложности с 2000 по 2015 г. выявлено 1044 случая заболевания чумой [23]. В 2016–2024 гг. случаев инфицирования чумой не зарегистрировано.

Первая вспышка чумы на территории Кении (г. Найроби) произошла в 1902 г. [24]. В первой половине XX в. здесь многократно регистрировали вспышки разной интенсивности – от 5 до 959 заболевших людей в год. Всего за этот период чумой заразились 5679 человек. В период 1950–1990 гг. среднескользящие показатели заболеваемости снизились до 557 случаев в год. Последние случаи заболевания (44 случая) в стране зарегистрированы в 1990 г.

В Танзании первые заболевания чумой зарегистрированы в 1886 г. в округе Иринга, на юго-западе страны [25]. До 1950 г. зарегистрировано 783 случая заболевания. В последующие годы вспышки чумы возникали с разной периодичностью и интенсивностью [26, 27]. В 1951–1952 гг. заболели чумой 838 человек. Позднее, на фоне относительного благополучия, произошла крупная вспышка в 1964 г. – 513 больных. С начала XXI в. в стране отмечена тенденция к снижению заболеваемости, в 2000–2015 гг. выявлен 291 случай инфицирования чумой [28]. Последняя информация об эпидемических проявлениях чумы датирована 2015 г. (5 случаев инфицирования).

Чума в Замбии впервые была обнаружена в 1937 г. Вспышки среди людей регистрировали в период с 1937 по 1987 г. (от 1 до 14 случаев в год) [29]. Позже крупные вспышки чумы произошли в 1997 г. (319 случаев), 2001 г. (850), 2007 г. (425), 2008 г. (34) [30–33]. В 2015 г. в Замбии зарегистрирован 21 случай, подозрительный на инфицирование чумой, однако ни у одного из заболевших диагноз не был подтвержден выделением культуры возбудителя чумы (в 57 % случаев получен положительный результат ПЦР).

Для Республики Малави характерны относительно редкие вспышки чумы. Впервые чума в этой стране была зарегистрирована в 1916 г. (всего заболело 13 человек). В 1917 г. выявлено 28 случаев заболевания, в 1918 г. – 5 и 1919 г. – 3. Следующая вспышка чумы в Малави зарегистрирована через 20 лет, в 1939 г. В течение 1955–1959 гг. в стране зарегистрировано

20 случаев заболевания и в 1963 г. – 30. Вспышки с перерывами возникали также в 1994 г. (9 случаев), 1997 г. (582), 1999 г. (74), 2000 г. (78) и 2002 г. (92) [34, 35]. За период с 2002 г. случаи инфицирования чумой на территории страны не зарегистрированы.

Первый случай чумы в ДРК произошел в 1929 г. [36]. В последующие годы (вплоть до 1960 г.) регистрировали sporadическую заболеваемость на территориях вблизи озера Альберт и озера Эдуард (впервые чума у этого озера была обнаружена в 1935 г.). За 32 года, то есть по 1960 г. включительно, на очаговой территории, граничащей с озером Альберт, произошло 700 случаев; с озером Эдуард за 22 года – 200 случаев. Во второй половине XX в. единичные случаи заболеваний чумой и вспышки отмечались вплоть до 1987 г. Затем эпидемическая активность очагов чумы ДРК значительно увеличилась [37]. За последние 24 года (2000–2023 гг.) выявлено более 12 тыс. случаев заболевания чумой [38, 39]. В 2024 г. в провинции Итури за первые 14 недель года зарегистрировано 346 случаев, 8 – с летальным исходом.

Энзоотические по чуме территории ДРК расположены на западной кромке Восточно-Африканского плоскогорья, расчлененного системой разломов, представляющих собой глубокие грабены, занятые озерами Эдуард, Альберт, Танганьика, Киву. В более западных районах ДРК (впадина Конго, где широко распространены тропические леса) случаев заболевания чумой не зарегистрировано. В центральных, восточных и южных районах Восточно-Африканского плоскогорья расположены также известные природные очаги чумы на территории Уганды, Кении, Танзании, Малави и восточной части Замбии (рис. 2).

Характерными ландшафтами Восточно-Африканского плоскогорья являются различные типы саванн на высоте от 500 до 2000 м н.у.м. Высота над уровнем моря определяет субэкваториальный климат. Территория Восточно-Африканского плоскогорья, особенно вблизи крупных озер, густо заселена (до 300 человек на 1 км²).

Для ряда стран (Уганда, Замбия, а также восточные районы ДРК), располагающихся в границах Восточно-Африканского плоскогорья, характерна циркуляция штаммов античного биовара (филогенетические ветви 1.ANT1, 1.ANT2, 1.ANT3) основного подвида *Y. pestis* [34, 40]. Хотя для таких стран, как Танзания, Малави и Мозамбик, внутривидовая принадлежность штаммов *Y. pestis*, вызывавших вспышки, до сих пор не установлена [41, 42]. Вероятно, штаммы восточного биовара основного подвида *Y. pestis* также присутствовали на территории Восточной Африки. Согласно литературным сведениям, в 1896–1901 гг. имел место завоз чумы из Индии во время строительства Угандской железной дороги, результатом которого стали вспышки чумы во многих портах на озере Виктория в период 1903–1908 гг. [43, 44]. В дальнейшем штаммы восточного

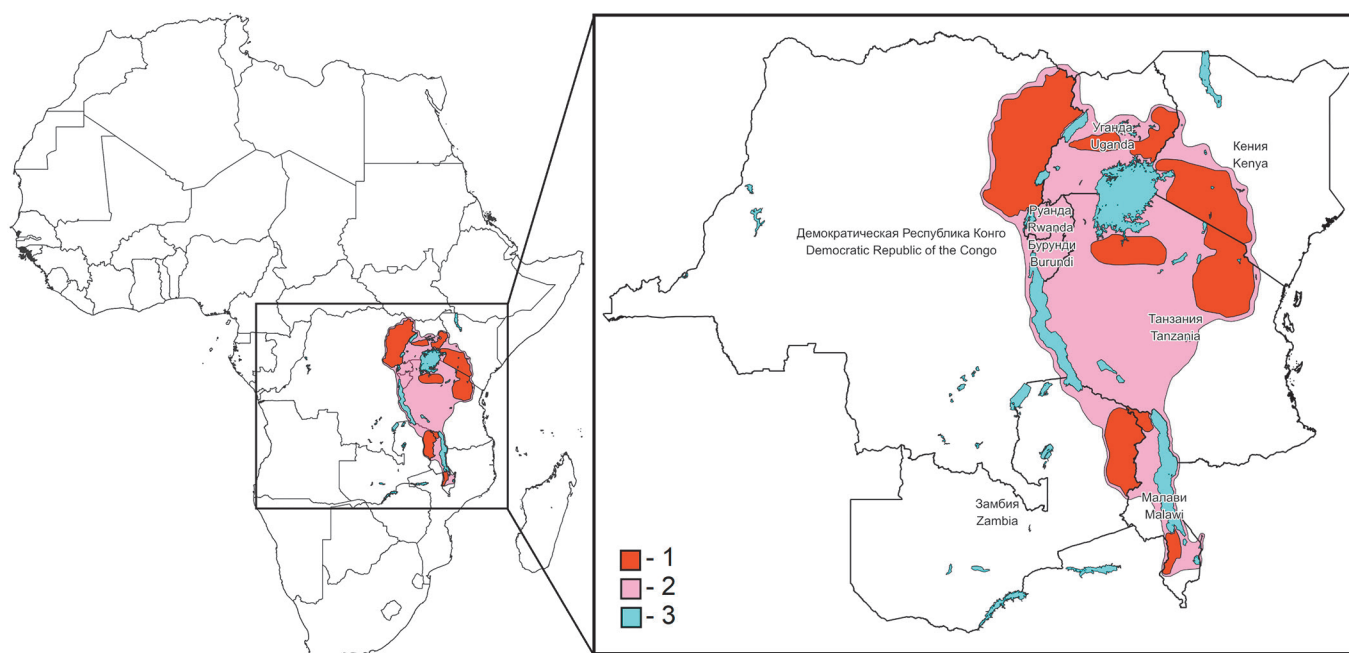


Рис. 2. Пространственное расположение восточноафриканской группы природных очагов чумы:

1 – выявленные природные очаги чумы на территории Восточно-Африканского плоскогорья; 2 – территория предполагаемого восточноафриканского мегаочага чумы; 3 – озера

Fig. 2. Spatial arrangement of the East African group of natural plague foci:

1 – identified natural plague foci on the territory of the East African plateau; 2 – the territory of the supposed East African mega focus of plague; 3 – lakes

биовара основного подвида *Y. pestis* здесь не регистрировали.

По результатам молекулярно-генетических исследований, штаммы, изолированные во время вспышек на территории ДРК, относятся к античному биовару основного подвида *Y. pestis* филогенетических ветвей 1.ANT1, 1.ANT, 1.ANT3 [15]. Для очагов Уганды характерна циркуляция двух субпопуляций штаммов 1.ANT в двух отличающихся по географическому положению и высоте над уровнем моря регионах: штаммы группы SNP1 обнаруживаются севернее и на более низких высотах по сравнению с группой SNP2 [46]. По данным молекулярного анализа, штамм, выделенный на территории Уганды от больного в 2004 г., относится к ветви 1.ANT1 вместе со штаммами, выделенными на территории ДРК в 1953 и 1965 гг. Штаммы из Кении вместе со штаммами из ДРК формируют две филогенетические ветви. Штаммы, полученные в 50–60-х гг. XX в., относятся к 1.ANT3, а этиологические агенты вспышек в 40, 70 и 80-х гг. прошлого века образуют ветвь 1.ANT2. При изучении штаммов из двух эпидемических районов Замбии (Ньимба, Симда) было показано, что штаммы из района Ньимба родственны штаммам 1.ANT из ДРК, а штаммы из района Симда кластеризовались со штаммом 1.ANT из Кении [30, 46]. В других регионах Африки циркуляция штаммов античного биовара 1.ANT основного подвида *Y. pestis* не зарегистрирована.

Существенно, что циркуляция штаммов античного биовара основного подвида *Y. pestis* филогенетических ветвей 1.ANT1, 1.ANT, 1.ANT3 на тер-

ритории ДРК, Уганды, Танзании, Кении, Малави и восточной части Замбии зарегистрирована среди популяций доминирующих на территории Восточно-Африканского плоскогорья видов грызунов, а именно: многососковой (*Mastomys natalensis*), черной (*Rattus rattus*), абиссинской лесной (*Arvicanthis abyssinicus*) крыс [47–49]. Основными переносчиками являются блоха *Xenopsylla brasiliensis* – наиболее эффективный вектор передачи инфекции от грызуна к человеку и *Dinopsyllus lupus*, а также *X. cheopis* [50, 51]. Наибольшее эпидемиологическое значение на всей территории выделяемого восточноафриканского мегаочага античного биовара (1.ANT) основного подвида *Y. pestis* имеют многососковая, черная и абиссинская лесная крысы. Благодаря особенностям экологии многососковая и абиссинская крысы играют большую эпидемиологическую роль: они служат связующими звеньями между дикими и синантропными популяциями грызунов. В антропогенных ландшафтах носителем является черная крыса – *Rattus rattus*, которая широко расселилась в Восточной Африке после постройки в начале XX в. железных дорог, связавших порты на побережье с торговыми городами в глубине материка, в частности с городами, лежащими на берегах озер Виктория, Танганьика, Ньяса.

Заболевания людей на территории выделяемого восточноафриканского мегаочага античного биовара (1.ANT) основного подвида *Y. pestis* сосредоточены, почти полностью, в сельской зоне. Сельское население постоянно контактирует с его биоценоотическими комплексами в процессе выращивания и сбора

сельскохозяйственных культур. Вероятность заноса возбудителя чумы в сельские населенные пункты значительно возрастает в период сезона дождей, как следствие выраженных миграций диких животных и полусинантропных видов грызунов. Высокая заболеваемость чумой является также следствием обилия блох *Pulex irritans* в сельских населенных пунктах.

Полученные результаты анализа эпидемиологических и эпизоотологических данных позволяют заключить, что территория Восточно-Африканского плоскогорья является единым полигостальным и поливекторным природным мегаочагом античного биовара (филогенетическая линия 1.ANT) основного подвида *Y. pestis*. В границах установленного ареала античного биовара 1.ANT основного подвида *Y. pestis* эпизоотические проявления приурочены к густозаселенным предгорным и низкогорным районам ДРК (вблизи озер Альберт, Эдуард), Уганды (между озерами Альберт, Кьога и Виктория), Кении (вблизи озера Виктория), Танзании (вблизи озер Виктория, Руква, Ньяса), Замбии (долина реки Луангвы), Малави (вблизи озера Ньяса). К потенциально энзоотичным по чуме регионам следует отнести территории Руанды и Бурунди, расположенные вблизи озера Танганьика, а также северные районы Мозамбика (вблизи озера Ньяса), где ранее проявления чумы не регистрировали. В пользу этого свидетельствует трансграничный характер выявленных природных очагов чумы на территории ДРК, Уганды, Танзании, а также общность ландшафтных характеристик и паразитарных систем на территории всей рассматриваемой группы стран, расположенных в границах выделяемого восточноафриканского природного мегаочага античного биовара линии 1.ANT основного подвида *Y. pestis*. В связи с этим целесообразно провести направленный поиск зараженных чумой животных на территориях Бурунди и Руанды, непосредственно граничащих с установленными ранее энзоотичными территориями этой инфекции в ДРК, Уганде, Танзании.

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

- Butler T. Plague into the 21st century. *Clin. Infect. Dis.* 2009; 49(5):736–42. DOI: 10.1086/604718.
- Andrianaivoarimanana V., Piola P., Wagner D.M., Rakotomanana F., Maheriniaina V., Andrianalimanana S., Chanteau S., Rahalison L., Ratsitorahina M., Rajerison M. Trends of human plague, Madagascar, 1998–2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(2):220–8. DOI: 10.3201/eid2502.171974.
- Human plague: review of regional morbidity and mortality, 2004–2009. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2009; 85(6):40–5.
- Bertherat E. Plague around the world, 2010–2015. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2016; 91(8):89–93.
- Bertherat E. Plague around the world in 2019. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2019; 94(25):289–92.
- Zeppelini C.G., de Almeida A.M., Cordeiro-Estrela P. Zoonoses as ecological entities: a case review of plague. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(10):e0004949. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004949.

- 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., Ашибоков У.М., Газиева А.Ю., Кутырев И.В., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпидемиологическая ситуация по чуме в мире. Прогноз эпизоотической активности природных очагов чумы Российской Федерации на 2024 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2024; 1:67–75. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-67-75.
- Barbieri R., Signoli M., Chevè D., Costedoat C., Tzortzis S., Aboudharam G., Raoult D., Drancourt M. *Yersinia pestis*: the natural history of plague. *Clin. Microbiol. Rev.* 2020; 34(1):e00044-19. DOI: 10.1128/CMR.00044-19.
- Иванова А.В., Зубова А.А., Касьян Ж.А., Дмитриева Л.Н., Чумачкова Е.А., Зимирова А.А., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Обзор актуальных рисков заноса инфекционных болезней на территорию Российской Федерации из стран Африканского континента. *Дезинфекционное дело.* 2023; 4:33–45. DOI: 10.35411/2076-457X-2023-4-33-45.
- Neerincx S., Bertherat E., Leirs H. Human plague occurrences in Africa: an overview from 1877 to 2008. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2010; 104(2):97–103. DOI: 10.1016/j.trstmh.2009.07.028.
- Wu Lien-teh, Chun J.W.H., Pollitzer R., Wu C.Y. *Plague: a Manual for Medical and Public Health Workers.* Shanghai; 1936. 547 p.
- Попов Н.В., Куклев Е.В., Слудский А.А., Тарасов М.А., Матросов А.Н., Князева Т.В., Караваева Т.Б., Кутырев В.В. Ландшафтная приуроченность и биоценотическая структура природных очагов чумы дальнего зарубежья. Северная и Южная Америка, Африка, Азия. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2005; 1:9–15.
- Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Атлас природных очагов чумы России и зарубежных государств. Калининград: ПА Полиграфич; 2022. 348 с.
- Malek M.A., Hammani A., Beneldjouzi A., Bitam I. *Enzootic plague foci, Algeria. New Microbes New Infect.* 2014; 4:13–6. DOI: 10.1016/j.nmni.2014.11.003.
- Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3. DOI: 10.1038/ng.705.
- Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'khova Z.V., Oglodin E.G., Guseva N.P. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front. Microbiol.* 2018; 9:1106. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01106.
- Eppinger M., Worsham P.L., Nikolich M.P., Riley D.R., Sebastian Y., Mou S., Achtman M., Lindler L.E., Ravel J. Genome sequence of the deep-rooted *Yersinia pestis* strain Angola reveals new insights into the evolution and pangenome of the plague bacterium. *J. Bacteriol.* 2010; 192(6):1685–99. DOI: 10.1128/JB.01518-09.
- Kilonzo B.S. Plague in Africa: epidemiology and control. *Africa Health.* 1996; 19:14–5.
- Kilonzo B.S. Plague epidemiology and control in Eastern and Southern Africa during the period 1978 to 1997. *Centr. Afr. J. Med.* 1999; 45(3):70–6. PMID: 10565066.
- Eisen R.J., Borchert J.N., Mpanga J.T., Atiku L.A., MacMillan K., Boegler K.A., Monteneri J.A., Monaghan A., Gage K.L. Flea diversity as an element for persistence of plague bacteria in an East African plague focus. *PLoS One.* 2012; 7(4):e35598. DOI: 10.1371/journal.pone.0035598.
- Eisen R.J., Atiku L.A., Ensore R.E., Mpanga J.T., Acayo S., Mead P.S., Apangu T., Yockey B.M., Borchert J.N., Beard C.B., Gage K.L. Epidemiology, ecology and prevention of plague in the West Nile region of Uganda: the value of long-term field studies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2021; 105(1):18–23. DOI: 10.4269/ajtmh.20-1381.
- MacMillan K., Monaghan A.J., Apangu T., Griffith K.S., Mead P.S., Acayo S., Acidri R., Moore S.M., Mpanga J.T., Ensore R.E., Gage K.L., Eisen R.J. Climate predictors of the spatial distribution of human plague cases in the West Nile region of Uganda. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2012; 86(3):514–23. DOI: 10.4269/ajtmh.2012.11-0569.
- Amatre G., Babi N., Ensore R.E., Ogen-Odoi A., Atiku L.A., Akol A., Gage K.L., Eisen R.J. Flea diversity and infestation prevalence on rodents in a plague-endemic region of Uganda. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2009; 81(4):718–24. DOI: 10.4269/ajtmh.2009.09-0104.
- Heisch R.B., Grainger W.E., D'souza J.S.T.A. Results of a plague investigation in Kenya. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1953; 47(6):503–21. DOI: 10.1016/s0035-9203(53)80004-0.
- Kilonzo B.S., Mbise T.J., Mwalimu D.C., Kindamba L. Observations on the endemicity of plague in Karatu and Ngorongoro,

northern Tanzania. *Tanzan. Health Res. Bull.* 2006; 8(1):1–6. DOI: 10.4314/thrb.v8i1.14262.

26. Laudisoit A., Leirs H., Makundi R.H., Van Dongen S., Davis S., Neerincx S., Deckers J., Libois R. Plague and the human flea, Tanzania. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13(5):687–93. DOI: 10.3201/eid1305.061084.

27. Mwalimu C.D., Mgone G., Sabuni C., Msigwa F., Mghamba J., Nyanga A., Mohamed A., Kwesi E., Nagu N., Kishimba R., John L., Manoza S., Boay M., Mleli J., Lutambi J., Mwingira V.S., Subi L., Kweka E.J., Kilonzo B. Preliminary investigation and intervention of the suspected plague outbreak in Madunga, Babati District-Tanzania. *Acta Trop.* 2022; 233:106566. DOI: 10.1016/j.actatropica.2022.106566.

28. Ziwa M.H., Matee M.I., Hang'ombe B.M., Lyamuya E.F., Kilonzo B.S. Plague in Tanzania: an overview. *Tanzan. J. Health Res.* 2013; 15(4):252–8. DOI: 10.4314/thrb.v15i4.7.

29. Nyirenda S.S., Hang'ombe B.M., Kilonzo B.S. Factors that precipitated human plague in Zambia from 1914 to 2014 – An overview for a century (100 years). *J. Zoonotic Dis.* 2016; 1(1):1–14.

30. Nyirenda S.S., Hang'ombe B.M., Simulundu E., Mulenga E., Moonga L., Machang U.R.S., Misinzio G., Kilonzo B.S. Molecular epidemiological investigations of plague in Eastern Province of Zambia. *BMC Microbiol.* 2018; 18(1):2. DOI: 10.1186/s12866-017-1146-8.

31. Nyirenda S.S. Role of potential reservoir hosts and flea vectors in plague epidemiology in Eastern Zambia. A PhD Thesis. Sokoine University of Agriculture, Tanzania; 2017. P. 1–30.

32. Nyirenda S.S., Hang'ombe B.M., Kilonzo B.S., Kangwa H.L., Mulenga E., Moonga L. Potential roles of pigs, and small ruminants and their flea vectors in plague epidemiology in Sinda District, Eastern Zambia. *J. Med. Entomol.* 2017; 54(3):719–25. DOI: 10.1093/jme/tjw220.

33. Hang'ombe B.M., Ziwa M., Haule M., Nakamura I., Samui K.L., Kaile D., Mweene A.S., Kilonzo B.S., Lyamuya E.F., Matee M., Sugimoto C., Sawa H., Wren B.W. Surveillance and diagnosis of plague and anthrax in Tanzania and Zambia. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 2014; 81(2):722. DOI: 10.4102/ojvr.v81i2.722.

34. Human plague in 1994. *Wkly Epidemiol. Rec.* 1996; 71(22):165–8. PMID: 8695336.

35. Munyenyiwa A.,imba M., Nhwatiwa T., Barson M. Plague in Zimbabwe from 1974 to 2018: A review article. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2019; 13(11):e0007761. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007761.

36. Misonne X. 40 years of the anti-plague campaign in the Congo. *Ann. Soc. Belges Med. Trop. Parasitol. Mycol.* 1969; 49(1):1–15. PMID: 4891322.

37. Piarroux R., Abedi A.A., Shako J.C., Kebela B., Karhemere S., Diatta G., Davoust B., Raoult D., Drancourt M. Plague epidemics and lice, Democratic Republic of the Congo. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(3):505–6. DOI: 10.3201/eid1903.121542.

38. Abedi A.A., Shako J.C., Gaudart J., Sudre B., Ilunga B.K., Shamamba S.K.B., Diatta G., Davoust B., Tamfum J.M., Piarroux R., Piarroux M. Ecologic features of plague outbreak areas, Democratic Republic of the Congo, 2004–2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(2):210–20. DOI: 10.3201/eid2402.160122.

39. Sah R., Reda A., Mehta R., Mohapatra R.K., Dhama K. A situation analysis of the current plague outbreak in the Democratic Republic of Congo and counteracting strategies – Correspondence. *Int. J. Surg.* 2022; 105:106885. DOI: 10.1016/j.ijsu.2022.106885.

40. Human plague in 1997. *Wkly Epidemiol. Rec.* 1999; 74(41):340–4.

41. Human plague in 1998 and 1999. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2000; 75(42):338–43.

42. Barreto A., Aragon M., Epstein P.R. Bubonic plague outbreak in Mozambique, 1994. *Lancet.* 1995; 345(8955):983–4. DOI: 10.1016/S0140-6736(95)90730-0.

43. Hopkins G.H.E. Report on Rats, Fleas and Plague in Uganda. Printed by East African Standard for the Govt. Uganda; 1949. 52 p.

44. Pollitzer R. Plague studies. 1. A summary of the history and survey of the present distribution of the disease. *Bull. World Health Organ.* 1951; 4(4):475–533.

45. Respicio-Kingry L.B., Yockey B.M., Acayo S., Kaggwa J., Apangu T., Kugeler K.J., Eisen R.J., Griffith K.S., Mead P.S., Schriefer M.E., Petersen J.M. Two distinct *Yersinia pestis* populations causing plague among humans in the West Nile region of Uganda. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(2):e0004360. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004360.

46. Nyirenda S.S., Hang'ombe B.M., Kilonzo B.S., Kabeta M.N., Corneliuss M., Sinkala Y. Molecular, serological and epidemiological observations after a suspected outbreak of plague in Nyimba, eastern Zambia. *Trop. Doct.* 2017; 47(1):38–43. DOI: 10.1177/0049475516662804.

47. Kilonzo B., Mhina J., Sabuni C., Mgone G. The role of rodents and small carnivores in plague endemicity in Tanzania. *Belg. J. Zool.* 2005; 135(suppl.):119–25.

48. Kessy S.T., Makundi R.H., Sabuni C., Massawe A.W., Rijja A. Rodent abundance, diversity and community structure in a

bubonic plague endemic area, northern Tanzania. *Mammalia.* 2023; 87(5):488–98. DOI: 10.1515/mammalia-2023-0012.

49. Haule M., Hang'ombe B.M., Lyamuya E.F., Kilonzo B.S., Matee M.I. Studies of reservoirs and vectors of plague in Northeastern, Tanzania. *Int. J. Infect. Dis.* 2014; 21(S1):142. DOI: 10.1016/j.ijid.2014.03.721.

50. Haikukutu L., Lyaku J.R., Lyimo C.M., Eiseb S.J., Makundi R.H., Olayemi A., Wilhelm K., Müller-Klein N., Schmid D.W., Fleischer R., Sommer S. Immunogenetics, sylvatic plague and its vectors: insights from the pathogen reservoir *Mastomys natalensis* in Tanzania. *Immunogenetics.* 2023; 75(6):517–30. DOI: 10.1007/s00251-023-01323-7.

51. Haule M. Investigation of fleas as vectors in the transmission of plague during a quiescent period in North-Eastern, Tanzania. *J. Entomol. Nematol.* 2013; 5(7):88–93. DOI: 10.5897/JEN2013.0083.

References

- Butler T. Plague into the 21st century. *Clin. Infect. Dis.* 2009; 49(5):736–42. DOI: 10.1086/604718.
- Andrianainarimanana V., Piola P., Wagner D.M., Rakotomanana F., Maheriniaina V., Andrianalimanana S., Chanteau S., Rahalison L., Ratsitorahina M., Rajerison M. Trends of human plague, Madagascar, 1998–2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(2):220–8. DOI: 10.3201/eid2502.171974.
- Human plague: review of regional morbidity and mortality, 2004–2009. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2009; 85(6):40–5.
- Bertherat E. Plague around the world, 2010–2015. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2016; 91(8):89–93.
- Bertherat E. Plague around the world in 2019. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2019; 94(25):289–92.
- Zeppelini C.G., de Almeida A.M., Cordeiro-Estrela P. Zoonoses as ecological entities: a case review of plague. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(10):e0004949. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004949.
- 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., Dubynsky 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.
- Barbieri R., Signoli M., Chevé D., Costedoat C., Tzortzis S., Aboudharam G., Raoult D., Drancourt M. *Yersinia pestis*: the natural history of plague. *Clin. Microbiol. Rev.* 2020; 34(1):e00044-19. DOI: 10.1128/CMR.00044-19.
- Ivanova A.V., Zubova A.A., Kasyan Zh.A., Dmitrieva L.N., Chumachkova E.A., Zimirova A.A., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. [Review of the current risks of the introduction of infectious diseases into the territory of the Russian Federation from the countries of the African continent]. *Dezinfektsionnoe Delo [Disinfection Affairs]*. 2023; (4):33–45. DOI: 10.35411/2076-457X-2023-4-33-45.
- Neerincx S., Bertherat E., Leirs H. Human plague occurrences in Africa: an overview from 1877 to 2008. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2010; 104(2):97–103. DOI: 10.1016/j.trstmh.2009.07.028.
- Wu Lien-teh, Chun J.W.H., Pollitzer R., Wu C.Y. Plague: a Manual for Medical and Public Health Workers. Shanghai; 1936. 547 p.
- Popov N.V., Kuklev E.V., Sludsky A.A., Tarasov M.A., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Karavaeva T.B., Kutyrev V.V. [Landscape confinement and biocenotic structure of natural plague foci of the far abroad. North and South America, Africa, Asia]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2005; (1):9–15.
- Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Atlas of Natural Foci of Plague in Russia and Foreign Countries]. Kaliningrad: RA Polygraphych; 2022. 348 p.
- Malek M.A., Hammani A., Beneldjouzi A., Bitam I. Enzootic plague foci, Algeria. *New Microbes New Infect.* 2014; 4:13–6. DOI: 10.1016/j.nmni.2014.11.003.
- Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3. DOI: 10.1038/ng.705.
- Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'khova Z.V., Oglodin E.G., Guseva N.P. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front. Microbiol.* 2018; 9:1106. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01106.
- Eppinger M., Worsham P.L., Nikolich M.P., Riley D.R., Sebastian Y., Mou S., Achtman M., Lindler L.E., Ravel J. Genome

sequence of the deep-rooted *Yersinia pestis* strain Angola reveals new insights into the evolution and pangenome of the plague bacterium. *J. Bacteriol.* 2010; 192(6):1685–99. DOI: 10.1128/JB.01518-09.

18. Kilonzo B.S. Plague in Africa: epidemiology and control. *Africa Health.* 1996; 19:14–5.

19. Kilonzo B.S. Plague epidemiology and control in Eastern and Southern Africa during the period 1978 to 1997. *Centr. Afr. J. Med.* 1999; 45(3):70–6. PMID: 10565066.

20. Eisen R.J., Borchert J.N., Mpanga J.T., Atiku L.A., MacMillan K., Boegler K.A., Monteneri J.A., Monaghan A., Gage K.L. Flea diversity as an element for persistence of plague bacteria in an East African plague focus. *PLoS One.* 2012; 7(4):e35598. DOI: 10.1371/journal.pone.0035598.

21. Eisen R.J., Atiku L.A., Ensore R.E., Mpanga J.T., Acayo S., Mead P.S., Apangu T., Yockey B.M., Borchert J.N., Beard C.B., Gage K.L. Epidemiology, ecology and prevention of plague in the West Nile region of Uganda: the value of long-term field studies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2021; 105(1):18–23. DOI: 10.4269/ajtmh.20-1381.

22. MacMillan K., Monaghan A.J., Apangu T., Griffith K.S., Mead P.S., Acayo S., Acidri R., Moore S.M., Mpanga J.T., Ensore R.E., Gage K.L., Eisen R.J. Climate predictors of the spatial distribution of human plague cases in the West Nile region of Uganda. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2012; 86(3):514–23. DOI: 10.4269/ajtmh.2012.11-0569.

23. Amatre G., Babi N., Ensore R.E., Ogen-Odoi A., Atiku L.A., Akol A., Gage K.L., Eisen R.J. Flea diversity and infestation prevalence on rodents in a plague-endemic region of Uganda. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2009; 81(4):718–24. DOI: 10.4269/ajtmh.2009.09-0104.

24. Heisch R.B., Grainger W.E., D'souza J.S.T.A. Results of a plague investigation in Kenya. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1953; 47(6):503–21. DOI: 10.1016/s0035-9203(53)80004-0.

25. Kilonzo B.S., Mbise T.J., Mwalimu D.C., Kindamba L. Observations on the endemicity of plague in Karatu and Ngorongoro, northern Tanzania. *Tanzan. Health Res. Bull.* 2006; 8(1):1–6. DOI: 10.4314/thrb.v8i1.14262.

26. Laudisoit A., Leirs H., Makundi R.H., Van Dongen S., Davis S., Neerincx S., Deckers J., Libois R. Plague and the human flea, Tanzania. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13(5):687–93. DOI: 10.3201/eid1305.061084.

27. Mwalimu C.D., Mgone G., Sabuni C., Msigwa F., Mghamba J., Nyanga A., Mohamed A., Kwesi E., Nagu N., Kishimba R., John L., Manzo S., Boay M., Mleli J., Lutambi J., Mwingira V.S., Subi L., Kweka E.J., Kilonzo B. Preliminary investigation and intervention of the suspected plague outbreak in Madunga, Babati District-Tanzania. *Acta Trop.* 2022; 233:106566. DOI: 10.1016/j.actatropica.2022.106566.

28. Ziwa M.H., Matee M.I., Hang'ombe B.M., Lyamuya E.F., Kilonzo B.S. Plague in Tanzania: an overview. *Tanzan. J. Health Res.* 2013; 15(4):252–8. DOI: 10.4314/thrb.v15i4.7.

29. Nyirenda S.S., Hang'ombe B.M., Kilonzo B.S. Factors that precipitated human plague in Zambia from 1914 to 2014 – An overview for a century (100 years). *J. Zoonotic Dis.* 2016; 1(1):1–14.

30. Nyirenda S.S., Hang'ombe B.M., Simulundu E., Mulenga E., Moonga L., Machang U.R.S., Misinzo G., Kilonzo B.S. Molecular epidemiological investigations of plague in Eastern Province of Zambia. *BMC Microbiol.* 2018; 18(1):2. DOI: 10.1186/s12866-017-1146-8.

31. Nyirenda S.S. Role of potential reservoir hosts and flea vectors in plague epidemiology in Eastern Zambia. A PhD Thesis. Sokoine University of Agriculture, Tanzania; 2017. P. 1–30.

32. Nyirenda S.S., Hang'ombe B.M., Kilonzo B.S., Kangwa H.L., Mulenga E., Moonga L. Potential roles of pigs, and small ruminants and their flea vectors in plague epidemiology in Sinda District, Eastern Zambia. *J. Med. Entomol.* 2017; 54(3):719–25. DOI: 10.1093/jme/tjw220.

33. Hang'ombe B.M., Ziwa M., Haule M., Nakamura I., Samui K.L., Kaile D., Mweene A.S., Kilonzo B.S., Lyamuya E.F., Matee M., Sugimoto C., Sawa H., Wren B.W. Surveillance and diagnosis of plague and anthrax in Tanzania and Zambia. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 2014; 81(2):722. DOI: 10.4102/ojvr.v81i2.722.

34. Human plague in 1994. *Wkly Epidemiol. Rec.* 1996; 71(22):165–8. PMID: 8695336.

35. Munyenyiwa A., Zimba M., Nhwatiwa T., Barson M. Plague in Zimbabwe from 1974 to 2018: A review article. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2019; 13(11):e0007761. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007761.

36. Misonne X. 40 years of the anti-plague campaign in the Congo. *Ann. Soc. Belges Med. Trop. Parasitol. Mycol.* 1969; 49(1):1–15. PMID: 4891322.

37. Piarroux R., Abedi A.A., Shako J.C., Kebela B., Karhemere S., Diatta G., Davoust B., Raoult D., Drancourt M. Plague epidemics and lice, Democratic Republic of the Congo. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(3):505–6. DOI: 10.3201/eid1903.121542.

38. Abedi A.A., Shako J.C., Gaudart J., Sudre B., Ilunga B.K., Shamamba S.K.B., Diatta G., Davoust B., Tamfum J.M., Piarroux R., Piarroux M. Ecologic features of plague outbreak areas, Democratic Republic of the Congo, 2004–2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(2):210–20. DOI: 10.3201/eid2402.160122.

39. Sah R., Reda A., Mehta R., Mohapatra R.K., Dhama K. A situation analysis of the current plague outbreak in the Democratic Republic of Congo and counteracting strategies – Correspondence. *Int. J. Surg.* 2022; 105:106885. DOI: 10.1016/j.ijsu.2022.106885.

40. Human plague in 1997. *Wkly Epidemiol. Rec.* 1999; 74(41):340–4.

41. Human plague in 1998 and 1999. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2000; 75(42):338–43.

42. Barreto A., Aragon M., Epstein P.R. Bubonic plague outbreak in Mozambique, 1994. *Lancet.* 1995; 345(8955):983–4. DOI: 10.1016/s0140-6736(95)90730-0.

43. Hopkins G.H.E. Report on Rats, Fleas and Plague in Uganda. Printed by East African Standard for the Govt. Uganda; 1949. 52 p.

44. Pollitzer R. Plague studies. 1. A summary of the history and survey of the present distribution of the disease. *Bull. World Health Organ.* 1951; 4(4):475–533.

45. Respicio-Kingry L.B., Yockey B.M., Acayo S., Kaggwa J., Apangu T., Kugeler K.J., Eisen R.J., Griffith K.S., Mead P.S., Schriefer M.E., Petersen J.M. Two distinct *Yersinia pestis* populations causing plague among humans in the West Nile region of Uganda. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(2):e0004360. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004360.

46. Nyirenda S.S., Hang'ombe B.M., Kilonzo B.S., Kabeta M.N., Corneliussen M., Sinkala Y. Molecular, serological and epidemiological observations after a suspected outbreak of plague in Nyimba, eastern Zambia. *Trop. Doct.* 2017; 47(1):38–43. DOI: 10.1177/0049475516662804.

47. Kilonzo B., Mhina J., Sabuni C., Mgone G. The role of rodents and small carnivores in plague endemicity in Tanzania. *Belg. J. Zool.* 2005; 135(suppl.):119–25.

48. Kessy S.T., Makundi R.H., Sabuni C., Massawe A.W., Rija A. Rodent abundance, diversity and community structure in a bubonic plague endemic area, northern Tanzania. *Mammalia.* 2023; 87(5):488–98. DOI: 10.1515/mammalia-2023-0012.

49. Haule M., Hang'ombe B.M., Lyamuya E.F., Kilonzo B.S., Matee M.I. Studies of reservoirs and vectors of plague in Northeastern, Tanzania. *Int. J. Infect. Dis.* 2014; 21(S1):142. DOI: 10.1016/j.ijid.2014.03.721.

50. Haikukutu L., Lyaku J.R., Lyimo C.M., Eiseb S.J., Makundi R.H., Olayemi A., Wilhelm K., Müller-Klein N., Schmid D.W., Fleischer R., Sommer S. Immunogenetics, sylvatic plague and its vectors: insights from the pathogen reservoir *Mastomys natalensis* in Tanzania. *Immunogenetics.* 2023; 75(6):517–30. DOI: 10.1007/s00251-023-01323-7.

51. Haule M. Investigation of fleas as vectors in the transmission of plague during a quiescent period in North-Eastern, Tanzania. *J. Entomol. Nematol.* 2013; 5(7):88–93. DOI: 10.5897/JEN2013.0083.

Authors:

Popov N.V., Ivanova A.V., Nikiforov K.A., Zubova A.A., Neishtadt Ya.A., Boiko A.V., Kuklev E.V., Toporkov V.P. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Kutyrev I.V. Central Research Institute of Epidemiology. 3a, Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russian Federation. E-mail: criec@pcr.ru.

Об авторах:

Попов Н.В., Иванова А.В., Никифоров К.А., Зубова А.А., Нейштатт Я.А., Бойко А.В., Куклев Е.В., Топорков В.П. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Кутырев И.В. Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии. Российская Федерация, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а. E-mail: criec@pcr.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-42-53

УДК 616.932:578.347(091)

Н.Б. Челдышова, С.П. Заднова, Е.Г. Абрамова, А.К. Никифоров, З.Л. Девдариани

Холерные бактериофаги: история открытия, строение и применение*ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация*

Вирусы, поражающие холерный вибрион, или холерные бактериофаги, открыты в начале XX в., когда в Юго-Восточной Азии, на Дальнем и Ближнем Востоке и в Европе свирепствовала шестая пандемия холеры. Это открытие положило начало интенсивному изучению холерных бактериофагов как перспективного средства в борьбе с холерой. В обзоре освещены вопросы, связанные с историей открытия и изучения холерных бактериофагов, описаны особенности их строения и жизненного цикла. Представлена коэволюционная стратегия взаимодействия холерных бактериофагов с клетками холерного вибриона, получившая название «динамика Красной королевы». Согласно этой стратегии штаммы холерного вибриона и холерные бактериофаги для того, чтобы выжить, должны постоянно эволюционировать и приспосабливаться, приобретая всё новые системы защиты друг от друга. Также в обзоре изложены сведения об основных известных на сегодняшний день антифаговых системах холерного вибриона (мутационные изменения рецепторного аппарата, выброс везикул внешней мембраны, система рестрикции-модификации, PLE-элемент, SXT-элементы, система исключения бактериофага BREX и CRISPR/Cas-системы, Abi-стратегия). Описаны фаговые системы контрзащиты (CRISPR/Cas-система, нуклеаза Odn, эпигенетическая модификация метилазой, система противодействия BREX). Проанализированы вопросы практического применения холерных бактериофагов в диагностике холеры (для идентификации, определения биовара возбудителя, его вирулентности и эпидемической значимости), приведены наиболее известные схемы фаготипирования. Охарактеризованы перспективные стратегии использования холерных бактериофагов в фаготерапии и фагопрофилактике холеры. Отдельно рассмотрены эффекты совместного использования фагов и антибиотиков в комплексной терапии.

Ключевые слова: холерный бактериофаг, холерный вибрион, коэволюция, фагодиагностика, фаготерапия.

Корреспондирующий автор: Челдышова Надежда Борисовна, e-mail: rusrap@microbe.ru.

Для цитирования: Челдышова Н.Б., Заднова С.П., Абрамова Е.Г., Никифоров А.К., Девдариани З.Л. Холерные бактериофаги: история открытия, строение и применение. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:42–53. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-42-53

Поступила 01.04.2024. Отправлена на доработку 18.04.2024. Принята к публ. 07.05.2024.

N.B. Cheldyshova, S.P. Zadnova, E.G. Abramova, A.K. Nikiforov, Z.L. Devdariani

Cholera Bacteriophages: History of Discovery, Structure and Application*Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation*

Abstract. Viruses that affect cholera vibrio, or cholera bacteriophages, were discovered in early twentieth century, when the sixth cholera pandemic was raging in Southeast Asia, the Far and Middle East and Europe. This discovery marked the beginning of intensive study of cholera bacteriophages as a promising means in the fight against cholera. The review highlights issues related to the history of the discovery and study of cholera bacteriophages and describes the features of their structure and life cycle. A co-evolutionary strategy for the interaction of cholera bacteriophages with *Vibrio cholerae* cells, called the “Red Queen dynamics”, is presented. According to this strategy, strains of *V. cholerae* and cholera bacteriophages, in order to survive, must constantly evolve and adapt, acquiring more and more new systems for defense from each other. The review also provides information about the main currently known anti-phage systems of *V. cholerae* (mutational changes in the receptor apparatus, release of outer membrane vesicles, restriction-modification system, PLE element, SXT elements, BREX bacteriophage exclusion system and CRISPR/Cas systems, Abi-strategy). Phage counter-defense systems are presented (CRISPR/Cas system, Odn nuclease, epigenetic modification by methylase, BREX countermeasures system). The paper analyzes the practical application of cholera bacteriophages in the diagnosis of cholera (for identification, determination of the biovar of the pathogen, its virulence and epidemic significance), and outlines the most well-known phage typing schemes. Promising strategies for the use of cholera bacteriophages in phage therapy and phage prevention of cholera are characterized. The effects of combined use of phages and antibiotics in complex therapy are considered separately.

Key words: cholera bacteriophage, cholera vibrio, co-evolution, phage diagnostics, phage therapy.

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

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

Corresponding author: Nadezhda B. Cheldyshova, e-mail: rusrap@microbe.ru.

Citation: Cheldyshova N.B., Zadnova S.P., Abramova E.G., Nikiforov A.K., Devdariani Z.L. Cholera Bacteriophages: History of Discovery, Structure and Application. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:42–53. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-42-53

Received 01.04.2024. Revised 18.04.2024. Accepted 07.05.2024.

Cheldyshova N.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5759-3765>
Zadnova S.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4366-0562>
Abramova E.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8798-1547>

Nikiforov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1130-3504>
Devdariani Z.L., ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-8528-1933>

Вирусы, поражающие бактерии, бактериофаги, или фаги (от греч. «*φαγος*» – пожирающий), впервые выделены еще в начале XX в. Открытие бактериофагов послужило отправной точкой для изучения их строения и взаимодействия с бактериальной клеткой. Поначалу считалось, что существует только один вид вирусов, способных поражать бактерии, *Bacteriophag umintestinalis* [1]. Однако дальнейшие исследования показали, что существует большое количество видов бактериофагов, обладающих высокой специфичностью к определенным видам и штаммам бактерий. Так, объектом воздействия холерных бактериофагов (ХБ) является холерный вибрион (ХВ) – *Vibrio cholerae* – этиологический агент холеры, острой инфекционной болезни, характеризующейся обильной рвотой и секреторной диареей. Впервые ХБ были выделены в 1920 г. F. d’Herelle от переболевшего холерой человека [1–3].

Попадая в микробную клетку, ХБ начинают интенсивно размножаться. Когда их концентрация достигает определенных пределов, происходит лизис клетки с выходом ХБ за ее пределы. Оказавшись во внешней среде, ХБ заражают новые клетки с последующим их лизисом. Данная схема объясняет антибактериальный эффект ХБ, который широко используется для фаготипирования ХВ, а также может использоваться для фаготерапии и фагопрофилактики холеры. Препараты ХБ обладают рядом несомненных преимуществ. Они нетоксичны, не вызывают привыкания, обладают высокой специфичностью по отношению к ХВ. Кроме того, они могут использоваться как самостоятельно, так и в комплексной терапии наряду с антибиотиками (АБ) [4–9]. В то же время широкое использование препаратов ХБ привело к увеличению процента фагорезистентных штаммов ХВ, что в свою очередь снизило эффективность фаготерапии [1, 3]. В связи с этим, а также из-за появления в середине прошлого столетия АБ, способных быстро и эффективно бороться с ХВ, периоды активного изучения и использования ХБ сменялись периодами затишья. В настоящее время интерес к исследованиям в данной области вновь возрождается, что связано с появлением в конце прошлого столетия генетически измененных штаммов ХВ, несущих различные мобильные генетические элементы с генами АБ-резистентности.

За почти вековую историю изучения ХБ накоплено достаточно большое количество информации, позволяющей использовать их в микробиологии, генетике, вирусологии, биоинформатике, биотехнологии, биохимии и т.д. Тем не менее многие аспекты, касающиеся свойств ХБ, особенностей их взаимодействия с ХВ, а также возможного применения в научных исследованиях и медицине, требуют более подробного рассмотрения.

Целью обзора явилось обобщение информации о холерных бактериофагах и их взаимодействии с холерными вибрионами, накопленной за более чем вековой период изучения и применения.

История открытия холерных бактериофагов. Открытию бактериофагов предшествовало сразу два крупных события, произошедших в XIX в.: создание L. Pasteur теории о бактериальной природе инфекционных заболеваний и открытие вирусов русским бактериологом Д. Ивановским (1892 г.). Оба этих события стимулировали изучение культуральных и морфологических свойств возбудителей. За короткий промежуток времени появляется сразу несколько статей о лизировании различных бактерий неизвестными агентами. Среди них следует особо отметить сообщение английского бактериолога E. Hankin (1896 г.) о бактерицидном действии на ХВ профильтрованных через бактериальные фильтры вод индийских рек Ганг и Джамна [10, 11]. Ученый отмечал специфичность данного действия на ХВ (вода не приводила к гибели «тифoidных бацилл») и исчезновение антибактериального действия воды после ее длительного хранения или кипячения в открытых сосудах. Явление лизиса бактерий описывал и русский микробиолог Н.Ф. Гамалея в 1898 г. [3]. Однако E. Hankin и Н.Ф. Гамалея связывали лизис бактерий с действием некоего химического агента, а не с действием вируса. Предположение о вирусной природе лизогении независимо друг от друга высказали сразу два ученых – F. Twort в 1915 г. и F. d’Herelle в 1917 г. Тем не менее вплоть до 1940 г., когда немецким бактериологам Н. и E. Ruska впервые удалось сфотографировать бактериофаг и оценить его строение, споры между сторонниками корпускулярной и некорпускулярной версий лизогении не прекращались [11].

Открытие вирусов, паразитирующих на бактериях, положило начало их активному изучению и применению в диагностике и фаготерапии.

Среди зарубежных ученых большой вклад в изучение ХБ внесли F. d’Herelle, P. Flu, M. Schlesinger, M. Delbrück, E. Ellis и др. Было установлено, что бактериофаги широко распространены в воде, почве, организме человека и животных, в растениях и в культуре бактерий, изучено явление лизогении, установлена высокая специфичность бактериофагов к определенным видам и штаммам бактерий, получена очищенная культура бактериофага. F. d’Herelle показал, что рост фага происходит не непрерывно, а «толчками», установлено, что у бактерий, подвергшихся воздействию и получивших устойчивость к фагу, происходило изменение культуральных, антигенных и ферментативных свойств [11]. В 1923 г. P. Flu открыл способность некоторых ХВ спонтанно продуцировать холерные умеренные фаги [2]. M. Schlesinger установил приблизительный размер бактериофага (~0,1 мкм) и показал, что он содержит ДНК (в настоящее время известны и РНК-содержащие бактериофаги) и белки. M. Delbrück и E. Ellis исследовали влияние различных факторов (температуры, плотности посева, характера питательной среды и т.д.) на эффективность взаимодействия фага с бактерией [11].

Исследования бактериофагов проводились и в СССР. Особенно следует отметить работы М. Мельника и И. Ручко из Харьковского санитарно-бактериологического института, которые впервые выделили бактериофаг в СССР в 1922 г. Крупным центром по исследованию фагов стал бактериологический институт в Тбилиси под управлением Г. Элиавы, дважды стажировавшегося у F. d'Herelle в институте Пастера в Париже. Научные исследования по изучению бактериофагов проводились и в Москве, в отделе биохимии микробов биохимического института Наркомздрава РСФСР, под руководством З.В. Ермольевой [12].

Строение и свойства ХБ. По своему строению ХБ достаточно разнообразны: могут иметь головку и хвост, но могут быть и нитевидными, обычно они не имеют оболочки, содержат одно- и двухцепочечную ДНК. Некоторые ХБ кодируют собственную РНК-полимеразу, но обычно они используют РНК-полимеразу хозяина. Генетический аппарат фага состоит из отдельных модулей, которые в различных сочетаниях встречаются у разных видов фагов [13]. Так, гены *sep*, *orfU*, *zot* и *ace*, входящие в состав фага СТХф, соответствуют генам колифага Ff *gVIII*, *gIII*, *gVI* и *gI* [14]. В то же время некоторые фаги отличаются высокой стабильностью генома в пространственном и временном контекстах. Так, недавно получены данные о том, что фаг ICP1, до сих пор циркулирующий в Юго-Восточной Азии, впервые обнаружен в 1993 г. как фаг М4, а проведенное С.М. Boyd *et al.* изучение сиквенсов 67 фагов, выделенных в Бангладеш, Индии и Демократической Республике Конго в 1992–2019 гг., показало, что все эти изоляты являются фагом ICP1 [15]. В то же время обнаружение у штаммов *V. cholerae*, выделенных в 1942 г., антифаговых PLE (Phage inducible chromosomal island-like elements) островов [16], нацеленных на защиту исключительно от фагов ICP1, косвенно свидетельствует о том, что ICP1 циркулировали в природе еще в 40-х гг. прошлого века. Исследование фагов, разделенных по времени выделения на 25 лет, показало более 98 % идентичности нуклеотидов у 78 % геномов. При этом около 42 % открытых рамок считывания присутствовали у всех 67 изолятов, а 58 % генома составляли вариабельные области, которые, вероятно, отвечают за конкурентоспособность ICP1 в коэволюционной борьбе с ХВ. Так, одна из гипервариабельных областей, обнаруженная у ICP1 изолятов из Азии и Африки, относилась к рано экспрессируемым генам, которые, вероятно, участвуют в инфицировании клеток-хозяев. Предполагается, что гены этой области способствуют преодолению генетических различий в защите *V. cholerae* в разных географических областях [15].

Бактериофаги играют важную роль в круговороте органических веществ и энергии, они являются своеобразными «санитарами», контролируя численность бактерий, а также способствуют процессам эволюции как в результате коэволюционной борьбы,

так и путем осуществления горизонтального переноса генов между генетически отдаленными организмами [1, 17–19].

В отличие от других вирусов бактериофаги более устойчивы к воздействиям внешней среды. Они могут длительно сохраняться в высушенном или замороженном виде, при низких температурах, не чувствительны к действию 0,5 % раствора сулемы, 1 % раствора фенола, спирта, эфира, хинозола и хлороформа. Бактериофаги резистентны к ионизирующему и ультрафиолетовому облучению [1]. Инактивация фагов происходит при температуре выше 70 °С или при воздействии 1 % раствора формалина. Также отмечается, что фаги чувствительны к действию осмотического шока и лимоннокислому натрию [2].

Особенности жизненного цикла ХБ.

Бактериофаги в зависимости от характера жизненного цикла делятся на литические, или вирулентные, и лизогенные, или умеренные фаги. Кроме того, в последнее время в научных статьях все чаще отдельно выделяют хронические, или нитевидные, фаги и псевдолизогенные фаги [17].

Литические ХБ, проникая внутрь бактериальной клетки, приводят ее к гибели. Большинство литических ХБ по новой таксономии ICTV принадлежат к классу *Caudoviricetes* [20].

Литические ХБ не имеют оболочки, их ДНК упакована в прокапсид. Они содержат линейную двухцепочечную ДНК, размером от 18 до 500 т.п.н., сходные ДНК-транслоказы, но отличаются концами хромосом и зависящей от этого стратегией репликации ДНК [21]. ХБ адсорбируются на поверхности бактериальной клетки (БК), прикрепляясь к ее рецепторам с помощью хвостовых шипов или волокон, обладающих ферментативной активностью и способных деполимеризовать полисахариды клеточной стенки. В качестве фаговых рецепторов могут выступать липополисахарид, белки внешней мембраны (такие как OmpW, O-антиген и др.), жгутики и пили [1, 15, 17, 18, 22]. Хвостовые волокна сокращаются, хвостовая трубка проникает в периплазму, связывается с цитоплазматической мембраной и ДНК вируса, впрыскивается в цитоплазму БК. После проникновения в клетку ДНК ХБ немедленно реализует строго регулируемую программу экспрессии генов. Первые гены начинают экспрессироваться уже на 4-й минуте заражения. Функция большей части этих генов еще до конца неизвестна, вероятно, они необходимы для противодействия защитным механизмам ХВ, подавления процессов его жизнедеятельности и переключения работы БК на синтез фаговых частиц (ФЧ). Так, известно, что синтезируемый геном *orbA* белок противодействует системе исключения бактериофага BREX ХВ [23]. Следующими включаются гены, отвечающие за метаболизм нуклеиновых кислот и репликацию ДНК. Последними начинают экспрессироваться гены, участвующие в синтезе белков, необходимых для сборки ФЧ, или вирионов [15]. Когда ФЧ собраны, происходит лизис ХВ с выходом от 40

до 325 вирионов, которые заражают новые БК. Время между заражением клетки и выходом ФЧ называется латентным периодом и колеблется от 15 мин до 5 ч [1]. Лизис БК осуществляется с помощью двух основных белков – холина и эндолизина. Холин лизирует клеточную мембрану, после чего эндолизин атакует пептидогликан клеточной стенки, повреждение которого приводит к лизису БК и выходу ФЧ [15, 24]. Однако некоторые фаги, например фаг ICP1, способны отсрочивать лизис клетки до 90 мин с помощью белка ArgA (Gp138), выступающего в роли антихолина. При избытке неинфицированных холерных вибрионов фаг ICP1 способен выделять в среду новые порции фага уже через 20 мин после заражения. Экспрессия антихолина наблюдается в том случае, если в среде уже имеется большое количество ФЧ, что приводит к суперинфекции [25].

Умеренные ХБ, такие как CP-T1, Rostov-6, Rostov 7, проникая в клетку, не вызывают ее разрушения. Они обладают как литическим, так и лизогенным жизненным циклом. После проникновения в клетку ДНК умеренного ХБ с помощью сайт-специфической рекомбинации или транспозиции встраивается в строго определенную область бактериального генома, синхронно с ним реплицируется и передается по наследству, реализуя лизогенный жизненный цикл. БК при этом может претерпевать лизогенную конверсию, то есть приобретать новые морфологические, культуральные, ферментативные, антигенные, биологические и другие свойства. Так, штаммы ХВ, зараженные умеренными фагами, могут спонтанно в виде «всплесков» выделять ФЧ путем вирусной экструзии [26]. Гибели клеток при этом не происходит благодаря регуляторам транскрипции, предотвращающим излишнее накопление вирионов [2, 27]. Однако при изменении условий окружающей среды, воздействии ультрафиолетового или ионизирующего облучения, перекисного окисления или другого стресса, повреждении ДНК БК, а иногда и спонтанно ДНК фага может вырезаться из хромосомы, при этом может происходить индукция литического жизненного цикла с гибелью клетки-хозяина [1].

Хронические ХБ фактически являются одной из разновидностей умеренных фагов, отличаясь от них тем, что, встраиваясь в хромосому хозяина, могут длительное время сохраняться в виде профага, приводя к лизогенной конверсии клетки-хозяина и постоянно выделяя ФЧ [1]. Например, встраивание фага CTXф в геном *V. cholerae* приводит к тому, что бактерия становится вирулентной и начинает продуцировать холерный токсин, вызывающий профузную диарею, основной симптом холеры [28]. Большинство хронических фагов относятся к семейству *Inoviridae*, порядок *Tubulavirales* [29]. Нитевидные фаги лишены оболочки и несут одноцепочечную кольцевую ДНК. При изменении условий окружающей среды может происходить вырезание профага из хромосомной ДНК, в результате чего клетка может терять неко-

торые свойства [30]. Переключения на литический жизненный цикл и гибели клетки при этом не происходит. Так, культивирование штаммов *V. cholerae* в условиях речной воды может приводить к утрате профага CTXф, что сопровождается потерей ими токсигенности и вирулентности. Однако клетки ХВ продолжают активно размножаться и становятся более конкурентоспособными в водной среде [24]. ДНК некоторых нитевидных фагов не встраивается в хромосому бактериальной клетки, а сохраняется в клетке в виде плазмидного вектора, который может реплицироваться и передаваться из клетки в клетку во время деления или путем конъюгации [27]. Так, фаг CTXф может находиться в бактериальной клетке как в виде плазмиды, так и в интегрированном в хромосому состоянии [18].

Нитевидные фаги отличаются склонностью к кооперации. Так, профаг RS1, фланкирующий профаг CTXф с обеих сторон и имеющий одинаковые гены (*rstA*, *rstB*, *rstR*) с областью RS2 профага CTXф, не содержит гены морфогенеза и способен реплицироваться, используя гены фага CTXф или фага TLCф. В то же время для репликации генома профага CTXф требуется белок RstC, кодируемый одноименным геном, расположенным на RS1ф [31]. Отмечается также, что для репликации CTXф требуется присутствие двух профагов CTX либо тандема CTX-RS1. При наличии только одного профага CTXф образования ФЧ не наблюдается [18].

Псевдолизогенные фаги трудно считать отдельной разновидностью фагов, так как это, скорее, особая форма взаимодействия фага с БК, которая сильно ослаблена или истощена, в результате чего фагу не хватает энергии для реализации литического или лизогенного цикла, и он вынужден долгое время сохраняться в непродуктивном и нерепликативном состоянии. Добавление в среду питательных веществ приводит к переключению фага на литический или лизогенный цикл [17].

Стратегии коэволюции фага и бактерии. В природе постоянно идет борьба между бактериями и фагами. ХБ атакуют *V. cholerae*, а ХВ защищаются от них с помощью различных механизмов. Одним из таких механизмов являются мутационные изменения рецепторного аппарата, благодаря чему фаги теряют возможность прикрепляться к клетке и в дальнейшем проникать в нее. Другой механизм связан с выбросом везикул внешней мембраны (OMV), которые, с одной стороны, усиливают вирулентность ХВ, а с другой – являются отвлекающей приманкой для ФЧ [32]. Кроме того, *V. cholerae* способны приобретать мобильные генетические элементы, несущие системы защиты от вирусов. Одной из таких систем является элемент PLE, ограничивающий репликацию фага. При попадании в клетку фага ICP1 он начинает выработку белка RexA, который является триггером для вырезания PLE-острова из хромосомы за счет его воздействия на PLE-кодируемую интегразу [15]. Далее PLE с помощью собственного

фактора инициации репликации (RepA) перенаправляет механизм репликации ICP1 на собственный геном, в результате чего PLE производит в восемь раз больше собственных реплицированных геномов, чем ICP1 [33]. Параллельно PLE нарушает образование конкатемеров ICP1 [33] и с помощью белка LidI препятствует ингибированию лизиса клетки, необходимого для накопления полноценных ФЧ [15]. В результате подобной стратегии PLE клетка ХВ гибнет, но останавливается инфицирование других клеток *V. cholerae*. Таким образом, вероятно, PLE-острова используют *V. cholerae* и ICP1 для собственного размножения и распространения.

Еще одной защитной системой *V. cholerae* является система CRISPR/Cas (Clustered regularly interspaced short palindromic repeats – CRISPR associated proteins), включающая спейсеры (последовательности чужеродной генетической информации, полученные клеткой от встречавшихся с ней вирусов и плазмид) и Cas-белки, разрушающие попадающие в клетку вирусные и плазмидные нуклеиновые кислоты, комплементарные тем, что содержатся в CRISPR-спейсерах [34].

Кроме указанных систем в системе защиты ХВ от фагов принимают участие SXT-элементы, кодирующие ферменты рестрикции-модификации, и система исключения бактериофага BREX (bacteriophage exclusion) [34]. Работа системы рестрикции-модификации, находящейся в 5-й горячей точке SXT-элемента, заключается в том, что нуклеазы рестрикции разрезают чужеродную ДНК, незащищенную метилированием [34]. Механизм действия системы BREX до конца не выяснен. Известно, что метилтрансфераза, кодируемая геном *brxX* данной системы, метилирует аденин в ДНК хозяина. Однако в данном случае ДНК фага, по-видимому, не разрезается и не разрушается, хотя клетка становится устойчивой к инфицированию фагом [35].

Также клетка может включать стратегию Abi (abortive infection) инфекции, приводящей клетку к гибели на раннем этапе инфицирования фагом, когда фаговые частицы еще не успели сформироваться, что предотвращает заражение других клеток [36].

Таким образом, ХВ, эволюционируя, защищается от воздействия ХБ. В свою очередь фаги также эволюционируют, приобретая системы контрзащиты. Так, для защиты от PLE-островов фаг ICP1 приобрел систему CRISPR/Cas и нуклеазу Odn [37], нацеленные на антифаговые элементы *V. cholerae*. Следует отметить, что CRISPR/Cas-системы ХБ, в отличие от бактериальных, являются сильно редуцированными и часто содержат только отдельные фрагменты. Высказывается предположение, что они могут задействовать некоторые элементы CRISPR/Cas-системы хозяина [15].

Для борьбы с SXT-элементом фаги используют эпигенетическую модификацию метилазой, что позволяет им распространяться в присутствии родственных SXT [38]. А белок OrbA, как уже отмеча-

лось, противодействует системе исключения бактериофага BREX [23].

Подобная стратегия коэволюционной борьбы, согласно которой фагам и бактериям приходится постоянно эволюционировать, чтобы выжить в конкурентной борьбе, получила название «динамика Красной королевы» [19]. В схватке с фагами некоторым клеткам по тем или иным причинам удается выжить, при этом клетки часто претерпевают изменения в морфологии колоний, биохимических свойствах, агглютинабельности, чувствительности к антибиотикам, биовар- и сероварспецифичности, вирулентности и т.д. [2]. Эти изменения дорого обходятся ХВ. Исследования показывают, что ХВ, устойчивые к фагам, менее конкурентоспособны во внешней среде по сравнению с их фагочувствительными аналогами [39].

Применение холерных бактериофагов. ХВ нашли широкое применение в диагностике для идентификации выделяемых от людей или из внешней среды штаммов *V. cholerae* O1-серогруппы, определения их биовара, вирулентности, эпидемической значимости и фаготипирования.

Идентификация. С целью идентификации ХВ М.С. Дрожевкиной и соавт. еще в 1973–1982 гг. разработан препарат поливалентного диагностического фага (ПДФ). Он включает Х фаг С. Мукерджи и три авторских фага (3900, 7227, 7106). Также разработано три препарата, содержащих фаги Х, 7106 и XVIII по отдельности [2].

В настоящее время ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (г. Саратов) выпускается «Фаг дифференциально-диагностический (ДДФ) вида *V. cholerae*, лиофилизат для диагностических целей по ТУ 8637-013-01898109-2007», содержащий четыре фага (XII, 182/154 (2), 78 и 92) и предназначенный для ускоренной идентификации вирулентных микроорганизмов: *V. cholerae* O1 классического и Эль Тор биоваров, *V. cholerae* неO1, *V. albensis* и дифференциации их от микроорганизмов *V. parahaemolyticus*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Commamonas*, *Pseudomonas* и *Escherichia coli*.

В 2021 г. М.П. Погожовой и соавт. для дифференциации *V. cholerae* O1-серогруппы предложен перспективный экспериментальный штамм Rostov-1. Однако диапазон литической активности данного фага составлял лишь 57,5 % [40], в связи с чем фаг нуждался в серьезной доработке. Также для идентификации и дифференциации микроорганизмов вида *V. cholerae* данными авторами предложен умеренный бактериофаг Rostov-6, с литической активностью 64,6 % в отношении ХВ O1-серогруппы двух биоваров [41].

Определение биовара. Для определения биовара штаммов *V. cholerae* O1-серогруппы за рубежом применяются фаги Classic IV и El Tor 5 [42].

В России для определения биовара *V. cholerae* O1 используется препарат «Бактериофаги диагностиче-

ские холерные классический и эльтор, лиофилизат для диагностических целей» (регистрационное удостоверение № ФСР 2007/01532), в состав которого входят фаги С и эльтор. Однако участвовавшее выделение из внешней среды штаммов ХВ, нечувствительных к фагу эльтор, требует проведения работ по изучению причин указанной резистентности и поиску новых диагностических ХВ. В настоящее время во ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора на основе фагов Rostov-1 и Rostov-13 сконструирован «Диагностический бактериофаг для идентификации *V. cholerae* O1 биовара эльтор жидкий», который эффективно лизирует штаммы ХВ, выделенные после 2000 г. [41]. Использование данного фагового препарата параллельно (на разных чашках) с фагом Rostov M3, лизирующим штаммы *V. cholerae* O1 обоих биоваров, позволяет дифференцировать штаммы ХВ классического и Эль Тор биоваров [41]. Разработка указанных препаратов продолжается.

Определение вирулентности и эпидемической значимости. Еще в 1971 г. для определения вирулентности ХВ предложены фаги ХДФ-3, 4, 5 [2]. Эффективность указанных фагов в сочетании с тестом на гемолиз в 1965–1970 гг. составляла 72–96 %. Однако с появлением штаммов, несущих ген субъединицы В холерного токсина (*ctxB*) классического типа, эффективность фагов ХДФ резко снизилась. Н.М. Остроумовой в 1988 г. для определения эпидемической значимости предложены фаги ctx^+ и ctx^- . В сочетании с тестом на гемолиз они диффе-

ренцировали $ctxAB^+$ и $ctxAB^-$ штаммы ХВ биовара Эль Тор [43].

Фаготипирование. Метод фаготипирования позволяет проследить распространение штаммов ХВ, установить связь между эпидемическими вспышками и единичными случаями холеры, а также судить о родстве отдельных штаммов бактерий.

За рубежом для фаготипирования предложено несколько схем, включающих разные бактериофаги (таблица).

Наибольшее распространение получила схема S. Basu и S. Mukerjee, включающая пять фагов (I–V) и позволяющая дифференцировать штаммы ХВ биовара Эль Тор на шесть фаготипов [2, 3]. К 1993 г. в эту схему было добавлено пять новых фагов (M4 или ICP1, D10, N4, S5, S20), которые дифференцировали 99,6 % штаммов ХВ биовара Эль Тор на 146 фаготипов [44]. Практически одновременно индийскими учеными была предложена еще одна схема типирования с помощью других пяти фагов (BI, B2, B3, B4 и B5), которая позволяла разделять штаммы *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор на 7 фаготипов [45].

В Китае с 70-х гг. прошлого века для определения биовара и серовара, а также для фаготипирования используются пять литических ХВ (VP1 – VP5), с помощью которых определяется 32 фаготипа ХВ биовара Эль Тор [46].

Кроме того, в Китае, помимо указанной схемы фаготипирования, фаги применяются еще и для биотипирования, включающего определение чувствительности к фагу 919TP, ферментации сорбитола и

Схемы фаготипирования холерных вибрионов
V. cholerae phage typing schemes

Авторы Authors	Страна и год создания Country and year of creation	Количество фагов Number of phages	Количество фаготипов Number of phagotypes			Количество типизируемых штаммов <i>V. cholerae</i> The number of sensitive <i>V. cholerae</i> strains			Ссылки References
			Классика Classical	Эль Тор El Tor	O139	Классика Classical	Эль Тор El Tor	O139	
Basu S. и Mukerjee S. Basu S. and Mukerjee S.	Индия, 1957–1968 India, 1957–1968	5	5	6	–	>50 %	>50 %	–	[48]
Gallut J. и Nicole P. Gallut J. and Nicole P.	Франция, 1963 France, 1963	7	5	3	–	50 %	80 %	–	[48]
Newman F.S. и Eisenstark A. Newman F.S. and Eisenstark A.	США, 1964 USA, 1964	8	7	–	–	81 %	–	–	[48]
Дрожевкина М.С. и Арутюнов Ю.А. Drozhevkina M.S. and Arutyunov Yu.A.	СССР, 1979 USSR, 1979	7	11	6	–	72 %	71 %	–	[3]
Lee J.V. и Furniss A.L. Lee J.V. and Furniss A.L.	Великобритания, 1981 Great Britain, 1981	14	–	<25	–	–	41 %	–	[48]
Gao S. <i>et al.</i>	Китай, 1984 China, 1984	5	32			–	–	–	[46]
Chattopadhyay D.J. <i>et al.</i>	Индия, 1993 India, 1993	10	2	146	–	–	99,6 %	–	[44]
Sarkar B.L. <i>et al.</i>	Индия, 1994 India, 1994	5	–	7	–	–	–	–	[45]
Chakrabarti A.K. <i>et al.</i>	Индия, 2000 India, 2000	5	–	–	10	–	–	100 %	[47]

гемолиз. Данная схема позволяет разделить штаммы холерного вибриона на 12 биотипов. Отмечается, что фаго-биотипирование позволяет дифференцировать клинические штаммы и природные изоляты, выделенные в межэпидемический период [22].

В 2000 г. А.К. Chakrabarti *et al.* разработана схема фаготипирования штаммов *V. cholerae* O139-серогруппы. Для этой цели использовано пять фагов (MAD-5, VE-2, CAL-3, S-2, MS-3), которые позволяли идентифицировать и фаготипировать штаммы *V. cholerae* O139-серогруппы на 10 фаготипов [47].

В нашей стране фаготипирование штаммов *V. cholerae* O1-серогруппы проводилось по схеме М.С. Дрожевкиной и Ю.А. Арутюнова. Схема включала четыре фага Mukerjee (I, II, III и IV) и три авторских фага (3900, 455 и 7227), которые позволяли выделить 18 фаготипов ХВ [2, 3]. Также в институте «Микроб» (г. Саратов) для фаготипирования штаммов *V. cholerae* серогрупп неO1/неO139 разработан препарат ТЭПВ (1–7), позволяющий выделять 7 фаготипов.

Фаготерапия и фагопрофилактика. Второй аспект практического применения ХВ – использование в качестве лечебных препаратов.

Еще в 1927 г. F. d’Herelle начал исследования по фаготерапии и профилактике холеры в Индии, которая является эндемичной для холеры территорией. ХВ добавлялись в колодцы с водой в пораженных холерой деревнях, что привело к исчезновению случаев холеры в этих селениях [49]. С 1928 по 1935 г. в двух похожих индийских городах Наогаон и Габигандж было проведено масштабное исследование эффективности фаготерапии. При этом в Наогаоне населению раздавали фаговый препарат, а из жителей Габиганджа сформировали контрольную группу. Применение фагового препарата привело к тому, что с 1930 по 1935 г. случаи холеры в Наогаоне не наблюдались, в отличие от Габиганджа, где заболевания холерой продолжали наблюдаться с обычной интенсивностью [11]. При этом эффективность фаготерапии напрямую зависела от этапа болезни: чем раньше начиналось лечение, тем эффективнее оно оказывалось [1]. Начиная с 1930 г. препараты бактериофагов получили широкое распространение и стали активно производиться. Однако в связи с нарушением производителями правил отбора и приготовления фаговых препаратов их эффективность оказалась ниже заявленной. В результате уже к началу 1940-х гг. многие врачи стали заменять фаговые препараты на только что появившиеся сульфаниламиды и антибиотики [11].

В СССР также активно проводилась работа по изучению бактериофагов и их практического применения. Сотрудникам биохимического института Наркомздрава РСФСР З.В. Ермольевой и Л.М. Якобсон удалось разработать фаговый препарат для лечения и профилактики холеры, содержащий 15 рас холерных фагов, а также найти метод приготовления высокоэффективного, высокоустой-

чивого и удобного для транспортировки сухого таблетированного бактериофага [12]. Уже в 30-х гг. XX в. фаготерапия и фагопрофилактика стали широко применяться во многих республиках СССР. Так, в 1939–1941 гг. З.В. Ермольева была командирована в приграничный с Афганистаном и Ираном, где свирепствовала холера, г. Темрез в Узбекистане для предотвращения эпидемии. В результате был разработан поливалентный препарат, включавший 19 фагов, активных против холеры, дифтерии и брюшного тифа. Использование комплексного бактериофагового препарата, который давали местному населению и пограничникам, добавляли в колодцы и пруды, предотвратило развитие эпидемии [12].

В 1942 г. в прифронтовом Сталинграде, когда на фронте и в самом Сталинграде свирепствовала холера, З.В. Ермольевой был налажен выпуск ХВ, который с успехом использовался для ежедневного профилактического приема 50 тыс. человек. Это помогло предотвратить распространение болезни [11].

После Второй мировой войны исследования ХВ продолжились. В 1958 г. для лечения холеры в Пакистан были направлены советские врачи. Терапия осуществлялась бактериофагом, который вначале вводили внутривенно по 5–10 мл одновременно с солевым раствором, а затем давали *per os* по 30 мл 3–4 дня. Общее количество получивших лечение больных неизвестно, но отмечается, что из них умерли только два человека. Еще один опыт фаготерапии отечественными бактериофагами состоялся в 1960 г. при ликвидации эпидемии холеры в Афганистане, куда были направлены советские микробиологи З.А. Планкина и А.Г. Никонов. ХВ вводились внутримышечно и перорально. Уже на девятый день от начала их использования в королевской больнице и холерном госпитале Кабула с холерой удалось справиться. При этом смертность больных холерой снизилась с 50 % после лечения окситетрациклином до 3,5 % [50]. К сожалению, ученые не ставили своей целью доказать эффективность полученных ими бактериофагов и не создавали контрольных групп (группа больных, которым не вводится лекарство), что казалось им аморальным в условиях эпидемии. Это сделало невозможной оценку результатов воздействия фага на больных.

В 1970 и 1971 гг. Всемирная организация здравоохранения инициировала два масштабных исследования по фаготерапии холеры в Восточном Пакистане (ныне Бангладеш). Исследования проводились в соответствии с международными стандартами. Фаготерапия сравнивалась с терапией тетрациклином. Одно из исследований проводилось под патронажем Национальных институтов здравоохранения США смесью из четырех препаратов ХВ (I и IV группы Мукерджи, фаг 326 и фаг 268), содержащих более $2 \cdot 10^{12}$ фаговых частиц/мл [51]. Второе исследование проводилось при поддержке Министерства здравоохранения СССР смесью из четырех классических ХВ (типа А, С и D из коллекции

Ашешова, а также I группа Мукерджи) и пяти ХБ эльтор (типа А, В и D из коллекции Ашешова, а также II и XII группы Мукерджи), содержащих от 10^8 до 10^9 фаговых частиц/мл [52]. Исследования показали, что бактериофаги и в средних (от 10^8 до 10^9 фаговых частиц/мл), и в очень высоких дозах ($2 \cdot 10^{12}$ фаговых частиц/мл) уступали в терапевтическом воздействии тетрациклину [51, 52].

После этих исследований мероприятия по фаготерапии и фагопрофилактике холеры в России и за рубежом практически не проводились.

В настоящее время для лечения холеры применяется регидратация и антибиотикотерапия, позволяющие сократить продолжительность заболевания, снизить интенсивность клинических проявлений и уровень смертности. Тем не менее широкое и не всегда обоснованное использование антибиотиков привело к появлению штаммов ХВ, устойчивых к большинству современных антибиотиков. В связи с этим бактериофаги, которые в эру антибиотиков практически перестали применяться, в настоящее время вновь становятся актуальной темой для изучения.

Механизм действия фагов значительно отличается от действия АБ. В отличие от АБ фаги обладают высокой специфичностью, не вызывают развитие токсикоза, аллергии и дисбактериоза. Фаги способны поражать АБ-устойчивые штаммы, разрушать биопленку и быстро попадать в очаг воспаления и также быстро элиминироваться из организма при исчезновении чувствительных к ним штаммов. Для лечения холеры обычно предлагаются фаговые коктейли, состоящие из нескольких рас ХВ [41, 49, 53–55]. Кроме того, фаги могут применяться вместе с другими препаратами, в том числе и с АБ. Однако при повторном применении у одного и того же больного через 2–3 недели ХВ часто становятся неэффективны, так как макроорганизм может вырабатывать против них антитела [56].

Существуют определенные требования к терапевтическим фаговым препаратам. Они должны содержать значительное количество ФЧ, не включать гены умеренных фагов, лизаты бактерий и продукты их жизнедеятельности. Необходимо, чтобы фаги, входящие в фаговый коктейль, были секвенированы, обладали высокой литической и репликативной активностями, сохраняющимися длительное время [57].

К сожалению, нам не удалось найти данных об опыте применения фаготерапии холеры на людях в современный период. Однако на сегодняшний день разработано несколько фагов и фаговых коктейлей, которые прошли лабораторные испытания на животных и показали свою эффективность. Один из таких фаговых коктейлей, состоящий из пяти фагов (B1, B2, B3, B4 и B5), был предложен A. Jaiswal *et al.* [53], которые на модели RITARD доказали его эффективность против *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор. При этом авторы отмечают, что литическая активность коктейля из фагов быстрее снижает количество ХВ по сравнению с отдельными фагами, а эффективность

от введения фагового препарата после перорального заражения бактериями значительно выше, чем обработка фагами до заражения. Другой коктейль, содержащий три фага (ICP1, ICP2 и ICP3), был протестирован на лабораторных животных (мышь и кролик) и показал значительное снижение колонизации и клинических проявлений у лабораторных животных [49]. Еще один фаг, Phi_1, выделенный в Китае, также был испытан на модели кроликов-сосунков. При этом у животных, обработанных фагами, не наблюдалось клинических признаков заболевания и не выделено ни одного бактериального мутанта, устойчивого к фагам [54]. A.K. Chakrabarti *et al.* также предлагают использовать для фаготерапии фаги N4, S5, S20, M4, D10, которые применяются для фаготипирования [55].

Поиски фагов, которые могли бы использоваться для фаготерапии, ведутся и в нашей стране. В настоящее время предложены два фага (Rostov-M3 и Rostov-13), один из которых обладает лизирующей активностью только против штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор (97 %), второй – против обоих биоваров (83 %) [41]. Указанные фаги протестированы на белых мышах и на модели изолированной петли взрослых кроликов. Показано, что пятидневное использование указанных фагов по отдельности и в виде коктейля предотвращает развитие холеры у экспериментальных животных [58–60].

Таким образом, бактериофаги в настоящее время рассматриваются как альтернатива АБ. В то же время существует реальная возможность и другого, более продуктивного подхода: совместного использования бактериофагов и АБ.

Исследования показывают, что взаимодействие АБ и бактериофагов может приводить как к сложению (аддитивный эффект) и умножению (синергия) их эффектов, или PAS (от phage-antibiotic synergy), так и к их антагонизму. Это следует учитывать при разработке комплексных препаратов.

Существует несколько механизмов PAS. Один из них состоит в том, что под действием β -лактамов и хинолонов может наблюдаться удлинение БК (филаментация) за счет многократного деления клетки без ее разделения. Подобная стратегия приводит к повышению устойчивости к АБ и фагоцитам, которые не могут проглотить образовавшуюся гигантскую клетку. В то же время устойчивость к фагам снижается за счет утончения клеточной стенки, что делает клетку более чувствительной к фагам [4].

Другой механизм, вызывающий PAS при совместном применении фагов и АБ, состоит в увеличении размера фаговых бляшек на бактериальном газоне, то есть в усилении заражения бактерий фагами за счет повышения продукции ФЧ (увеличение всплеска). Такой эффект наблюдался при действии кларитромицина, линезолида, цефотаксима, тетрациклина и ципрофлоксацина [5].

Кроме того, совместное применение АБ и фага приводит к возможности уменьшения дозы АБ, повы-

шению чувствительности к ним, а также к снижению количества АБ- и фагоустойчивых мутантов [4, 6].

Еще один механизм PAS состоит в деполимеризации фаговыми ферментами (гликандеполимеразами) бактериальных полисахаридов, включая экзополисахаридные соединения БК и бактериальные биопленки, что облегчает фагам проникновение в клетку и параллельно увеличивает диффузию АБ [7].

Причины антагонизма при совместном использовании АБ и фагов также связывают с несколькими механизмами. Одним из них является подавление АБ репликации фагов за счет понижения плотности клеточной популяции. Дело в том, что индукция и репликация фага напрямую связаны с системой quorum sensing (QS) бактерий, отвечающей за экспрессию бактериальных генов, образование биопленки, выработку токсинов и т.д. Оказалось, что сигнальные молекулы QS индуцируют профаги, способствуя их репликации. Установлено, что для репликации бактериофагу требуется определенная минимальная плотность бактерий (порог пролиферации) [8]. АБ способствуют гибели части БК, в результате чего плотность их популяции снижается, что препятствует индукции и репликации фага.

Другой механизм, с которым может быть связан антагонизм фагов и АБ, заключается в ингибировании некоторыми АБ, такими как тобрамицин, рибосомального синтеза, который требуется для синтеза фаговых белков, необходимых для сборки фаговых частиц [4]. Показано также, что при использовании фагов совместно с налидиксовой кислотой и новобиоцином, которые ингибируют субъединицы ДНК-гиразы А и В соответственно, также наблюдалось подавление репликации фагов [9]. Подавление фаговой активности наблюдалось и при совместном использовании некоторых фагов и рифампицина, что связано с воздействием этого АБ на РНК-полимеразу. Следует, однако, отметить, что подобное негативное влияние АБ характерно не для всех фагов. Так, фаги, синтезирующие собственную ДНК-гиразу или РНК-полимеразу, будут резистентны к действию АБ. То есть при подборе пары АБ – фаг, следует учитывать характер действия АБ и чувствительность к этому действию фага.

Таким образом, в настоящее время ведется поиск холерных бактериофагов, перспективных для терапевтического и профилактического применения. Продолжается изучение совместного применения фагов и антибиотиков. Вероятно, будущее именно за этим направлением, которое позволит врачам и ученым, комбинируя различные антибиотики и фаги, подбирать наиболее действенный механизм для лечения холеры.

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. Иконникова Н.В. Бактериофаги – вирусы бактерий. Минск: ИВЦ Минфина; 2017. 41 с.
2. Адамов А.К., Наумшина М.С. Холерные вибрионы. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та; 1984. 328 с.
3. Ломов Ю.М., Сомова А.Г., Кудрякова Т.А. Холерные фаги. Ростов н/Д; 1990. 160 с.
4. Łusiak-Szelachowska M., Miedzybrodzki R., Drulis-Kawa Z., Cater K., Knežević P., Winogradow C., Amaro K., Jończyk-Matysiak E., Weber-Dąbrowska B., Rękas J., Górski A. Bacteriophages and antibiotic interactions in clinical practice: what we have learned so far. *J. Biomed. Sci.* 2022; 29(1):23. DOI: 10.1186/s12929-022-00806-1.
5. Li X., Hu T., Wei J., He Y., Abdalla A.E., Wang G., Li Y., Teng T. Characterization of a novel bacteriophage Henu2 and evaluation of the synergistic antibacterial activity of phage-antibiotics. *Antibiotics (Basel)*. 2021; 10(2):174. DOI: 10.3390/antibiotics10020174.
6. Li X., He Y., Wang Z., Wei J., Hu T., Si J., Tao G., Zhang L., Xie L., Abdalla A.E., Wang G., Li Y., Teng T. A combination therapy of phages and antibiotics: two is better than one. *Int. J. Biol. Sci.* 2021; 17(13):3573–82. DOI: 10.7150/ijbs.60551.
7. Drulis-Kawa Z., Majkowska-Skrobek G., Maciejewska B. Bacteriophages and phage-derived proteins – application approaches. *Curr. Med. Chem.* 2015; 22(14):1757–73. DOI: 10.2174/0929867322666150209152851.
8. Payne R.J., Jansen V.A. Evidence for a phage proliferation threshold? *J. Virol.* 2002; 76(24):13123–4. DOI: 10.1128/jvi.76.24.13123-13124.2002.
9. Alonso J.C., Sarachu A.N., Grau O. DNA gyrase inhibitors block development of *Bacillus subtilis* bacteriophage SP01. *J. Virol.* 1981; 39(3):855–60. DOI: 10.1128/JVI.39.3.855-860.1981.
10. Abedon S.T., Thomas-Abedon C., Thomas A., Mazure H. Bacteriophage prehistory: Is or is not Hankin, 1896, a phage reference? *Bacteriophage*. 2011; 1(3):174–8. DOI: 10.4161/bact.1.3.16591.
11. Летаров А.В. История ранних исследований бактериофагов и рождение основных концепций в вирусологии. *Биохимия*. 2020; 85(9):1189–212. DOI: 10.31857/S0320972520090031.
12. Горшенин А.В. Участие микробиологов З.В. Ермольевой и Л.М. Якобсон в научной дискуссии о судьбе производства советских холерных бактериофагов в 1967 году. *Самарский научный вестник*. 2021; 10(4):201–7. DOI: 10.17816/snv2021104211.
13. Krupovic M., Prangishvili D., Hendrix R.W., Bamford D.H. Genomics of bacterial and archaeal viruses: dynamics within the prokaryotic virosphere. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2011; 75(4):610–35. DOI: 10.1128/MMBR.00011-11.
14. Waldor M.K., Mekalanos J.J. Lysogenic conversion by a filamentous phage encoding cholera toxin. *Science*. 1996; 272(5270):1910–4. DOI: 10.1126/science.272.5270.1910.
15. Boyd C.M., Angermeyer A., Hays S.G., Barth Z.K., Patel K.M., Seed K.D. Bacteriophage ICP1: a persistent predator of *Vibrio cholerae*. *Annu. Rev. Virol.* 2021; 8(1):285–304. DOI: 10.1146/annurev-virology-091919-072020.
16. Заднова С.П., Плеханов Н.А., Спирина А.Ю., Швиденко И.Г., Савельев В.Н. Выявление фагоиндуцируемых мобильных генетических элементов в штаммах *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 2:112–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-112-119.
17. Giri N. Bacteriophage structure, classification, assembly and phage therapy. *Biosci. Biotech. Res. Asia*. 2021; 18(2):239–50. DOI: 10.13005/bbra/2911.
18. Ильина Т.С. Нитчатые бактериофаги и их роль в вирулентности и эволюции патогенных бактерий. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2015; 1:3–10. DOI: 10.3103/S0891416815010036.
19. Phage Population Dynamics. In: Nicastro J., Wong S., Khazaai Z., Lam P., Blay J., Slavcev R.A. Bacteriophage Applications – Historical Perspective and Future Potential. Part of SpringerBriefs in Biochemistry and Molecular Biology. Springer; 2016. P. 44–5. DOI: 10.1007/978-3-319-45791-8_5.
20. Turner D., Shkoporov A.N., Lood C., Millard A.D., Dutilh B.E., Alfenas-Zerbini P., van Zyl L.J., Aziz R.K., Oksanen H.M., Poranen M.M., Kropinski A.M., Barylski J., Brister J.R., Chanisvili N., Edwards R.A., Enault F., Gillis A., Knezevic P., Krupovic M., Kurtböke I., Kushkina A., Lavigne R., Lehman S., Lobočka M., Moraru C., Moreno Switt A., Morozova V., Nakavuma J., Reyes Muñoz A., Rümnieks J., Sarkar B.L., Sullivan M.B., Uchiyama J., Wittmann J., Yigang T., Adriaenssens E.M. Abolishment of morphology-based taxa and change to binomial species names: 2022 taxonomy update of the ICTV bacterial viruses subcommittee. *Arch. Virol.* 2023; 168(2):74. DOI: 10.1007/s00705-022-05694-2.
21. Casjens S.R., Gilcrease E.B. Determining DNA packaging strategy by analysis of the termini of the chromosomes in tailed-bacteriophage virions. *Methods Mol. Biol.* 2009; 502:91–111. DOI: 10.1007/978-1-60327-565-1_7.
22. Shen X., Zhang J., Xu J., Du P., Pang B., Li J., Kan B. The resistance of *Vibrio cholerae* O1 El Tor Strains to the typing

- phage 919TP, a member of K139 phage family. *Front. Microbiol.* 2016; 7:726. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00726.
23. LeGault K.N., Hays S.G., Angermeyer A., McKitterick A.C., Johura F.T., Sultana M., Ahmed T., Alam M., Seed K.D. Temporal shifts in antibiotic resistance elements govern phage-pathogen conflicts. *Science*. 2021; 373(6554):eabg2166. DOI: 10.1126/science.abg2166.
24. Catalão M.J., Gil F., Moniz-Pereira J., São-José C., Pimentel M. Diversity in bacterial lysis systems: bacteriophages show the way. *FEMS Microbiol. Rev.* 2013; 37(4):554–71. DOI: 10.1111/1574-6976.12006.
25. Hays S.G., Seed K.D. Dominant *Vibrio cholerae* phage exhibits lysis inhibition sensitive to disruption by a defensive phage satellite. *Elife*. 2020; 9:e53200. DOI: 10.7554/eLife.53200.
26. Loh B., Kuhn A., Leptihn S. The fascinating biology behind phage display: filamentous phage assembly. *Mol. Microbiol.* 2019; 111(5):1132–8. DOI: 10.1111/mmi.14187.
27. Rakonjac J., Bennett N.J., Spagnuolo J., Gagic D., Russel M. Filamentous bacteriophage: biology, phage display and nanotechnology applications. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2011; 13(2):51–76.
28. Смирнова Н.И., Кулышань Т.А., Челдышова Н.Б., Осин А.В. Структурные и функциональные изменения генома возбудителя холеры в водной среде. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2007; 5:22–8.
29. Pathania A., Hopper C., Pandi A., Függer M., Nowak T., Kushwaha M. A synthetic communication system uncovers extracellular immunity that self-limits bacteriophage transmission. *bioRxiv*. 2022; 5(11):1–29. DOI: 10.1101/2022.05.11.491355.
30. Lenski R.E. Dynamics of interactions between bacteria and virulent bacteriophage. In: Marshall K.C., editor. *Advances in Microbial Ecology*. 1988. Vol. 10. P. 1–44. DOI: 10.1007/978-1-4684-5409-3_1.
31. Davis B.M., Kimsey H.H., Kane A.V., Waldor M.K. A satellite phage-encoded antirepressor induces repressor aggregation and cholera toxin gene transfer. *EMBO J.* 2002; 21(16):4240–9. DOI: 10.1093/emboj/cdf427.
32. Zingl F.G., Kohl P., Bakar F., Leitner D.R., Mitterer F., Bonnington K.E., Rechberger G.N., Kuehn M.J., Guan Z., Reidl J., Schild S. Outer membrane vesiculation facilitates surface exchange and *in vivo* adaptation of *Vibrio cholerae*. *Cell Host Microbe*. 2020; 27(2):225–237.e8. DOI: 10.1016/j.chom.2019.12.002.
33. Barth Z.K., Silvas T.V., Angermeyer A., Seed K.D. Genome replication dynamics of a bacteriophage and its satellite reveal strategies for parasitism and viral restriction. *Nucleic Acids Res.* 2020; 48(1):249–63. DOI: 10.1093/nar/gkz1005.
34. Заднова С.П., Плеханов Н.А., Спирина А.Ю., Челдышова Н.Б. Анализ антифаговых систем в штаммах *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНУСО*. 2023; 31(11):94–100. DOI: 10.35627/2219-5238/2023-31-11-94-100.
35. Goldfarb T., Sberro H., Weinstock E., Cohen O., Doron S., Chrapak-Amikam Y., Afik S., Ofir G., Sorek R. BREX is a novel phage predation system widespread in microbial genomes. *EMBO J.* 2015; 34(2):169–83. DOI: 10.15252/embj.201489455.
36. Lopatina A., Tal N., Sorek R. Abortive infection: bacterial suicide as an antiviral immune strategy. *Annu. Rev. Virol.* 2020; 7(1):371–84. DOI: 10.1146/annurev-virology-011620-040628.
37. Barth Z.K., Nguyen M.H., Seed K.D. A chimeric nuclease substitutes a phage CRISPR-Cas system to provide sequence-specific immunity against subviral parasites. *Elife*. 2021; 10:e68339. DOI: 10.7554/eLife.68339.
38. Petrov V.M., Ratnayaka S., Nolan J.M., Miller E.S., Karam J.D. Genomes of the T4-related bacteriophages as windows on microbial genome evolution. *Virol. J.* 2010; 7:292. DOI: 10.1186/1743-422X-7-292.
39. Seed K.D., Yen M., Shapiro B.J., Hilaire I.J., Charles R.C., Teng J.E., Camilli A. Evolutionary consequences of intra-patient phage predation on microbial populations. *Elife*. 2014; 3:e03497. DOI: 10.7554/eLife.03497.
40. Погожова М.П., Гаевская Н.Е., Водопоьянов А.С., Писанов Р.В., Аноприенко А.О., Романова Л.В., Тюрина А.В. Биологические свойства и генетическая характеристика экспериментальных диагностических бактериофагов *Vibrio cholerae*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(3):290–7. DOI: 10.36233/0372-9311-39.
41. Погожова М.П., Гаевская Н.Е., Тюрина А.В., Аноприенко А.О. Создание коллекций фагов патогенных вибрионов и ее применение в диагностических и профилактических целях. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова*. 2023; 19(3):37–45.
42. CDC. Laboratory methods for the diagnosis of *Vibrio cholerae*. [Электронный ресурс]. URL: https://stacks.cdc.gov/view/cdc/52473/cdc_52473_DS1.pdf?download=document-submit=Download (дата обращения 27.02.2024).
43. Остроумова Н.М., Мороз В.П., Караваева Т.Б., Коровкина Г.И., Грачева И.В. Внутривидовая дифференциация *Vibrio cholerae* по иммунотипу их умеренных фагов на токсигенные (Vct⁺) и нетоксигенные (Vct⁻) варианты. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1993; 4:116–20.
44. Chattopadhyay D.J., Sarkar B.L., Ansari M.Q., Chakrabarti B.K., Roy M.K., Ghosh A.N., Pal S.C. New phage typing scheme for *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor strains. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31(6):1579–85. DOI: 10.1128/jcm.31.6.1579-1585.1993.
45. Sarkar B.L., De S.P., Saha M.R., Niyogi S.K., Roy M.K. Validity of new phage typing scheme against *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor strains. *Indian J. Med. Res.* 1994; 99:159–61.
46. Gao S., Wu S., Liu B. Characteristics of typing phages of *Vibrio cholerae* biotype El Tor. *Fu Huo Luan Zi Liao Hui Bian*. 1984; 4:237–45.
47. Chakrabarti A.K., Ghosh A.N., Nair G.B., Niyogi S.K., Bhattacharya S.K., Sarkar B.L. Development and evaluation of a phage typing scheme for *Vibrio cholerae* O139. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38(1):44–9. DOI: 10.1128/JCM.38.1.44-49.2000.
48. Rowe B., Frost J.A. *Vibrio* phages and phage-typing. In: Barua D., Greenough W.B., editors. *Cholera. Part of Current Topics in Infectious Disease*. Springer, Boston, MA; 1992. P. 95–105. DOI: 10.1007/978-1-4757-9688-9_5.
49. Yen M., Camilli A. Mechanisms of the evolutionary arms race between *Vibrio cholerae* and *Vibriophage* clinical isolates. *Int. Microbiol.* 2017; 20(3):116–20. DOI: 10.2436/20.1501.01.292.
50. Плянкина З.А., Никонов А.Г., Саямов Р.М., Котлярова Р.И. Борьба с холерой в Афганистане. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1961; 32:202–4.
51. Monsur K.A., Rahman M.A., Huq F., Islam M.N., Northrup R.S., Hirschhorn N. Effect of massive doses of bacteriophage on excretion of vibrios, duration of diarrhoea and output of stools in acute cases of cholera. *Bull. World Health Organ.* 1970; 42(5):723–32.
52. Marcuk L.M., Nikiforov V.N., Scerbak J.F., Levitov T.A., Kotlarova R.I., Naumsina M.S., Dovydyov S.U., Monsur K.A., Rahman M.A., Latif M.A., Northrup R.S., Cash R.A., Huq I., Dey C.R., Phillips R.A. Clinical studies of the use of bacteriophage in the treatment of cholera. *Bull. World Health Organ.* 1971; 45(1):77–83.
53. Jaiswal A., Koley H., Ghosh A., Palit A., Sarkar B. Efficacy of cocktail phage therapy in treating *Vibrio cholerae* infection in rabbit model. *Microbes Infect.* 2013; 15(2):152–6. DOI: 10.1016/j.micinf.2012.11.002.
54. Bhandare S., Colom J., Baig A., Ritchie J.M., Bukhari H., Shah M.A., Sarkar B.L., Su J., Wren B., Barrow P., Atterbury R.J. Reviving phage therapy for the treatment of cholera. *J. Infect. Dis.* 2019; 219(5):786–94. DOI: 10.1093/infdis/jiy563.
55. Chakrabarti A.K., Biswas A., Tewari D.N., Mondal P.P., Dutta S. Phage types of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor strains isolated from India during 2012–2017. *J. Glob. Infect. Dis.* 2020; 12(2):94–100. DOI: 10.4103/jgid.jgid_42_19.
56. Бочкарева С.С., Алешкин А.В., Ершова О.Н., Новикова Л.И., Караулов А.В., Киселева И.А., Зулькарнеев Э.Р., Рубальский Е.О., Зейгарник М.В. Гуморальный иммунный ответ на бактериофаги на фоне фаготерапии инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). *Инфекционные болезни*. 2017; 15(1):35–40. DOI: 10.20953/1729-9225-2017-1-35-40.
57. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 года № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза». [Электронный ресурс]. URL: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71446406/#review> (дата обращения 26.02.2024).
58. Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Селянская Н.А., Егизарян Л.А., Погожова М.П., Головин С.Н., Пасюкова Н.И. Активность препарата бактериофагов в отношении антибиотикорезистентных штаммов холерных вибрионов. *Антибиотики и химиотерапия*. 2018; 63(7-8):29–32.
59. Аноприенко А.О., Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Погожова М.П. Создание экспериментального профилактического препарата на основе холерных бактериофагов. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова*. 2020; 16(3):10–3.
60. Иванова И.А., Гаевская Н.Е., Тюрина А.В., Омельченко Н.Д., Филиппенко А.В., Труфанова А.А. Способ профилактики холеры с помощью бактериофагов. Патент РФ № 2783000, опубл. 08.11.2022. Бюл. № 31.

References

1. Ikonnikova N.V. [Bacteriophages are Bacterial Viruses]. Minsk: Information Accounting Center of the Ministry of Finance; 2017. 41 p.
2. Adamov A.K., Naumshina M.S. [Cholera Vibrios]. Saratov: Publishing house of the Saratov University; 1984. 328 p.
3. Lomov Yu.M., Somova A.G., Kudryakova T.A. [Cholera Phages]. Rostov-on-Don; 1990. 160 p.
4. Łusiak-Szelachowska M., Międzybrodzki R., Drulis-Kawa Z., Cater K., Knežević P., Winogradov C., Amaro K., Jójczyk-Matysiak E., Weber-Dąbrowska B., Rękas J., Górski A. Bacteriophages and antibiotic interactions in clinical practice: what

- we have learned so far. *J. Biomed. Sci.* 2022; 29(1):23. DOI: 10.1186/s12929-022-00806-1.
5. Li X., Hu T., Wei J., He Y., Abdalla A.E., Wang G., Li Y., Teng T. Characterization of a novel bacteriophage Henu2 and evaluation of the synergistic antibacterial activity of phage-antibiotics. *Antibiotics (Basel)*. 2021; 10(2):174. DOI: 10.3390/antibiotics10020174.
 6. Li X., He Y., Wang Z., Wei J., Hu T., Si J., Tao G., Zhang L., Xie L., Abdalla A.E., Wang G., Li Y., Teng T. A combination therapy of phages and antibiotics: two is better than one. *Int. J. Biol. Sci.* 2021; 17(13):3573–82. DOI: 10.7150/ijbs.60551.
 7. Drulis-Kawa Z., Majkowska-Skrobek G., Maciejewska B. Bacteriophages and phage-derived proteins – application approaches. *Curr. Med. Chem.* 2015; 22(14):1757–73. DOI: 10.2174/0929867322666150209152851.
 8. Payne R.J., Jansen V.A. Evidence for a phage proliferation threshold? *J. Virol.* 2002; 76(24):13123–4. DOI: 10.1128/jvi.76.24.13123-13124.2002.
 9. Alonso J.C., Sarachu A.N., Grau O. DNA gyrase inhibitors block development of *Bacillus subtilis* bacteriophage SP01. *J. Virol.* 1981; 39(3):855–60. DOI: 10.1128/JVI.39.3.855-860.1981.
 10. Abedon S.T., Thomas-Abedon C., Thomas A., Mazure H. Bacteriophage prehistory: Is or is not Hankin, 1896, a phage reference? *Bacteriophage*. 2011; 1(3):174–8. DOI: 10.4161/bact.1.3.16591.
 11. Letarov A.V. [History of early research on bacteriophages and the birth of basic concepts in virology]. *Biokhimiya [Biochemistry]*. 2020; 85(9):1189–212. DOI: 10.31857/S0320972520090031.
 12. Gorshenin A.V. [Participation of microbiologists, Z.V. Ermol'eva and L.M. Yakobson, in a scientific discussion about the fate of the production of Soviet cholera bacteriophages in 1967]. *Samarsky Nauchny Vestnik [Samara Scientific Bulletin]*. 2021; 10(4):201–7. DOI: 10.17816/snv2021104211.
 13. Krupovic M., Prangishvili D., Hendrix R.W., Bamford D.H. Genomics of bacterial and archaeal viruses: dynamics within the prokaryotic virosphere. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2011; 75(4):610–35. DOI: 10.1128/MMBR.00011-11.
 14. Waldor M.K., Mekalanos J.J. Lysogenic conversion by a filamentous phage encoding cholerae toxin. *Science*. 1996; 272(5270):1910–4. DOI: 10.1126/science.272.5270.1910.
 15. Boyd C.M., Angermeyer A., Hays S.G., Barth Z.K., Patel K.M., Seed K.D. Bacteriophage ICP1: a persistent predator of *Vibrio cholerae*. *Annu. Rev. Virol.* 2021; 8(1):285–304. DOI: 10.1146/annurev-virology-091919-072020.
 16. Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Spirina A.Yu., Shvidenko I.G., Savel'ev V.N. [Detection of phage-induced mobile genetic elements in strains of *Vibrio cholerae* O1 biovar El Tor]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (2):112–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-112-119.
 17. Giri N. Bacteriophage structure, classification, assembly and phage therapy. *Biosci. Biotech. Res. Asia*. 2021; 18(2):239–50. DOI: 10.13005/bbra/2911.
 18. Ilyina T.S. [Filamentous bacteriophages and their role in the virulence and evolution of pathogenic bacteria]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2015; (1):3–10. DOI: 10.3103/S0891416815010036.
 19. Phage Population Dynamics. In: Nicastro J., Wong S., Khazaei Z., Lam P., Blay J., Slavcev R.A. Bacteriophage Applications – Historical Perspective and Future Potential. Part of SpringerBriefs in Biochemistry and Molecular Biology. Springer; 2016. P. 44–5. DOI: 10.1007/978-3-319-45791-8_5.
 20. Turner D., Shkoporov A.N., Lood C., Millard A.D., Dutilh B.E., Alfenas-Zerbini P., van Zyl L.J., Aziz R.K., Oksanen H.M., Poranen M.M., Kropinski A.M., Barylski J., Brister J.R., Chanisvili N., Edwards R.A., Enault F., Gillis A., Knezevic P., Krupovic M., Kurtböke I., Kushkina A., Lavigne R., Lehman S., Lobočka M., Moraru C., Moreno Switt A., Morozova V., Nakavuma J., Reyes Muñoz A., Rümnieks J., Sarkar B.L., Sullivan M.B., Uchiyama J., Wittmann J., Yigang T., Adriaenssens E.M. Abolishment of morphology-based taxa and change to binomial species names: 2022 taxonomy update of the ICTV bacterial viruses subcommittee. *Arch. Virol.* 2023; 168(2):74. DOI: 10.1007/s00705-022-05694-2.
 21. Casjens S.R., Gilcrease E.B. Determining DNA packaging strategy by analysis of the termini of the chromosomes in tailed-bacteriophage virions. *Methods Mol. Biol.* 2009; 502:91–111. DOI: 10.1007/978-1-60327-565-1_7.
 22. Shen X., Zhang J., Xu J., Du P., Pang B., Li J., Kan B. The resistance of *Vibrio cholerae* O1 El Tor Strains to the typing phage 919TP, a member of K139 phage family. *Front. Microbiol.* 2016; 7:726. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00726.
 23. LeGault K.N., Hays S.G., Angermeyer A., McKitterick A.C., Johura F.T., Sultana M., Ahmed T., Alam M., Seed K.D. Temporal shifts in antibiotic resistance elements govern phage-pathogen conflicts. *Science*. 2021; 373(6554):eabg2166. DOI: 10.1126/science.abg2166.
 24. Catalão M.J., Gil F., Moniz-Pereira J., São-José C., Pimentel M. Diversity in bacterial lysis systems: bacteriophages show the way. *FEMS Microbiol. Rev.* 2013; 37(4):554–71. DOI: 10.1111/1574-6976.12006.
 25. Hays S.G., Seed K.D. Dominant *Vibrio cholerae* phage exhibits lysis inhibition sensitive to disruption by a defensive phage satellite. *Elife*. 2020; 9:e53200. DOI: 10.7554/eLife.53200.
 26. Loh B., Kuhn A., Leptihn S. The fascinating biology behind phage display: filamentous phage assembly. *Mol. Microbiol.* 2019; 111(5):1132–8. DOI: 10.1111/mmi.14187.
 27. Rakonjac J., Bennett N.J., Spagnuolo J., Gagic D., Russel M. Filamentous bacteriophage: biology, phage display and nanotechnology applications. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2011; 13(2):51–76.
 28. Smirnova N.I., Kul'shan T.A., Cheldyshova N.B., Osin A.V. [Structural and functional changes in the genome of the cholera agent in the aquatic environment]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2007; (5):22–8.
 29. Pathania A., Hopper C., Pandi A., Függer M., Nowak T., Kushwaha M. A synthetic communication system uncovers extracellular immunity that self-limits bacteriophage transmission. *bioRxiv*. 2022; 5(11):1–29. DOI: 10.1101/2022.05.11.491355.
 30. Lenski R.E. Dynamics of interactions between bacteria and virulent bacteriophage. In: Marshall K.C., editor. *Advances in Microbial Ecology*. 1988. Vol. 10. P. 1–44. DOI: 10.1007/978-1-4684-5409-3_1.
 31. Davis B.M., Kimsey H.H., Kane A.V., Waldor M.K. A satellite phage-encoded antirepressor induces repressor aggregation and cholera toxin gene transfer. *EMBO J.* 2002; 21(16):4240–9. DOI: 10.1093/emboj/cdf427.
 32. Zingl F.G., Kohl P., Cakar F., Leitner D.R., Mitterer F., Bonnington K.E., Rechberger G.N., Kuehn M.J., Guan Z., Reidl J., Schild S. Outer membrane vesiculation facilitates surface exchange and *in vivo* adaptation of *Vibrio cholerae*. *Cell Host Microbe*. 2020; 27(2):225–237.e8. DOI: 10.1016/j.chom.2019.12.002.
 33. Barth Z.K., Silvas T.V., Angermeyer A., Seed K.D. Genome replication dynamics of a bacteriophage and its satellite reveal strategies for parasitism and viral restriction. *Nucleic Acids Res.* 2020; 48(1):249–63. DOI: 10.1093/nar/gkz1005.
 34. Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Spirina A.Yu., Cheldyshova N.B. [Analysis of anti-phage systems in *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2023; 31(11):94–100. DOI: 10.35627/2219-5238/2023-31-11-94-100.
 35. Goldfarb T., Sberro H., Weinstock E., Cohen O., Doron S., Charpak-Amikam Y., Afik S., Ofir G., Sorek R. BREX is a novel phage resistance system widespread in microbial genomes. *EMBO J.* 2015; 34(2):169–83. DOI: 10.15252/embj.201489455.
 36. Lopatina A., Tal N., Sorek R. Abortive infection: bacterial suicide as an antiviral immune strategy. *Annu. Rev. Virol.* 2020; 7(1):371–84. DOI: 10.1146/annurev-virology-011620-040628.
 37. Barth Z.K., Nguyen M.H., Seed K.D. A chimeric nuclease substitutes a phage CRISPR-Cas system to provide sequence-specific immunity against subviral parasites. *Elife*. 2021; 10:e68339. DOI: 10.7554/eLife.68339.
 38. Petrov V.M., Ratnayaka S., Nolan J.M., Miller E.S., Karam J.D. Genomes of the T4-related bacteriophages as windows on microbial genome evolution. *Virol. J.* 2010; 7:292. DOI: 10.1186/1743-422X-7-292.
 39. Seed K.D., Yen M., Shapiro B.J., Hilaire I.J., Charles R.C., Teng J.E., Camilli A. Evolutionary consequences of intra-patient phage predation on microbial populations. *Elife*. 2014; 3:e03497. DOI: 10.7554/eLife.03497.
 40. Pogozhova M.P., Gaevskaya N.E., Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Anoprienko A.O., Romanova L.V., Tyurina A.V. [Biological properties and genetic characteristics of experimental diagnostic *Vibrio cholerae* bacteriophages]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2021; 98(3):290–7. DOI: 10.36233/0372-9311-39.
 41. Pogozhova M.P., Gaevskaya N.E., Tyurina A.V., Anoprienko A.O. [Creation of a collection of pathogenic vibrio phages and its use for diagnostic and preventive purposes]. *Vestnik Biotehnologii i Fiziko-Khimicheskoy Biologii imeni Yu.A. Ovchinnikova [Bulletin of Biotechnology and Physico-Chemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov]*. 2023; 19(3):37–45.
 42. CDC. Laboratory methods for the diagnosis of *Vibrio cholerae*. (Cited 27 Feb 2024). [Internet]. Available from: https://stacks.cdc.gov/view/cdc/52473/cdc_52473_DS1.pdf?download=document-submit=Download.
 43. Ostroumova N.M., Moroz V.P., Karavaeva T.B., Korovkina G.I., Gracheva I.V. [Intraspecific differentiation of *Vibrio cholerae* into toxigenic (Vct⁺) and non-toxigenic (Vct⁻) variants according to the immunotype of their temperate phages]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 1993; (4):116–20.
 44. Chattopadhyay D.J., Sarkar B.L., Ansari M.Q., Chakrabarti B.K., Roy M.K., Ghosh A.N., Pal S.C. New phage typing scheme for *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor strains. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31(6):1579–85. DOI: 10.1128/jcm.31.6.1579-1585.1993.

45. Sarkar B.L., De S.P., Saha M.R., Niyogi S.K., Roy M.K. Validity of new phage typing scheme against *Vibrio cholerae* O1 biotype ElTor strains. *Indian J. Med. Res.* 1994; 99:159–61.
46. Gao S., Wu S., Liu B. Characteristics of typing phages of *Vibrio cholerae* biotype El Tor. *Fu Huo Luan Zi Liao Hui Bian*. 1984; 4:237–45.
47. Chakrabarti A.K., Ghosh A.N., Nair G.B., Niyogi S.K., Bhattacharya S.K., Sarkar B.L. Development and evaluation of a phage typing scheme for *Vibrio cholerae* O139. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38(1):44–9. DOI: 10.1128/JCM.38.1.44-49.2000.
48. Rowe B., Frost J.A. *Vibrio* phages and phage-typing. In: Barua D., Greenough W.B., editors. *Cholera. Part of Current Topics in Infectious Disease*. Springer, Boston, MA; 1992. P. 95–105. DOI: 10.1007/978-1-4757-9688-9_5.
49. Yen M., Camilli A. Mechanisms of the evolutionary arms race between *Vibrio cholerae* and *Vibriophage* clinical isolates. *Int. Microbiol.* 2017; 20(3):116–20. DOI: 10.2436/20.1501.01.292.
50. Plankina Z.A., Nikonov A.G., Sayamov R.M., Kotlyarova R.I. [Fighting cholera in Afghanistan]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 1961; (32):202–4.
51. Monsur K.A., Rahman M.A., Huq F., Islam M.N., Northrup R.S., Hirschhorn N. Effect of massive doses of bacteriophage on excretion of vibrios, duration of diarrhoea and output of stools in acute cases of cholera. *Bull. World Health Organ.* 1970; 42(5):723–32.
52. Marcuk L.M., Nikiforov V.N., Scerbak J.F., Levitov T.A., Kotljarskaya R.I., Naumsina M.S., Dovydiv S.U., Monsur K.A., Rahman M.A., Latif M.A., Northrup R.S., Cash R.A., Huq I., Dey C.R., Phillips R.A. Clinical studies of the use of bacteriophage in the treatment of cholera. *Bull. World Health Organ.* 1971; 45(1):77–83.
53. Jaiswal A., Koley H., Ghosh A., Palit A., Sarkar B. Efficacy of cocktail phage therapy in treating *Vibrio cholerae* infection in rabbit model. *Microbes Infect.* 2013; 15(2):152–6. DOI: 10.1016/j.micinf.2012.11.002.
54. Bhandare S., Colom J., Baig A., Ritchie J.M., Bukhari H., Shah M.A., Sarkar B.L., Su J., Wren B., Barrow P., Atterbury R.J. Reviving phage therapy for the treatment of cholera. *J. Infect. Dis.* 2019; 219(5):786–94. DOI: 10.1093/infdis/jiy563.
55. Chakrabarti A.K., Biswas A., Tewari D.N., Mondal P.P., Dutta S. Phage types of *Vibrio cholerae* O1 biotype ElTor strains isolated from India during 2012–2017. *J. Glob. Infect. Dis.* 2020; 12(2):94–100. DOI: 10.4103/jgid.jgid_42_19.
56. Bochkareva S.S., Aleshkin A.V., Ershova O.N., Novikova L.I., Karaulov A.V., Kiseleva I.A., Zul'karneev E.R., Rubal'sky E.O., Zeigarnik M.V. [Humoral immune response to bacteriophages during phage therapy of healthcare-associated infections (HAIs)]. *Infektsionnye Bolezni* [Infectious Diseases]. 2017; 15(1):35–40. DOI: 10.20953/1729-9225-2017-1-35-40.
57. [Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission dated November 3, 2016 No. 89 “On approval of the Rules for conducting research on biological medicinal products of the Eurasian Economic Union”]. (Cited 26 Feb 2024). [Internet]. Available from: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71446406/#review>.
58. Tyurina A.V., Gaevskaya N.E., Selyanskaya N.A., Egiazaryan L.A., Pogozhova M.P., Golovin S.N., Pasyukova N.I. [Activity of the bacteriophage preparation against antibiotic-resistant strains of *Vibrio cholerae*]. *Antibiotiki i Khimioterapiya* [Antibiotics and Chemotherapy]. 2018; 63(7-8):29–32.
59. Anoprienko A.O., Tyurina A.V., Gaevskaya N.E., Pogozhova M.P. [Creation of an experimental prophylactic drug based on cholera bacteriophages]. *Vestnik Biotehnologii i Fiziko-Khimicheskoy Biologii imeni Yu.A. Ovchinnikova* [Bulletin of Biotechnology and Physical-Chemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov]. 2020; 16(3):10–3.
60. Ivanova I.A., Gaevskaya N.E., Tyurina A.V., Omel'chenko N.D., Filippenko A.V., Trufanova A.A. Method for preventing cholera using bacteriophages. RF Patent No. 2783000, publ. 08 Nov 2022. Bull. No. 31.

Authors:

Cheldyshova N.B., Zadnova S.P., Abramova E.G., Nikiforov A.K., Devdariani Z.L. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Челдышова Н.Б., Заднова С.П., Абрамова Е.Г., Никифоров А.К., Девдариани З.Л. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-54-62

УДК 578.828HIV+578.891

Е.В. Ануфриева¹, Ю.В. Останкова¹, Е.Н. Серикова¹, А.Н. Щемелев¹, В.С. Давыденко¹,
Д.Э. Рейнгардт¹, Е.Б. Зуева¹, Арег А. Тотоян^{1,2}

Распространенность серологических и молекулярно-биологических маркеров ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов В и С среди медицинских работников

¹ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация; ²ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Цель работы – оценить встречаемость серологических и молекулярно-биологических маркеров ВИЧ-инфекции и парентеральных вирусных гепатитов В (ГВ) и С (ГС) у медицинских работников из Санкт-Петербурга. **Материалы и методы.** Материалом исследования служил 171 образец плазмы крови медицинских работников из Санкт-Петербурга. Методом ИФА проводили качественное определение антигена/антител (Аг/Ат) ВИЧ, HBsAg, антител к белкам HBs и HBcore (анти-HBs IgG, анти-HBcore суммарные) и анти-HCV IgG. Методом ПЦР выявляли РНК ВИЧ, РНК ВГС и ДНК ВГВ. Для всех выявленных образцов ВГВ проводили секвенирование и последующий анализ нуклеотидных последовательностей региона Pre-S1/Pre-S2/S. **Результаты и обсуждение.** Обследованная группа ранжирована по возрасту на следующие подгруппы: 21 год – 35 лет (28,07 %), 36–50 лет (26,90 %), 51 год – 65 лет (31 %) и старше 66 лет (13,45 %). Серологические маркеры ГВ выявлены у 91 (53,22 %) обследованного, ГС – у 2 (1,17 %). Маркеры ВИЧ-инфекции не обнаружены. Одновременно маркеры к вирусным гепатитам В и С обнаружены у 1 (0,58 %) человека. ДНК ВГВ выявлена у 4 (2,34 %) медицинских работников, РНК ВГС и ВИЧ не обнаружены. Определены достоверные различия в распространенности и распределении анализируемых серологических маркеров между возрастными группами. Все изоляты ВГВ относились к генотипу D, субгенотипам D1 (50 %) и D2 (50 %). Показана высокая вариабельность региона Pre-S1/Pre-S2/S ВГВ в обследованной группе. Полученные результаты свидетельствуют об относительно низкой распространенности вирусных гепатитов В и С в обследованной группе. Мониторинг распространенности гемоконтактных инфекций среди медицинских работников остается актуальной задачей, в первую очередь в отношении ГВ.

Ключевые слова: вирусные гепатиты, вирус гепатита С, вирус гепатита В, ВИЧ-инфекция, серологические маркеры, молекулярно-биологические маркеры, медицинские работники, лабораторная диагностика.

Корреспондирующий автор: Ануфриева Екатерина Владимировна, e-mail: kate.an21@yandex.ru.

Для цитирования: Ануфриева Е.В., Останкова Ю.В., Серикова Е.Н., Щемелев А.Н., Давыденко В.С., Рейнгардт Д.Э., Зуева Е.Б., Тотоян Арег А. Распространенность серологических и молекулярно-биологических маркеров ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов В и С среди медицинских работников. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:54–62. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-54-62
Поступила 11.08.2024. Отправлена на доработку 19.09.2024. Принята к публ. 28.10.2024.

E.V. Anufrieva¹, Yu.V. Ostankova¹, E.N. Serikova¹, A.N. Shchemelev¹, V.S. Davydenko¹,
D.E. Reingardt¹, E.B. Zueva¹, Areg A. Totolian^{1,2}

Prevalence of Serological and Molecular-Biological HIV-Infection, HBV and HCV Markers among Medical Workers

¹Pasteur St. Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation;

²First St. Petersburg State Medical University named after I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The aim of our work was to assess the occurrence of serological and molecular-biological markers of HIV, HBV and HCV among medical workers from St. Petersburg. **Materials and methods.** The study material included 171 blood plasma samples from medical workers from St. Petersburg. The ELISA method was used to qualitatively determine HIV antigen/antibodies (Ag/Ab), HBsAg, antibodies to HBs and HBcore proteins (anti-HBs IgG, anti-HBcore total), and anti-HCV IgG. HIV RNA, HCV RNA and HBV DNA were detected by PCR. For all identified HBV samples, sequencing and subsequent analysis of the nucleotide sequences of the Pre-S1/Pre-S2/S region were performed. **Results and discussion.** The surveyed group was ranked by age into the following subgroups: 21–35 years (28.07 %), 36–50 years (26.90 %), 51–65 years (31 %) and over 66 years (13.45 %). Serological markers of HBV were detected in 91 (53.22 %) subjects, HCV – in 2 (1.17 %). No markers of HIV were detected. At the same time, markers for HBV and HCV were found in 1 (0.58 %) person. HBV DNA was detected in 4 (2.34 %) medical workers; HCV RNA and HIV were not detected. Significant differences in the prevalence and distribution of the analyzed serological markers between age groups were determined. All HBV isolates belong to genotype D, subgenotypes D1 (50 %) and D2 (50 %). High variability of the Pre-S1/Pre-S2/S region of HBV in the examined group has been shown. The results obtained indicate a relatively low prevalence of HBV and HCV in the examined group. Monitoring of the prevalence of blood-borne infections among medical workers remains an urgent task, primarily in relation to HBV.

Key words: viral hepatitis, HCV, HBV, HIV infection, serological markers, molecular-biological markers, health care workers, laboratory diagnosis.

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

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

Bioethics: The consent of the local Ethics Committee of the Federal Budgetary Scientific Institution “Pasteur St. Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology” was obtained for the study. All subjects gave written informed consent to participate in the study.

Corresponding author: Ekaterina V. Anufrieva, e-mail: kate.an21@yandex.ru.

Citation: Anufrieva E.V., Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Shchemelev A.N., Davydenko V.S., Reingardt D.E., Zueva E.B., Totolian Areg A. Prevalence of Serological and Molecular-Biological HIV-Infection, HBV and HCV Markers among Medical Workers. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:54–62. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-54-62

Received 11.08.2024. Revised 19.09.2024. Accepted 28.10.2024.

Anufrieva E.V., ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-1882-529X>
Ostankova Yu.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2270-8897>
Serikova E.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0547-3945>
Shchemelev A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3139-3674>

Davydenko V.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0078-9681>
Reingardt D.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0931-102X>
Zueva E.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0579-110X>
Totolian Areg A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4571-8799>

Во время трудовой деятельности медицинские работники постоянно сталкиваются с различными факторами, которые могут негативно влиять на их здоровье. К таким факторам относятся профессиональные контакты с возбудителями, передающимися через биологические жидкости. Контакт с кровью и другими жидкостями, включая сперму, вагинальные выделения, слюну и серозные жидкости – плевральную, перикардальную, перитонеальную и амниотическую – прозрачные или явно загрязненные кровью, потенциально способен передавать возбудителя и вызывать инфекционное заболевание. В медицинских учреждениях гемоконтактные инфекции часто передаются при кожных травмах, таких как: проколы, укусы, порезы и ссадины, а также через контакт с выделениями инфицированного [1]. Из передающихся через кровь патогенов к наиболее распространенным и вызывающим беспокойство относят вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), вирусы гепатита В (ВГВ) и С (ВГС). Данные вирусы являются причиной большинства профессионально приобретенных инфекций и связаны с высокой заболеваемостью и смертностью. С точки зрения безопасности медицинских работников необходимо, чтобы сотрудники осознавали риски, активно участвовали в обучении, знали протоколы постконтактной профилактики и были способны адаптироваться к постоянно меняющимся ситуациям, с которыми сталкиваются сотрудники в медицинских учреждениях [2].

ВИЧ-инфекция и парентеральные вирусные гепатиты В (ГВ) и С (ГС) являются глобальной проблемой мирового здравоохранения. ВГВ и ВГС – это гепатотропные вирусы, вызывающие как острую, так и хроническую инфекцию, которая может обостриться циррозом и впоследствии привести к гепатоцеллюлярной карциноме (ГЦК). Вирусный гепатит у работников здравоохранения выявляют в 7–10 раз чаще в сравнении с общей популяцией [3]. Заболеваемость ГВ неуклонно растет, а его распространенность среди медицинского персонала составляет 39,5 % [4]. ВГВ структурно стабилен, высококонтагиозен, устойчив в окружающей среде, то есть может долго сохраняться в пятнах крови или на

поверхностях, что представляет серьезную угрозу за счет возможности заражения при контакте с кровью инфицированного или контактах со слизистыми [5]. Основным диагностическим маркером ВГВ является HBsAg, который появляется в крови после инкубационного периода (1–4 мес. с момента заражения) и исчезает через 4–6 мес. после начала заболевания. Это исчезновение обычно происходит одновременно с нормализацией биохимических показателей функции печени и клиническим выздоровлением. Далее появляются нейтрализующие антитела – анти-HBs. Наличие анти-HBs в крови может указывать либо на проведенную вакцинацию (при отсутствии антител к другим белкам ВГВ, особенно к капсидному белку – анти-HBc), либо на перенесенный ГВ (при наличии анти-HBc). Постоянное присутствие сывороточного HBsAg в течение более 6 мес. является признаком хронизации инфекции. Кроме анти-HBs в крови людей, имевших контакт с ВГВ, обнаруживаются антитела к капсидному белку двух типов: анти-HBc IgM и анти-HBc IgG. Анти-HBc IgM присутствуют в крови около 8 мес. и являются маркерами недавнего инфицирования, тогда как анти-HBc IgG сохраняются на всю жизнь [6]. ДНК ВГВ в настоящее время является наиболее важным маркером репликации ВГВ. Определение концентрации ДНК ВГВ в крови позволяет отслеживать эффективность противовирусной терапии и прогнозировать исход хронического гепатита, так как исследования показали прямую связь между высокой вирусной нагрузкой (более 10⁴ копий/мл) и риском развития цирроза и ГЦК. Вакцинация против ВГВ остается основной профилактической мерой. Риск передачи ВГВ неиммунизированным лицам составляет 6–30 %. Вакцина против ГВ и гамма-глобулин снижают этот риск на 90–95 %. Но, к сожалению, отчет Всемирной организации здравоохранения показал, что охват вакцинацией среди медицинских работников во всем мире очень низок. В слаборазвитых и развивающихся странах он составляет всего лишь 18–39 % [7].

ВГС в основном передается парентеральным путем, чаще всего через иглы, контаминированные зараженной кровью. Распространенность ГС сре-

ди работников здравоохранения не превышает распространенность среди населения в целом, однако существует повышенный риск заражения в медицинских учреждениях. Вероятность передачи инфекции при контакте с ВГС-положительной кровью составляет 1,8 %, через проколы иглой – 10 % [8]. Основным маркером инфекции, применяемым при проведении первичной диагностики ГС, являются антитела к ВГС – анти-ВГС. Эти антитела являются следствием встречи организма с вирусом и не могут рассматриваться как маркер текущей инфекции. Маркером хронической инфекции ГС является выявление РНК ВГС и анти-ВГС в течение 6 мес. [9]. В настоящее время не существует вакцины против ВГС или постконтактной профилактики. Лечение препаратами прямого противовирусного действия (ПППД), направленными на ключевые белки вируса: протеазу NS3, полимеразу NS5B и белок NS5A, – эффективно и безопасно [10]. Однако проблему для терапии составляет возможность развития мутаций лекарственной устойчивости у получающих ПППД лиц, а также инфицирование новых больных фармакорезистентными штаммами [11].

Риск инфицирования медицинских работников связан с рядом факторов, влияющих на профессиональную передачу ВИЧ. При острой ВИЧ-инфекции или на поздних стадиях заболевания вирусная нагрузка выше, что увеличивает вероятность заражения. Прием пациентами антиретровирусной терапии и ее вирусологическая эффективность уменьшают риск инфицирования [12]. Кроме того, важную роль играют степень повреждения кожных покровов и слизистых (риск выше при глубоком внутримышечном повреждении) и степень контаминации заразным материалом используемого инструмента. В сравнении с ВГВ и ВГС риск передачи ВИЧ через контакт с инфицированной кровью является наименьшим и составляет около 0,3 %. Несмотря на то, что лечения не существует, есть препараты, замедляющие прогрессирование заболевания. При этом, как и в случае ВГС, существуют естественные полиморфные варианты вируса, которые могут влиять на устойчивость к терапии, возможно также появление новых аминокислотных замен в результате отбора резистентных минорных квазивидов на фоне применения терапии, например за счет недостаточного уровня приверженности лечению, что приводит к фармакорезистентности к антиретровирусным препаратам. Все это способствует дальнейшему распространению резистентных штаммов [8].

В совокупности патогены, передающиеся через кровь, остаются серьезной проблемой здравоохранения во всем мире. По оценкам, в связи с взаимодействием медицинских работников с зараженной кровью пациентов ежегодно детектируется около 3 млн случаев заражения работников здравоохранения гемоконтактными инфекциями [13]. В большинстве случаев это происходит в результате уколов персонала во время медицинских манипуляций.

Медицинские работники остаются одной из ключевых групп риска заражения гемоконтактными инфекциями.

Цель работы – оценить встречаемость серологических и молекулярно-биологических маркеров ВИЧ-инфекции и парентеральных вирусных гепатитов В и С у медицинских работников из Санкт-Петербурга.

Материалы и методы

Материалом исследования послужил 171 образец плазмы крови медицинских работников из Санкт-Петербурга, полученный в 2022 г. На проведение данного исследования получено согласие локального Этического комитета ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера». Все обследованные дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

В ходе исследования оценивали распространенность маркеров, которая показывает частоту встречаемости каждого маркера в обследованной группе, независимо друг от друга. Также оценивали распределение маркеров, которое отражает частоту в группе изолированных маркеров, а также их комбинаций.

Для выявления серологических маркеров ВИЧ-инфекции и гепатитов В и С проводили качественное определение методом ИФА Аг/Ат ВИЧ, HBsAg, антител анти-HBs IgG, анти-HBcore суммарные и анти-HCV IgG с использованием коммерческих наборов «ДС-ИФА-ВИЧ-АГ+АТ», «МилаЛаб-ИФА-АНТИ-HCV», «ДС-ИФА-HBsAg», «ДС-ИФА-АНТИ-HBsAg», «ДС-ИФА-АНТИ-HBc» (НПО «Диагностические системы», Россия).

Для выявления нуклеиновых кислот предварительно выделяли тотальную ДНК/РНК с использованием коммерческого набора «АмплиПрайм РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия). Определение РНК ВГС и ДНК ВГВ проводили методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени с помощью тест-систем «АмплиСенс® HCV-FL» и «АмплиСенс® HBV-FL» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия) согласно инструкции производителя. Чувствительность тест-системы составляет 100 МЕ/мл для ВГС и 50 МЕ/мл для 0,1 мл образца ВГВ (при экстракции «РИБО-преп»). В дальнейшем для выявления ДНК ВГВ с низкой вирусной нагрузкой все образцы (n=171) дополнительно проанализированы с использованием разработанной в ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» методики, позволяющей выявлять HBsAg-негативный (скрытый) ХГВ (скГВ). Чувствительность составляет 3 МЕ/мл при экстракции ДНК из 500 мкл плазмы крови [14].

Для всех выявленных образцов проводили секвенирование и последующий анализ нуклеотидных последовательностей региона Pre-S1/Pre-S2/S, как показано ранее [5]. Первичный анализ полученных

в ходе секвенирования фрагментов осуществляли с помощью программы NCBI Blast в сравнении с нуклеотидными последовательностями, представленными в международной базе данных GenBank. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили в программе MEGA11, используя алгоритм ClustalW.

Полученные последовательности ВГВ проанализированы с использованием веб-ресурса Genafor Geno2Pheno HBV (HBVdb) (<https://hbv.geno2pheno.org/>) для определения их генотипов и оценки возможной лекарственной устойчивости и мутаций.

Статистическую обработку данных производили с помощью пакета программ MS Excel, Prizm 9.5.1 (GraphPad Software Inc.). При оценке статистической погрешности использовали «точный» интервал Клоппера – Пирсона. Результаты представлены с указанием 95 % доверительного интервала (95 % ДИ). Для оценки достоверности различий численных данных, полученных при парных сравнениях, использовали, в зависимости от характеристик выборок, точный критерий Фишера или критерий Хи-квадрат с поправкой Йетса. В качестве порога достоверности отличий определено значение вероятности $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В анализируемой группе преобладали лица женского пола – 83,63 %. Возраст обследованных варьировал от 22 до 78 лет и в среднем составил 47 лет. Серологические маркеры ГВ выявлены у 91 человека, что составило 53,22 % (95 % ДИ: 45,45–60,87 %), из них анти-HBs IgG в отсутствие прочих серологических маркеров (изолированные анти-HBs IgG) обнаружены у 73 (42,69 %; 95 % ДИ: 35,17–50,47 %) обследованных, анти-HBs IgG и анти-HBcore суммарные – у 13 (7,60 %; 95 % ДИ: 4,11–12,65 %), ГС – у 2 обследованных, то есть у 1,17 % (95 % ДИ:

0,14–4,16 %), маркеры ВИЧ-инфекции не обнаружены. Одновременно маркеры к ГВ и ГС обнаружены у 1 обследованного, то есть у 0,58 % (95 % ДИ: 0,01–3,21 %). У 79 (46,20 %; 95 % ДИ: 38,56–53,97 %) лиц не обнаружено ни одного из анализируемых маркеров. Результаты анализа распространенности и распределения серологических маркеров ГВ, ГС представлены в табл. 1.

Обследованная группа ранжирована по возрастам на следующие подгруппы: 21 год – 35 лет (28,07 %), 36–50 лет (26,90 %), 51 год – 65 лет (31 %) и старше 66 лет (13,45 %).

Результаты анализа распространенности и распределения серологических маркеров ГВ и ГС в зависимости от возраста представлены в табл. 2 и 3.

При сравнительном анализе распространенности серологических маркеров в возрастных группах показаны достоверные различия между группами лиц 21 года – 35 лет и 51 года – 65 лет: $\chi^2=4,728$ при $p=0,0297$, df (degrees of freedom, число степеней свободы)=1; 21 года – 35 лет и старше 66 лет: $\chi^2=7,788$ при $p=0,0053$, $df=1$; 36–50 лет и старше 66 лет: $\chi^2=4,530$ при $p=0,0333$, $df=1$.

При сравнительной оценке распределения анализов вирусных гепатитов в разных возрастных группах выявлено достоверное различие: $\chi^2=31,348$ при $p=0,0262$, $df=18$. При попарном сравнении выявлены отличия в распределении анализируемых маркеров между возрастными группами лиц 21 года – 35 лет и 51 года – 65 лет: $\chi^2=15,378$ при $p=0,0089$, $df=5$; 21 года – 35 лет и старше 66 лет: $\chi^2=15,990$ при $p=0,0003$, $df=2$.

При проведении сравнительного анализа распространенности и распределения серологических маркеров в зависимости от пола достоверных различий не выявлено.

При обследовании образцов на наличие молекулярно-биологических маркеров, ДНК ВГВ

Таблица 1 / Table 1

Распространенность и распределение серологических маркеров вирусных гепатитов В, С в обследованной группе
Prevalence and distribution of serological markers of HBV, HCV in the examined group

Выявленные серологические маркеры в плазме крови Detected serological markers in blood plasma	Обследованная группа (n= 71) (95 % ДИ) Study group (n= 71) (95% CI)
Распространенность серологических маркеров Prevalence of serological markers	
HBsAg	n=1 (0,58 %; 0,01–3,21 %)
anti-HBs IgG	n=87 (50,88 %; 43,13–58,59 %)
anti-HBcore суммарные/total	n=18 (10,53 %; 6,36–16,13 %)
anti-HCV IgG	n=2 (1,17 %; 0,14–4,16 %)
Distribution of serological markers	
anti-HBs IgG изолированные/isolated	n=73 (42,69 %; 35,17–50,47 %)
anti-HBcore суммарные изолированные/total isolated	n=3 (1,75 %; 0,36–5,04 %)
anti-HCV IgG изолированные/isolated	n=1 (0,58 %; 0,01–3,21 %)
HBsAg, anti-HBcore суммарные/ total	n=1 (0,58 %; 0,01–3,21 %)
anti-HBs IgG, anti-HBcore суммарные/total	n=13 (7,60 %; 4,11–12,65 %)
anti-HBs IgG, anti-HBcore суммарные/total, anti-HCV IgG	n=1 (0,58 %; 0,01–3,21 %)

Таблица 2 / Table 2

Распространенность серологических маркеров вирусных гепатитов В, С в обследованной группе

Prevalence of serological markers of HBV, HCV in the examined group

Выявленные серологические маркеры в плазме крови Detected serological markers in blood plasma	Возрастные группы (95 % ДИ) Age groups (95% CI)			
	21 год – 35 лет/years (n=48)	36–50 лет/years (n=46)	51 год – 65 лет/years (n=53)	66 лет и старше/years and above (n=23)
HBsAg	n=0	n=1 (2,17 %; 0,05–11,53 %)	n=0	n=0
anti-HBs IgG	n=33 (68,75 %; 53,75–81,34 %)	n=26 (56,52 %; 41,11–71,07 %)	n=21 (39,62 %; 26,45–54 %)	n=7 (29,17 %; 12,61–51,09 %)
anti-HBcore суммарные/total	n=1 (2,28 %; 0,05–11,07 %)	n=7 (15,22 %; 6,34–28,87 %)	n=7 (13,21 %; 5,48–25,34 %)	n=3 (12,50 %; 2,66–32,36 %)
anti-HCV IgG	n=0	n=0	n=2 (3,77 %; 0,46–12,98 %)	n=0
Серонегативные Sero-negative	n=15 (31,25 %; 18,66–46,25 %)	n=18 (39,13 %; 25,09–54,63 %)	n=29 (54,72 %; 40,45–68,44 %)	n=16 (66,67 %; 44,68–84,37 %)

Таблица 3 / Table 3

Распределение серологических маркеров вирусных гепатитов В, С в обследованной группе

Distribution of serological markers of HBV, HCV in the examined group

Выявленные серологические маркеры в плазме крови Detected serological markers in blood plasma	Возрастные группы (95 % ДИ) Age groups (95% CI)			
	21 год – 35 лет/years (n=48)	36–50 лет/years (n=46)	51 год – 65 лет/years (n=53)	66 лет и старше/years and above (n=23)
anti-HBs IgG изолированные/isolated	n=32 (66,67 %; 51,59–79,60 %)	n=21 (45,65 %; 30,90–60,99 %)	n=16 (30,19 %; 18,34–44,34 %)	n=4 (17,39 %; 4,95–38,78 %)
anti-HBcore суммарные изолированные/total isolated	n=0	n=1 (2,17 %; 0,05–11,53 %)	n=2 (3,77 %; 0,46–12,98 %)	n=0
anti-HCV IgG изолированные/isolated	n=0	n=0	n=1 (1,89 %; 0,05–10,07 %)	n=0
HBsAg, anti-HBcore суммарные/total	n=0	n=1 (2,17 %; 0,05–11,53 %)	n=0	n=0
anti-HBs IgG, anti-HBcore суммарные/total	n=1 (2,08 %; 0,05–11,07 %)	n=5 (10,87 %; 3,62–23,57 %)	n=4 (7,55 %; 2,09–18,21 %)	n=3 (13,04 %; 2,77–33,59 %)
anti-HBs IgG, anti-HBcore суммарные/total, anti-HCV IgG	n=0	n=0	n=1 (1,89 %; 0,05–10,07 %)	n=0
Серонегативные Seronegative	n=15 (31,25 %; 18,66–46,25 %)	n=18 (39,13 %; 25,09–54,63 %)	n=29 (54,72 %; 40,45–68,44 %)	n=16 (66,67 %; 44,68–84,37 %)

выявлена у 4 человек, что составило 2,34 % (95 % ДИ: 0,64–5,88 %), включая 3 (1,75 %; 95 % ДИ: 0,36–5,04 %) HBsAg-негативных случаев. ДНК ВГВ в сочетании с анти-HBs IgG обнаружены у 1 (0,58 %; 95 % ДИ: 0,01–3,21 %) обследуемого, HBsAg и анти-HBcore суммарные выявлены у 1 (0,58 %; 95 % ДИ: 0,01–3,21 %) ДНК-позитивного медицинского работника, в 2 случаях (1,17 %; 95 % ДИ: 0,14–4,16 %) образцы были серонегативны по всем анализируемым маркерам. РНК ВГС и ВИЧ в обследуемой группе не обнаружены.

Полученные последовательности были генотипированы с использованием онлайн-инструмента Genafor Geno2Pheno HBV. Все изоляты относились к генотипу D субтипа D1 (n=2) и субтипа D2 (n=2). При анализе вариабельности региона *Pre-S1/Pre-*

S2/S ВГВ мутаций лекарственной устойчивости не обнаружено, однако для всех образцов выявлено достаточно много полиморфных вариантов (табл. 4). В области малого поверхностного антигена гепатита В (small hepatitis B surface protein – SHB): L22S, R24KR, I28M, Q30HKQ, G43GR, T57I, N59S, R79RS, F85C, L89LQ, T118V, P127T. В регионе обратной транскриптазы гена *P* также выявлен ряд полиморфных вариантов: T37A, A38AE, E39*E, R51KR, Y54H, A87AE, P95S, S117AS, F122FV, H126R, Y135S, M309K, K318R. Отметим, что в одном из образцов обнаружена инсерция, приводящая к сдвигу в рамках считывания гена *S* [ins.]254aT и гена *P* [ins.]279aT.

В обследованной группе распространенность HBsAg составила 0,58 %, что существенно ниже, чем в более ранних исследованиях. На 2013 г. рас-

Таблица 4 / Table 4

Мутации региона *Pre-S1/Pre-S2/S* ВГВ
Mutations in the *Pre-S1/Pre-S2/S* region of HBV

Номер пациента Patient No	Субтип ВГВ Subtype of HBV	RT-домен RT domain	SHB-регион SHB region
1	D1	T37A, A38AE, S117AS, F122FV, Y135S	R24KR, I28M, Q30KQ, N59S, T127P
2	D2	Y54H	T57I, N59S, F85C
3	D1	E39*E, R51KR, A87AE, P95S, [ins.]279aT	L22S, Q30HQ, G43GR, R79RS, L89LQ, [ins.]254aT
4	D2	H126R, M309K, K318R	T118V, T127P

пространенность HBsAg среди медицинских работников в Санкт-Петербурге составила 14,91 % [9]. Такое существенное различие может быть связано как с особенностями анализируемых групп, так и с действительным снижением распространенности патогена за прошедшие десять лет, чему могли поспособствовать обязательная вакцинация медицинских работников и совершенствование профилактики.

Выявленная в обследованной группе распространенность суммарных анти-HBcore (10,53 %) и анти-HCV IgG (1,17 %), по всей видимости, отражает частоту контактов медицинских работников с вирусами гепатита В и С соответственно. Столь высокий уровень согласуется с международными данными. Так, например, в исследовании, проведенном М. Gańczak *et al.*, распространенность анти-HBcore составила 16,4 % среди врачей и 11,2 % среди медсестер, анти-HCV выявлены у 1,1 % врачей и 1,4 % медсестер, аг/ат ВИЧ не обнаружен [15]. Среди сотрудников больниц ежегодно имеет место более 380 тыс. случаев инфицирования через контакт с кровью инфицированного пациента, и примерно половина таких случаев остаются незарегистрированными. Во всем мире около 32,4–44,5 % медицинских работников ежегодно сообщают о том, что они подверглись случайным уколам иглой или другим острым оборудованием во время проведения медицинских манипуляций. Такие травмы представляют серьезную опасность для здоровья, поскольку, согласно мировой статистике, около 40 % случаев ГВ и ГС, а также 2,5 % случаев ВИЧ-инфекции приходится на медицинских работников. Среди них 90 % случаев инфицирования произошли в слаборазвитых странах, где профилактика на недостаточном уровне. Кроме того, инфицирование во время травм может быть связано с ограниченной осведомленностью о путях передачи вирусов, вирусной контагиозности и халатным отношением к технике безопасности. Например, исследователи из Саудовской Аравии показали, что вероятность хотя бы одного случая укола иглой оценивается в 22,2 %. Более чем о половине случаев травм (53,8 %) медицинские работники не сообщали вышестоящему руководству. При этом самая высокая частота инфицирования во время травм была среди терапевтов (36 %), за ними следовали медсестры (34,8 %), стоматологи (29,2 %) и медицинские технологи (21,1 %) [16].

Следует отметить, что в странах с высокой распространенностью гемоконтактных инфекций встречаемость патогенов в группах риска, в том числе среди работников здравоохранения, также очень высока. Так, в Гвинейской Республике среди медицинского персонала распространенность ВИЧ-инфекции составила 4,05 %, ГВ – 9,46 %, ГС – 1,35 % [17].

В Российской Федерации, относящейся к странам с низкой и средней распространенностью гемоконтактных инфекций, частота инфицирования медицинских работников ниже, за исключением некоторых регионов. Так, в Республике Татарстан распространенность вирусных гепатитов среди медицинских работников составила 16,7 %. Преобладают женщины старше 50 лет, со стажем работы более 10 лет на момент заражения [18]. В то же время в Северо-Западном федеральном округе (СЗФО) при анализе отчетов из медицинских учреждений за 2007–2017 гг. показано, что из 227 медицинских работников ГС и ГВ были официально диагностированы только у 4 обследованных, что составило 1,7 % от всех установленных случаев профзаболеваний. Данные случаи зарегистрированы в Республике Коми и Архангельской области. Согласно исследованию, представляющему собой анализ 227 историй болезни медицинских работников с установленными профессиональными заболеваниями от воздействия биологического фактора в Ленинградской области за период с 2009 по 2015 г., уровень заболеваемости ГВ среди работников здравоохранения варьировал от 0,1 до 0,3 на 10 тыс. человек, тогда как заболеваемость ГС уменьшилась вдвое – с 0,2 в 2009 г. до 0,1 в 2015 г. В Санкт-Петербурге с 2007 по 2017 г. заболеваемость ГВ варьировала в пределах 0–0,09 % на 10 тыс. человек, заболеваемость ГС – от 0,09 до 0,15 % [19]. Таким образом, наши результаты по распространенности маркеров вирусных гепатитов согласуются с данными о ситуации среди медицинских работников в СЗФО.

В 2023 г. уровень заболеваемости ВИЧ-инфекцией в Санкт-Петербурге составил 25,6 на 100 тыс. человек. Новых случаев ВИЧ-инфекции среди медицинских работников не обнаружено [20]. В нашем исследовании ВИЧ также не выявлен.

Относительно низкая распространенность маркеров ГВ среди работников здравоохранения может быть обусловлена несколькими причинами. Во-

первых, относительно небольшой размер обследуемой группы. Во-вторых, большинство обследованных являются медицинскими работниками в сфере инфекционных заболеваний, то есть профессиональная осведомленность и, как следствие, повышенная осторожность, соблюдение техники безопасности способствуют снижению риска заражения.

В обследованной группе медицинских работников встречаемость изолированных анти-HBs IgG составила 42,69 %. Количественное определение антител к HBsAg используется как маркер перенесенной инфекции или может свидетельствовать о вакцинации против ВГВ [5]. Поскольку вакцинация против ВГВ является для медицинских работников обязательной, можно предположить, что выявленный уровень встречаемости анти-HBs IgG отражает вакцинальный статус группы. Однако этот уровень значительно ниже, чем рекомендуется для медицинских работников, и свидетельствует о необходимости ревакцинации более чем 50 % сотрудников в соответствии с п. 767 СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», согласно которому с целью профилактики профессиональных заражений ГВ проводится ежегодное обследование и вакцинация против ГВ медицинских работников, у которых концентрация анти-HBs IgG менее 10 мМЕ/мл [21].

Отметим, что в обследованной группе у 14 человек (8,19 %) обнаружены одновременно анти-HBs IgG и анти-HBscore суммарные. Такая ситуация возможна в трех случаях. Во-первых, когда обследованный не был вакцинирован и оба маркера отражают контакт с вирусом. Во-вторых, когда был вакцинирован уже инфицированный человек. И, наконец, когда вакцинированный заражен позже, несмотря на наличие вакцинных антител, штаммом, несущим так называемые escape-мутации, или мутации вакцинного избегания [22]. Косвенным подтверждением этого предположения является выявление в настоящем исследовании ДНК вируса в HBsAg-негативном образце с антителами анти-HBs IgG, причем именно в этом образце обнаружена инсерция, приводящая к сдвигу рамок считывания. В дальнейшем, при анализе анамнестических данных, определено, что указанный волонтер вакцинирован при трудоустройстве, а уровень антител анти-HBs IgG превысил 10 мМЕ/мл.

В обследованной группе ДНК ВГВ (n=4; 2,34 %) встречалась почти в четыре раза чаще, чем HBsAg (n=1; 0,58 %), причем в трех ДНК-позитивных образцах HBsAg отсутствовал. Хотя не определено достоверных статистических различий, учитывая, что основным диагностическим инструментом для выявления ГВ является определение HBsAg [22], у трех человек ВГВ-инфекция осталась бы не выявленной.

При этом выявленные генотипы и субгенотипы вируса характерны для Российской Федерации [23]. Следует отметить, что у всех участников исследования вирусная нагрузка ВГВ превышала 50 МЕ/мл. Выявление определяемых уровней ДНК ВГВ при от-

сутствии HBsAg может свидетельствовать о наличии «ложного» скрытого ГВ, вызванного инфицированием генетическими вариантами ВГВ, содержащими мутации в гене S, известные как мутации генетического ускользания. В этом случае S-ген кодирует модифицированный HBsAg, который не распознается коммерческими доступными тест-системами ИФА [24]. В настоящем исследовании мы выявили только одну известную escape-мутацию, которая может препятствовать распознаванию HBsAg в диагностическом тесте за счет продуцирования измененного поверхностного антигена (T127P) [25], однако разнообразие полиморфных замен и выявление случая инсерции свидетельствуют о необходимости пристального мониторинга за штаммами вируса, выявляемыми у медицинских работников, в том числе дальнейших молекулярно-генетических исследований.

Распространенность маркеров ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов в данном исследовании оказалась сравнительно низкой. Тем не менее вызывает беспокойство высокая частота встречаемости одновременно антител анти-HBs IgG и суммарных анти-HBscore, а также обнаружение случаев HBsAg-негативного гепатита В. Поскольку в настоящее время для выявления вирусного гепатита В используется в первую очередь скрининг на HBsAg, а также, в случае групп риска, – на антитела анти-HBscore IgG/суммарные, очевидно, что такое тестирование недостаточно для обнаружения всех случаев ВГВ-инфекции. В совокупности с крайне низким (42,69 %) уровнем представленности изолированных (предположительно вакцинных) антител анти-HBs IgG это может свидетельствовать о необходимости корректировки стратегии лабораторной диагностики. В частности, следует внедрить, наравне со стандартными серологическими исследованиями, обязательное тестирование с использованием высокочувствительных молекулярно-биологических методов. Это будет способствовать более раннему выявлению инфекции и подбору корректной терапии. Таким образом, алгоритм обследования медицинских работников должен включать параллельное качественное тестирование на АГ/АТ ВИЧ, анти-ВГС, HBsAg, анти-HBscore IgG/суммарные, количественное – на анти-HBs IgG, а также на РНК ВГС и ДНК ВГВ. При снижении уровня антител анти-HBs IgG необходимо осуществлять ревакцинацию против гепатита В, так как вакцинация остается основной профилактической мерой и снижает риск инфицирования на 90–95 %. С учетом вышесказанного, мониторинг распространенности гемоконтактных инфекций среди медицинских работников остается актуальной задачей, в первую очередь касательно ГВ. При этом вакцинация и своевременная ревакцинация, соблюдение стандартных мер предосторожности и ежегодное обследование медицинских работников позволяют выявлять возможные источники заражения и предотвращать их профессиональную передачу.

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

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

Биоэтика. На проведение исследования получено согласие локального Этического комитета ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера». Все обследованные дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Список литературы

- Gooch C.M., Wadhwa R. Body Fluid Exposures. 2023. Bookshelf ID: NBK557850.
- Denault D., Gardner H. OSHA Bloodborne Pathogen Standards. 2023. Bookshelf ID: NBK570561.
- US Public Health Service. Updated US Public Health Service guidelines for the management of occupational exposures to HBV, HCV, and HIV and recommendations for postexposure prophylaxis. *MMWR. Recomm. Rep.* 2001; 50(RR-11):1–52. PMID: 11442229.
- Петрухин Н.Н. Профессиональная заболеваемость медработников в России и за рубежом (обзор литературы). *Гигиена и санитария*. 2021; 100(8):845–50. DOI: 10.47470/0016-9900-2021-100-8-845-850.
- Останкова Ю.В., Семенов А.В., Тотолян А.А. Выявление вируса гепатита В в плазме крови при низкой вирусной нагрузке. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64(10):635–40. DOI: 10.18821/0869-2084-2019-64-10-635-640.
- Kao J. Diagnosis of hepatitis B virus infection through serological and virological markers. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2008; 4(2):553–62. DOI: 10.1586/1747124.2.4.553.
- Bhattarai S., Gyawali M., Sapkota S., Subedi P., Karki D., Lamsal S. Knowledge, attitude and practice of hepatitis B vaccination among clinical medical students at a medical college in Nepal. *Europasian J. Med. Sci.* 2020; 2(2):17–23. DOI: 10.46405/ejms.v2i2.113.
- Schillie S., Wester C., Osborne M., Wesolowski L., Ryerson A.B. CDC recommendations for hepatitis C screening among adults – United States, 2020. *MMWR. Recomm. Rep.* 2020; 69(2):1–17. DOI: 10.15585/mmwr.rr6902a1.
- Калинина З.П., Мовчан К.Н., Дарына М.Г., Техова И.Г., Захватова А.С., Мамичева О.Ю., Русакевич К.И. Вопросы профилактики гемоконтактных гепатитов у медицинских работников в стационарах Санкт-Петербурга. *Фундаментальные исследования*. 2014; 10-5:882–7.
- Останкова Ю.В., Валутите Д.Э., Зуева Е.Б., Серикова Е.Н., Шемелев А.Н., Boumbaly S., Balde T.A.L., Семенов А.В. Первичные мутации лекарственной устойчивости вируса гепатита С у пациентов с впервые выявленной ВИЧ-инфекцией. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 3:97–105. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-97-105.
- Рейнгардт Д.Э., Останкова Ю.В., Лялина Л.В., Ануфриева Е.В., Семенов А.В., Тотолян А.А. Распространенность мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С среди пациентов с рецидивом заболевания на терапии препаратами прямого противовирусного действия. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2023; 15(4):86–93. DOI: 10.22328/2077-9828-2023-15-4-86-93.
- Shchemelev A.N., Boumbaly S., Ostankova Yu.V., Zueva E.B., Semenov A.V., Totolian A.A. Prevalence of drug resistant HIV-1 forms in patients without any history of antiretroviral therapy in the Republic of Guinea. *J. Med. Virol.* 2022; 95(1):e28184. DOI: 10.1002/jmv.28184.
- Ilyas F., Burbridge B., Babyn P. Health care-associated infections and the radiology department. *J. Med. Imaging Radiat. Sci.* 2019; 50(4):596–606.e1. DOI: 10.1016/j.jmir.2019.07.011.
- Останкова Ю.В., Серикова Е.Н., Семенов А.В., Тотолян А.А. Метод выявления в биологическом материале ДНК вируса гепатита В при низкой вирусной нагрузке на основе гнездовой ПЦР с детекцией по трем вирусным мишеням в режиме реального времени. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67(9):530–7. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-9-530-537.
- Gańczak M., Bohatyrewicz A., Korzeń M., Karakiewicz B. The comparison of sharps injuries reported by doctors versus nurses from surgical wards in the context of the prevalence of HBV, HCV and HIV infections. *Pol. Przegl. Chir.* 2012; 84(4):190–5. DOI: 10.2478/v10035-012-0031-2.
- Abalkhail A., Kabir R., Elmosaad Y.M., Alwashmi A.S.S., Alhumaydhi F.A., Alsalamah T., Almoammar K.A., Alsalamah Y.A., Mahmud I. Needle-stick and sharp injuries among hospital healthcare workers in Saudi Arabia: a cross-sectional survey. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2022; 19(10):6342. DOI: 10.3390/ijerph19106342.
- Ostankova Yu.V., Shchemelev A.N., Boumbaly S., Balde T.A.L., Zueva E.B., Valutite D.E., Serikova E.N., Davydenko V.S., Skvoroda V.V., Vasileva D.A., Semenov A.V., Esaulenko E.V., Totolian A.A. Prevalence of HIV and viral hepatitis markers among healthcare workers in the Republic of Guinea. *Diagnostics (Basel)*. 2023; 13(3):378. DOI: 10.3390/diagnostics13030378.
- Якупова Ф.М., Гарипова Р.В., Гилмуллина Ф.С., Созинова Ю.М., Загидов М.М. Вирусные гепатиты В и С как профессиональные заболевания. *Медицинский вестник Юга России*. 2022; 13(4):39–44. DOI: 10.21886/2219-8075-2022-13-4-39-44.
- Петрухин Н.Н., Андреев О.Н., Бойко И.В. Распространенность парентеральных вирусных гепатитов как профессионального заболевания у медицинских работников в Северо-Западном федеральном округе. *Медицина труда и промышленная экология*. 2021; 61(5):324–9.
- Информационный бюллетень «ВИЧ-инфекция в Санкт-Петербурге по состоянию на 01.01.2024 г.» / СПб ГБУЗ «Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями». [Электронный ресурс]. URL: <https://www.hiv-spb.ru/lsn/informacionnyie-byulleteni.html> (дата обращения 18.06.2024).
- Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Требования санитарного законодательства по вопросу организации вакцинопрофилактики персонала медицинских организаций. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.rosпотреbnadzor.ru/> (дата обращения 25.04.2024).
- Araújo S.D.R., Malheiros A.P., Sarmiento V.P., Nunes H.M., Freitas P.E.B. Molecular investigation of occult hepatitis B virus infection in a reference center in Northern Brazil. *Braz. J. Infect. Dis.* 2022; 26(3):102367. DOI: 10.1016/j.bjid.2022.102367.
- Manuylov V., Chulanov V., Bezuglova L., Chub E., Karlsen A., Kyuregyan K., Ostankova Yu., Semenov A., Osipova L., Tallo T., Netesova I., Tkachuk A., Gushchin V., Netesov S., Magnus L.O., Norder H. Genetic diversity and possible origins of the hepatitis B virus in Siberian Natives. *Viruses*. 2022; 14(11):2465. DOI: 10.3390/v14112465.
- Raimondo G., Locarnini S., Pollicino T., Levrero M., Zoulim F., Lok A.S.; Taormina Workshop on Occult HBV Infection Faculty Members. Update of the statements on biology and clinical impact of occult hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.* 2019; 71(2):397–408. DOI: 10.1016/j.jhep.2019.03.034.
- Rastegarvand N., Makvandi M., Samarbafzadeh A., Rasti M., Neisi N., Pouremamali A., Teimoori A., Shabani A. Molecular characterization of pre-core/core and S region of hepatitis B virus in hemodialysis patients with occult hepatitis B infection. *Jundishapur J. Microbiol.* 2015; 8(10):e23686. DOI: 10.5812/jjm.23686.

References

- Gooch C.M., Wadhwa R. Body Fluid Exposures. 2023. Bookshelf ID: NBK557850.
- Denault D., Gardner H. OSHA Bloodborne Pathogen Standards. 2023. Bookshelf ID: NBK570561.
- US Public Health Service. Updated US Public Health Service guidelines for the management of occupational exposures to HBV, HCV, and HIV and recommendations for postexposure prophylaxis. *MMWR. Recomm. Rep.* 2001; 50(RR-11):1–52. PMID: 11442229.
- Petrukhin N.N. [Prevalence of occupational morbidity among healthcare workers in the Russian Federation and abroad (literature review)]. *Gigiena i Sanitariya [Hygiene and Sanitation]*. 2021; 100(8):845–50. DOI: 10.47470/0016-9900-2021-100-8-845-850.
- Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Totolian A.A. [Hepatitis B virus identification in a blood plasma at a low viral load. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2019; 64(10):635–40. DOI: 10.18821/0869-2084-2019-64-10-635-640.
- Kao J. Diagnosis of hepatitis B virus infection through serological and virological markers. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2008; 4(2):553–62. DOI: 10.1586/1747124.2.4.553.
- Bhattarai S., Gyawali M., Sapkota S., Subedi P., Karki D., Lamsal S. Knowledge, attitude and practice of hepatitis B vaccination among clinical medical students at a medical college in Nepal. *Europasian J. Med. Sci.* 2020; 2(2):17–23. DOI: 10.46405/ejms.v2i2.113.
- Schillie S., Wester C., Osborne M., Wesolowski L., Ryerson A.B. CDC recommendations for hepatitis C screening among adults – United States, 2020. *MMWR. Recomm. Rep.* 2020; 69(2):1–17. DOI: 10.15585/mmwr.rr6902a1.
- Kalinina Z.P., Movchan K.N., Dar'ina M.G., Tekhova I.G., Zakhvatova A.S., Mamicheva O.Yu., Rusakevich K.I. [To the prevention of blood-borne hepatitis in health workers in hospitals in St. Petersburg]. *Fundamental'nye Issledovaniya [Basic Research]*. 2014; (10-5):882–7.

10. Ostankova Yu.V., Valutite D.E., Zueva E.B., Serikova E.N., Shchemelev A.N., Boumbaly S., Balde T.A., Semenov A.V. [Primary HCV drug resistance mutations in patients with newly diagnosed HIV infection]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (3):97–105. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-97-105.
11. Reingardt D.E., Ostankova Yu.V., Lyalina L.V., Anufrieva E.V., Semenov A.V., Totolian A.A. [Distribution of hepatitis C virus drug resistance mutations among patients with recurrence of the disease during therapy with direct antiviral drugs]. *VICH-Infektsiya i Immunosupressii [HIV Infection and Immunosuppressive Disorders]*. 2023; 15(4):86–93. DOI: 10.22328/2077-9828-2023-15-4-86-93.
12. Shchemelev A.N., Boumbaly S., Ostankova Yu.V., Zueva E.B., Semenov A.V., Totolian A.A. Prevalence of drug resistant HIV-1 forms in patients without any history of antiretroviral therapy in the Republic of Guinea. *J. Med. Virol.* 2022; 95(1):e28184. DOI: 10.1002/jmv.28184.
13. Ilyas F., Burbridge B., Babyn P. Health care-associated infections and the radiology department. *J. Med. Imaging Radiat. Sci.* 2019; 50(4):596–606.e1. DOI: 10.1016/j.jmir.2019.07.011.
14. Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Semenov A.V., Totolian A.A. [Method for hepatitis B virus DNA detecting in biological material at low viral load based on nested PCR with detection by three viral targets in real-time mode]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2022; 67(9):530–7. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-9-530-537.
15. Gańczak M., Bohatyrewicz A., Korzeń M., Karakiewicz B. The comparison of sharps injuries reported by doctors versus nurses from surgical wards in the context of the prevalence of HBV, HCV and HIV infections. *Pol. Przegl. Chir.* 2012; 84(4):190–5. DOI: 10.2478/v10035-012-0031-2.
16. Abalkhail A., Kabir R., Elmosaad Y.M., Alwashmi A.S.S., Alhumaydhi F.A., Alslamah T., Almoammar K.A., Alslamah Y.A., Mahmud I. Needle-stick and sharp injuries among hospital healthcare workers in Saudi Arabia: a cross-sectional survey. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2022; 19(10):6342. DOI: 10.3390/ijerph19106342.
17. Ostankova Yu.V., Shchemelev A.N., Boumbaly S., Balde T.A.L., Zueva E.B., Valutite D.E., Serikova E.N., Davydenko V.S., Skvoroda V.V., Vasileva D.A., Semenov A.V., Esaulenko E.V., Totolian A.A. Prevalence of HIV and viral hepatitis markers among healthcare workers in the Republic of Guinea. *Diagnostics (Basel)*. 2023; 13(3):378. DOI: 10.3390/diagnostics13030378.
18. Yakupova F.M., Garipova R.V., Gilmullina F.S., Sozinova Yu.M., Zagidov M.M. [Viral hepatitis B and C as occupational diseases]. *Meditinskiy Vestnik Yuga Rossii [Medical Herald of the South of Russia]*. 2022; 13(4):39–44. DOI: 10.21886/2219-8075-2022-13-4-39-44.
19. Petrukhin N.N., Andreenko O.N., Boyko I.V. [Prevalence of parenteral viral hepatitis as an occupational disease in medical workers in the Northwestern Federal District]. *Meditina Truda i Promyshlennaya Ekologiya [Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology]*. 2021; 61(5):324–9. DOI: 10.31089/1026-9428-2021-61-5-324-329.
20. [Information bulletin “HIV infection in St. Petersburg as of 01 Jan 2024”. St. Petersburg State Budgetary Healthcare Institution “Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases”]. (Cited 18 June 2024). [Internet]. Available from: <https://www.hiv-spb.ru/lsn/informacziionnye-byulleteni.html>.
21. [Federal Service for Surveillance on Consumers Rights Protection and Human Well-being. Requirements of sanitary legislation on the issue of organizing vaccinations for personnel of medical organizations]. (Cited 25 Apr 2024). [Internet]. Available from: <https://www.rospotrebnadzor.ru/>.
22. Araújo S.D.R., Malheiros A.P., Sarmiento V.P., Nunes H.M., Freitas P.E.B. Molecular investigation of occult hepatitis B virus infection in a reference center in Northern Brazil. *Braz. J. Infect. Dis.* 2022; 26(3):102367. DOI: 10.1016/j.bjid.2022.102367.
23. Manuylov V., Chulanov V., Bezuglova L., Chub E., Karlsen A., Kyuregyan K., Ostankova Yu., Semenov A., Osipova L., Tallo T., Netesova I., Tkachuk A., Gushchin V., Netesov S., Magnus L.O., Norder H. Genetic diversity and possible origins of the hepatitis B virus in Siberian Natives. *Viruses*. 2022; 14(11):2465. DOI: 10.3390/v14112465.
24. Raimondo G., Locarnini S., Pollicino T., Levrero M., Zoulim F., Lok A.S.; Taormina Workshop on Occult HBV Infection Faculty Members. Update of the statements on biology and clinical impact of occult hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.* 2019; 71(2):397–408. DOI: 10.1016/j.jhep.2019.03.034.
25. Rastegarvand N., Makvandi M., Samarbafzadeh A., Rasti M., Neisi N., Pouremamali A., Teimoori A., Shabani A. Molecular characterization of pre-core/core and S region of hepatitis B virus in hemodialysis patients with occult hepatitis B infection. *Jundishapur J. Microbiol.* 2015; 8(10):e23686. DOI: 10.5812/jjm.23686.

Authors:

Anufrieva E.V., Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Shchemelev A.N., Davydenko V.S., Reingardt D.E., Zueva E.B. Pasteur St. Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg. 14, Mira St., St. Petersburg, 197101, Russian Federation. E-mail: pasteur@pasteurorg.ru.

Totolian Areg A. Pasteur St. Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology. 14, Mira St., St. Petersburg, 197101, Russian Federation; e-mail: pasteur@pasteurorg.ru. First St. Petersburg State Medical University named after I.P. Pavlov; 6–8, Lev Tolstoy St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation.

Об авторах:

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

Тотolian Арег А. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Российская Федерация, 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14; e-mail: pasteur@pasteurorg.ru. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова; Российская Федерация, 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-63-69

УДК 639.1.091:616.98:579.842.23

В.М. Дубянский, В.М. Мезенцев, У.М. Ашибок

Пространственное распределение эпизоотических проявлений чумы в связи с орографическими и эдафическими факторами в Центрально-Кавказском высокогорном природном очаге

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

Цель работы – уточнение орографических и эдафических параметров пространственного распределения эпизоотических участков в Центрально-Кавказском высокогорном природном очаге чумы для проведения электронной паспортизации в рамках государственной программы «Обеспечение химической и биологической безопасности Российской Федерации. 2021–2024 годы», НИОКР «Электронная паспортизация природных очагов чумы и КГЛ на территории юга Российской Федерации». **Материалы и методы.** Данные о пространственно-временном распределении эпизоотических участков получены из архива ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора и включают 318 точек выявления эпизоотий чумы с 1984 по 2021 г. с пространственной привязкой в виде географических координат. В анализ включены четыре ландшафтно-эпизоотологических района (ЛЭР): Верхне-Кубанский, Кубано-Малкинский, Малко-Баксанский и Баксано-Чегемский. Чегемо-Черекский ЛЭР исключен, так как с его территории штаммы чумы не выявлялись ни разу. Эдафические и орографические факторы получены с сайтов <https://www.fao.org/> (данные о почве, в том числе и названия), <https://neo.gsfc.nasa.gov/>, <https://dwtkns.com/srtm30m/> (цифровая модель рельефа) и из архива ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора. **Результаты и обсуждение.** Эпизоотийные участки имеют выраженную приуроченность к высотам от 2000 до 2711 м над уровнем моря. В горно-степном поясе эпизоотийные участки чаще встречаются на склонах северо-северо-восточной – южной экспозиций, в альпийском и субальпийском поясах – северо-северо-западной экспозиции. Предпочтительны средний, ближе к высокому уровень освещенности ландшафта и относительно ровные или не сильно пересеченные участки со следующими типами почв: дистрические и моллические лептосолы и дистрические камбизолы. Отсутствуют эпизоотийные участки на эвтрических камбизолах, хотя возможно, что это случайное явление.

Ключевые слова: чума, природный очаг, эпизоотийные участки, рельеф, почва.

Корреспондирующий автор: Ашибок Умар Мухадинович, e-mail: Umar5555@mail.ru.

Для цитирования: Дубянский В.М., Мезенцев В.М., Ашибок У.М. Пространственное распределение эпизоотических проявлений чумы в связи с орографическими и эдафическими факторами в Центрально-Кавказском высокогорном природном очаге. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2024; 4:63–69. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-63-69

Поступила 03.04.2024. *Отправлена на доработку* 08.05.2024. *Принята к публ.* 17.10.2024.

V.M. Dubyansky, V.M. Mezentsev, U.M. Ashibokov

Spatial Distribution of Epizootic Manifestations of Plague in Connection with Orographic and Edaphic Factors in the Central Caucasian High-Mountain Natural Focus

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. The aim of this work was to clarify the orographic and edaphic parameters of the spatial distribution of epizootic sites in the Central Caucasian high-mountain natural plague focus for electronic certification within the framework of the State Program “Ensuring chemical and biological safety of the Russian Federation, 2021–2024”, R&D “Electronic certification of natural plague and CHF foci in the south of the Russian Federation”. **Materials and methods.** Data on the spatial and temporal distribution of epizootic sites were obtained from the archive of the Stavropol Anti-Plague Institute of the Rospotrebnadzor. They include 318 points of detection of plague epizootics between 1984 and 2021 with spatial reference in the form of geographical coordinates. The analysis covered four landscape-epizootiological regions (LER): Verkhne-Kubansky, Kubano-Malkinsky, Malko-Baksansky and Baksan-Chegemsky. The Chegem-Chereksky LER was excluded, since no plague strains have been detected from its territory. Edaphic and orographic factors were obtained from the web-sites <https://www.fao.org/> (soil data, including names), <https://neo.gsfc.nasa.gov/>, <https://dwtkns.com/srtm30m/> (digital relief model) and from the archive of the Stavropol Anti-Plague Institute of the Rospotrebnadzor. **Results and discussion.** The epizootic sites have a pronounced confinement to altitudes from 2000 to 2711 meters above sea level. In the mountain-steppe belt, epizootic areas are more often found on the slopes of the North-North-East – South exposures, in the alpine and subalpine belts – the North-North-West exposure. The favorable level of landscape illumination is medium, closer to high; relatively flat or not heavily dissected areas, with soils: dystric and mollic leptosols and dystric cambisols predominate. Epizootic sites are absent on eutric cambisols, although this may be a random phenomenon.

Key words: plague, natural focus, epizootic sites, relief, soil.

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

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

Corresponding author: Umar M. Ashibokov, e-mail: Umar5555@mail.ru.

Citation: Dubyansky V.M., Mezentsev V.M., Ashibokov U.M. Spatial Distribution of Epizootic Manifestations of Plague in Connection with Orographic and Edaphic Factors in the Central Caucasian High-Mountain Natural Focus. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:63–69. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-63-69

Received 03.04.2024. Revised 08.05.2024. Accepted 17.10.2024.

Dubyansky V.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3817-2513>
Mezentsev V.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0613-861X>

Ashibokov U.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9197-588X>

Центрально-Кавказский высокогорный природный очаг чумы, открытый в 1971 г. занимает площадь 4600 км² и на протяжении 36 лет являлся одним из наиболее активных на территории Российской Федерации, с индексом эпизоотичности, равным единице. Однако в 2008 г. начался межэпизоотический период, который длился до 2020 г. В июле – августе 2021 г. эпизоотии чумы были вновь зарегистрированы в трех секторах западной части очага, с выделением 11 штаммов возбудителя. Эпизоотийные участки привязаны к поселениям горного суслика (*Spermophilus musicus*) и неравномерно распределены по территории [1].

Очаг имеет большое эпидемиологическое значение, так как расположен в Приэльбрусье, центре горного туризма и альпинизма юга России. Для повышения эффективности эпиднадзора за территорией требуется постоянно актуализировать паспортные данные очага с учетом современных данных и возможностей их обработки.

Экологическая система очага постоянно трансформируется из-за глобальных климатических изменений [2]. Однако орографические и эдафические факторы довольно консервативны и изменяются медленнее других [3], поэтому эти характеристики очаговой территории могут использоваться в практической работе долгое время и служить реперными данными при отслеживании изменений биогеоценоза эпизоотической триады.

В настоящее время появились относительно точные исходные данные в виде цифровых моделей рельефа и цифровых характеристик почв, что позволяет проводить исследования на больших территориях с использованием математических моделей и геоинформационных систем (ГИС). По результатам обследования территории на чуму накоплен большой фактический материал за более чем 40-летний период.

Цель работы – уточнение орографических и эдафических параметров пространственного распределения эпизоотических участков в Центрально-Кавказском высокогорном природном очаге чумы для проведения электронной паспортизации в рамках государственной программы «Обеспечение химической и биологической безопасности Российской Федерации. 2021–2024 годы», НИОКР «Электронная паспортизация природных очагов чумы и КГЛ на территории юга Российской Федерации».

Материалы и методы

Данные о пространственно-временном распределении эпизоотических участков получены

из архива ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора и включают 318 точек выявления эпизоотий чумы с 1984 по 2021 г. с пространственной привязкой в виде географических координат. В анализ включены четыре ландшафтно-эпизоотологических района (ЛЭР): Верхне-Кубанский, Кубано-Малкинский, Малко-Баксанский и Баксано-Чегемский. Чегемо-Черекский ЛЭР исключен, так как с его территории штаммы чумы не выявлялись ни разу.

Эдафические и орографические факторы получены с сайтов <https://www.fao.org/> (данные о почве, в том числе и названия), <https://neo.gsfc.nasa.gov/>, <https://dwtkns.com/srtm30m/> (цифровая модель рельефа) и из архива Ставропольского противочумного института.

Географический анализ проводился с использованием инструментов QGIS версии 3.34.1. Эта программа также использована для создания на основе цифровой модели рельефа его производных: растровых слоев экспозиции, теневого рельефа, крутизны склонов, индекса пересеченности местности. Исходные данные для построения этих растров соответствовали применяемому в QGIS по умолчанию. Иллюстрации созданы в QGIS.

Диаграммы построены в Microsoft Excel, диапазоны диаграмм рассчитывались автоматически в соответствии с правилами Скотта и использовались для дифференцирования распределения количества эпизоотийных точек в зависимости от фактора.

Для выявления корреляции между факторами использован критерий Спирмена, для выявления разности распределений – критерий Эппса – Синглтона, рассчитанные в программе Past.

Анализ важности (информативности) факторов проводился с использованием разработанной В.М. Дубянским пространственной модели на основе непараметрической статистической последовательной процедуры распознавания [4]. Эта процедура удобна тем, что, в отличие от MaxEnt подобных моделей или нейросетей глубокого обучения, не требует эмпирического подбора параметров [5, 6]. Результаты и их статистическая достоверность интерпретируются однозначно. При этом используются все доступные факторы окружающей среды, без учета их коррелированности, исходя из концепции моделирования экологической ниши [7].

Высота измеряется в метрах над уровнем моря (м н.у.м.), при этом горно-степной пояс считается при высотах 1100–2100 м н.у.м., субальпийский – 2101–2800 м н.у.м., альпийский – выше 2800 м н.у.м. [8]. Экспозиция склонов – в градусах и отношении к сторонам света, освещенность ланд-

шафта – в безразмерных единицах от 0 (отсутствие освещенности) до 255 (отсутствие затенения), крутизна склона – в градусах. Индекс пересеченности, согласно классификации, разработанной авторами данного индекса для сети с разрешением в 1 км и приведенной в работе [9], от 0 до 80 соответствует ровной поверхности местности; 81–116 – почти ровной поверхности; 117–161 – слегка пересеченной поверхности; 162–239 – поверхности средней степени пересеченности; 240–497 – умеренно пересеченной поверхности; 498–958 – среднепересеченной и 959–4367 – чрезвычайно пересеченной поверхности.

Все расчеты растров проведены в пределах поселений горного суслика. Это сделано для более целевого и точного статистического анализа растров. Границы поселений не приводятся, чтобы не загромождать рисунки.

Результаты и обсуждение

Распределение эпизоотических участков в виде диаграмм представлено на рис. 1, 2.

Самая низкая точка регистрации эпизоотий отмечена на высоте 1101 м н.у.м. (Баксано-Чегемский ЛЭР). Самая высокая – на высоте 3449 м н.у.м. (Кубано-Малкинский ЛЭР). Количество эпизоотических точек распределено относительно равномерно в

диапазоне высот 1101–2021 м н.у.м., где зарегистрировано 85 точек, или 26,65 % от общего количества. На диапазон высот 2022–2711 м н.у.м. приходилось 203 точки (63,64 %). На высотах свыше 2712 м н.у.м. зарегистрировано 30 эпизоотических точек, или 9,4 % (рис. 1).

Если рассматривать весь массив эпизоотических участков, то на склонах с экспозицией от 154 до 205° (сектор юго-юго-восток – юго-юго-запад) зарегистрировано 25,01 % всех эпизоотических точек. Еще 16,93 % точек расположены на склонах с северо-восточной экспозицией (0–52°). Остальные точки относительно равномерно расположены на склонах оставшихся экспозиций.

Если же исследовать соотношение экспозиции и расположения эпизоотических участков по высотным поясам, то в альпийском и субальпийском поясах эпизоотические участки расположены относительно похоже, наблюдается некоторая тенденция преобладания северо-северо-западной экспозиции, подтвержденная тестом Эппса – Синглтона. В горно-степном поясе наблюдается большая концентрация участков на экспозициях северо-северо-восток – юг.

В затененных ландшафтах зарегистрировано 11,29 % всех эпизоотических точек, в максимально освещенных – 3,76 %. Остальные точки расположены в ландшафтах со средней освещенностью, при

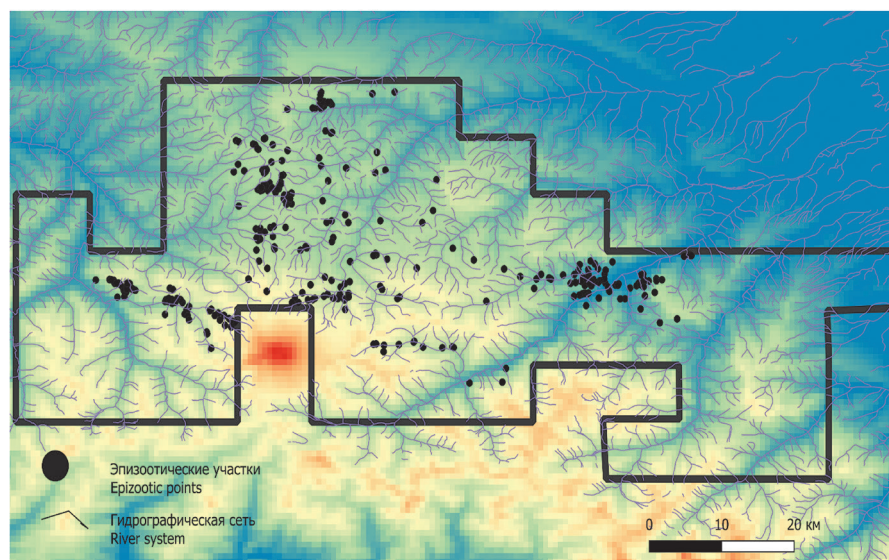


Рис. 1. Распределение эпизоотических участков (точки) в Центрально-Кавказском высокогорном очаге чумы на цифровой модели рельефа

Fig. 1. Distribution of epizootic sites (dots) in the Central Caucasus high-mountain focus of plague on a digital elevation model



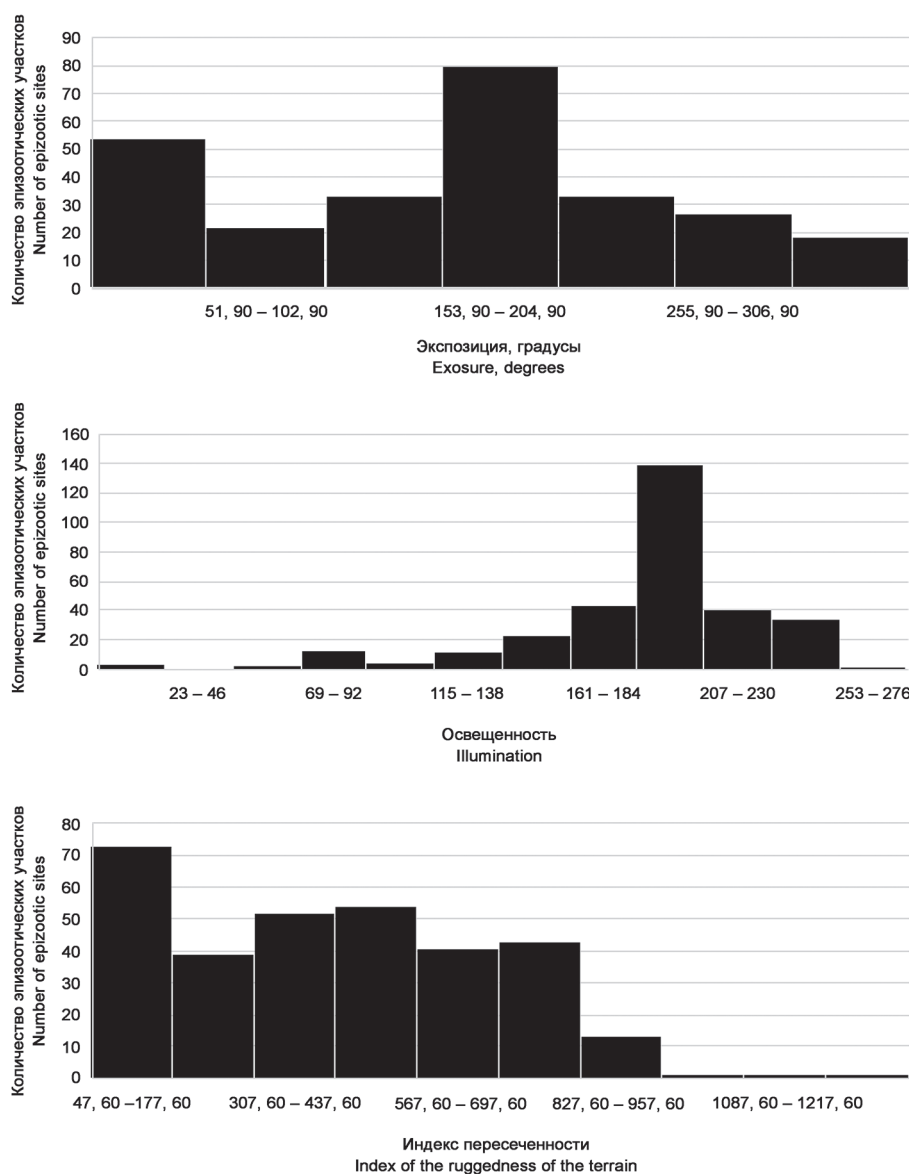


Рис. 2 Диаграммы распределения эпизоотических участков по экспозиции, освещенности и индексу пересеченности

Fig. 2. Diagrams of distribution of epizootic sites by exposure, illumination, and the ruggedness of the terrain

этом в диапазоне освещенности от 184 до 207 единиц отмечается 43,6 %. Эти области находятся под умеренным освещением и соответствуют наклонным поверхностям, которые хорошо освещены, но не получают максимального прямого света, частично затеняются в течение дня, возможно, за счет других элементов рельефа или растительности.

Практически все эпизоотические участки (94,70 %) расположены на сравнительно или условно ровных поверхностях: индекс пересеченности колеблется от 47 (почти ровные площадки) до 828 (рельеф средней сложности). В сложном рельефе (индекс пересеченности 829–1348) зарегистрировано только 5,30 % точек.

Интересно, что практически все эпизоотические участки приурочены к показателю крутизны около 90°.

В границах очага эпизоотические участки отмечены на трех типах почв: дистрические камбизолы, дистрические лептозола, моллические лептозола. На дистрических камбизолах отмечено только

8,15 % точек выявления циркуляции микроба чумы в Верхне-Кубанском ЛЭР. На дистрических лептозолах расположено 48,90 % точек, на моллических лептозолах – 42,63 %.

На территории очага также присутствуют лювичные черноземы и эвтрические камбизолы (рис. 3).

Сведения о высотах, на которых регистрируются эпизоотии чумы в Центрально-Кавказском высокогорном природном очаге, преимущественно опираются на ряд публикаций, сведенных в монографии [1, 10]. В них указано, что эпизоотии чумы развиваются в поселениях горного суслика, расположенных на высотах 1150–3000 м н.у.м. Полученные данные уточняют диапазон высот с эпизоотическими участками на 550 м – с 1101 до 3449 м н.у.м.

Моделирование показало, что наиболее благоприятный диапазон высот для регистрации эпизоотий – 2058–2594 м н.у.м. Таким образом, подтверждены сведения [1, 9] о наиболее активной регистрации эпизоотий на высотах свыше 2000 м н.у.м., в субальпийском поясе, при этом определена верхняя

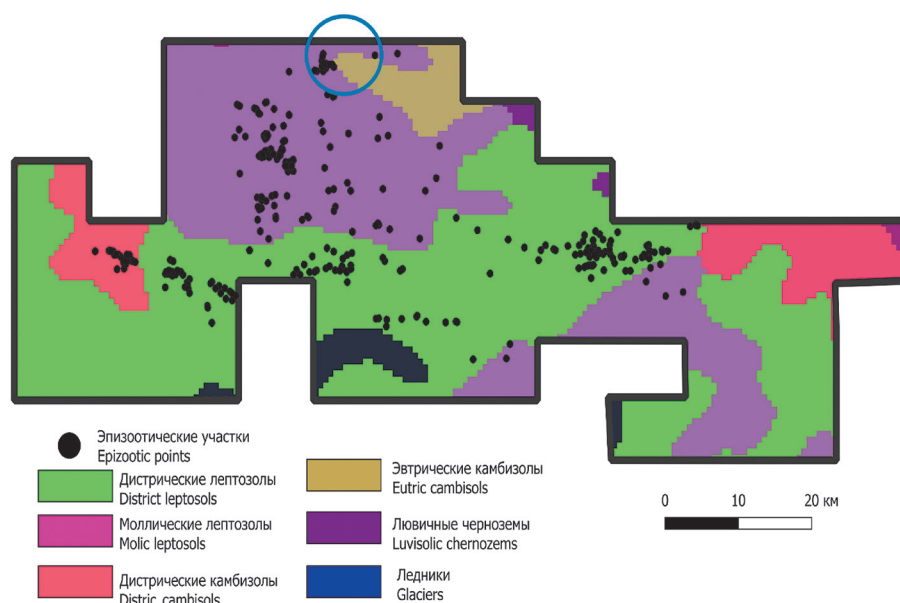


Рис. 3. Типы почв в Центрально-Кавказском высокогорном природном очаге чумы

Fig. 3. Soil types in the Central Caucasus high-mountain natural focus of plague

текущая изолиния наибольшей частоты эпизоотийных точек – 2711 м н.у.м., что практически совпадает с нижней границей альпийского пояса. На больших высотах, в альпийском поясе, эпизоотии регистрируются редко.

Данные об экспозиции склонов, к которым приурочены точки выявления эпизоотий, отрывочны, А.И. Дятлов и соавт. [10] указывают на приуроченность эпизоотических участков к северным склонам в высокогорном поясе и к южным – в горно-степном поясе. Исследование с использованием инструментов ГИС позволило уточнить этот параметр и показало, что существует определенная приуроченность эпизоотических проявлений в альпийском и субальпийском поясах к северо-северо-западной экспозиции, а в горно-степном поясе – к сектору почти в 180°: северо-северо-восточной – южной экспозициям. В общем же эти тенденции с трудом улавливаются специфичными тестами, и ярко выраженная приуроченность к склонам определенной экспозиции отсутствует.

Получены ранее неизвестные данные о роли освещенности ландшафтов. Освещенность является критически важным фактором для растений и животных, поскольку она влияет на процессы фотосинтеза, тепловые условия и, соответственно, на состояние и пространственную структуру геобиоценоза. Выделяется довольно узкий диапазон освещенности (в диапазоне освещенности от 184 до 207 единиц), на который приходится около половины эпизоотийных точек. Механизм действия освещенности может быть разнообразным. Известно, например, что численность блох и их пространственное распределение зависят от освещенности ландшафтов в очаге чумы в Танзании [11]. Однако на модели не удалось выявить значимые различия информативности этого фактора для распределения эпизоотийных точек. Вероятно, для поиска таких

различий необходимо увеличить чувствительность модели. В любом случае этот фактор явно менее важен, чем остальные из исследованных.

Индекс пересеченности и крутизна склонов – факторы, не изучавшиеся ранее, по сведениям, доступным авторам, в контексте пространственного распределения эпизоотических проявлений при чуме. Числовые значения обоих факторов имеют хорошую корреляционную связь между собой: $R=0,88$ при $p<0,05$. Расчеты на модели показали, что наиболее благоприятные для регистрации эпизоотий участки расположены на относительно ровных поверхностях, с индексом пересеченности не выше 90. Малое количество эпизоотийных точек, расположенных в сложном рельефе, связано, вероятно, с двумя факторами: удобством передвижения и, соответственно, повышенной частотой контактов между носителями возбудителя чумы на относительно ровных участках или не самых крутых склонах до 60° [1] и труднодоступностью для обследования участков с высоким индексом пересеченности. При этом первый фактор является ведущим, так как по данным картографического анализа только небольшая часть поселений горного суслика находятся на участках со сложным рельефом.

Выраженная привязанность точек выявления эпизоотий (рассчитанный на модели наиболее высокий диагностический коэффициент относится к значению 90°) к очень высоким показателям крутизны склона не говорит о том, что сами точки непосредственно расположены на склонах с углами крутизны около 90°. Скорее, это подтверждает вывод, сделанный относительно индекса пересеченности, так как чем больше крутизна склонов, тем более ровные и пологие долины. Кроме того, для хребтов на территории очага чумы характерны относительно плоские вершины, на которых также предпочитает селиться горный суслик. Крутизна же склонов, характерная для хребтов в этой части Кавказа, близка к 90°.

О роли почвы в распространении чумы дискуссии ведутся давно. Помимо классических воззрений, свод которых приведен в монографии А.И. Дятлова и соавт. [10], отметим и новые исследования, начало которым было положено В.М. Мезенцевым и соавт. [12] и которые активно развиваются за рубежом в настоящее время [13]. Однако непосредственно для изучаемой территории авторам неизвестны исследования, опирающиеся именно на подробные почвенные характеристики.

Территории, входящие в очаг, с типами почв «гаплические черноземы», «лювические черноземы» не заселены горным сусликом и, соответственно, на них не регистрировались эпизоотии чумы. Эти территории занимают незначительную часть очага на северо-восточной границе.

Основная часть очаговой территории, на которой расположены поселения горного суслика, распадается на четыре участка, соответствующих видам почв. На дистрических и моллических лептозолах эпизоотийные точки расположены примерно в равных пропорциях. На дистрических камбизолах точек явно меньше, но можно предположить, что эта диспропорция не связана со свойством почв. Участок очага с этим типом почв занимает относительно небольшую площадь.

Особый интерес представляет часть очага с почвами, относящимися к эвтрическим камбизолам (рис. 3, область, обведенная овалом). Этот участок захватывает часть поселений горного суслика, причем другие части этого поселения расположены на дистрических лептозолах. Эти участки, расположенные вдоль р. Хасаут, ярко иллюстрируют одну из особенностей эпизоотического процесса при чуме, описанного А.И. Дятловым и соавт. [9]: «...зараженные чумой животные на протяжении многих лет выявлялись только в части... популяций...». Несмотря на то, что поселения сусликов до начала XXI столетия занимали практически всю долину р. Хасаут, чума выявлялась только на участках с видом почвы «дистрические лептозолы». При этом расстояние от ближайшей эпизоотийной точки к участку поселения, на котором почва меняется на эвтрические камбизолы, менее 150 м. Интересен и тот факт, что в настоящее время горные суслики сохранились ниже аула Хасаут только до примерной границы между дистрическими лептозолами и эвтрическими камбизолами. В то же время полученные данные носят предварительный характер и нельзя исключать случайный, а не закономерный характер обнаруженного феномена. В пользу случайности можно отнести факт, что моделирование не выявило значимых различий между потенциально возможным распределением точек на обоих типах почв.

Исходя из текущих данных, эпизоотические участки располагаются в значительной части:

– на высотах от 2000 до 2711 м н.у.м., чаще на склонах северо-северо-западной экспозиции в альпийском и субальпийском поясах и северо-северо-

восточной – южной экспозиций в горно-степном поясе;

– со средним, ближе к высокому, уровнем освещенности ландшафта, на относительно ровных или не сильно пересеченных участках;

– с типами почв: дистрические и моллические лептозолы и дистрические камбизолы, практически отсутствуют на эвтрических камбизолах.

Помимо непосредственной констатации фактов, приведенные данные являются одной из отправных точек для отслеживания поведения очага при дальнейших глобальных климатических изменениях, так как в наименьшей степени подвержены краткосрочным флуктуациям.

Вероятно, следует провести отдельные микробиологические исследования, чтобы понять, случайно или закономерно отсутствие эпизоотий чумы и вымирание горных сусликов на участках с почвами «эвтрические камбизолы».

В методическом плане проведенное исследование демонстрирует возможности современного картографического анализа с использованием растровых баз данных электронной паспортизации очагов чумы.

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

- Куличенко А.Н., Дубянский В.М., редакторы. Центрально-Кавказский высокогорный природный очаг чумы. Эпизоотология, эпидемиология, микробиология возбудителя. Ставрополь; 2022. 208 с.
- Попов Н.В., Безсмертный В.Е., Удовиков А.И., Кузнецов А.А., Слудский А.А., Матросов А.Н., Князева Т.В., Федоров Ю.М., Попов В.П., Гражданов А.К., Аязбаев Т.З., Яковлев С.А., Караваева Т.Б., Кутырев В.В. Влияние современного изменения климата на состояние природных очагов чумы России и других стран СНГ. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; 3:23–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-3-23-28.
- Sandu I., van Niekerk A., Shepherd T.G. Vosper S.B., Zadra A., Bacmeister J., Beljaars A., Brown A.R., Dörnbrack A., McFarlane N., Pithan F., Svensson G. Impacts of orography on large-scale atmospheric circulation. *npj Clim. Atmos. Sci.* 2019; 2:10. DOI: 10.1038/s41612-019-0065-9.
- Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. Л.: Медицина; 1978. 294 с.
- Лисовский А.А., Дудов С.В. Преимущества и ограничения методов экологического моделирования ареалов. 2. *MaxEnt. Журнал общей биологии*. 2020; 81(2):135–46. DOI: 10.31857/S0044459620020049.
- Санданов Д.В. Особенности моделирования распространения видов с использованием метода максимальной энтропии. *Фиторазнообразия Восточной Европы*. 2023; 17(2):130–44. DOI: 10.24412/2072-8816-2023-17-2-130-144.
- Малахов Д.В. ГИС-моделирование экологической ниши: вызовы и решения. *Selevinia*. 2022; 30:105–16.
- Петров П.А., Найденов П.Е., Ивановский В.В. Приуроченность эпизоотий чумы к различным ландшафтам в Центрально-Кавказском природном очаге и его эпизоотическая структура. В кн.: *Вопросы природной очаговости зоонозов*. Саратов; 1982. С. 51–7.
- Moreno M., Levachkine S., Torres-Ruis M., Quintero R. Geomorphometric analysis of raster image data to detect terrain ruggedness and drainage density. *Lecture Notes in Computer Science*. 2003; 2905:643–50. DOI:10.1007/978-3-540-24586-5_79.
- Дятлов А.И., Антоненко А.Д., Грижебовский Г.М., Лабунец Н.Ф. Природная очаговость чумы на Кавказе. Ставрополь; 2001. 345 с.

11. Meliyo J.L., Kimaro D.N., Msanya B.M., Mulungu L.S., Hieronimo P., Kihupi N.I., Gulinck H., Deckers J.A. Predicting small mammal and flea abundance using landform and soil properties in a plague endemic area in Lushoto District, Tanzania. *Tanzania Journal of Health Research*. 2014; 16(3). DOI: 10.4314/thrb.v16i3.3.

12. Мезенцев В.М., Ротшильд Е.В., Медзыховский Г.А., Гражданов А.К. Влияние микроэлементов на инфекционный процесс при чуме в эксперименте. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2000; 1:41–5.

13. Kosoy M., Biggins D. Plague and trace metals in natural systems. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2022; 19(16):9979. DOI: 10.3390/ijerph19169979.

References

1. Kulichenko A.N., Dubyansky V.M., editors. [Central Caucasus High-Mountain Natural Focus of Plague. Epizootiology, Epidemiology, Microbiology of the Pathogen]. Stavropol; 2022. 208 p.

2. Popov N.V., Bezsmertny V.E., Udovikov A.I., Kuznetsov A.A., Sludsky A.A., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Fedorov Yu.M., Popov V.P., Grazhdanov A.K., Ayazbaev T.Z., Yakovlev S.A., Karavaeva T.B., Kutyrev V.V. [Influence of contemporary climate change on the state of natural foci of plague in Russia and other CIS countries]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; (3):23–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-3-23-28.

3. Sandu I., van Niekerk A., Shepherd T.G., Vosper S.B., Zadra A., Bacmeister J., Beljaars A., Brown A.R., Dörnbrack A., McFarlane N., Pithan F., Svensson G. Impacts of orography on large-scale atmospheric circulation. *npj Clim. Atmos. Sci.* 2019; 2:10. DOI: 10.1038/s41612-019-0065-9.

4. Gubler E.V. [Computational Methods for Analysis and Recognition of Pathological Processes]. Leningrad: “Medicine”; 1978. 294 p.

5. Lisovsky A.A., Dudov S.V. [Advantages and limitations of ecological modeling methods for ranges. 2. MaxEnt]. *Zhurnal Obshchei Biologii [Journal of General Biology]*. 2020; 81(2):135–46. DOI: 10.31857/S0044459620020049.

6. Sandanov D.V. [Features of modeling the species distribution using the maximum entropy method]. *Fitoraznoobrazie Vostochnoi*

Evropy [Phytodiversity of Eastern Europe]. 2023; 17(2):130–44. DOI: 10.24412/2072-8816-2023-17-2-130-144.

7. Malakhov D.V. [GIS modeling of ecological niche: challenges and solutions]. *Selevinia*. 2022; 30:105–16.

8. Petrov P.A., Naiden P.E., Ivanovsky V.V. [Confinement of plague epizootics to various landscapes in the Central Caucasian natural focus and its epizootic structure]. In: [Issues of Natural Focality of Zoonoses]. Saratov; 1982. P. 51–7.

9. Moreno M., Levachkine S., Torres-Ruis M., Quintero R. Geomorphometric analysis of raster image data to detect terrain ruggedness and drainage density. *Lecture Notes in Computer Science*. 2003; 2905:643–50. DOI:10.1007/978-3-540-24586-5_79.

10. Dyatlov A.I., Antonenko A.D., Grizhebovsky G.M., Labunets N.F. [Natural Focality of Plague in the Caucasus]. Stavropol; 2001. 345 p.

11. Meliyo J.L., Kimaro D.N., Msanya B.M., Mulungu L.S., Hieronimo P., Kihupi N.I., Gulinck H., Deckers J.A. Predicting small mammal and flea abundance using landform and soil properties in a plague endemic area in Lushoto District, Tanzania. *Tanzania Journal of Health Research*. 2014; 16(3). DOI: 10.4314/thrb.v16i3.3.

12. Mezentsev V.M., Rothschild E.V., Medzykhovskiy G.A., Grazhdanov A.K. [Influence of trace elements on the infectious process in case of plague in experiment]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2000; (1):41–5.

13. Kosoy M., Biggins D. Plague and trace metals in natural systems. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2022; 19(16):9979. DOI: 10.3390/ijerph19169979.

Authors:

Dubyansky V.M., Mezentsev V.M., Ashibokov U.M. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Об авторах:

Дубянский В.М., Мезенцев В.М., Ашибокоев У.М. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-70-77

УДК 616.932:579

О.В. Дуванова, Е.С. Шипко, Р.В. Писанов, О.А. Цырулина, О.С. Чемисова, В.В. Евдокимова,
А.С. Водопьянов, В.Д. Кругликов, И.А. Иванова, Н.Д. Омельченко, А.В. Филипенко, **А.К. Носков**

Композиционный состав везикул атоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 El Tor и O139 серогрупп

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

Цель работы – изучение композиционного состава препаратов везикул (OMV) у штаммов *Vibrio cholerae* O1 El Tor (*ctxAB tcpA⁺*; *ctxAB tcpA⁺*) и O139 (*ctxAB tcpA⁺*) серогрупп, выделенных из различных источников. **Материалы и методы.** В работе использовали штаммы *V. cholerae* серогрупп O1 и O139, из которых были получены препараты OMV. Методом трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) изучали строение препаратов OMV. Полногеномное секвенирование ДНК проводили на платформе MiSeq. Нуклеотидные и соответствующие аминокислотные последовательности генов изучали с помощью биоинформационного анализа. Белковое профилирование проводили с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии. Ферментативные активности детектировали с использованием соответствующих сред и субстратов. Определение (поверхностных детерминант) липополисахарида (ЛПС) и белков наружной мембраны в составе OMV осуществляли методом иммуноферментного анализа. Анализ спектра жирных кислот (ЖК) проводили методом газожидкостной хроматографии масс-спектрометрии. **Результаты и обсуждение.** Получены препараты OMV из атоксигенных штаммов холерных вибрионов. ТЭМ выявлено, что OMV представлены структурами сферической формы около 40–200 нм. По данным полногеномного секвенирования установлено, что в составе OMV обнаружены фрагменты хромосом, содержащие гены штаммов *V. cholerae* серогрупп O1 и O139, из которых они выделены. Проведенный биоинформационный анализ выявил отличия в структуре гена *ompT* у исходных штаммов и у OMV, полученных из штаммов *V. cholerae* серогрупп O1 и O139. Ген *ΔompT* препарата OMV *V. cholerae* O139-серогруппы был тронкирован и образовывал пептид в 17 аминокислотных остатков (-LENHHQKNREPDKEFPY-). Анализ композиционного состава OMV выявил наличие в их составе ферментов (N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы и ДНК-азы), белков наружных мембран (OmpT и OmpU), ЛПС, насыщенных, cis/trans-изомеров ненасыщенных ЖК и разветвленных ЖК. Обнаружены различия в композиционном составе OMV, полученных из атоксигенных штаммов *V. cholerae* серогрупп O1 и O139.

Ключевые слова: холерный вибрион, композиционный состав везикул (OMV), ЛПС, OmpT, OmpU.

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

Для цитирования: Дуванова О.В., Шипко Е.С., Писанов Р.В., Цырулина О.А., Чемисова О.С., Евдокимова В.В., Водопьянов А.С., Кругликов В.Д., Иванова И.А., Омельченко Н.Д., Филипенко А.В., Носков А.К. Композиционный состав везикул атоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 El Tor и O139 серогрупп. Проблемы особо опасных инфекций. 2024; 4:70–77. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-70-77
Поступила 06.02.2024. Отправлена на доработку 13.02.2024. Принята к публ. 19.02.2024.

O.V. Duvanova, E.S. Shipko, R.V. Pisanov, O.A. Tsyurulina, O.S. Chemisova, V.V. Evdokimova,
A.S. Vodop'yanov, V.D. Kruglikov, I.A. Ivanova, N.D. Omel'chenko, A.V. Filipenko, **A.K. Noskov**

The Composition of Vesicles of Non-Toxicogenic *Vibrio cholerae* Strains, O1 El Tor and O139 Serogroups

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

Abstract. The aim of the work was to study the composition of vesicle preparations (OMV) in *Vibrio cholerae* strains O1 El Tor (*ctxAB tcpA⁺*; *ctxAB tcpA⁺*) and O139 (*ctxAB tcpA⁺*) isolated from various sources. **Materials and methods.** *V. cholerae* strains O1 and O139 serogroups were used in the work, from which OMV preparations were obtained. The structure of OMV preparations was studied by transmission electron microscopy (TEM). Genome-wide DNA sequencing was performed on the MiSeq platform. The nucleotide and corresponding amino acid sequences of the genes were studied using bioinformatics analysis. Protein profiling was conducted using MALDI-TOF mass spectrometry. Enzymatic activities were detected using appropriate media and substrates. Determination of (surface determinants) lipopolysaccharide (LPS) and outer membrane proteins in the composition of OMV was carried out by enzyme immunoassay (ELISA). The analysis of the spectrum of fatty acids was performed by gas-liquid chromatography mass spectrometry. **Results and discussion.** OMV preparations have been obtained from non-toxicogenic strains of cholera vibrios. TEM has revealed that OMVs are represented by spherical structures of about 40–200 nm. Genome-wide sequencing has shown that fragments of chromosomes containing genes of *V. cholerae* strains, O1 and O139 serogroups, from which they were isolated are present in the OMV. The bioinformatic analysis revealed differences in the structure of the *ompT* gene in the initial strains and in OMV obtained from *V. cholerae* strains O1 and O139 serogroups. The *ΔompT* gene of the OMV preparation from *V. cholerae* O139 serogroup was truncked and formed a peptide of 17 amino acid residues (-LENHHQKNREPDKEFPY-). Analysis of the OMV composition has revealed the presence of enzymes (N-acetyl-β-D-glucosaminidase and DNA-ases), proteins of outer membranes (ompT and OmpU), LPS, saturated, cis/trans isomers of unsaturated fatty acids and branched fatty acids. Differences in the composition of OMV obtained from non-toxicogenic strains of *V. cholerae* O1 and O139 serogroups have been identified.

Key words: cholerae vibrio, vesicle composition (OMV), LPS, OmpT, OmpU.

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

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

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

Citation: Duvanova O.V., Shipko E.S., Pisanov R.V., Tsyulina O.A., Chemisova O.S., Evdokimova V.V., Vodop'yanov A.S., Kruglikov V.D., Ivanova I.A., Omel'chenko N.D., Filipenko A.V., Noskov A.K. The Composition of Vesicles of Non-Toxicogenic *Vibrio cholerae* Strains, O1 El Tor and O139 Serogroups. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2024; 4:70–77. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-70-77

Received 06.02.2024. Revised 13.02.2024. Accepted 19.02.2024.

Duvanova O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1702-1620>
Shipko E.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8517-2789>
Pisanov R.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7178-8021>
Tsyulina O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6176-2605>
Chemisova O.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>
Evdokimova V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5522-9097>

Vodop'yanov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>
Kruglikov V.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6540-2778>
Ivanova I.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7068-4071>
Omel'chenko N.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5208-7724>
Filipenko A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1103-4244>
Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Способность к секреции мембранных везикул (outer membrane vesicles – OMV) является универсальным процессом, присущим всем микроорганизмам, включая холерный вибрион. С момента первого обнаружения OMV у прокариотических микроорганизмов в 60-х гг. прошлого века до настоящего времени интерес к их биогенезу, составу и свойствам возрастает в связи с появлением новых данных, доказывающих их роль в физиологии, адаптации/персистенции, пато- и иммуногенезе [1–3].

Микроорганизмы используют везикулы как медиаторы для реализации стратегии межклеточных коммуникаций, репрограммирования клеток-мишеней после интернализации [4], горизонтального переноса генов, экспортирования агрегированных белков и других компонентов клетки [5, 6], в образовании и функционировании биопленок, реализации ответных реакций клеток на стресс [7], а также для формирования устойчивости к антимикробным препаратам/пептидам (AMP) [8]. Представляя важнейшую часть бактериального секрета, везикулы вовлечены в универсальный способ секреции у прокариот [9]. Помимо мембранных компонентов, OMV могут содержать и экспортировать различные везикуло-ассоциированные токсины в концентрированной и при этом защищенной от протеаз и агрессивной среды форме, а также липополисахарид (ЛПС) и различные антигены.

В настоящее время проведены протеомный, метаболомный и липидомный анализы OMV, полученных из некоторых микроорганизмов. По данным протеомного профилирования препаратов OMV, полученных из различных микроорганизмов, везикулы характеризуются определенным набором белков, количество которых для разных бактериальных видов составляет от 100 до 400 и более [10, 11], включая белки, относящиеся к семейству омпинов (OmpT, OmpU, OmpA, OmpC, OmpF и др.), а также белки, ответственные за сигналинг и клеточный транспорт (NmpC, OmpX, LppA, LppB, Pal, TolB и др.) [12].

В составе препаратов OMV микроорганизмов обнаружены ферменты различных классов: гидролазы, изомеразы, лиазы, оксидоредуктазы, трансферазы, а также патоген-ассоциированные молекулы (PAMPs), влияющие на течение инфекционного процесса, метаболиты и нуклеиновые кислоты [13]. Липидомный анализ выявил в составе OMV такие

классы соединений, как фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин, кардиолипид, диацилглицерин и др.

Биологическая роль OMV разнообразна и зависит от их композиционного состава, определяемого уникальным механизмом их сортировки, зависящим от различных факторов. В настоящее время активно изучается композиционный состав препаратов OMV у многих бактерий, включая препараты OMV, полученные из токсигенных штаммов холерных вибрионов [14], в то время как отсутствуют данные по изучению композиционного состава препаратов OMV, полученных из атоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* серогрупп O1 и O139.

Целью исследования явилось изучение композиционного состава препаратов OMV, полученных из штаммов *V. cholerae* O1 El Tor (*ctxAB-tcpA*⁺; *ctxAB-tcpA*⁺) и O139 (*ctxAB-tcpA*⁺), выделенных из различных источников.

Материалы и методы

В работе использовали следующие штаммы: *V. cholerae* O1 El Tor биовара № 18950 (*ctxAB-tcpA*⁺), выделенный из реки Подкумок; 18780 (*ctxAB-tcpA*⁺), выделенный из клинического материала, и *V. cholerae* O139-серогруппы 17786 (*ctxAB-tcpA*⁺), выделенный из устья реки Инья. Культуры микроорганизмов получали из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, где их хранили в лиофилизированном состоянии. Для культивирования холерных вибрионов использовали агар Мартена (pH 7,6).

Препараты OMV возбудителя холеры получали по методу [14]. Для этого из суточной агаровой культуры делали 1 млрд взвесь в 3 мл физиологического раствора (pH 7,8) и 0,5 мл взвеси засеивали 25 мл бульона LB. Штаммы культивировали с дополнительной аэрацией (шуттелированием) 120–130 качаний в минуту на шуттеле (Incubatorshaker, serious 25, США) 18 ч при 37 °C. Из выросшей культуры засеивали по 0,5 мл в четыре флакона среды LB по 250 мл и выращивали 18 ч с аэрацией.

Обеззараженную мертиолятом натрия (1:10000) культуру центрифугировали при 6000 об/мин 25 мин на холоде в центрифуге (Bekman model J2-21, США).

Супернатант фильтровали через мембраны с диаметром пор 0,45 и 0,22 мкм и концентрировали в 10 раз в ультрафильтрационной установке (Amicon). Везикулы осаждали ультрацентрифугированием образцов в течение 2 ч в центрифуге (Bekman Coulter Avanti JXN-30), тип ротора JA-30.50 (108000 g и при 45000 g). Готовые препараты OMV хранили при минус 20 °C.

Детекцию белка в препаратах OMV проводили на спектрофотометре (SmartSpec 3000 UV/Vis, BioRad, США) согласно инструкции.

Методом трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) с помощью электронного цифрового микроскопа Jeol JEM 1011 изучали ультратонкое строение препаратов OMV. Исследуемые образцы OMV окрашивали методом негативного контрастирования. Обеззараженные препараты 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 100–250 тыс. раз.

ДНК препаратов OMV выделяли с помощью коммерческого набора «Рибо-Преп» («АмплиСенс», Россия) согласно прилагаемой инструкции. Полногеномное секвенирование ДНК препаратов OMV проводили на платформе MiSeq (Illumina) с использованием набора NexteraDNAflex, картридж на 500 циклов. Качество ридов проверяли с помощью программы FastQC [15]. Для очистки ридов использовали программу для фильтрации данных Trimmomatic [16], сборка осуществлялась *de novo* программой-сборщиком SPAdes (v3.11.1). Анализ полученных данных ДНК проводили с помощью программы SeqAnalayser [17]. Нуклеотидную и соответствующую аминокислотную последовательности генов *ompT*, *ompU* в препаратах OMV изучали с помощью биоинформационного анализа.

Белковое профилирование препаратов OMV проводили с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии на приборе Autoflexspeed III BrukerDaltonics (Германия) с программным обеспечением: FlexControl – программа для управления время-пролетными масс-спектрометрами серии flex компании Bruker; Flex Analysis 3.3 – программа для ручного анализа полученных масс-спектров (визуальное сопоставление, оценка качества масс-спектров, калибровка); Biotyper 3.1 – программа для обработки и анализа масс-спектров, полученных на масс-спектрометрах фирмы Bruker для анализа общего индекса корреляции спектров, кластерного анализа спектров. Снятие белковых спектров проводили в программе FlexControl в диапазоне 2000–20000 m/z, а их обработку – в программе Flex Analysis. В качестве матрицы использовали α -циано-гидроксикоричную кислоту. Экстракцию проводили этанолом/муравьиной кислотой.

Способность штаммов и полученных из них препаратов OMV расщеплять Твин-20, -40, -60, -80 выявляли на сконструированной среде [18].

Алкилсульфатазную активность (гидролиз SDS) изучали на сконструированной минимальной синтетической среде [19]. ДНК-азную активность определяли с использованием ДНК-азного тест-агара (согласно инструкции). Активность N-ацетил- β -D-глюкозаминидазы определяли у штаммов и препаратов OMV с использованием флуорогенного субстрата 4-метилумбеллиферил-N-ацетил- β -D-глюкозаминида (4-MUFglcNAc) (Sigma) качественным способом [20].

ЛПС в составе препаратов OMV выявляли методом иммуноферментного анализа (ИФА). Постановку прямого варианта ИФА (для определения О-антигена) осуществляли в 96-луночных плоскодонных серологических планшетах (Costar) [21].

Содержание в препаратах OMV поверхностных антигенных детерминант (белков OmpT, OmpU) определяли ИФА (непрямой вариант) с использованием моноклональных антител (МКА) в полистироловых планшетах [22].

Анализ спектра жирных кислот (ЖК) препаратов OMV и липидома исходных клеток *V. cholerae* проводили в 30-метровой капиллярной колонке Rtx-5MS методом газожидкостной хроматографии масс-спектрометрии (ГХ/МС) на приборе «Маэстро-2» («Интерлаб», Россия), созданном на базе Agilent. В качестве газа-носителя использовали высокоочищенный водород (99,9999 %), полученный из генератора «Цвет.Хром-8». Разделение газовой смеси дериватов проводили по программе 125÷280 °C с ростом 5,1 °C в минуту при средней скорости потока газа-носителя 1,3 мл/мин и давлении 6 psi. Анализ полученных спектров и идентификацию ЖК проводили с помощью встроенного ПО Enhanced ChemStation, коммерческой базы данных NIST2017 [23]. Индекс ненасыщенности фосфолипидов определяли по соотношению ненасыщенных и насыщенных ЖК (ННЖК/НЖК).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью общепринятых методов статистики с использованием пакета программ Microsoft Excel (Microsoft Office 2010). Все приведенные данные являются средними значениями из трех экспериментов. Расчет среднего значения и стандартного отклонения проводили с помощью параметрических статистических методов. Доверительный интервал установили на уровне 95 % ($P \leq 0,05$).

Результаты и обсуждение

В результате исследования получены препараты OMV, проведен анализ их композиционного состава у атоксигенных штаммов *V. cholerae* серогрупп O1 (*ctxAB-tcpA⁻*; *ctxAB-tcpA⁺*) и O139 (*ctxAB-tcpA⁻*). Подобраны условия и отработаны методические подходы, позволяющие получить препараты OMV.

С помощью ТЭМ выявлено, что полученные препараты OMV представлены структурами сферической формы и размером около 40–200 нм, что со-

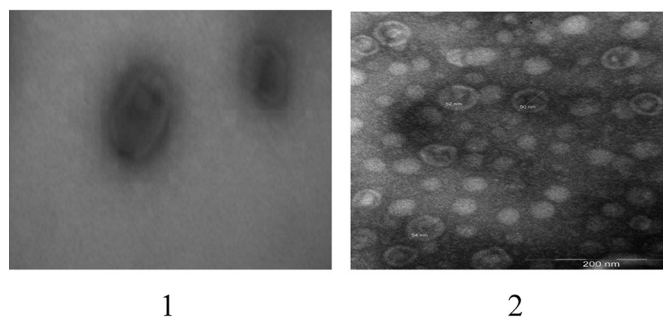


Рис. 1. Препараты OMV, полученные с помощью ТЭМ:

1 – из штамма *V. cholerae* № 18950 (*ctxAB tcpA*⁺) (увеличение 1:100000);
2 – из штамма *V. cholerae* O139 № 17786 (*ctxAB tcpA*⁺) (увеличение 1:250000)

Fig. 1. OMV preparations obtained using TEM:

1 – from *V. cholerae* strain No. 18950 (*ctxAB tcpA*⁺) (magnification 1:100000);
2 – from *V. cholerae* strain O139 No. 17786 (*ctxAB tcpA*⁺) (magnification 1:250000)

ответствует данным литературы [14] (рис. 1). Размер OMV, полученных из штаммов *V. cholerae* O1-серогруппы (№ 18950, 18780), составил 80–200 нм, а из штамма *V. cholerae* O139 № 17786 – 40–80 нм.

По результатам полногеномного секвенирования впервые установлено, что в составе препаратов OMV из атоксигенных штаммов холерных вибрионов обнаружены фрагменты хромосом *V. cholerae* O1, на которых присутствовали следующие гены: *wbe*, определяющий принадлежность к O1-серогруппе, *ompT*, *ompU* и *ompW*, кодирующие белки наружной мембраны, *hlyA* гемолизина типа ЭльТор, *hapA* (гемагглютинин/протеазы), *PrtV* протеазы, *cef* (CHO cell elongating factor), *nanH* (нейраминидазы), *chiA1*, *chiA2* (хитиназы), N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы, фосфатазы, *toxR* и *toxS* (регуляторные), кластер *RTX*, кластер *MSHA*, кластер генов систем секреции 3-го (T3SS) и 6-го (T6SS) типов, *tolA*, *tolR*, *tolQ*. Гены *VPI-1*, *toxT* и *tcpA* выявлены только в препарате OMV с генотипом *ctxAB tcpA*⁺. В препарате OMV *V. cholerae* O139-серогруппы с генотипом (*ctxAB tcpA*⁺) обнаружены фрагменты хромосом, на которых присутствовали гены *wbFO139*, *hlyA*, *ΔompT*, *ompU* и *ompW*, *nanH*, N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы, фосфатазы, кластер генов системы секреции 6-го типа (T6SS), *tolA*, *tolR*, *TolQ*, а также полная последовательность ICE-элемента. Выявленный ICE-элемент относится к «гаитянскому типу», обнаруженному у *V. cholerae* серогрупп nonO1/nonO139. Данный ICE-элемент «гаитянского» типа отличается от ранее описанных ICE-элементов *V. cholerae*, включая «индийский», «мозамбикский» и SXT. Данные гены содержались в хромосомах исходных штаммов *V. cholerae* O1 и O139.

Учитывая тот факт, что с помощью системы секреции T6SS холерный вибрион способен поражать амёб, нематод, инфузрий, бактерии, принадлежащие к разным видам, ее присутствие как в исследуемых штаммах, так и в препаратах OMV холерных вибрионов серогрупп O1 и O139 не исключает важную роль этой системы в выживании атоксигенных

штаммов холерных вибрионов в составе везикулярной формы в сложных экологических сообществах за счет участия в механизмах адаптации/персистенции *V. cholerae* во внешней среде [24]. Ген холодового шока (*csh1*) [25], обнаруженный в составе препарата OMV штамма *V. cholerae* O1 № 18950, не исключает участие продукта этого гена в механизме адаптации/персистенции. Обнаружено сходство и отличие представленности некоторых генов в препаратах OMV, полученных из атоксигенных штаммов холерных вибрионов серогрупп O1 и O139, по данным полногеномного секвенирования.

Проведенный биоинформационный анализ нуклеотидных и соответствующих им аминокислотных последовательностей генов *ompT* и *ompU* в исходных штаммах и полученных из них препаратов OMV выявил совпадение анализируемых нуклеотидных последовательностей гена *ompT* исходных штаммов *V. cholerae* O1 № 18950, 18780 и препаратов OMV на 99,73 и 99,75 %, а соответствующих им аминокислотных последовательностей – на 99,73 и 100 % соответственно. В то же время ген *ΔompT* штамма *V. cholerae* O139-серогруппы и препарата OMV был тронкирован и отличался от гена представителей холерных вибрионов O1-серогруппы. Процент совпадения нуклеотидной и соответствующей аминокислотной последовательности оказался ниже (соответствие ДНК – 71 %, аминокислотной последовательности – 52,3 %), а образованный пептид в 17 аминокислотных остатков (-LENHHQKNREPDKKEFPY-) не смог бы сформировать полноценный белковый продукт и участвовать в выполнении некоторых функций. Отличий в структуре гена *ompU* в исходных штаммах и препаратах OMV не выявлено. Таким образом, препараты OMV содержали ДНК генов, аналогичные штаммам *V. cholerae* серогрупп O1 и O139, из которых они получены. Выявленная представленность ДНК генов в составе препаратов OMV наделяет их способностью осуществлять полноценный «везикулярный трафик» содержимого клетки, возможно, способствуя реализации механизмов адаптации/персистенции атоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 и O139.

Известно, что типичные для рода *Vibrio* масс-спектры пептидов детектируются с наибольшей интенсивностью в области масс 2–11 кDa. Протеомное профилирование препаратов OMV *V. cholerae* O1 и O139 выявило наличие масс-пиков в диапазоне 2000–4000 Да и специфических пиков со значением m/z: у OMV из штаммов *V. cholerae* O1 № 18950 – (2275±3), (2474±4), (2635±3), (2780±3), (3018±3), (3031±2), (3046±2), (3074±2), (3121±3) (рис. 2); у OMV из *V. cholerae* O1 № 18780 – (2108±2), (2208±3), (2360±4), (2473±3), (2573±3), (2761±3), (3031±3), (3054±3), (3064±4), (3087±3) (рис. 3); у OMV из *V. cholerae* O139 № 17786 – (2107±4), (2206±4), (2360±4), (2590±4), (2761±3), (2763±3), (2941±3), (3015±3), (3029±3), (3067±4), (3088±3) (рис. 4).

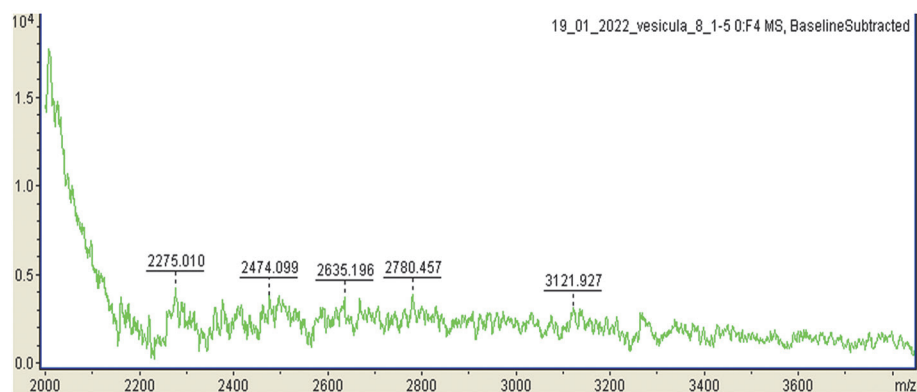


Рис. 2. Анализ масс-спектров препарата OMV из штамма *V. cholerae* O1 № 18950 (*ctxAB tcpA*⁻)

Fig. 2. Analysis of the mass-spectra of the OMV preparation from the *V. cholerae* strain O1 No. 18950 (*ctxAB tcpA*⁻)

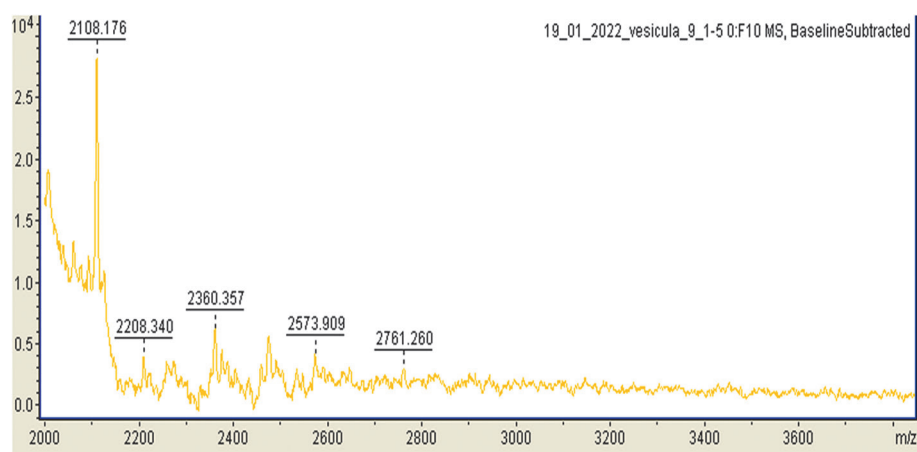


Рис. 3. Анализ масс-спектров препарата OMV из штамма *V. cholerae* O1 № 18780 (*ctxAB tcpA*⁻)

Fig. 3. Analysis of the mass-spectra of OMV preparations from *V. cholerae* O1 No. 18780 (*ctxAB tcpA*⁻)

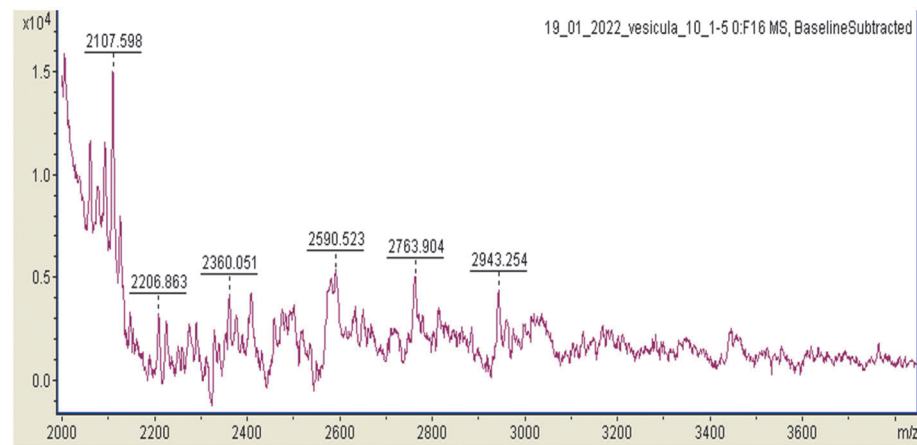


Рис. 4. Анализ масс-спектров препарата OMV из штамма *V. cholerae* O139 № 17786 (*ctxAB tcpA*⁻)

Fig. 4. Analysis of the mass-spectra of OMV preparation from *V. cholerae* strain O139 No. 17786 (*ctxAB tcpA*⁻)

Следует отметить, что у препаратов OMV *V. cholerae* O1-серогруппы выявлены общие специфические спектральные масс-пики: (2474 ± 4) , (3031 ± 3) . При этом спектральные масс-пики (2107 ± 4) , (2206 ± 4) , (2360 ± 4) , (2761 ± 3) , (3018 ± 3) , (3031 ± 3) , (3064 ± 4) , (3087 ± 3) являются общими для везикул, полученных из штаммов как O1-, так и O139-серогруппы. Сходство между масс-спектрами в препаратах OMV, полученных из холерных вибрионов разных серогрупп, изучено путем построения корреляционной матрицы в программе Biotyper 3.1 (Bruker Daltonics) (рис. 5) на основе компьютерного индекса корреляции (CCI). Значения CCI, близкие к 1, свидетельствуют о высокой степени сходства спектров, а значения

ближе к 0 – о четких различиях. В матрице цвет ячеек соответствует значению CCI (1,0 – коричневый, далее по мере уменьшения – бирюзовый, зеленый, синий).

Как видно на корреляционной матрице, композитный индекс корреляции у всех трех препаратов OMV из штаммов *V. cholerae* O1 (№ 18950, 18780) и O139 (№ 17786) составил от 0,24 до 0,6. Диапазон CCI от 0,57 до 0,6 свидетельствует о сходстве масс-спектров всех этих препаратов, а CCI от 0,24 до 0,57 – о наличии различий. Следует отметить, что белковые масс-спектрометрические профили исходных штаммов и препаратов OMV холерных вибрионов серогрупп O1, O139 отличались и содержали спектральные масс-пики белков в диапазоне (3578 ± 2) –

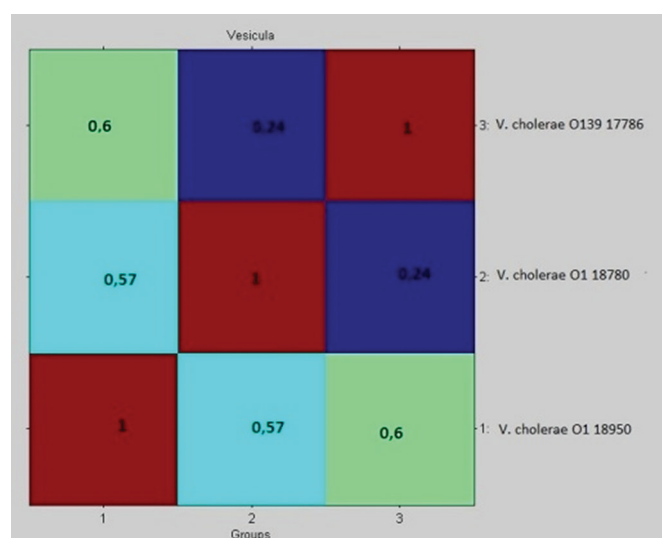


Рис. 5. Корреляционная матрица и композитный индекс корреляции масс-спектров препаратов OMV из штаммов *V. cholerae* O1 № 18950 (*ctxAB-tcpA*⁺), № 18780 (*ctxAB-tcpA*⁺) и O139 № 17786 (*ctxAB-tcpA*⁺). Цифрами отмечены индексы корреляции препаратов

Fig. 5. Correlation matrix and composite index of mass-spectra correlation of OMV preparations from the strains *V. cholerae* O1 No. 18950 (*ctxAB-tcpA*⁺), No. 18780 (*ctxAB-tcpA*⁺) and O139 No. 17786 (*ctxAB-tcpA*⁺). The numbers indicate drug correlation indices

(10238±2). При этом в исходных штаммах детектировались общие спектральные масс-пики белков: (4273±4), (5121±4), (7156±4), которые не детектировались в препаратах OMV.

Установлено, что все исследуемые препараты OMV обладали N-ацетил-β-D-глюкозаминидазной активностью. Фермент, входящий в состав хитинолитического комплекса холерных вибрионов, участвует в расщеплении хитина – наиболее распространенного органического полимера в природе. Ранее определено, что очищенный фермент N-ацетил-β-D-глюкозаминидаза из штамма *V. cholerae* O1 № 18950 обладал антибактериальным действием, подавляя в низких концентрациях рост ряда лабораторных штаммов *Escherichia coli* HB101, *E. coli* QD5003, *Micrococcus luteus*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia pestis* EV. Учитывая данные результаты, нельзя исключить, что наличие этого фермента в составе OMV холерных вибрионов наделяет их определенными конкурентными преимуществами, усиливая адаптационный/персистентный потенциал. Обнаружение в препаратах OMV этого фермента позволяет предположить его важную роль в составе OMV и требует проведения дальнейших исследований. Во всех препаратах OMV выявлена ДНК-азная активность. ДНК-аза (нуклеаза), расщепляя фосфодиэфирные связи в ДНК вблизи пиримидиновых нуклеотидов и образуя при этом полинуклеотиды с концевым-5'-фосфатом и свободной гидроксильной группой на 3'-конце ДНК, понижает вязкость окружающей среды. Нельзя исключить подобную роль этого фермента и в составе OMV холерного вибриона. У всех взятых в исследование препаратов не обнаружена способность гидролизовать Твин-20, -40, -60, -80.

Также не выявлена алкилсульфатазная активность – способность к гидролизу SDS. Таким образом, как в исходных штаммах *V. cholerae* серогрупп O1 и O139, так и у всех изученных препаратов OMV присутствуют N-ацетил-β-D-глюкозаминидазная и ДНК-азная активности, вероятно, обеспечивающие вибрионам возможность адаптации к различным экологическим нишам и большую конкурентоспособность.

С помощью МКА методом ИФА выявлены в препаратах OMV некоторые поверхностные антигенные детерминанты: белки OmpT, OmpU и ЛПС. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что белок OmpU присутствовал только в препаратах OMV штамма холерных вибрионов *V. cholerae* O1 № 18780 (ОП, оптическая плотность – [1,431±0,015]) и *V. cholerae* O139 № 17786 (ОП – [0,579±0,012]). Следует отметить, что мембранный белок OmpU обнаружен не только в составе везикул, но и на мембранах исходных штаммов *V. cholerae* O1 № 18780 и *V. cholerae* O139 № 17786. В препарате OMV из штамма *V. cholerae* O1 № 18950 OmpU не детектировался. Мембранный белок OmpT выявлен только у препаратов OMV представителей *V. cholerae* O1-серогруппы и не детектировался в препарате OMV, полученном из штамма *V. cholerae* O139 № 17786. Показатель ОП в препарате OMV из штамма *V. cholerae* O1 № 18950 составил (1,447±0,015) и *V. cholerae* O1 № 18780 – (1,394±0,020).

Охарактеризованный ранее препарат OmpT белка из штамма *V. cholerae* № 18950 был наделен широким спектром протеолитической активности. Возможно, что присутствие этого белка и других белков наружной мембраны в составе препаратов OMV обеспечивает определенное преимущество вибрионам в поддержании жизненного цикла *life style* холерного вибриона, что требует проведения дополнительных исследований. Наличие в препаратах OMV белков наружных мембран OmpU и OmpT зависит от того, из какого штамма они выделены.

ЛПС методом ИФА обнаружен в составе всех исследуемых препаратов OMV и в исходных штаммах. В препарате OMV, полученном из штамма *V. cholerae* O1 № 18950, содержание ЛПС по ОП составило (0,981±0,01); *V. cholerae* O1 № 18780 – (1,081±0,016); *V. cholerae* O139 № 17786 – (0,949±0,007). Присутствие в полученных препаратах OMV из атоксигенных штаммов *V. cholerae* серогрупп O1 и O139 протективных антигенов (OmpT, OmpU и ЛПС) обуславливает их участие в формировании специфического антибактериального иммунитета.

Методом ГХ/МС во всех препаратах OMV обнаружено увеличение общего количества мононенасыщенных ЖК по сравнению с исходными клетками. В качестве мажорных пиков в препаратах OMV детектировали гексадеценую и октадеценую ННЖК, тогда как в исходных клетках мажорные пики представлены гексадекановой и гексадеценной (пальмитолеиновой) кислотами. Обнаружено, что у исходных клеток отношение ННЖК/НЖК составило в среднем 0,6 (индекс ненасыщенности ЖК), а для

препаратов OMV индекс ненасыщенности достоверно изменялся ($p < 0,005$) и сдвигался в сторону увеличения. Для препаратов OMV, полученных из штаммов *V. cholerae* O1 № 18950 и 18780, этот показатель составил 5,05, а для препарата OMV из штамма *V. cholerae* O139 № 17786 – 2,35. ННЖК повышают текучесть клеточных мембран, в связи с этим нельзя исключить, что увеличение количества ННЖК в составе препаратов OMV может способствовать сохранению их содержимого, повышая адаптационный/персистентный потенциал холерных вибрионов. Обнаружено, что, в отличие от исходных клеток, в препаратах OMV из штаммов *V. cholerae* O1 № 18950 и 18780 наблюдали появление транс-изомеров ЖК, в частности trans-18:1 Δ11 (транс-изомер октадеценовой кислоты) в концентрации до 10,33 %, а у препаратов OMV из штамма *V. cholerae* O139 № 17786 – до 37,56 %. Учитывая, что температура плавления транс-изомеров ЖК выше, чем соответствующих им *cis*-вариантов, можно предположить, что это может способствовать защите содержимого сформированных везикулярных структур холерных вибрионов от деструктивных изменений при попадании в различные экологические ниши. Учитывая способность холерного вибриона существовать в широком диапазоне экосистем, нельзя исключить, что присутствие выявленных транс-изомеров ЖК обусловит быструю ригидизацию мембраны OMV, что является одним из экстренных механизмов адаптации/персистенции холерного вибриона в везикулярной форме при возникновении определенных экологических условий. Кроме нормальных прямоцепочечных ЖК в препаратах OMV холерных вибрионов детектировались также и *iso*-разветвленные ЖК, которые представлены i16:0 (14-метилпентадекановой ЖК) и i18:0 (16-метилгептадекановой ЖК). Суммарное количество их варьировало от 11 до 25 % в зависимости от штамма. Разветвленные ЖК благодаря особенностям химического строения могут выполнять адаптивную функцию, сохраняя оптимальную текучесть и пластичность мембраны при изменении окружающей среды. Выявлены статистически значимые качественные и количественные изменения спектров ЖК в препаратах OMV, полученных из штаммов *V. cholerae* серогрупп O1 и O139, по сравнению с исходными штаммами. Таким образом, выявленные композиционные перестройки жирнокислотного состава препаратов OMV холерных вибрионов, по сравнению с исходными клетками, могут выполнять несколько важных функций: с одной стороны, участвовать в сохранении содержимого везикул, с другой – способствовать осуществлению динамического взаимодействия между везикулами и клетками микро- и макроорганизмов, а также с окружающей средой, участвуя в механизме адаптации/персистенции холерных вибрионов с помощью процесса везикуляции.

Результаты представленных исследований с использованием различных методических подходов

свидетельствуют о различиях в композиционном составе препаратов OMV, полученных из атоксигенных штаммов *V. cholerae* серогрупп O1 и O139. Выявлено, что состав OMV отличался от исходных штаммов по спектрам белков и ЖК.

Обнаружение в составе препаратов OMV ферментов (N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы, ДНК-азы), белков наружных мембран, ЛПС, ЖК позволило не только получить новые данные, но и обозначить перспективы дальнейшего изучения препаратов OMV у штаммов *V. cholerae*, что будет способствовать расшифровке участия OMV в механизмах адаптации и персистенции. Полученные данные могут быть использованы для разработки в РФ платформы для производства современных вакцинных препаратов с использованием OMV, полученных из атоксигенных штаммов холерных вибрионов.

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. 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.
2. Jan A.T. Outer membrane vesicles (OMVs) of gram-negative bacteria: a perspective update. *Front. Microbiol.* 2017; 8:1053. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01053.
3. Луста К.А., Кондашевская М.В. Участие внеклеточных мембранных нановезикул бактерий в патологических процессах (обзор литературы). *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание*. 2019; 2:148–57. DOI: 10.24411/2075-4094-2019-16306.
4. 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.
5. Théry C., Zitvogel L., Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat. Rev. Immunol.* 2002; 2(8):569–79. DOI: 10.1038/nri855.
6. Pilzer D., Gasser O., Moskovich O., Schifferli J.A., Fishelson Z. Emission of membrane vesicles: roles in complement resistance, immunity and cancer. *Springer Semin. Immunopathol.* 2005; 27(3):375–87. DOI: 10.1007/s00281-005-0004-1.
7. McBroom A.J., Kuehn M.J. Release of outer membrane vesicles by Gram-negative bacteria is a novel envelope stress response. *Mol. Microbiol.* 2007; 63(2):545–58. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2006.05522.x.
8. Duperthuy M., Sjöström A.E., Sabharwal D., Damghani F., Uhlin B.E., Wai S.N. Role of the *Vibrio cholerae* matrix protein Bap1 in cross-resistance to antimicrobial peptides. *PLoS Pathog.* 2013; 9(10):e1003620. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003620.
9. 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.
10. Ellen A.F., Albers S.V., Huibers W., Pitcher A., Hobel C.F.V., Schwarz H., Folea M., Schouten S., Boekema E.J., Poolman B., Driessen A.J.M. Proteomic analysis of secreted membrane vesicles of archaeal *Sulfolobus* species reveals the presence of endosome sorting complex components. *Extremophiles*. 2009; 13(1):67–79. DOI: 10.1007/s00792-008-0199-x.
11. Elhenawy W., Debelyy M.O., Feldman M.F. Preferential packing of acidic glycosidases and proteases into *Bacteroides* outer membrane vesicles. *mBio*. 2014; 5(2):e00909-14. DOI: 10.1128/mBio.00909-14.
12. Deatherage B.L., Lara J.C., Bergsbaken T., Rassoulian Barrett S.L., Lara S., Cookson B.T. Biogenesis of bacterial membrane vesicles. *Mol. Microbiol.* 2009; 72(6):1395–407. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2009.06731.x.
13. Renelli M., Matias V., Lo R.Y., Beveridge T.J. DNA-containing membrane vesicles of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 and their genetic transformation potential. *Microbiology (Reading)*. 2004; 150(Pt. 7):2161–9. DOI: 10.1099/mic.0.26841-0.

14. Langlete P., Krabberød A.K., Winther-Larsen H.C. Vesicles from *Vibrio cholerae* contain AT-rich DNA and shorter mRNAs that do not correlate with their protein products. *Front. Microbiol.* 2019; 10:2708. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02708.
15. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., Lesin V.M., Nikolenko S.I., Pham S., Pribelski A.D., Pyshkin A.V., Sirotkin A.V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5):455–77. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021.
16. Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 1990; 215(3):403–10. DOI: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2.
17. Katoh K., Misawa K., Kuma K., Miyata T. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Res.* 2002; 30(14):3059–66. DOI: 10.1093/nar/gkf436.
18. Дуванова О.В., Шиманюк Н.Я., Мишанькин Б.Н. Способность расщеплять твин 20 как дифференциальный тест для вибрионов O139 серовара различного происхождения. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2000; 5:48–9.
19. Дуванова О.В., Мишанькин Б.Н., Водопоьянов С.О., Писанов Р.В. Способ дифференциации штаммов *Vibrio cholerae* O139 серогруппы по алкилсульфатазной активности. Патент РФ № 2473697, опубл. 27.01.2013. Бюл. № 3.
20. O'Brien M., Colwell R.R. A rapid test for chitinase activity that uses 4-methylumbelliferyl-N-acetyl-β-D-glucosaminide. *Appl. Environ. Microbiol.* 1987; 53(7):1718–20. DOI: 10.1128/aem.53.7.1718-1720.1987.
21. 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.
22. Евдокимова В.В., Алексеева Л.П., Кретенчук О.Ф., Кругликов В.Д., Архангельская И.В., Бурша О.С. Моноклональные антитела к термостабильным поверхностным антигенам холерных вибрионов O1- и O139-серогруппы. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2015; 20(3):51–7.
23. Шипко Е.С., Дуванова О.В. Влияние температурного стресса на спектр жирных кислот штаммов *Vibrio cholerae*. *Вестник Пермского университета. Серия Биология.* 2022; 2:143–54. DOI: 10.17072/1994-9952-2022-2-143-154.
24. Заднова С.П., Плеханов Н.А., Кульшань Т.А., Швиденко И.Г., Крицкий А.А. Система секреции шестого типа *Vibrio cholerae*. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2022; 2:27–35. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-27-35.
25. Бородин О.В., Водопоьянов С.О., Водопоьянов А.С., Олейников И.П., Чемисова О.С., Полеева М.В. Изучение встречаемости гена холодового шока *csH1* у штаммов *Vibrio cholerae*, циркулирующих на территории Российской Федерации. *Бактериология.* 2021; 6(3):22–3.
10. Ellen A.F., Albers S.V., Huibers W., Pitcher A., Hobel C.F.V., Schwarz H., Folea M., Schouten S., Boekema E.J., Poolman B., Driessen A.J.M. Proteomic analysis of secreted membrane vesicles of archaeal *Sulfolobus* species reveals the presence of endosome sorting complex components. *Extremophiles.* 2009; 13(1):67–79. DOI: 10.1007/s00792-008-0199-x.
11. Elhenawy W., Debely M.O., Feldman M.F. Preferential packing of acidic glycosidases and proteases into Bacteroides outer membrane vesicles. *mBio.* 2014; 5(2):e00909-14. DOI: 10.1128/mBio.00909-14.
12. Deatherage B.L., Lara J.C., Bergsbaken T., Rassoulouian Barrett S.L., Lara S., Cookson B.T. Biogenesis of bacterial membrane vesicles. *Mol. Microbiol.* 2009; 72(6):1395–407. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2009.06731.x.
13. Renelli M., Matias V., Lo R.Y., Beveridge T.J. DNA-containing membrane vesicles of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 and their genetic transformation potential. *Microbiology (Reading).* 2004; 150(Pt. 7):2161–9. DOI: 10.1099/mic.0.26841-0.
14. Langlete P., Krabberød A.K., Winther-Larsen H.C. Vesicles from *Vibrio cholerae* contain AT-rich DNA and shorter mRNAs that do not correlate with their protein products. *Front. Microbiol.* 2019; 10:2708. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02708.
15. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., Lesin V.M., Nikolenko S.I., Pham S., Pribelski A.D., Pyshkin A.V., Sirotkin A.V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5):455–77. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021.
16. Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 1990; 215(3):403–10. DOI: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2.
17. Katoh K., Misawa K., Kuma K., Miyata T. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Res.* 2002; 30(14):3059–66. DOI: 10.1093/nar/gkf436.
18. Дуванова О.В., Шиманюк Н.Я., Мишанькин Б.Н. [The ability to split Twin 20 as a differential test for vibrios of O139 serovar of various origin]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics].* 2000; (5):48–9.
19. Дуванова О.В., Мишанькин Б.Н., Водопоьянов С.О., Писанов Р.В. [Method for differentiation between *Vibrio cholerae* O139 strains by alkyl sulfatase activity]. Patent of the Russian Federation No. 2473697, publ. 01/27/2013. Bull. No. 3.
20. O'Brien M., Colwell R.R. A rapid test for chitinase activity that uses 4-methylumbelliferyl-N-acetyl-β-D-glucosaminide. *Appl. Environ. Microbiol.* 1987; 53(7):1718–20. DOI: 10.1128/aem.53.7.1718-1720.1987.
21. Евдокимова В.В., Алексеева Л.П., Кретенчук О.Ф., Кругликов В.Д., Архангельская И.В., Бурша О.С. [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.
22. Евдокимова В.В., Алексеева Л.П., Кретенчук О.Ф., Кругликов В.Д., Архангельская И.В., Бурша О.С. [Monoclonal antibodies to thermostable surface antigens of cholera vibrios O1- and O139-serogroups]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases].* 2015; 20(3):51–7.
23. Shipko E.S., Duванова О.В. [Effect of temperature stress on the spectrum of fatty acids of *Vibrio cholerae* strains]. *Vestnik Permskogo Universiteta. Seriya Biologiya [Bulletin of the Perm University. Biology Series].* 2022; (2):143–54. DOI: 10.17072/1994-9952-2022-2-143-154.
24. Zаднова С.П., Плеханов Н.А., Кул'шан' Т.А., Швиденко И.Г., Крицкий А.А. [*Vibrio cholerae* secretion system of the type VI]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2022; (2):27–35. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-27-35.
25. Borodina O.V., Vodop'yanov S.O., Vodop'yanov A.S., Oleinikov I.P., Chemisova O.S., Poleeva M.V. [Study of the occurrence of the *csH1* cold shock gene in *Vibrio cholerae* strains circulating in the territory of the Russian Federation]. *Bakteriologiya [Bacteriology].* 2021; 6(3):22–3.

References

1. 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.
2. Jan A.T. Outer membrane vesicles (OMVs) of gram-negative bacteria: a perspective update. *Front. Microbiol.* 2017; 8:1053. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01053.
3. Lusta K.A., Kondashevskaya M.V. [Participation of extracellular membrane nanovesicles of bacteria in pathological processes (literature review)]. *Vestnik Novykh Meditsinskikh Tekhnologij [Bulletin of New Medical Technologies. Electronic Edition].* 2019; (2):148–57. DOI: 10.24411/2075-4094-2019-16306.
4. 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.
5. Théry C., Zitvogel L., Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat. Rev. Immunol.* 2002; 2(8):569–79. DOI: 10.1038/nri855.
6. Pilzer D., Gasser O., Moskovich O., Schifferli J.A., Fishelson Z. Emission of membrane vesicles: roles in complement resistance, immunity and cancer. *Springer Semin. Immunopathol.* 2005; 27(3):375–87. DOI: 10.1007/s00281-005-0004-1.
7. McBroom A.J., Kuehn M.J. Release of outer membrane vesicles by Gram-negative bacteria is a novel envelope stress response. *Mol. Microbiol.* 2007; 63(2):545–58. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2006.05522.x.
8. Duperthuy M., Sjöström A.E., Sabharwal D., Damghani F., Uhlin B.E., Wai S.N. Role of the *Vibrio cholerae* matrix protein Bap1 in cross-resistance to antimicrobial peptides. *PLoS Pathog.* 2013; 9(10):e1003620. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003620.
9. 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.

Authors:

Dуванова О.В., Шипко Е.С., Писанов Р.В., Тсырулина О.А., Чемисова О.С., Евдокимова В.В., Водопоьянов А.С., Кругликов В.Д., Иванова И.А., Омел'ченко Н.Д., Филипенко А.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.

Об авторах:

Дуванова О.В., Шипко Е.С., Писанов Р.В., Цырулина О.А., Чемисова О.С., Евдокимова В.В., Водопоьянов А.С., Кругликов В.Д., Иванова И.А., Омел'ченко Н.Д., Филипенко А.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: 10.21055/0370-1069-2024-4-78-87

УДК 579.842.23(575.2)

Г.А. Ерошенко¹, Г.К. Кубанычбекова², А.В. Коврижников¹, А.К. Джапарова², Ж. Муканметэсен уулу³,
А.К. Абдыгазиева³, А.С. Сидорин¹, Я.М. Краснов¹, А.А. Кузнецов¹, А.В. Фадеева¹,
А.К. Никифоров¹, З.Л. Девдариани¹, Е.В. Куклев¹, А.В. Бойко¹, В.В. Кутырев¹

Молекулярная идентификация штаммов *Yersinia pestis*, выделенных в Аксайском высокогорном очаге Кыргызской Республики в 2024 г.

¹ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;
²Республиканский центр профилактики и контроля особо опасных, карантинных инфекций Министерства здравоохранения Кыргызской Республики, Бишкек, Кыргызская Республика; ³Ат-Башинское противочумное отделение РЦПКООКИ МЗ КР, Ат-Башы, Кыргызская Республика

Аксайский высокогорный очаг входит в состав Тянь-Шаньского очага, который в последнее время проявляет постоянную эпизоотическую активность. В 2024 г. в Аксайском очаге впервые в XXI в. выделены культуры *Yersinia pestis*. Цель исследования – молекулярная идентификация штаммов *Y. pestis*, полученных в Аксайском очаге в 2024 г., их филогенетический анализ для установления происхождения и получение полногеномных последовательностей, референсных для этого очага в современный период. **Материалы и методы.** Геномы штаммов *Y. pestis* секвенировали на генетическом анализаторе MinIon (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Библиотеки для секвенирования готовили с помощью набора Native Barcoding Kit 24 v14 (SQK-NBD114.24) и секвенировали на проточной ячейке R10.4.1. Коровые SNPs выявляли путем попарного выравнивания полученных полногеномных последовательностей на геном штамма *Y. pestis* CO92 с помощью программы Snippy v4.6.0. Дендрограмму Maximum Likelihood строили с применением PhyML 3.1. **Результаты и обсуждение.** По данным филогенетического анализа полногеномных последовательностей установлена принадлежность штаммов *Y. pestis*, полученных в 2024 г. в Аксайском очаге, к филогенетической ветви 0.ANT3 античного биовара. Штаммы *Y. pestis* 2024 г. принадлежат к политомии 0.ANT3, к которой также относятся все штаммы 0.ANT3 XX в. из Аксайского, Верхненарынского и Алайского высокогорных очагов и штаммы из провинции Синьцзян в Китае. Генетические отличия между штаммами 0.ANT3 текущего и прошлого века невелики, что доказывает непрерывность сохранения этой популяции в XX–XXI вв. и местного происхождения штаммов 2024 г. Штаммы 0.ANT3 были ранее выделены на значительных территориях Верхненарынского, Аксайского, Алайского очагов чумы и на сопредельных территориях Китая, что свидетельствует о существовании здесь мегаочага 0.ANT3 *Y. pestis*. Штаммы 0.ANT3 высоковирулентны и эпидемически значимы. Активизация Аксайского природного очага чумы требует усиления эпидемиологического надзора за этим автономным очагом чумы Тянь-Шаня.

Ключевые слова: чума, возбудитель, штаммы, очаги чумы, Кыргызская Республика.

Корреспондирующий автор: Ерошенко Галина Александровна, e-mail: rusrap1@microbe.ru.

Для цитирования: Ерошенко Г.А., Кубанычбекова Г.К., Коврижников А.В., Джапарова А.К., Муканметэсен уулу Ж., Абдыгазиева А.К., Сидорин А.С., Краснов Я.М., Кузнецов А.А., Фадеева А.В., Никифоров А.К., Девдариани З.Л., Куклев Е.В., Бойко А.В., Кутырев В.В. Молекулярная идентификация штаммов *Yersinia pestis*, выделенных в Аксайском высокогорном очаге Кыргызской Республики в 2024 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:78–87. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-78-87

Поступила 21.11.2024. Принята к публ. 26.11.2024.

G.A. Eroshenko¹, G.K. Kubanychbekova², A.V. Kovrizhnikov¹, A.K. Dzhaparova²,
Zh. Mukanmetesen uulu³, A.K. Abdygazieva³, A.S. Sidorin¹, Ya.M. Krasnov¹, A.A. Kuznetsov¹,
A.V. Fadeeva¹, A.K. Nikiforov, Z.L. Devdariani¹, E.V. Kuklev¹, A.V. Boiko¹, V.V. Kutyrev¹

Molecular Identification of *Yersinia pestis* Strains Isolated in the Aksai High-Mountain Focus of the Kyrgyz Republic in 2024

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

²Republican Center for Prevention and Control of Particularly Dangerous, Quarantine Infections of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic, Bishkek, Kyrgyz Republic;

³At-Bashy Anti-Plague Department of the Republican Center for Prevention and Control of Particularly Dangerous, Quarantine Infections, Ministry of Health of the Kyrgyz Republic, At-Bashy, Kyrgyz Republic

Abstract. The Aksai high-mountain focus is part of the Tien Shan focus, which has recently shown constant epizootic activity. In 2024, *Yersinia pestis* cultures were isolated from the Aksai focus for the first time in the 21st century. **The aim** of the study was molecular identification of *Y. pestis* strains collected in the Aksai focus in 2024, their phylogenetic analysis to establish their origin and obtain whole-genome sequences that are reference ones for this focus in the modern period. **Materials and methods.** The genomes of *Y. pestis* strains were sequenced on a MinIon genetic analyzer (Oxford Nanopore Technologies, UK). Sequencing libraries were prepared using the Native Barcoding Kit 24 v14 (SQK-NBD114.24) and sequenced on an R10.4.1 flow cell. Core SNPs were identified applying pair wise alignment of the obtained whole-genome sequences to the genome of *Y. pestis* CO92 strain using Snippy v4.6.0 software. The Maximum Likelihood dendrogram was constructed using PhyML 3.1. **Results and discussion.** According to the phylogenetic analysis of whole-genome sequences, it has been established that the *Y. pestis* strains isolated in the Aksai focus in 2024 belong to the phylogenetic branch 0.ANT3 of antique biovar. The *Y. pestis* strains of 2024 fall under the 0.ANT3 polytomy, which also includes all 0.ANT3 strains of the 20th century from the Aksai, Upper Naryn and Alai high-mountain foci and strains from the Xinjiang province in China. The genetic differences between the 0.ANT3 strains of the current and last centuries are small, which proves the continuity of the preservation of this population in the 20th–21st centuries and the local origin of the 2024-strains. Strains 0.ANT3 were previously isolated across large areas of the Upper Naryn, Aksai,

Alai plague foci and on the adjacent territories of China, which indicates the existence of a mega-focus of 0.ANT3 *Y. pestis* there. Strains 0.ANT3 are highly virulent and epidemically significant. The activation of the Aksai natural plague focus requires increased epidemiological surveillance of this autonomous plague focus in the Tien Shan.

Key words: plague, pathogen, strains, plague foci, Kyrgyz Republic.

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., Kubanychbekova G.K., Kovrizhnikov A.V., Dzhaparova A.K., Mukanmetesen uulu Zh., Abdygazieva A.K., Sidorin A.S., Krasnov Ya.M., Kuznetsov A.A., Fadeeva A.V., Nikiforov A.K., Devdariani Z.L., Kuklev E.V., Boiko A.V., Kutyrev V.V. Molecular Identification of *Yersinia pestis* Strains Isolated in the Aksai High-Mountain Focus of the Kyrgyz Republic in 2024. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:78–87. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-78-87

Received 21.11.2024. Accepted 26.11.2024.

Eroshenko G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5403-989X>
Kovrizhnikov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7752-6321>
Dzhaparova A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1067-0940>
Sidorin A.S., ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-3411-5572>
Krasnov Ya.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4909-2394>
Kuznetsov A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0677-4846>

Nikiforov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1130-3504>
Devdariani Z.L., ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-8528-1933>
Kuklev E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9686-9020>
Boiko A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9576-4959>
Kutyrev V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

Акса́йский высокогорный очаг чумы входит в качестве автономного (№ 33) в Тянь-Шаньский высокогорный очаг наряду с двумя другими автономными очагами – Сары́джазским (№ 31) и Верхне́нарынским (№ 32). Акса́йский природный очаг занимает площадь в 10 тыс. км². Он расположен на территории Кыргызской Республики в высокогорной долине Аксай между хребтом Ат-Баши на севере и хребтом Кок-Шаал на юге, охватывая бассейны рек Аксай и Мудурум. В Аксайском высокогорном очаге выделяют четыре мезоочага: Западный, Центральный, Северный и Восточный Аксай [1]. Западный Аксай простирается от озера Чатыркель на восток до рек Терек и Какараташ и представляет собой в основном всхолмленное и рассеченное пологими долинами рек высокогорное нагорье. Основным носителем возбудителя чумы здесь является серый сурок – *Marmota baibacina*, основными переносчиками – блохи сурка *Oropsylla silantiewi*, *Rhadinopsylla li ventricosa* и *Citellophilus lebedewi*. Впервые эпизоотии чумы подтверждены в Аксайском очаге в 1943 г. [2].

В начале XX в. вспышки чумы неоднократно регистрировались в поселениях Центрального Тянь-Шаня, начавшись с вспышки 1907 г. (Чамтибинская область, Кара-Чокур, бубонная чума: 27 заболевших, 27 умерших). В 1928 г. в деревне Баш-Кайынды в Ат-Башинском районе Нарынской области (ур. Баш-Каинда, Иглен, Ташкунак) произошла последняя большая вспышка легочной чумы, вызвавшая гибель 56 человек [3–5].

В Аксайском высокогорном очаге штаммы *Yersinia pestis* выделялись до середины второй половины XX в. В дальнейшем благодаря проведенным в 1971–1989 гг. оздоровительным мероприятиям методом глубинной дезинсекции нор сурков, а также под действием климатических изменений эпизоотическая активность всего Тянь-Шаньского очага значительно снизилась [6]. Эпизоотии чумы в популяциях сурков в автономных очагах не регистрировали по несколько десятков лет. Во второй декаде XXI в. в результате активизации эпизоотических процессов в Сары́джазском и Верхне́нарынском очагах в 2013–2023 гг. вновь получены культуры *Y. pestis*.

В Аксайском очаге культуры *Y. pestis* не выделялись более 50 лет. Однако во время полевого сезона 2024 г. в Западно-Акса́йском мезоочаге выявлена эпизоотия и получено 12 культур *Y. pestis* от серых сурков и 1 культура – от тушканчика-прыгуна *Allactaga sibirica*. По комплексу биохимических признаков [7] они были идентифицированы как штаммы основного подвида античного биовара.

Проведенное нами ранее исследование коллекции тянь-шаньских штаммов, выделенных в XX в., показало, что все они, за редким исключением, относятся к филогенетической линии 0.ANT античного биовара основного подвида *Y. pestis* ssp. *pestis*. Это высоковирулентные штаммы, что определяет их эпидемическую значимость. При этом установлено, что штаммы из Сары́джазского и Верхне́нарынского очагов преимущественно принадлежат к впервые выявленной нами филогенетической ветви 0.ANT5, в то время как в Аксайском очаге встречаются как штаммы 0.ANT5, так и штаммы другой филогенетической ветви – 0.ANT3 – с преобладанием последних [8, 9]. Штаммы 0.ANT3 также встречаются в округе Синьцзян, Китай, граничащем с Аксайским очагом [10]. Проведено полногеномное секвенирование штамма *Y. pestis* 120, который был выделен в 1928 г. в селении Баш-Кайынды от человека с легочной чумой, что позволило с высокой степенью вероятности предположить, что этот штамм является вспышечным и выделен во время вспышки легочной чумы 1928 г.

Современные штаммы, полученные в Сары́джазском и Верхне́нарынском очагах Тянь-Шаня в XXI в., идентифицированы по данным полногеномного секвенирования как штаммы филогенетической ветви 0.ANT5. Они принадлежат как к базовой ветви 0.ANT5 XX в., так и к двум новым клонам, проявившим себя во второй декаде XXI в. в виде эпизоотий, а также эпидемическим осложнением (летальный случай бубонной чумы в 2013 г.). Штаммы *Y. pestis* филогенетических ветвей 0.ANT5 и 0.ANT3 не родственны между собой и отходят от ствола 0.ANT независимо друг от друга [11–13]. Штаммы 0.ANT3 и 0.ANT5 – высоковирулентны и эпидемически значимы. Их исследование является актуальной задачей

для поддержания эпидемиологического благополучия Кыргызской Республики и других стран СНГ, с которыми республика имеет обширные экономические связи. Проведенная реконструкция древних геномов периода первой пандемии чумы показала, что штаммы именно линии 0.ANT были этиологическими агентами этой пандемии, оставившей глубокий след в истории [14, 15].

Цель исследования – молекулярная идентификация штаммов *Y. pestis*, полученных в Аксайском очаге в 2024 г., их филогенетический анализ для установления происхождения и получение полногеномных последовательностей, референсных для этого очага в современный период.

Материалы и методы

Штаммы *Y. pestis* выращивали из единичных колоний на агаре LB (pH 7,2) в течение 24 часов при 28 °С. Для экстракции ДНК штаммы выращивали в бульоне LB (pH 7,2) в течение 24 часов при температуре 28 °С. ДНК штаммов получали с помощью набора PureLink (Invitrogen, США). Секвенирование геномов проводили на генетическом анализаторе MinIon (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Библиотеки для секвенирования готовили с помощью набора Native Barcoding Kit 24 v14 (SQK-NBD114.24) в соответствии с инструкцией производителя и секвенировали на проточной ячейке R10.4.1. Фрагменты ДНК отбирали по разме-

рам с помощью магнитных частиц AMPure XP beads (Beckman Coulter, Inc.) в объемном соотношении образца к суспензии частиц 1:0,4. Средний размер собранного генома составил 4,59 млн п.н.

В работе также использовали полногеномные последовательности штаммов *Y. pestis*, полученные ранее на платформе MGI (DNBSEQ-G50RS) с помощью наборов MGIEasy Fast PCR-FREE FS Library Prep Set и DNBSEQ-G50 High-throughput Sequencing Set (FCL, PE150) в соответствии с инструкцией производителя. Коровые SNPs выявляли путем выравнивания контигов штаммов *Y. pestis* на геном штамма *Y. pestis* CO92 с помощью программы Snippy v4.6.0, затем удаляли 28 гомоплазий SNPs. Дендрограмму строили по алгоритму Maximum Likelihood с применением программы PhyML 3.1, модель GTR с использованием 1000 бутстреп-реплик.

Результаты и обсуждение

Всего в работе использованы 29 штаммов *Y. pestis*, полученных в Тянь-Шаньском высокогорном очаге за период около ста лет, с 1928 по 2024 г. (табл. 1). Штаммы выделены в Сарыджазском (3 штамма), Верхненарынском (4), Аксайском (20), Алайском (2) очагах. Из них 13 штаммов получено в 2024 г. в ур. Ташоло и Орто-Ичке-Суу в секторе 114311643(33), в ур. Туркский-Карасай и Кен-Суу в секторе 114311634(33) Западного мезоочага Аксайского очага сотрудниками Ат-Башинского

Таблица 1 / Table 1

Штаммы *Yersinia pestis* филогенетической линии 0.ANT из Тянь-Шаньского и Алайского высокогорных очагов чумы, использованные в работе

Yersinia pestis strains of phylogenetic line 0.ANT from the Tien Shan and Alai high-mountain plague foci used in the work

Штамм Strain	Природный очаг, место выделения Natural focus, site of isolation	Источник, год выделения Source, year of isolation	Филогенетическая ветвь, номер депонирования Phylogenetic branch, Deposit No
1	2	3	4
120 [186]	Аксайский, Центральный Тянь-Шань, Нарынский контон, с. Баш-Кайынды сектор / sector 114310442(33) Upper-Naryn, Central Tien-Shan, Naryn konton, Bash-Kajyndy settlement	Человек, 1928 Patient, 1928	0.ANT3
333	Верхненарынский, пойма р. Джаман-Ичке, среднее течение 114308344(32) Upper-Naryn, territories along the river Dzhaman-Ichke, middle part	Серый сурок, 1961 Grey marmot, 1961	0.ANT3
231 (708)	Аксайский, Восточный Аксай, правый берег р. Балыксу 114310633(33) Aksay, Eastern Aksay, right bank of the river Balyksu	Алтайский сурок, 1947 Altai marmot, 1947	0.ANT3 JMUF00000000
1/1-53	Аксайский, Центральный Аксай Aksay, Central Aksay	Серый сурок, 1953 Grey marmot, 1953	0.ANT3
938	Аксайский, долина Аксая, Атбашинское ПЧО Aksay, valley of Aksai, Atbashinsk PCD*	Серый сурок <i>Marmota baibacina</i> , 1955 Grey marmot, 1955	0.ANT3
1203	Аксайский, Центральный Аксай Aksay, Central Aksay	Блоха <i>Rhadinopsylla ventricosa</i> , 1959 Flea, 1959	0.ANT3
1-156	Аксайский, Центральный Аксай, ур. Кульджа-Баши 114311741(33) Aksay, Central Aksay, n/1** Kulja-Bashi	Серый сурок <i>Marmota baibacina</i> , 1959 Grey marmot, 1959	0.ANT3

Продолжение табл. 1 / Continuation of table 1

1	2	3	4
A-1785	Аксайский, Атбашинское ПЧО Aksay, Atbashinsk PCD	Костные останки серого сурка, 1974 Skeletal remains of grey marmot, 1974	0.ANT3
246	Аксайский, ур. Орто-Ичке-Суу 14311643(33) Aksai, n/l Ortho-Ichke Suu	Серый сурок, 2024 Grey marmot, 2024	0.ANT3
232	Аксайский, ур. Орто-Ичке-Суу 114311643(33) Aksai, n/l Ortho-Ichke Suu	Серый сурок, 2024 Grey marmot, 2024	0.ANT3
231	Аксайский, ур. Баш-Кашка-Суу 114310641(33) Aksai, Aksai, n/l Bash-Kashka-Suu	Серый сурок, 2024 Grey marmot, 2024	0.ANT3
81	Аксайский, ур. Чет-Ичке-Суу 114311641(33) Aksai, n/l Chet-Ichke-Suu	Серый сурок, 2024 Grey marmot, 2024	0.ANT3
330	Аксайский, ур. Туркский-Карасай 114311634(33) Aksai, n/l Turksky-Karasy	Серый сурок, 2024 Grey marmot, 2024	0.ANT3
80	Аксайский, ур. Орто-Ичке-Суу 114311643(33) Aksai, n/l Ortho-Ichke Suu	Серый сурок, 2024 Grey marmot, 2024	0.ANT3
238	Аксайский, ур. Ташоло 114311643(33) Aksai, n/l Tasholo	Серый сурок, 2024 Grey marmot, 2024	0.ANT3
356	Аксайский, ур. Туркский-Карасай 114311634(33) Aksai, n/l Turksky-Karasy	Серый сурок, 2024 Grey marmot, 2024	0.ANT3
343	Аксайский, ур. Кен-Суу 114311632(33) Aksai, n/l Ken-Suu	Тушканчик-прыгун, 2024 Siberian-jerboa, 2024	0.ANT3
235	Аксайский, ур. Ташоло 114311634(33) Aksai, n/l Ken-Suu	Серый сурок, 2024 Grey marmot, 2024	0.ANT3
234	Аксайский, ур. Ташоло 114311643(33) Aksai, n/l Tasholo	Серый сурок, 2024 Grey marmot, 2024	0.ANT3
241	Аксайский, ур. Ташоло 114311643(33) Aksai, n/l Tasholo	Серый сурок, 2024 Grey marmot, 2024	0.ANT3
240	Аксайский, ур. Ташоло 114311643(33) Aksai, n/l Tasholo	Серый сурок, 2024 Grey marmot, 2024	0.ANT3
A-1487	Алайский, Алайский р-н 104300324(35) Alai, Alai district	Красный сурок <i>Marmota caudata</i> , 1966 Red marmot, 1966	0.ANT3
1-220	Алайский, Сырты-Алайский р-н, левый берег р. Шорт 104300324(35) Alay, Syrty-Alay district, left bank of the river Short	Красный сурок <i>M. caudata</i> , 1966 Red marmot, 1966	0.ANT3 LYMP00000000
790 NCBI GenBank	Kyrgyzstan	—	0.ANT3 GCA_001188675.1
CMCC38001 NCBI GenBank	Синьцзян, Китай Долгота (E) – 76°07'12" Широта (N) – 39°43'48" Xinjiang, China 104300933(00)	<i>Marmota baibacina</i> , 1979	0.ANT3 NCBI ADQU00000000
CMCC21106 NCBI GenBank	Синьцзян, Китай Xinjiang, China Долгота (E) – 75°10'48" Широта (N) – 39°42'00" Xinjiang, China 104300734(00)	<i>M. baibacina</i> , 2001	0.ANT3 NCBI ADQP00000000
A1956001 NCBI GenBank	Синьцзян, Китай Долгота (E) – 75°10'48" Широта (N) – 39°42'00" Xinjiang, China 104300734(00)	<i>M. baibacina</i> , 1956	0.ANT3 NCBI ADPX00000000

Окончание табл. 1 / Ending of table 1

1	2	3	4
42082 NCBI GenBank	Синьцзян, Китай Долгота (E) – 84°37'12" Широта (N) – 44°27'00" Xinjiang, China 124501431(00)	<i>Urocitellus undulatus</i> , 1995	0.ANT3 NCBI ADPH00000000
A-1694	Верхненарынский, Пржевальское ПЧО 114408521(32) Upper-Naryn, Przhevalskoe PCD	Блохи, 1971 Fleas, 1971	0.ANT5 GCA_039640405.1
5M	Верхненарынский, Джеты-Огузские Сырты, Пржевальское ПЧО 114309624(32) Upper-Naryn, Dzhety-Oguzsk Syrty, Przhevalskoe PCD	<i>Oropsylla silantiewi</i> , 1952	0.ANT5 GCA_039640435.1
107	Сарыджазский, ур. Чон-Карабель Sarydzhas, Chon-Karabel n/l	<i>M. baibacina</i> , 2023	0.ANT5 GCA_039640485.1
177	Верхненарынский, Каракольское отделение, ур. Батыр-Бешик 114408511(32) Upper-Naryn, Karakol Department, Batyr-Beshik n/l	<i>M. baibacina</i> , 2019	0.ANT5 GCA_039640475.1
8	Сарыджазский, Ак-Суйский р-н, с. Ичке-Жерсу, Каракольское отделение 114406311(31) Sarydzhas, Ak-Suisk District, Ichke-Zhersu settlement, Karakol division	Человек, 2013 Human, 2013	0.ANT5 GCA_039640455.1
2	Верхненарынский, Иштык-Акшийрак 114408512(32) Upper-Naryn, Ishtyk-Akshiraksky area	Блохи, 2016 Fleas, 2016	0.ANT5 GCA_039640445.1
42091	Синьцзян, Китай Долгота (E) – 84°37'12" Широта (N) – 44°27'00" Xinjiang, China 124501431(00)	<i>U. undulatus</i> , 1999	0.ANT3 NCBI ADPI00000000
NCBI GenBank			
Штамм / Strains		Номер доступа / Accession number	
620024		GCA_000323485.1	
Pestoides A		NZ_ACNT000000000	
91001		NC_005810	
945		ADPV000000000	
42013		NZ_ADPG000000000	
Antiqua		NC_008150	
Nepal516		NZ_ACNQ000000000	
CO92		NC_003143	
KIM10		NC_004088	
MGJZ12		ADSV000000000	

Примечание / Note: * PCD – Plague Control Division (ПЧС – противочумная станция); ** n/l – natural landmark (урочище).

противочумного отделения Республиканского центра профилактики и контроля особо опасных, карантинных инфекций Министерства здравоохранения Кыргызской Республики (рис. 1). Штаммы получены преимущественно от серых сурков (12 штаммов), а также от тушканчика-прыгуна *Allactaga sibirica*. Следует отметить, что все выделенные в 2024 г. штаммы из Аксайского высокогорного очага имели типичные свойства для штаммов *Y. pestis* античного биовара основного подвида. Полногеномное секвенирование этих штаммов проводили на нанопоровом секвенаторе MinIon (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). По данным полногеномного секвенирования все штаммы включали типичные для *Y. pestis* плазмиды – pFra, pCad, pPst и не содержали других плазмид.

Для проведения молекулярной идентификации штаммов *Y. pestis* из Аксайского высокогорного

очага 2024 г. в исследование взяты также штаммы, полученные в 2013–2023 гг. в Верхненарынском и Сарыджазском очагах. Ранее нами было установлено, что все штаммы, выделенные в XXI в. в этих двух очагах, относятся к филогенетической ветви 0.ANT5 [11–13]. Для проведения филогенетического анализа при построении дендрограммы также использованы полногеномные последовательности 15 штаммов разных филогенетических линий из базы данных NCBI GenBank (табл. 1, рис. 2).

Как следует из полученной дендрограммы (рис. 2), все штаммы из Тянь-Шаньского очага относятся к филогенетическим ветвям 0.ANT3 и 0.ANT5, что соответствует ранее полученным данным. В ветвь 0.ANT5 вошли 6 взятых в исследование штаммов из Верхненарынского и Сарыджазского автономных очагов, выделенных в 1952, 1971, 2013, 2016, 2019 и 2023 гг. На дендрограмме ветвь 0.ANT5

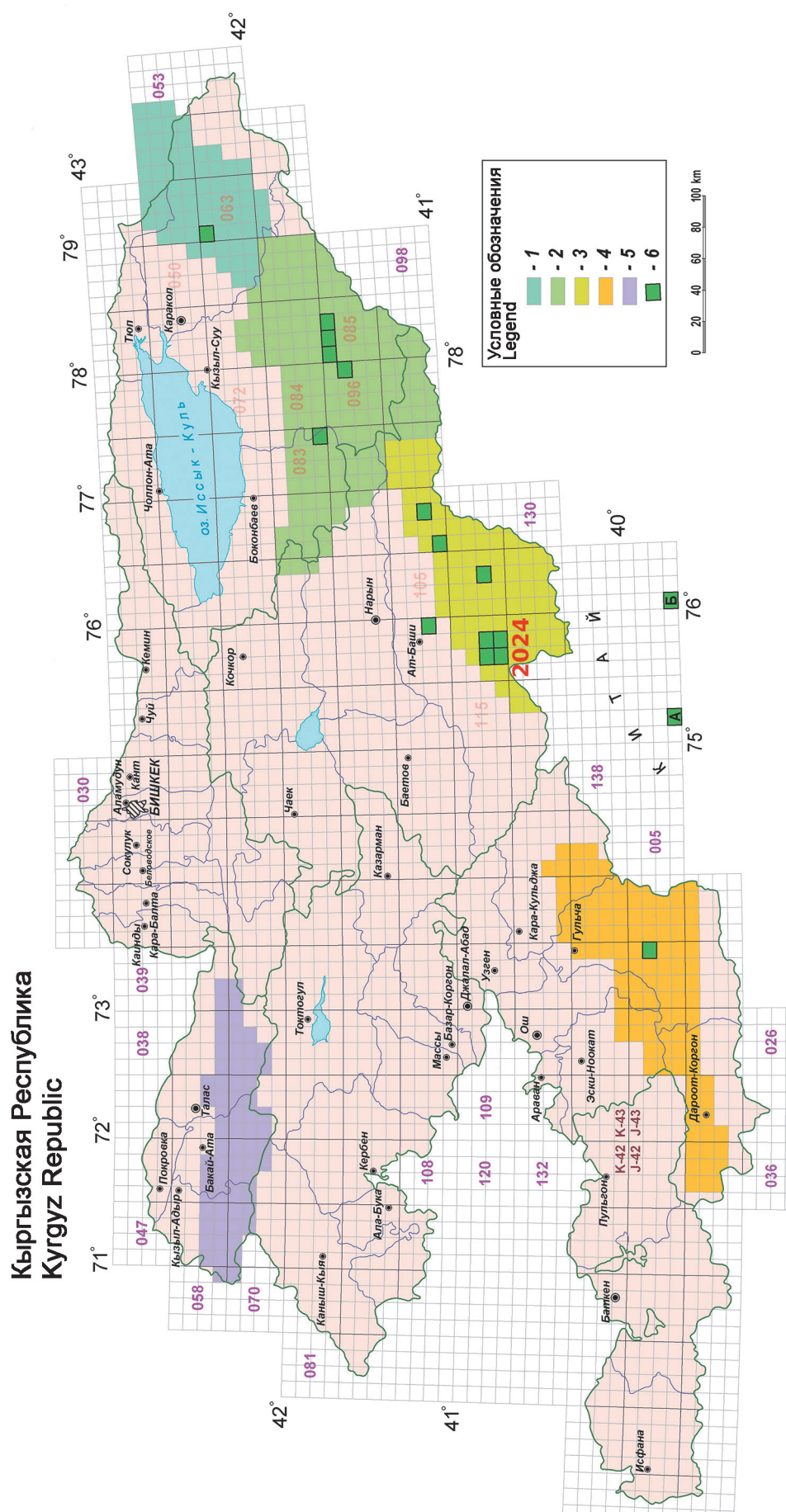


Рис. 1. Места выделения штаммов *Y. pestis* филогенетической ветви 0.ANT3 в Верхнеарынском, Аксайском и Алайской высокогорных очагах в XX–XXI вв.: Очаги чумы Кыргызской Республики: 1 – Сарыджазский (31); 2 – Верхнеарынский (32); 3 – Аксайский (33); 4 – Алайский (35); 5 – Таласский (40); 6 – места выделения штаммов *Y. pestis* филогенетической линии 0.ANT3

Fig. 1. Sites of isolation of the studied *Y. pestis* strains of the phylogenetic branch 0.ANT3 in the Upper Naryn, Aksai and Alai high-mountain foci in the XX-XXI centuries: Plague foci of the Kyrgyz Republic: 1 - Sarydzhez (31); 2 - Upper-Naryn (32); 3 - Aksai (33); 4 - Alai (35); 5 - Talas (40); 6 - sites of isolation of *Y. pestis* strains of the phylogenetic branch 0.ANT3

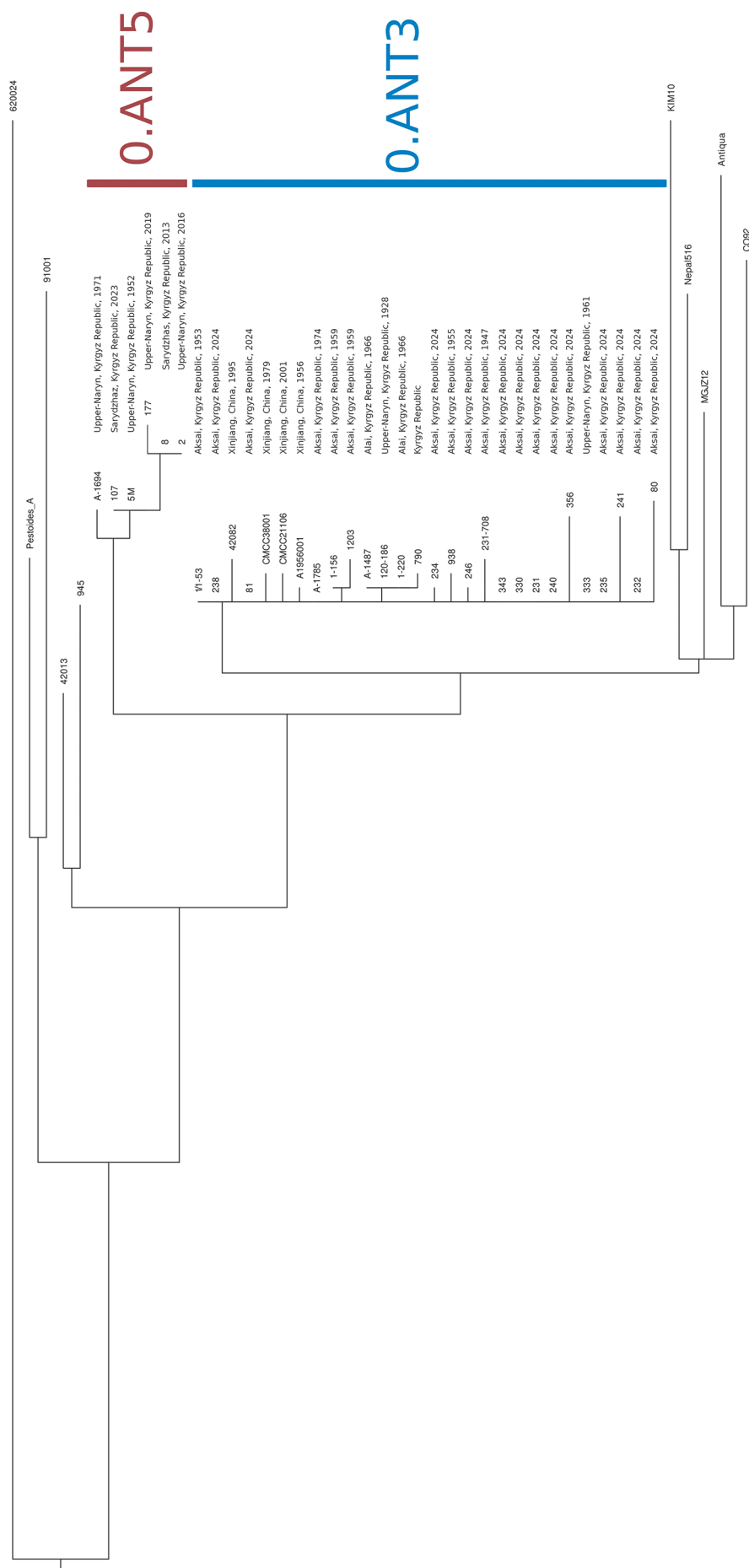


Рис. 2. Филогенетический анализ штаммов *Y. pestis* ветви 0.ANT из Тянь-Шаньского и Алайского высокогорных очагов по данным полногеномного SNP-анализа 44 штаммов из различных регионов мира. Дендрограмма Maximum Likelihood, программа PhyML 3.1, модель GTR с 1000 бутстреп-подкреплением

Fig. 2. Phylogenetic analysis of *Y. pestis* strains of 0₁ANT lineage from the Tien-Shan and Alai high-mountain foci based on whole-genome SNP analysis of 44 strains from different regions of the world. Maximum Likelihood dendrogram, PhyML 3.1 software package, GTR model with 1000 bootstrap support

имеет монофилетическую структуру, что означает происхождение штаммов 2013–2023 гг. от штаммов, выделенных в этих автономных очагах в XX в. Это доказывает их сохранение здесь в микроочагах, несмотря на значительный промежуток времени – более 40 лет отсутствия выделения культур *Y. pestis* на этой территории.

Все 13 штаммов *Y. pestis*, выделенных в Аксайском очаге в 2024 г., вошли в одну ветвь со штаммами 0.ANT3, полученными в прошлом веке в Верхненарынском (1 штамм), Аксайском (7) и Алайском (2) очагах. Это доказывает их принадлежность к филогенетической ветви 0.ANT3 античного биовара. Штаммы 0.ANT3 впервые выделены на Тянь-Шане в Кыргызской Республике в текущем столетии. Филогения штаммов *Y. pestis* 2024 г. из Аксайского высокогорного очага значительно отличается от филогении штаммов 0.ANT5. Она представлена политомией с отсутствием значительной диверсификации входящих в нее штаммов. Все штаммы 0.ANT3 2024 г. отходят непосредственно от ствола политомии независимо друг от друга, не образуют близкородственных кластеров и не имеют общих SNPs за исключением тех, которые являются общими для всей политомии 0.ANT3 (табл. 2). Также независимо от этой же политомии отходят штаммы,

полученные в провинции Синьцзян в конце прошлого и начале текущего века.

Восемь штаммов 0.ANT3 2024 г. из Аксайского очага (232, 343, 330, 238, 235, 231, 240, 81) не имеют никаких специфических SNPs. У других штаммов (234, 246, 80, 356, 241) количество индивидуальных SNPs составляет от 1 до 8 (табл. 2).

Большая часть выявленных SNPs расположена в генах, кодирующих продукты с установленными функциями. Как правило, это белки жизнеобеспечения клеток (табл. 2). Меньшее количество SNPs находится в межгенном пространстве. Также большинство обнаруженных однонуклеотидных мутаций является миссенс-мутациями, то есть приводят к смене кодируемой аминокислоты. Только несколько замен нуклеотидов являются синонимичными и не вызывают замену аминокислоты в кодируемом белке. Еще несколько мутаций приводят к сдвигу рамки считывания и возможному нарушению структуры белка. У штаммов 356, 241, 80 выявлены мутации соседних или близрасположенных нуклеотидов, затрагивающих один и тот же ген (например, ген *rpe* – рибулозо-фосфат-3-эпимеразы, *icd* – изоцитрат дегидрогеназы [NADP], *yapA* – предполагаемый автотранспортный белок и др.), что говорит об общем мутационном механизме, вызвавшем их изменение.

Таблица 2 / Table 2

Перечень SNPs, специфических для штаммов *Y. pestis* филогенетической ветви 0.ANT3, выделенных в 2024 г. в Аксайском высокогорном очаге Кыргызской Республики

List of SNPs specific for *Y. pestis* strains of the phylogenetic branch 0.ANT3, isolated in 2024 in the Aksai high-mountain focus of the Kyrgyz Republic

Штамм Strain	Позиция Position	SNP	Результат Effect	Ген Gene	Продукт Product
234	6507	G→A	missense Glu229Lys	<i>kup</i>	potassium transport protein
246	4588818	G→A	missense Leu188Phe	<i>mtlA</i>	PTS system, mannitol-specific IIBC component
356	170257	A→G	missense Asn224Gly	<i>rpe</i>	ribulose-phosphate 3-epimerase
356	170258	A→G	missense Asn224Gly	<i>rpe</i>	ribulose-phosphate 3-epimerase
356	170262	T→C	missense Asn224Gly	<i>rpe</i>	ribulose-phosphate 3-epimerase
356	170437	C→T	synonymous Leu62Leu	<i>gph</i>	phosphoglycolate phosphatase
356	170508	A→G	missense Tyr84Cys	<i>gph</i>	phosphoglycolate phosphatase
356	1963899	C→T	missense Asp287Asn	<i>YPO1719</i>	putative sugar-binding protein
241	1866422	T→C	missense MetGlu67ThrLys	<i>icd</i>	isocitrate dehydrogenase [NADP]
241	1866423	G→T	missense MetGlu67ThrLys	<i>icd</i>	isocitrate dehydrogenase [NADP]
241	1866424	G→A	missense MetGlu67ThrLys	<i>icd</i>	isocitrate dehydrogenase [NADP]
241	3227191	A→G	missense Tyr1252Cys	<i>yapA</i>	putative autotransporter protein
241	3227213	G→A	missense Asn1260Ala	<i>yapA</i>	putative autotransporter protein
241	3227238	A→C	missense Asn1268His	<i>yapA</i>	putative autotransporter protein
80	2024684	T→C	missense Leu91Pro	<i>YPO1778</i>	conserved hypothetical protein
80	2824738	G→T	SNP in <i>glnQ</i> - <i>YPO2515</i>	int.s*	–
80	2824743	C→A	SNP in <i>glnQ</i> - <i>YPO2515</i>	int.s	–
80	2824744	A→C	SNP in <i>glnQ</i> - <i>YPO2515</i>	int.s	–
80	3387755	G→C	missense Lys382Arg	<i>maeB</i>	NADP-dependent malic enzyme
80	3387757	A→G	missense Lys382Arg	<i>maeB</i>	NADP-dependent malic enzyme
80	4202516	T→C	synonymous Leu1042Leu	<i>groN</i>	DNA-directed RNA polymerase beta chain
0.ANT3	1097619	T→A	missense Trp28Arg	<i>iucA</i>	putative siderophore biosynthesis protein IucA (pseudogene)
0.ANT3	1440879	A→G	SNP in <i>YPO1280-uxuA</i>	int.s	–
0.ANT3	2656734	C→T	SNP in <i>YPO2361</i> - <i>YPO2362</i>	int.s	–
0.ANT3	4281601	G→T	synonymous Leu24Leu	<i>YPO3815</i>	hypothetical protein
0.ANT3	4427796	T→G	missense Asn198Thr	<i>glgC</i>	glucose-1-phosphate adenyllyltransferase

Примечание / Note: * int.s – intergenic space (межгенное пространство).

Отсутствие выраженной диверсификационной популяционной структуры штаммов 0.ANT3 означает, что распространение этой политомии происходило достаточно быстро, с охватом большой территории, с последующим укоренением в природных биотопозах и локальной дифференциацией штаммов.

Интересно, что штаммы 2024 г., выделенные практически на одной территории, не кластеризуются друг с другом и не имеют общих SNPs. Трудно определить место очага, послужившего источником политомии. Известно, что штаммы 0.ANT3 встречаются также в провинции Синьцзян, граничащей с Аксайским очагом. Но эти четыре доступных из базы NCBI GenBank штамма также ложатся в политомию 0.ANT3 и не кластеризуются друг с другом. Небольшой кластер с одной общей SNP образуют два штамма из Алайского очага, выделенные в 1966 г. от основного носителя в этом очаге – красного сурка *Marmota caudata*. В этот же кластер вошел штамм 120 [186], полученный в 1928 г. от человека с легочной чумой, и штамм 790 из Киргизии из NCBI GenBank. Поскольку штамм 120 [186] был получен в 1928 г. и входит в кластер, производный от политомии, то можно предположить, что сама политомия возникла еще раньше. Непонятны причины отсутствия индивидуальных SNPs у большей части штаммов 2024 г., выделенных по крайней мере на 50 лет позже по сравнению со штаммами 0.ANT3 XX в. Получается, что ствол политомии сохранялся без изменений более полувека или же штаммы 2024 г. возникли давно, но сохранились без изменений по прошествии нескольких десятков лет. Если бы штаммы в этот период циркулировали между носителями и переносчиками в локальных участках очага, то они должны были накопить по крайней мере несколько SNPs. Возможен и другой сценарий – сохранение штаммов *Y. pestis* в каком-то природном резервуаре, например в замороженных амебах в высокогорной части очага, которая может оттаивать при потеплении климата. Имеется ряд публикаций о сохранении *Y. pestis* в простейших [16–19].

Факт выявления эпизоотии чумы и выделения в 2024 г. культур *Y. pestis* в Аксайском высокогорном очаге после более чем полувека отсутствия регистрации в нем эпизоотической активности свидетельствует об активизации этого автономного очага чумы Тянь-Шаня. Ранее, в 2013–2023 гг., после долгого перерыва проявили эпизоотическую активность (подтверждена выделением культур *Y. pestis*) еще два автономных очага Тянь-Шаня – Сарыджазский и Верхненарынский. Таким образом, эпизоотическую активность проявляют в настоящее время все автономные очаги Тянь-Шаньского высокогорного очага. Современные штаммы из этого очага относятся к филогенетическим ветвям 0.ANT3 и 0.ANT5 античного биовара основного подвида. Это высоковирулентные штаммы, которые неоднократно вызывали вспышки чумы на территории Тянь-Шаня в XX в. и ранее [5]. Высокая вирулентность этих штаммов и расширение их ареалов в текущий период определяют вы-

сокий эпидемический потенциал этих территорий. Местное население активно использует территории очагов для выпаса скота и другой хозяйственной деятельности, в том числе для незаконного охотничьего промысла сурков – основных носителей чумы. По территории этих очагов также пролегают многочисленные международные туристические маршруты, увеличиваются туристические потоки и транспортные связи с другими странами, что может привести к трансграничному распространению чумы. Все это требует усиления эпидемиологического надзора за активными в настоящее время природными очагами Тянь-Шаня в Кыргызской Республике, повышения объема проводимых здесь профилактических мероприятий по контролю за чумой.

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. Атлас природных очагов чумы России и зарубежных государств. Калининград: РА Полиграфич; 2022. 348 с.
2. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М.: Медицина; 2004. 191 с.
3. Греков А.Д. Вспышка чумы в Нарынском контоне Кыргызской республики в сентябре 1928 г. *Медицинская мысль Узбекистана*. 1928; 3:40–6.
4. Калина Г.П. Чума в Средней Азии. Архангельск: Севкавказиз; 1936. С. 3–69.
5. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Кадастр эпизоотических и эпизоотических проявлений чумы на территории Российской Федерации и стран ближнего зарубежья (с 1876 по 2016 год). Саратов: ООО «Амрит»; 2016. 248 с.
6. Абдикаримов С.Т., Ибрагимов Э.Ш., Этембергенов Ч.Э. Современное эпизоотическое состояние природных очагов чумы Кыргызской Республики и мероприятия, направленные на обеспечение эпизоотического благополучия по чуме. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 2:45–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-45-48.
7. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика особо опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.
8. Eroshenko G.A., Nosov N.Y., Krasnov Y.M., Oglodin Y.G., Kukleva L.M., Guseva N.P., Kuznetsov A.A., Abdikarimov S.T., Dzharparova A.K., Kutyrev V.V. *Yersinia pestis* strains of ancient phylogenetic branch 0.ANT are widely spread in the high-mountain plague foci of Kyrgyzstan. *PLoS One*. 2017; 12(10):e0187230. DOI: 10.1371/journal.pone.0187230.
9. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'hova Z.V., Oglodin E.G., Guseva N.P. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front. Microbiol.* 2018; 9:1106. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01106.
10. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2013; 110(2):577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.
11. Ерошенко Г.А., Джапарова А.К., Оглодин Е.Г., Альхова Ж.В., Куклева Л.М., Кузнецов А.А., Краснов Я.М., Абдикаримов С.Т., Кутырев В.В. Филогеография штаммов *Yersinia pestis* ветви 0.ANT, выделенных в Тянь-Шане и Памиро-Алае в XX–XXI веках. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 1:76–84. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-76-84.
12. Куклева Л.М., Джапарова А.К., Оглодин Е.Г., Нарышкина Е.А., Краснов Я.М., Кузнецов А.А., Фадеева А.В., Ерошенко Г.А., Бердиев С.К., Кутырев В.В. Комплексная характеристика штаммов *Yersinia pestis*, выделенных в Сарыджазском и Верхненарынском высокогорных очагах в 2019–2020 гг.

Проблемы особо опасных инфекций. 2021; 2:114–22. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-114-122.

13. Бердиев С.К., Ерошенко Г.А., Балькова А.Н., Усенбаев Н.Т., Кебекбаева Н.Т., Джапарова А.К., Муканметесен уулу Ж., Жумашов Д., Ражапбаева А.Ш., Юлдашева А.М., Оглодин Е.Г., Катышев А.Д., Кузнецов А.А., Фадеева А.В., Кутырев В.В. Современные диагностические технологии в исследовании полового материала 2023 г. из природных очагов чумы Кыргызской Республики. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 4:50–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-50-61.

14. Wagner D.M., Klunk J., Harbeck M., Devault A., Waglechner N., Sahl J.W., Enk J., Birdsell D.N., Kuch M., Lumibao C., Poinar D., Pearson T., Fourment M., Golding B., Riehm J.M., Earn D.J., Dewitte S., Rouillard J.M., Grupe G., Wiechmann I., Bliska J.B., Keim P.S., Scholz H.C., Holmes E.C., Poinar H. *Yersinia pestis* and the plague of Justinian 541–543 AD: a genomic analysis. *Lancet. Infect. Dis.* 2014; 14(4):319–26. DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70323-2.

15. Feldman M., Harbeck M., Keller M., Spyrou M.A., Rott A., Trautmann B., Scholz H.C., Paffgen B., Peters J., McCormick M., Bos K., Herbig A., Krause J. A high-coverage *Yersinia pestis* genome from a sixth-century Justinianic plague victim. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(11):2911–23. DOI: 10.1093/molbev/msw170.

16. Никульшин С.В., Онацкая Т.Г., Луканина Л.М., Бондаренко А.И. Изучение ассоциации почвенных амёб *Hartmannella rhysodes* с бактериями – возбудителями чумы и псевдотуберкулеза в эксперименте. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1992; 9-10:2–5.

17. Markman D.W., Antolin M.F., Bowen R.A., Wheat W.H., Woods M., Gonzalez-Juarrero M., Jackson M. *Yersinia pestis* survival and replication in potential ameba reservoir. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(2):294–302. DOI: 10.3201/eid2402.171065.

18. Benavides-Montaño J.A., Vadyvaloo V. *Yersinia pestis* resists predation by *Acanthamoeba castellanii* and exhibits prolonged intracellular survival. *Appl. Environ. Microbiol.* 2017; 83(13):e00593-17. DOI: 10.1128/AEM.00593-17.

19. Макашова М.А., Оглодин Е.Г., Куклева Л.М., Шарапова Н.А., Нарышкина Е.А., Германчук В.Г., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Длительное сохранение *Yersinia pestis* в ассоциации с *Acanthamoeba castellanii* в эксперименте. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 4:82–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-82-89.

References

1. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Atlas of Natural Plague Foci of Russia and Foreign Countries]. Kaliningrad: RA "Poligrafych"; 2022. 348 p.

2. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Natural Plague Foci in the Territory of Caucasus, Caspian-Sea Region, Central Asia, and Siberia]. M.: "Meditsina"; 2004. 191 p.

3. Grekov A.D. [Outbreak of plague in the Naryn province of the Kirghiz Republic in September, 1928]. *Meditsinskaya Mysl' Uzbekistana [Medical Thought of Uzbekistan]*. 1928; (3):40–6.

4. Kalina G.P. [Plague in Central Asia]. Arkhangelsk: "Sevkraygiz"; 1936. P. 3–69.

5. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Cadastre of Epidemic and Epizootic Manifestations of Plague in the Territory of the Russian Federation and Former Soviet Union (1876–2016)]. Saratov: "Amirit" LLC; 2016. 248 p.

6. Abdikarimov S.T., Ibragimov E.Sh., Egembergenov Ch.E. [Current epizootic condition of natural plague foci in Kyrgyz Republic and measures aimed at provision of epidemiological welfare as regards plague]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (2):45–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-45-48.

7. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases. Practice Guidelines]. Moscow: JSC "Shiko"; 2013. 560 p.

8. Eroshenko G.A., Nosov N.Y., Krasnov Y.M., Oglodin Y.G., Kukleva L.M., Guseva N.P., Kuznetsov A.A., Abdikarimov S.T., Dzharparova A.K., Kutyrev V.V. *Yersinia pestis* strains of ancient phylogenetic branch 0.ANT are widely spread in the high-mountain plague foci of Kyrgyzstan. *PLoS One*. 2017; 12(10):e0187230. DOI: 10.1371/journal.pone.0187230.

9. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov Y.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'hova Z.V., Oglodin E.G., Guseva N.P. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front. Microbiol.* 2018; 9:1106. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01106.

10. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2013; 110(2):577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.

11. Eroshenko G.A., Dzharparova A.K., Oglodin E.G., Al'hova Zh.V., Kukleva L.M., Kuznetsov A.A., Krasnov Ya.M., Abdikarimov S.T., Kutyrev V.V. [Phylogeny of *Yersinia pestis* strains belonging to 0.ANT branch, isolated in Tien-Shan and Pamir-Alai in XX–XXI centuries]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (1):76–84. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-76-84.

12. Kukleva L.M., Dzharparova A.K., Oglodin E.G., Naryshkina E.A., Krasnov Ya.M., Kuznetsov A.A., Fadeeva A.V., Eroshenko G.A., Berdiev S.K., Kutyrev V.V. [Complex characteristics of *Yersinia pestis* strains isolated in the Sarydzhas and Upper-Naryn high-mountain foci in 2019–2020]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (2):114–22. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-114-122.

13. Berdiev S.K., Eroshenko G.A., Balykova A.N., Usenbaev N.T., Kebekbaeva N.T., Dzharparova A.K., Mukanmetesen uulu Zh., Zhumashov D., Razhapbaeva A.Sh., Yuldasheva A.M., Oglodin E.G., Katsyev A.D., Kuznetsov A.A., Fadeeva A.V., Kutyrev V.V. [Modern diagnostic technologies in the study of the field material collected from the natural plague foci of the Kyrgyz Republic in 2023]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (4):50–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-50-61.

14. Wagner D.M., Klunk J., Harbeck M., Devault A., Waglechner N., Sahl J.W., Enk J., Birdsell D.N., Kuch M., Lumibao C., Poinar D., Pearson T., Fourment M., Golding B., Riehm J.M., Earn D.J., Dewitte S., Rouillard J.M., Grupe G., Wiechmann I., Bliska J.B., Keim P.S., Scholz H.C., Holmes E.C., Poinar H. *Yersinia pestis* and the plague of Justinian 541–543 AD: a genomic analysis. *Lancet. Infect. Dis.* 2014; 14(4):319–26. DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70323-2.

15. Feldman M., Harbeck M., Keller M., Spyrou M.A., Rott A., Trautmann B., Scholz H.C., Paffgen B., Peters J., McCormick M., Bos K., Herbig A., Krause J. A high-coverage *Yersinia pestis* genome from a sixth-century Justinianic plague victim. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(11):2911–23. DOI: 10.1093/molbev/msw170.

16. Nikul'shin S.V., Onatskaya T.G., Lukanina L.M., Bondarenko A.I. [The study of the association of soil amoebas *Hartmannella rhysodes* with bacteria – the causative agents of plague and pseudotuberculosis in the experiment]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology]*. 1992; (9-10):2–5.

17. Markman D.W., Antolin M.F., Bowen R.A., Wheat W.H., Woods M., Gonzalez-Juarrero M., Jackson M. *Yersinia pestis* survival and replication in potential ameba reservoir. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(2):294–302. DOI: 10.3201/eid2402.171065.

18. Benavides-Montaño J.A., Vadyvaloo V. *Yersinia pestis* resists predation by *Acanthamoeba castellanii* and exhibits prolonged intracellular survival. *Appl. Environ. Microbiol.* 2017; 83(13):e00593-17. DOI: 10.1128/AEM.00593-17.

19. Makashova M.A., Oglodin E.G., Kukleva L.M., Sharapova N.A., Naryshkina E.A., Germanchuk V.G., Eroshenko G.A., Kutyrev V.V. [Long-term persistence of *Yersinia pestis* in association with *Acanthamoeba castellanii* in experiment]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (4):82–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-82-89.

Authors:

Eroshenko G.A., Kovrizhnikov A.V., Sidorin A.S., Krasnov Ya.M., Kuznetsov A.A., Fadeeva A.V., Nikiforov A.K., Devdariani Z.L., Kuklev E.V., Boiko A.V., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Kubanychbekova G.K., Dzharparova A.K. Republican Center for Prevention and Control of Particularly Dangerous, Quarantine Infections of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic. 92, Skryabina St., Bishkek, 720005, Kyrgyz Republic. E-mail: rckooi@mail.ru.

Mukanmetesen uulu Zh., Abdygazieva A.K. At-Bashi Anti-Plague Department of the Republican Center for Prevention and Control of Particularly Dangerous, Quarantine Infections, Ministry of Health of the Kyrgyz Republic. 4, Salymbekova St., At-Bashi settlement, Naryn Region, Kyrgyz Republic.

Об авторах:

Ерошенко Г.А., Коврижников А.В., Сидорин А.С., Краснов Я.М., Кузнецов А.А., Фадеева А.В., Никифоров А.К., Девдариани З.Л., Куклев Е.В., Бойко А.В., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Кубанычбекова Г.К., Джапарова А.К. Республиканский центр профилактики и контроля особо опасных, карантинных инфекций Министерства здравоохранения Кыргызской Республики. Кыргызская Республика, 720005, Бишкек, ул. Скрябина, 92. E-mail: rckooi@mail.ru.

Муканметесен уулу Ж., Абдыгазиева А.К. Ат-Башинское противочумное отделение РЦПКООКИ МЗ КР. Кыргызская Республика, Нарынская обл., с. Ат-Башы, ул. М. Салымбекова, 4.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-88-93

УДК 616.921.5:614.4

Т.Н. Ильичева, К.И. Иванова, Н.Д. Болдырев, А.В. Даниленко, А.А. Моисеева, Н.П. Колосова,
В.Ю. Марченко, А.Б. Рыжиков

Популяционный иммунитет к гриппу и опасность появления вируса с пандемическим потенциалом

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

Популяционный иммунитет является определяющим фактором в отношении распространения различных вариантов вируса гриппа, поэтому имеет большое значение для прогнозирования эпидемий, характеристики эпидемического процесса и оценки эффективности вакцинальных кампаний. **Целью** работы явился мониторинг маркеров сезонных вирусов гриппа и вирусов гриппа птиц в сыворотках крови жителей Российской Федерации в 2023–2024 гг. **Материалы и методы.** Образцы сывороток крови здоровых доноров собраны в Сибирском федеральном округе (СФО) Российской Федерации в октябре – ноябре 2023 г. Кроме того, в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) и вируснейтрализации исследованы сыворотки крови людей, имевших контакт с больной и/или погибшей птицей, и жителей регионов, расположенных на путях миграции дикой водоплавающей птицы. **Результаты и обсуждение.** Показано, что накануне эпидемического сезона 2023/2024 гг. в СФО популяционный иммунитет к гриппу был на уровне, рекомендованном Всемирной организацией здравоохранения, – не менее 50 % иммунного населения. Однако среди лиц, имевших контакт с больной и/или погибшей птицей, гуморальный иммунитет к сезонному гриппу был существенно ниже – от 5 до 30 % серопозитивных в зависимости от региона. В РТГА с вирусами гриппа птиц А/Н5Nх и А/Н9N2 положительными были 0 и 3,7 % образцов соответственно. Риск возникновения пандемического вируса гриппа можно снизить путем 75–100%-й вакцинации против сезонного гриппа и контроля уровня антител у работников птицефабрик и других организаций, непосредственно связанных с разведением и переработкой птицы.

Ключевые слова: надзор за вирусами гриппа птиц, сыворотки крови людей, антитела к вирусам зоонозного гриппа.

Корреспондирующий автор: Ильичева Татьяна Николаевна, e-mail: ilicheva_tn@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Ильичева Т.Н., Иванова К.И., Болдырев Н.Д., Даниленко А.В., Моисеева А.А., Колосова Н.П., Марченко В.Ю., Рыжиков А.Б. Популяционный иммунитет к гриппу и опасность появления вируса с пандемическим потенциалом. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:88–93. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-88-93

Поступила 12.07.2024. Отправлена на доработку 30.09.2024. Принята к публ. 04.10.2024.

T.N. Ilyicheva, K.I. Ivanova, N.D. Boldyrev, A.V. Danilenko, A.A. Moiseeva, N.P. Kolosova,
V.Yu. Marchenko, A.B. Ryzhikov

Population Immunity to Influenza and the Risk of Emergence of a Pandemic Virus

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

Abstract. Population immunity is a determining factor in relation to the spread of various variants of the influenza virus, and therefore is of great importance for predicting epidemics, characterizing the epidemic process and assessing the effectiveness of vaccination campaigns. **The aim** of the work was to monitor markers of seasonal influenza viruses and avian influenza viruses in the blood serum of residents of the Russian Federation in 2023–2024. **Materials and methods.** Blood serum samples from healthy donors were collected in the Siberian Federal District of the Russian Federation in October–November 2023. In addition, blood sera from people who had had contact with sick and/or dead birds and from residents of regions located on migration routes of wild waterfowl were studied in HI-test (hemagglutination inhibition) and virus neutralization. **Results and discussion.** It is shown that ahead of the epidemic season of 2023/2024, population immunity to influenza in the Siberian Federal District was at the level recommended by the World Health Organization (WHO) – at least 50 % of the immune population. However, among individuals who had had contact with sick and/or dead birds, humoral immunity to seasonal influenza was significantly lower – from 5 % to 30 % seropositive, depending on the region. HI-test on avian influenza viruses A/H5Nx and A/H9N2 has revealed 0 and 3.7 % of positive samples, respectively. The risk of a pandemic influenza virus emergence can be reduced by 75–100 % vaccination against seasonal influenza and monitoring antibody levels in poultry farm workers and employees of other organizations directly involved in poultry breeding and processing.

Key words: surveillance of avian influenza viruses, human blood sera, antibodies to zoonotic influenza viruses.

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

Funding: The study was conducted as part of the implementation of a state assignment from the Rospotrebnadzor.

Corresponding author: Tatiana N. Ilyicheva, e-mail: ilicheva_tn@vector.nsc.ru.

Citation: Ilyicheva T.N., Ivanova K.I., Boldyrev N.D., Danilenko A.V., Moiseeva A.A., Kolosova N.P., Marchenko V.Yu., Ryzhikov A.B. Population Immunity to Influenza and the Risk of Emergence of a Pandemic Virus. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:88–93. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-88-93

Received 12.07.2024. Revised 30.09.2024. Accepted 04.10.2024.

Ilyicheva T.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2354-7688>
 Ivanova K.I., ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-3191-1360>
 Boldyrev N.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8854-0287>
 Danilenko A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3214-2794>

Kolosova N.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8855-8592>
 Marchenko V.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1339-6732>
 Ryzhikov A.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7009-0748>

Вирусы гриппа А представляют серьезную угрозу для здоровья людей. Вирусы гриппа А и В вызывают сезонные эпидемии, но только вирусы гриппа А вызывали в прошлом пандемии с большой смертностью и экономическими издержками [1, 2]. В настоящее время вирусы гриппа птиц ограничено реплицируются в клетках млекопитающих, но за счет накопления мутаций или генетической реассортации они могут преодолевать межвидовые барьеры. Дальнейшая адаптация этих вирусов к человеку может привести к появлению штаммов, эффективно передающихся воздушно-капельным путем, и, в конечном итоге, к появлению пандемического вируса.

Вирусы гриппа птиц дифференцируют на низко- и высокопатогенные штаммы. Низкопатогенные штаммы вируса вызывают лишь легкое заболевание у домашних птиц, высокопатогенные штаммы, такие как H5Nx и H7N9, могут вызывать заболевания со 100 % смертностью птиц [3, 4]. Как правило, высокопатогенные вирусы возникают из низкопатогенных штаммов в результате реассортации [5].

В 2023 г. наблюдалось наиболее масштабное за последние годы географическое распространение высокопатогенного вируса гриппа в Российской Федерации. Вспышки регистрировались среди дикой и домашней птицы на территории 23 регионов, а также зафиксирована вспышка, вызванная вирусом гриппа птиц, среди морских котиков в Сахалинской области. Все вспышки вызваны штаммами вируса гриппа А(H5N1) генетической клады 2.3.4.4b. Антигенно и генетически они соответствовали предложенным Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) кандидатным вакцинным штаммам A/Astrakhan/3212/2020 (H5N8), A/chicken/Ghana/AVL-763_21VIR7050-39/2021 (H5N1) и A/American Wigeon/South Carolina/22-000345-001/2021 (H5N1) [6].

Популяционное исследование иммунитета – это инструмент прогнозирования развития эпидемиологической ситуации, а также планирования мероприятий по вакцинопрофилактике гриппа. Популяционное исследование позволяет решать широкий круг задач, в том числе характеризовать иммунитет к различным вариантам вирусов гриппа, планировать профилактические мероприятия, выявлять группы риска, контролировать вирусы гриппа животных у людей, контактирующих с ними, и др.

В связи с этим целью нашей работы явился мониторинг маркеров сезонных вирусов гриппа и вирусов гриппа птиц в сыворотках крови жителей Российской Федерации в 2023–2024 гг.

Материалы и методы

Мы проводим мониторинг коллективного иммунитета к вакцинным штаммам вируса гриппа и отслеживаем появление маркеров вируса гриппа

с пандемическим потенциалом (А/Н5Nx, А/Н7N9, А/Н9N2) в сыворотках крови человека во время вспышек птичьего гриппа в индивидуальных хозяйствах и на предприятиях по разведению и переработке птицы, а также круглогодично среди людей, проживающих в местах концентрации диких водоплавающих птиц.

Образцы сывороток крови здоровых доноров собраны сотрудниками центров гигиены и эпидемиологии в Сибирском федеральном округе (СФО) Российской Федерации в октябре – ноябре 2023 г. Сбор сывороток, транспортировка материала в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора и методика реакции торможения гемагглютинации (РТГА) выполнялись, как описано в [7].

Кроме того, исследованы сыворотки крови людей, имевших контакт с больной и/или погибшей птицей, и жителей регионов, расположенных на путях миграции дикой водоплавающей птицы. Образцы сыворотки крови людей исследовали в РТГА и вируснейтрализации, как описано в [8]. В РТГА использовали штаммы А/Астрахань/3212/2020 (H5N8), А/chicken/Khabarovsk/24-12V/2022 (H5N1), А/chicken/Voronezh_oblast/193-1V/2024 (H5N1) и низкопатогенные штаммы А/chicken/NghiLoc/222VTC/2019 (H9N2) и А/chicken/Primorsky Krai/03/2018 (H9N2), обработанные бета-пропиолактоном. Все штаммы выделены в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Результаты и обсуждение

В октябре – ноябре 2023 г. собрано 1327 сывороток крови от здоровых доноров в СФО, в основном от городского населения. Сыворотки исследованы в РТГА с вакцинными штаммами А/Victoria/2570/2019 (H1N1)pdm09, А/Darwin/9/2021 (H3N2), В/Austria/1359417/2021 (линия В/Victoria). Результаты представлены на рис. 1.

Как видно из рис. 1, популяционный иммунитет к вирусам гриппа А у городского населения в СФО

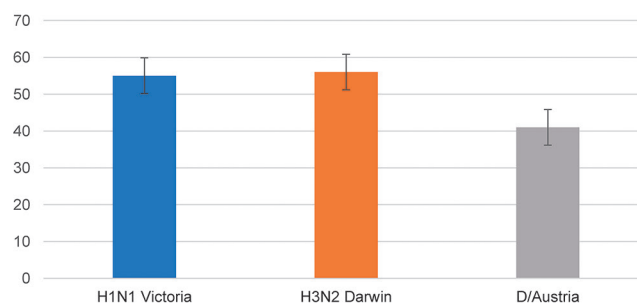


Рис. 1. Процент положительных образцов к вакцинным штаммам вируса гриппа в СФО в октябре – ноябре 2023 г.

Fig. 1. Percentage of positive samples for vaccine influenza viruses in the Siberian Federal District in October–November, 2023

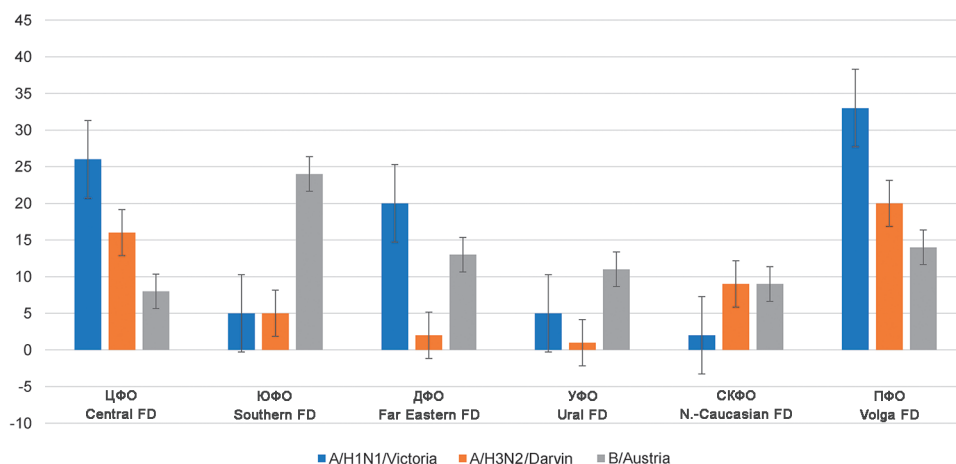


Рис. 2. Гуморальный иммунитет к сезонному гриппу у людей, занимающихся разведением и переработкой домашней птицы. Октябрь – ноябрь 2023 г.

Fig. 2. Humoral immunity to seasonal influenza in people involved in breeding and processing of poultry. October – November, 2023

накануне эпидемического сезона 2023/2024 гг. был на уровне, рекомендованном ВОЗ, – не менее 50 %.

Иная картина наблюдалась при исследовании гуморального иммунитета у людей, связанных с разведением и переработкой домашней птицы, а также жителей регионов, расположенных на путях миграции дикой водоплавающей птицы. Против вакцинных штаммов вирусов гриппа нами протестировано 1266 образцов, собранных в разных регионах Российской Федерации. Результаты представлены на рис. 2.

ВОЗ рекомендует вакцинировать не менее 75 % людей из групп риска (дети, беременные женщины, пожилые люди, а также страдающие диабетом, сердечно-сосудистыми и другими хроническими заболеваниями) [9]. Работники птицефабрик, на наш взгляд, также должны быть отнесены к группе риска из-за опасности возможного появления пандемического штамма вируса гриппа в результате реассортации, если происходит одновременное заражение человека вирусом гриппа птиц и эпидемическим вирусом гриппа [10].

С целью контроля за появлением вирусов гриппа с пандемическим потенциалом мы проводим мониторинг антител к вирусам гриппа птиц в сыворотках людей. С октября 2023 по май 2024 г. нами получено 4346 образцов сыворотки крови людей из 40 регионов РФ, из них не было ни одного положительного в РТГА и вируснейтрализации к вирусу гриппа A/H5N8 и/или A/H5N1. К вирусу гриппа A/H9N2 положительных в РТГА образцов было 159 (3,7 %), более 90 % из них (144 образца) были положительными и в реакции вируснейтрализации. Ни один из образцов сыворотки не прореагировал с вирусом A(H7N9) в РТГА, даже в разведении 1:10.

В конце декабря 2023 – январе 2024 г. на птицефабрике в Воронежской области произошла вспышка высокопатогенного вируса гриппа A/H5N1. Методом ПЦР-РВ нами обнаружена РНК вируса гриппа A/H5 в образцах от птиц. Также в одном образце от человека выявлен генетический материал вируса A/H3N2 (Ct H3=33,08; Ct N2=29,96). От погибшей птицы нами выделен вирус A/chicken/Voronezh_oblast/193-

1V/2024 (H5N1) генетической клады 2.3.4.4b (EPI_ISL_18830915). Секвенирование генома вируса A/H3N2 из образца от сотрудника птицефабрики показало, что гемагглютинин вируса A/H3N2 относится к кладе 2a.3a.1.

Проведено NGS-секвенирование положительных по H5N1 образцов от птиц. В результате получено 10 полных геномов. Все вирусы, для которых определена генетическая последовательность, принадлежали субтипу A/H5N1 клады 2.3.4.4b.

Во время вспышки высокопатогенного гриппа на птицефабрике в Воронежской области в конце декабря 2023 – начале января 2024 г. в России продолжалась эпидемия сезонного гриппа, среди циркулировавших штаммов значительно преобладали варианты вируса A(H3N2). Сыворотки крови работников птицефабрики, контактировавших с больной и/или погибшей птицей (442 шт.), мы исследовали в РТГА и вируснейтрализации с вирусами A/chicken/Voronezh_oblast/193-1V/2024 (H5N1) и A/chicken/NghiLoc/222VTC/2019 (H9N2). Всего обнаружено 26 образцов, которые в РТГА оказались положительными с одним или обоими штаммами. Все эти образцы исследованы в РТГА с вакцинным штаммом A/Darwin/9/2021 (H3N2). Результаты представлены в таблице.

Как видно из представленных данных, из 26 образцов, в которых обнаружены антитела к вирусам гриппа птиц A/chicken/Voronezh_oblast/193-1V/2024 (H5N1) и/или A/chicken/NghiLoc/222VTC/2019 (H9N2), только в 5 образцах (менее 20 %) выявлены антитела к вакцинному штамму A/Darwin/9/2021 (H3N2).

Эти факты еще раз свидетельствуют о низком уровне вакцинации персонала птицефабрик и других организаций, занимающихся разведением и переработкой птицы. Вакцинация от сезонного гриппа должна охватывать не менее 75 % сотрудников.

Несмотря на достижения науки и медицины, грипп остается угрозой для здоровья людей и животных. Широкий круг хозяйств обеспечивает вирусам гриппа A большую вероятность генетической реассортации, что может привести к появлению зооноз-

**Титры в РТГА сывороток, положительных к вирусу
A/chicken/Voronezh-oblast/193-1V/2024 (H5N1) и/или A/chicken/NghiLoc/222VTC/2019 (H9N2)**

**HI-titers of sera positive
for the A/chicken/Voronezh-oblast/193-1V/2024 (H5N1) virus and/or A/chicken/NghiLoc/222VTC/2019 (H9N2) virus**

Шифр сыворотки Serum cypher	Титр в РТГА HI-titer			Шифр сыворотки Serum cypher	Титр в РТГА HI-titer		
	H5N1	H9N2	H3N2		H5N1	H9N2	H3N2
213	—	160	—	56	40	—	—
185	—	40	—	229	20	—	—
437	—	160	—	230	20	—	—
439	—	160	—	305	80	160	40
442	—	160	—	326	40	—	40
235	—	40	80	371	20	—	—
236	—	80	160	278	20	—	—
301	—	160	—	435	20	160	40
302	—	160	—	377	—	40	—
394	—	40	—	333	—	40	—
5	20	—	—	322	—	40	—
6	20	—	—	10	—	40	—
21	20	—	—	167	—	40	—
55	40	—	—				

Примечания:

С антигенами H5N1 и H9N2 положительной считали сыворотку с обратным титром в РТГА ≥ 20 . Каждую сыворотку тестировали трижды с эритроцитами индейки; результаты различались не более чем в 2 раза, за титр сыворотки принимали меньшее значение.

Все сыворотки, положительные в РТГА с антигеном A/chicken/Voronezh-oblast/193-1V/2024 (H5N1), оказались отрицательными в реакции вируснейтрализации с живым вирусом в клетках MDCK.

В РТГА с антигеном A/Darwin/9/2021 (H3N2) серопозитивными считали образцы с обратным титром в РТГА ≥ 40 , каждую сыворотку тестировали трижды с эритроцитами морской свинки.

Notes:

For H5N1 and H9N2 viruses, serum with a reverse HI-titer ≥ 20 was considered positive. Each serum was tested three times with turkey red blood cells; the results differed by no more than two-fold; the lower value was taken as the serum titer.

All sera that were positive in the HI-test with the A/chicken/Voronezh-oblast/193-1V/2024 (H5N1) virus turned out to be negative in the virus neutralization reaction with live virus in MDCK cells.

In the HI-test with the A/Darwin/9/2021 (H3N2) virus, samples with a reverse titer ≥ 40 were considered seropositive; each serum was tested three times with guinea pig red blood cells.

ных штаммов, способных распространиться на человеческую популяцию. Это происходит, хоть и редко, обычно с ограниченной возможностью передачи от человека к человеку. Наибольшее беспокойство в настоящее время вызывает продолжающееся распространение птичьего вируса A/H5Nx, H7N9, A/H9N2 на тех, кто контактирует с домашней птицей.

Геном вируса гриппа А состоит из восьми одноцепочечных сегментов РНК с отрицательным смыслом. Совместное инфицирование одного хозяина разными штаммами иногда приводит к реассортации геномов, что увеличивает вирусное разнообразие и быструю эволюцию [11]. Следует отметить, что из четырех пандемий гриппа в прошлом три были вызваны штаммами, возникшими в результате реассортации [12]. Феномен несоответствия сегментов (включая несоответствие РНК и белков между коинфицирующими вирусами) приводит к образованию потомства дефектных вирусов [13]. И наоборот, реассортантные вирусы с высоким уровнем генетической совместимости РНК-сегментов и вирусных белков могут повысить адаптивность, патогенность и трансмиссивность вируса и даже приобрести спо-

собность передаваться воздушно-капельным путем. Реассортантный вирус H7N6 с генами внутренних белков, вероятно, полученными из H7N9 и H5N6, продемонстрировал сопоставимую аффинность связывания как с птичьими, так и с человеческими рецепторами и эффективную передачу воздушно-капельным путем среди морских свинок [14]. Новый реассортантный вирус H10N3, гены внутренних белков которого хорошо сочетаются и происходят от вируса H9N2, передается между морскими свинками при прямом контакте и воздушно-капельным путем [15]. Кроме того, обнаружено, что соответствие поверхностных гликопротеинов HA и NA с РНК-сегментами 1, 2, 3, 5 (белки PB2, PB1, PA, NP) имеет решающее значение для того, будут ли вирусы гриппа А успешно передаваться среди людей [16, 17].

В 2023–2024 гг. среди собранных нами образцов сыворотки крови 0 и 3,7 % проб оказались положительными в РТГА к вирусам гриппа A/H5Nx и A/H9N2 соответственно. Более 90 % образцов сыворотки, положительных в РТГА, оказались положительными в реакции нейтрализации. За все время наблюдения (начиная с 2005 г.) не обнаружено ни

одного образца сыворотки крови человека, положительного к вирусу гриппа А/Н7N9.

Российская система мониторинга вирусов гриппа с пандемическим потенциалом включает анализ сывороток крови человека на наличие антител к вирусам сезонного и зоонозного гриппа [9]. В связи с этим мы надеемся, что продолжение настоящего исследования поможет своевременно отслеживать появление новых вариантов вируса гриппа с пандемическим потенциалом на территории Российской Федерации.

Мы полагаем, что риск возникновения пандемического вируса гриппа можно снизить путем 75–100%-й вакцинации против сезонного гриппа и контроля уровня антител у работников птицефабрик и других организаций, непосредственно связанных с разведением и переработкой птицы.

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

Финансирование. Исследование проводилось в рамках выполнения государственного задания Роспотребнадзора.

Список литературы

1. Fukuyama S., Kawaoka Y. The pathogenesis of influenza virus infections: the contributions of virus and host factors. *Curr. Opin. Immunol.* 2011; 23(4):481–6. DOI: 10.1016/j.coi.2011.07.016.
2. Doran A., Colvin C.L., McLaughlin E. What can we learn from historical pandemics? A systematic review of the literature. *Soc. Sci. Med.* 2024; 342:116534. DOI: 10.1016/j.socscimed.2023.116534.
3. de Bruin A.C.M., Funk M., Spronken M.I., Gultyaev A.P., Fouchier R.A.M., Richard M. Hemagglutinin subtype specificity and mechanisms of highly pathogenic avian influenza virus genesis. *Viruses.* 2022; 14(7):1566. DOI: 10.3390/v14071566.
4. Lee D.H., Criado M.F., Swayne D.E. Pathobiological origins and evolutionary history of highly pathogenic avian influenza viruses. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2021; 11(2):a038679. DOI: 10.1101/cshperspect.a038679.
5. Escalera-Zamudio M., Golden M., Gutiérrez B., Thézé J., Keown J.R., Carrique L., Bowden T.A., Pybus O.G. Parallel evolution in the emergence of highly pathogenic avian influenza A viruses. *Nat. Commun.* 2020; 11(1):5511. DOI: 10.1038/s41467-020-19364-x. Erratum in: *Nat. Commun.* 2020; 11(1):6070. DOI: 10.1038/s41467-020-20006-5.
6. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2023 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2024. 364 с.
7. Ilyicheva T., Durymanov A., Susloparov I., Kolosova N., Goncharova N., Svyatchenko S., Petrova O., Bondar A., Mikheev V., Ryzhikov A. Fatal cases of seasonal influenza in Russia in 2015–2016. *PLoS One.* 2016; 11(10):e0165332. DOI: 10.1371/journal.pone.0165332.
8. WHO. Global Influenza Surveillance Network: Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. World Health Organization: Geneva, Switzerland; 2011. [Электронный ресурс]. URL: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/44518/9789241548090_eng.pdf?sequence=1.
9. European Centre for Disease Prevention and Control. Seasonal influenza vaccination and antiviral use in EU/EEA Member States – Overview of vaccine recommendations for 2017–2018 and vaccination coverage rates for 2015–2016 and 2016–2017 influenza seasons. Stockholm: ECDC; 2018. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/seasonal-influenza-antiviral-use-2018.pdf>.
10. Ильячева Т.Н., Моисеева А.А., Иванова К.И., Азаев М.Ш., Марченко В.Ю. Серомониторинг маркеров вирусов гриппа с пандемическим потенциалом в Российской Федерации в 2021–2023 гг. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2023; 4:77–83. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-77-83.
11. Ganti K., Bagga A., Carnaccini S., Ferreri L.M., Geiger G., Joaquin Caceres C., Seibert B., Li Y., Wang L., Kwon T., Li Yu., Morozov I., Ma W., Richt J., Perez D., Koelle K., Lowen A.C.

Influenza A virus reassortment in mammals gives rise to genetically distinct within-host subpopulations. *Nat. Commun.* 2022; 13(1):6846. DOI: 10.1038/s41467-022-34611-z.

12. Li C., Chen H. Enhancement of influenza virus transmission by gene reassortment. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2014; 385:185–204. DOI: 10.1007/82_2014_389.

13. White M.C., Lowen A.C. Implications of segment mismatch for influenza A virus evolution. *J. Gen. Virol.* 2018; 99(1):3–16. DOI: 10.1099/jgv.0.000989.

14. Zhao Z., Liu L., Guo Z., Zhang C., Wang Z., Wen G., Zhang W., Shang Y., Zhang T., Jiao Z., Chen L., Zhang C., Cui H., Jin M., Wang C., Luo Q., Shao H. A novel reassortant avian H7N6 influenza virus is transmissible in guinea pigs via respiratory droplets. *Front. Microbiol.* 2019; 10:18. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00018.

15. Liu K., Ding P., Pei Y., Gao R., Han W., Zheng H., Ji Z., Cai M., Gu J., Li X., Gu M., Hu J., Liu X., Hu S., Zhang P., Wang X., Wang X., Liu X. Emergence of a novel reassortant avian influenza virus (H10N3) in Eastern China with high pathogenicity and respiratory droplet transmissibility to mammals. *Sci. China Life Sci.* 2022; 65(5):1024–35. DOI: 10.1007/s11427-020-1981-5.

16. Xu R., Zhu X., McBride R., Nycholat C.M., Yu W., Paulson J.C., Wilson I.A. Functional balance of the hemagglutinin and neuraminidase activities accompanies the emergence of the 2009 H1N1 influenza pandemic. *J. Virol.* 2012; 86(17):9221–32. DOI: 10.1128/JVI.00697-12.

17. Octaviani C.P., Goto H., Kawaoka Y. Reassortment between seasonal H1N1 and pandemic (H1N1) 2009 influenza viruses is restricted by limited compatibility among polymerase subunits. *J. Virol.* 2011; 85(16):8449–52. DOI: 10.1128/JVI.05054-11.

References

1. Fukuyama S., Kawaoka Y. The pathogenesis of influenza virus infections: the contributions of virus and host factors. *Curr. Opin. Immunol.* 2011; 23(4):481–6. DOI: 10.1016/j.coi.2011.07.016.
2. Doran A., Colvin C.L., McLaughlin E. What can we learn from historical pandemics? A systematic review of the literature. *Soc. Sci. Med.* 2024; 342:116534. DOI: 10.1016/j.socscimed.2023.116534.
3. de Bruin A.C.M., Funk M., Spronken M.I., Gultyaev A.P., Fouchier R.A.M., Richard M. Hemagglutinin subtype specificity and mechanisms of highly pathogenic avian influenza virus genesis. *Viruses.* 2022; 14(7):1566. DOI: 10.3390/v14071566.
4. Lee D.H., Criado M.F., Swayne D.E. Pathobiological origins and evolutionary history of highly pathogenic avian influenza viruses. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2021; 11(2):a038679. DOI: 10.1101/cshperspect.a038679.
5. Escalera-Zamudio M., Golden M., Gutiérrez B., Thézé J., Keown J.R., Carrique L., Bowden T.A., Pybus O.G. Parallel evolution in the emergence of highly pathogenic avian influenza A viruses. *Nat. Commun.* 2020; 11(1):5511. DOI: 10.1038/s41467-020-19364-x. Erratum in: *Nat. Commun.* 2020; 11(1):6070. DOI: 10.1038/s41467-020-20006-5.
6. [On the State of Sanitary and Epidemiological Well-being of the Population in the Russian Federation in 2023: State Report]. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumers Rights Protection and Human Wellbeing; 2024. 364 p.
7. Ilyicheva T., Durymanov A., Susloparov I., Kolosova N., Goncharova N., Svyatchenko S., Petrova O., Bondar A., Mikheev V., Ryzhikov A. Fatal cases of seasonal influenza in Russia in 2015–2016. *PLoS One.* 2016; 11(10):e0165332. DOI: 10.1371/journal.pone.0165332.
8. WHO. Global Influenza Surveillance Network: Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. World Health Organization: Geneva, Switzerland; 2011. [Internet]. Available from: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/44518/9789241548090_eng.pdf?sequence=1.
9. European Centre for Disease Prevention and Control. Seasonal influenza vaccination and antiviral use in EU/EEA Member States – Overview of vaccine recommendations for 2017–2018 and vaccination coverage rates for 2015–2016 and 2016–2017 influenza seasons. Stockholm: ECDC; 2018. [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/seasonal-influenza-antiviral-use-2018.pdf>.
10. Ilyicheva T.N., Moiseeva A.A., Ivanova K.I., Azaev M.Sh., Marchenko V.Yu. [Serological monitoring of pandemic influenza virus markers in the Russian Federation in 2021–2023]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]* 2023; 4:77–83. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-77-83.
11. Ganti K., Bagga A., Carnaccini S., Ferreri L.M., Geiger G., Joaquin Caceres C., Seibert B., Li Y., Wang L., Kwon T., Li Yu., Morozov I., Ma W., Richt J., Perez D., Koelle K., Lowen A.C.

13. White M.C., Lowen A.C. Implications of segment mismatch for influenza A virus evolution. *J. Gen. Virol.* 2018; 99(1):3–16. DOI: 10.1099/jgv.0.000989.

14. Zhao Z., Liu L., Guo Z., Zhang C., Wang Z., Wen G., Zhang W., Shang Y., Zhang T., Jiao Z., Chen L., Zhang C., Cui H., Jin M., Wang C., Luo Q., Shao H. A novel reassortant avian H7N6 influenza virus is transmissible in guinea pigs via respiratory droplets. *Front. Microbiol.* 2019; 10:18. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00018.

15. Liu K., Ding P., Pei Y., Gao R., Han W., Zheng H., Ji Z., Cai M., Gu J., Li X., Gu M., Hu J., Liu X., Hu S., Zhang P., Wang X., Wang X., Liu X. Emergence of a novel reassortant avian influenza virus (H10N3) in Eastern China with high pathogenicity and respiratory droplet transmissibility to mammals. *Sci. China Life Sci.* 2022; 65(5):1024–35. DOI: 10.1007/s11427-020-1981-5.

16. Xu R., Zhu X., McBride R., Nycholat C.M., Yu W., Paulson J.C., Wilson I.A. Functional balance of the hemagglutinin and neuraminidase activities accompanies the emergence of the 2009 H1N1 influenza pandemic. *J. Virol.* 2012; 86(17):9221–32. DOI: 10.1128/JVI.00697-12.

17. Octaviani C.P., Goto H., Kawaoka Y. Reassortment between seasonal H1N1 and pandemic (H1N1) 2009 influenza viruses is restricted by limited compatibility among polymerase subunits. *J. Virol.* 2011; 85(16):8449–52. DOI: 10.1128/JVI.05054-11.

Authors:

Ilyicheva T.N., Ivanova K.I., Boldyrev N.D., Danilenko A.V., Moiseeva A.A., Kolosova N.P., Marchenko V.Yu., Ryzhikov A.B. State Scientific Center of Virology and Biotechnology “Vector”. Kol’tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Об авторах:

Ильичева Т.Н., Иванова К.И., Болдырев Н.Д., Даниленко А.В., Моисеева А.А., Колосова Н.П., Марченко В.Ю., Рыжиков А.Б. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Колыцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-94-106

УДК 616.98:579.842.23

Л.А. Карапетян, А.Н. Балыкова, Н.С. Червякова, А.В. Федоров, Г.А. Ерошенко,
Е.Г. Абрамова, В.Г. Германчук, Е.В. Куклев, В.П. Топорков

Ретроспективная молекулярная экспертиза вспышек чумы в Северном Приаралье в середине XX века

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

Цель работы – ретроспективная молекулярная экспертиза вспышек чумы, произошедших на северном побережье Аральского моря в середине прошлого века, и филогенетический анализ вызвавших их штаммов *Yersinia pestis*. **Материалы и методы.** Использованы полногеномные последовательности 39 штаммов *Y. pestis* из очагов Северного Приаралья, выделенных в 1945–1974 гг. Полногеномное секвенирование выполняли в системе Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific, США). Обработку данных и сборку последовательностей проводили с помощью Ion Torrent Suite software package, v5.12, FastQC v0.12.0, unicycler v0.5.0. Филогенетическую реконструкцию проводили методом полногеномного SNP-анализа, построение дендрограммы осуществляли алгоритмом Maximum Likelihood с применением программы PhyML v3.1. Молекулярное типирование штаммов осуществляли методом MLVA25. **Результаты и обсуждение.** Штаммы *Y. pestis*, выделенные в Северном Приаралье с 1945 по 1974 г., относятся к филогенетической ветви 2.MED1 средневекового биовара основного подвида. Вспышки чумы в Северном Приаралье в 1945, 1955, 1966 и 1969 гг. вызваны штаммами каспийской подветви 2.MED1, а вспышка 1967 г. – штаммами центральноазиатской подветви, последовательно достигшими этого региона из Северного Прикаспия и Прибалхашья. Показано, что источниками заражения людей были эпизоотии, протекавшие на северном побережье Аральского моря. Установлено, что в 1960-е гг. на территории Северного Приаралья одновременно циркулировали штаммы *Y. pestis* каспийской и центральноазиатской подветвей 2.MED1 средневекового биовара. Характерной особенностью вспышки чумы 1945 г. было наличие большого числа специфических для каждого штамма SNPs, возможно обусловленных процессом быстрой адаптации штаммов каспийской подветви 2.MED1 к условиям природного биоценоза Северного Приаралья. В дальнейшем скорость эволюции возникшей северо-приаральской популяции 2.MED1 значительно снизилась, что сопровождалось формированием отдельных кластеров штаммов с небольшим количеством индивидуальных SNPs.

Ключевые слова: чума, природные очаги Северного Приаралья, штаммы *Yersinia pestis*, вспышки, молекулярная экспертиза.

Корреспондирующий автор: Карапетян Левон Александрович, e-mail: rusrap1@microbe.ru.

Для цитирования: Карапетян Л.А., Балыкова А.Н., Червякова Н.С., Федоров А.В., Ерошенко Г.А., Абрамова Е.Г., Германчук В.Г., Куклев Е.В., Топорков В.П. Ретроспективная молекулярная экспертиза вспышек чумы в Северном Приаралье в середине XX века. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:94–106. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-94-106

Поступила 21.05.2024. Принята к публ. 06.06.2024.

L.A. Karapetyan, A.N. Balykova, N.S. Chervyakova, A.V. Fedorov, G.A. Eroshenko, E.G. Abramova,
V.G. Germanchuk, E.V. Kuklev, V.P. Toporkov

Retrospective Molecular Investigation of Plague Outbreaks in the Northern Aral Sea Region in the Mid-20th Century

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

Abstract. The aim of the work is a retrospective molecular examination of plague outbreaks that occurred on the northern coast of the Aral Sea in the middle of the past century, and a phylogenetic analysis of the *Yersinia pestis* strains that caused them. **Materials and methods.** Whole-genome sequences of 39 *Y. pestis* strains from foci of the Northern Aral Sea region, isolated in 1945–1974, were used. Whole-genome sequencing was performed in the Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific, USA). Data processing and sequence assembly were carried out using the Ion Torrent Suite software package, v5.12, FastQC v0.12.0, unicycler v0.5.0. Phylogenetic reconstruction was carried out using the whole-genome SNP analysis method, the dendrogram was constructed using the Maximum Likelihood algorithm using the PhyML v3.1 program. Molecular typing of strains was performed using the MLVA25 method. **Results and discussion.** *Y. pestis* strains isolated in the Northern Aral Sea region between 1945 and 1974 belong to the phylogenetic branch 2.MED1 of the medieval biovar of the main subspecies. Plague outbreaks in the Northern Aral Sea region in 1945, 1955, 1966, and 1969 were caused by strains of the Caspian subbranch 2.MED1, and the outbreak of 1967 – by strains of the Central Asian subbranch, which successively reached this region from the Northern Caspian and Balkhash regions. It is shown that the sources of human infection were epizootics occurring on the northern coast of the Aral Sea. It is established that in the 1960s, *Y. pestis* strains of the Caspian and Central Asian subbranches 2.MED1 medieval biovar circulated simultaneously in the Northern Aral Sea region. A characteristic feature of the plague outbreak of 1945 was the presence of a large number of SNPs specific to each strain, possibly due to the process of rapid adaptation of the Caspian subbranch 2.MED1 strains to the conditions of the natural biocenosis of the Northern Aral Sea region. Subsequently, the rate of evolution of the emerging Northern Aral population 2.MED1 significantly decreased, which was accompanied by the formation of individual clusters of strains with a small number of individual SNPs.

Key words: plague, natural foci of the Northern Aral Sea, *Yersinia pestis* strains, outbreaks, molecular investigation.

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

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

Corresponding author: Levon A. Karapetyan, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Karapetyan L.A., Balykova A.N., Chervyakova N.S., Fedorov A.V., Eroshenko G.A., Abramova E.G., Germanchuk V.G., Kuklev E.V., Toporkov V.P. Retrospective Molecular Investigation of Plague Outbreaks in the Northern Aral Sea Region in the Mid-20th Century. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:94–106. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-94-106

Received 21.05.2024. Accepted 06.06.2024.

Karapetyan L.A., ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-5532-1521>

Balykova A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3766-7979>

Chervyakova N.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3133-3820>

Fedorov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7190-4427>

Eroshenko G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5403-989X>

Abramova E.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8798-1547>

Germanchuk V.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8986-3640>

Kuklev E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9686-9020>

Toporkov V.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9512-7415>

В начале XX в. многочисленные вспышки чумы с высокими показателями летальности произошли в Северном и Северо-Западном Прикаспии [1]. Причиной появления чумы в Российской империи после долгих лет ее отсутствия с середины XIX в. стали, по-видимому, занос чумы из Персии морским путем через Каспийское море и образование устойчивых природных очагов чумы в Прикаспийской низменности. Ранее нами на основе изучения большого числа штаммов *Yersinia pestis*, полученных в период с 1912 по 1950 г., показано, что вспышки в Северном Прикаспии в начале XX в. вызваны штаммами *Y. pestis* средневекового биовара, его филогенетическими ветвями 2.MED1 и 2.MED4 [2, 3]. В дальнейшем, в первой половине XX в. штаммы 2.MED1 получили беспрецедентное распространение в Прикаспии, на Кавказе и в Центральной Азии с образованием устойчивых природных очагов, многие из которых проявляют постоянную эпизоотическую и эпидемическую активность и в XXI в. Однако в середине XX в. в связи с потеплением климата, снижением количества осадков и падением уровня Каспийского моря (ухудшение кормовой базы, снижение численности носителей чумы – грызунов и переносчиков – блох) вспышки чумы прекратились, очаги Прикаспия вступили в длительный межэпизоотический период.

В то же время, в 1945 г. впервые вспышки чумы произошли на северном побережье Аральского моря, хотя ранее чума здесь не регистрировалась и сведения о ней в этом регионе в исторических документах отсутствуют. В августе – октябре 1945 г. в Аральском районе Кызыл-Ординской области Казахстана произошла большая вспышка чумы, в ходе которой заболели 175 человек и 121 из них умер. Еще одна вспышка случилась на станции Саксаульская Кызыл-Ординской области в августе 1955 г., а другая – в г. Аральске этой же области в августе 1967 г. В 1960-е гг. в Северном Приаралье были зарегистрированы еще две вспышки чумы. Одна из них произошла в поселке Казалинск Кызыл-Ординской области в августе 1966 г., вторая – в июне 1969 г. в урочище (ур.) Костам поселка Аралсульфат, в 21 км от г. Аральска. Единичные случаи происходили в Кызыл-Ординской области летом – осенью 1959, 1990, 1991, 1999, 2001 гг., а также в соседней Актюбинской области в 1966, 1999 гг. [1]. Этиологический агент вспышек чумы в Северном Приаралье в середине прошлого века и его происхождение остаются малоисследованными.

Целью работы явились ретроспективная молекулярная экспертиза вспышек чумы, произошедших на северном побережье Аральского моря в середи-

не прошлого века, и филогенетический анализ вызвавших их штаммов *Y. pestis*. Эти данные важны для выяснения источников заражения людей чумой в Северном Приаралье, а также закономерностей распространения штаммов *Y. pestis* в этом регионе Каспийско-Аральских пустынь Центральной Азии в XX в.

Материалы и методы

В работе использованы полногеномные последовательности штаммов *Y. pestis* из очагов Северного Приаралья, сопредельных очагов чумы Прикаспия и Центральной Азии (табл. 1). Для филогенетического анализа использованы также полногеномные последовательности штаммов *Y. pestis* других филогенетических ветвей, таких как 620024 (0.PE7), Pestoides F (0.PE2), Pestoides A (0.PE4a), Antiqua (1.ANT), CO92 (1.ORI), C627 (2.MED0), 91 (2.MED2), KIM (2.MED1) из базы данных NCBI GenBank. ДНК штаммов *Y. pestis* для полногеномного секвенирования получали с использованием набора PureLink Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Полногеномное секвенирование выполняли в системе Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific, США) в соответствии с инструкцией производителя. Обработку данных, контроль качества и сборку последовательностей сырых ридов *de novo* проводили с помощью Ion Torrent Suite software package v5.12, FastQC v0.12.0, unicycler v0.5.0. Полученные риды собирали в континги со средним покрытием на геном 98,56 % (50х глубина прочтения). Средний размер собранного генома составил 4,55 м.п.н. Коровые SNPs выявляли путем выравнивания контингов штаммов *Y. pestis* на геноме CO92 (номер доступа в NCBI GenBank NC_003143) с помощью программы Snippy 4.6, затем удаляли 28 гомоплазий SNPs. Полученный набор SNPs содержал только коровую область генома (1753 SNPs). Дендрограмму строили по алгоритму Maximum Likelihood с применением программы PhyML v3.1, встроенной в SeaView v5.0.5; модели GTR, подобранной в программе Jmodeltest2 с учетом AIC-критерия; использовали 500 бутстреп-реплик. Визуализацию филогенетического дерева выполняли в программе FigTree v1.4.4. Типирование штаммов проводили методом мультилокусного VNTR-анализа – MLVA25, с исключением трудно детектируемого локуса ms09 [4]. Праймеры для локусов ms46 и ms62 использовали согласно [5]. Поиск VNTR осуществляли в полногеномных последовательностях с применением авторского скрипта, принцип которого

Таблица 1 / Table 1

Штаммы *Yersinia pestis* из природных очагов Северного Приаралья и других очагов чумы
***Yersinia pestis* strains from natural foci of the Northern Aral Sea region and other plague foci**

Штамм Strain	Природный очаг (место выделения) Natural focus (site of isolation)	Источник, год выделения Source, year
1	2	3
578	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, о. Куг-Арал, п. Авань North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Kug-Aral Island, Avan settlement	Человек, бубонная форма, 1945 Human, bubonic form, 1945
582	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, о. Куг-Арал, п. Авань North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Kug-Aral Island, Avan settlement	Человек, бубонная форма, 1945 Human, bubonic form, 1945
592	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, о. Куг-Арал, п. Авань North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Kug-Aral Island, Avan settlement	Человек, легочно-септическая форма, 1945 Human, pulmonary-septic form 1945
609	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, Ак-Басты North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Ak-Basty	Человек, бубонно-легочная форма, 1945 Human, bubonic-pulmonary form, 1945
580	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, о. Бигорунди North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Bigorundi Island	Человек, первично-легочная форма, 1945 Human, primary pulmonary form, 1945
600	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, о. Куг-Арал, п. Авань North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Kug-Aral Island, Avan settlement	Человек, бубонная форма, 1945 Human, bubonic form, 1945
602	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, о. Куг-Арал, п. Авань North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Kug-Aral Island, Avan settlement	Человек, бубонная форма, 1945 Human, bubonic form, 1945
605	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, о. Куг-Арал, п. Авань North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Kug-Aral Island, Avan settlement	Человек, первично-легочная форма, 1945 Human, primary pulmonary form, 1945
621	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, побережье Аральского моря North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, the coast of the Aral Sea	<i>Captopsylla</i> , 1945
617	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, Гемушкуль North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Gemushkul	<i>Pallasiomys meridianus</i> , 1945
928	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Оренбургская ж.д., разъезд 88 North-Aral desert, Kazakhstan, Orenburg railroad, passing loop 88	Человек, бубонная форма, 1955 Human, bubonic form, 1955
927	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Оренбургская ж.д., станция Саксаульская North-Aral desert, Kazakhstan, Orenburg railroad, Saksaulskaya station	Человек, бубонно-септическая форма, 1955 Human, bubonic-septic form, 1955
929	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, ур. Жаир-Там North-Aral desert, Kazakhstan, Zhair-Tam area	<i>Rhombomys opimus</i> , 1955
247	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, г. Аральск North-Aral desert, Kazakhstan, Aralsk	<i>Camelus species</i> , 1967
241	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, г. Аральск North-Aral desert, Kazakhstan, Aralsk	Человек, 1967 Human, 1967
242	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, г. Аральск North-Aral desert, Kazakhstan, Aralsk	Человек, 1967 Human, 1967
244	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, г. Аральск North-Aral desert, Kazakhstan, Aralsk	Человек, 1967 Human, 1967
246	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, г. Аральск North-Aral desert, Kazakhstan, Aralsk	Человек, 1967 Human, 1967
М-2301	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, г. Аральск North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district, Aralsk	Человек, 1969 Human, 1969
М-2294	Северо-Приаральский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н North-Aral desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aral district	1955
615	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Ак-Басты Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Ak-Basti	<i>Rhombomys opimus</i> , 1945

Продолжение табл. 1 / Continuation of the table 1

1	2	3
930	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, станция Бай-Хожа Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Bai-Khozha station	<i>Pallasiomys meridianus</i> , 1955
932	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, гора Хан Турт-Куль Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Khan Turt-Kul mountain	<i>Xenopsylla skrjabini</i> , 1955
4635	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, 38 км с.-в. г. Аральска, расщелина Арапкунт Aral-Karakum desert, Kazakhstan, 38 km to the north-east of Aralsk, Arapkut cleft	<i>Rhombomys opimus</i> , 1959
550	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, ур. Биртомор, уч. № 4 (99 км севернее Казалинска, аз. 38°30') Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Birtomor area, site No. 4 (99 km northward of Kazalinsk, az. 38°30')	<i>Rhombomys opimus</i> , 1966
6661	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, окр. могильника Кульжан (в 78 км ю.-ю.-в. г. Аральска) Aral-Karakum desert, Kazakhstan, vicinity of Kulzhan (78 km to the south-south-east of Aralsk)	<i>Spermophilus pygmaeus</i> , 1966
1065	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Казалинский р-н, ур. Жаманбай (130 км ю.-з. Аральска, аз. 194°) Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kazalinskiy district, Zhamanbai area (130 km to the south-west of Aralsk, az. 194°)	<i>Rhombomys opimus</i> , 1966
1252	Приаральско-Каракумский пустынный Казахстан, Аральский р-н, ю.-з. побережье оз. Чуншкуль Aral-Karakum desert Kazakhstan, Aral district, south-west coast of Lake Chunshkul	<i>Spermophilus fulvus</i> , 1965
A-1763	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Приаральско-Каракумский мезоочаг Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Aral-Karakum meso-focus	<i>Rhombomys opimus</i> , 1974
A-1764	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Приаральско-Каракумский мезоочаг Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Aral-Karakum meso-focus	<i>Xenopsylla skrjabini</i> , 1973
KM 938	Приаральско-Каракумский пустынный, Каракалпакская АССР Aral-Karakum desert, Kara-Kalpak ASSR	Человек, 1966 Human, 1966
M-2300	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Казалинский р-н, п. Айтеке-Би (Новоказалинск) Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Kazalinsk district, Aiteke-Bi (Novokazalinsk) settlement	<i>Rhombomys opimus</i> , 1969
M-2306	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Казалинский р-н, п. Айтеке-Би (Новоказалинск) Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kyzylorda region, Kazalinsk district, Aiteke-Bi (Novokazalinsk) settlement	<i>Rhombomys opimus</i> , 1969
M-2307	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Казалинский р-н, п. Айтеке-Би (Новоказалинск) Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Kazalinsk district, Aiteke-Bi (Novokazalinsk) settlement	Грызун (вид не определен), 1969 Rodent (species not determined), 1969
M-2280	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, г. Аральск Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aralsk district, Aralsk city	<i>Rhombomys opimus</i> , 1966
M-2281	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Аральский р-н, г. Аральск Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Aralsk district, Aralsk city	<i>Xenopsylla skrjabini</i> , 1969
M-2285	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Казалинский р-н, п. Айтеке-Би (Новоказалинск) Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Kazalinsk district, Aiteke-Bi (Novokazalinsk) settlement	<i>Rhombomys opimus</i> , 1969
M-2286	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Казалинский р-н, п. Айтеке-Би (Новоказалинск) Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Kazalinsk district, Aiteke-Bi (Novokazalinsk) settlement	<i>Rhombomys opimus</i> , 1969
M-2287	Приаральско-Каракумский пустынный, Казахстан, Кызыл-Ординская обл., Казалинский р-н, п. Айтеке-Би (Новоказалинск) Aral-Karakum desert, Kazakhstan, Kzyl-Orda Region, Kazalinsk district, Aiteke-Bi (Novokazalinsk) settlement	<i>Rhombomys opimus</i> , 1969
505	Прибалхашский пустынный, Казахская ССР, Алма-Атинская обл., Джаркентский р-н, совхоз Айдарлы Balkhash desert, Kazakh SSR, Alma-Ata Region, Dzarkent district, state farm Aidarly	<i>Rhombomys opimus</i> , 1939
40	Прибалхашский пустынный, Киргизская ССР, Талды-Курганское ПЧО, Косчинграуский эпидотряд Balkhash desert, Kyrgyz SSR, Taldy-Kurgan plague control department, Koschingrausk sanitary-epidemiological squad	<i>Rhombomys opimus</i> , 1961

Окончание табл. 1 / Ending of the table 1

1	2	3
19	Кызылкумский пустынный, Туркестан, ур. Ак Камыш Kyzylkum desert, Turkestan, Ak Kamysh area	Человек легочная форма, 1924 Human, pulmonary form, 1924
1001	Мойынкумский пустынный, Казахская ССР, Джамбульская обл., 32 км с.-з. от Хан-Тая Moiynkum desert, Kazakh SSR, Dzhambul Region, 32 km to the north-west of Khan-Tau	<i>Meriones erythrouirus</i> , 1965
M-2352	Мойынкумский пустынный, Казахская ССР, Джамбульская обл., Мойынкумский р-н, Зачуйская саксауловая дача в 50 км к западу от ж/д ст. Сары-Булак Moiynkum desert, Kazakh SSR, Dzhambul Region, Moyinkum district, Zachuysk saksaul, 50 km westward of Sary-Bulak railway station	Блохи (вид не определен), 1966 Fleas (species not identified), 1966
9	Прикаспийский Северо-Западный степной, Ростовская обл., Заветнинский р-н, с. Качкино Caspian North-Western steppe, Rostov Region, Zavetninsky district, Kachkino village	Человек, 1923 Human, 1923
174	Волго-Уральский песчаный, Казахстан, Джанчагинский р-н, Черкеш-Чагыл Volga-Ural sandy, Kazakhstan, Dzhaichaginsky district, Cherkesh-Chagyl	Человек, легочная форма, 1932 Human, pulmonary form, 1932
626	Волго-Уральский песчаный, Западный Казахстан, Гурьевская обл., Забуруинский сельсовет, колхоз Амангельды Volga-Ural sandy, Western Kazakhstan, Guryev Region, Zaburuinsky rural council, Amangeldy farm	Человек, 1945 Human, 1945
106	Волго-Уральский песчаный, левый берег р. Волги Уральской губернии, Джангалинский р-н, ур. Кундерген Volga-Ural sandy, left bank of the Volga river, Ural province, Dzhagan-Galinsky district, Kundergen area	<i>Pallasiomys meridianus</i> , 1928
261	Кобыстанский равнинно-предгорный, Азербайджанская ССР Kobystan plain-piedmont, Azerbaijan SSR	<i>Meriones erythrouirus</i> , 1955

основан на поиске фланкирующих VNTR-локусов последовательностей с дальнейшим сохранением в multi-FASTA-файлах. Подсчет количества tandemных повторов проводили в программе TRF [6]. Тепловую карту VNTR-повторов в геномах штаммов *Y. pestis* из очагов Северного Приаралья визуализировали с помощью языка программирования python 3.10 с использованием библиотеки Seaborn v0.13.2.

Результаты и обсуждение

В Северном Приаралье расположено два природных пустынных очага чумы: Северо-Приаральский (№ 21) и Приаральско-Каракумский (№ 24), – открытых в 1945 г. Основным носителем чумы в них является большая песчанка, а переносчиками – ее блохи [7]. В данной работе нами проведен филогенетический анализ 39 штаммов *Y. pestis* из Северного Приаралья, включая 20 штаммов из Северо-Приаральского (1945–1969 гг.) и 19 штаммов из Приаральско-Каракумского (1945–1973 гг.) пустынных очагов. Для установления родственных связей северо-приаральских штаммов в филогенетическом анализе использованы штаммы *Y. pestis* из очагов чумы Прикаспия и Центральной Азии: 1 штамм из Прикаспийского Северо-Западного (1923 г.), 3 штамма из Волго-Уральского песчаного (1928, 1932, 1945 гг.), 1 штамм из Кобыстанского (1955 г.), 2 штамма из Прибалхашского (1939, 1961 гг.) и 2 штамма из Мойынкумского (1965, 1966 гг.) очагов (табл. 1). Для построения дендрограммы использованы также полногеномные последовательности штаммов *Y. pestis* других филогенетических ветвей из базы данных NCBI GenBank (0.PE7: 620024, ADPU000000000; 0.PE2: Pestoides_F, NC_009381; 0.PE4a: Pestoides_A, NZ_ACNT000000000; 1.ANT:

Antiqua, NC_008150; 1.ORI1: CO92, NC_003143; 2.MED2: 91, ADPU000000000; 2.MED1: KIM10, AE009952.1) и штамма *Y. pestis* 4 филогенетической ветви 2.MED4, секвенированного нами (рис. 1).

Филогенетический анализ показал, что все 39 штаммов из двух очагов Северного Приаралья принадлежат к ветви 2.MED1 средневекового биоценоза основного подвида возбудителя чумы, однако относятся к разным подветвям этой ветви: каспийской и центральноазиатской, – распространение которых в Прикаспии и Центральной Азии в XX в. происходило разными путями. На основе полученных данных по филогенетическому родству взятых в исследование штаммов *Y. pestis* проведена ретроспективная молекулярная экспертиза вспышек чумы, произошедших в Северном Приаралье в середине XX в.

Ретроспективная молекулярная экспертиза Аваньской вспышки чумы в Аральском районе Кызыл-Ординской области Казахстана в 1945 г. В августе – октябре 1945 г. в Северо-Приаральском очаге чумы на территории Кызыл-Ординской области Казахстана в п. Ак-Басты, Авань и Ак-Кудук Аральского района произошла большая вспышка чумы (175 заболевших, 121 умерший) (рис. 1). Отличительной особенностью этой вспышки был «...необычайно большой процент септических форм заболевания (33 человека), которые обычно встречаются чрезвычайно редко... Смертность до госпитализации составляла 83,5 %» [8]. По эпидемиологическому заключению работавшего на вспышке противочумного отряда, первичным источником заражения стали больной верблюд, в прирезке которого участвовало несколько семей, и употребление в пищу зараженного мяса в п. Ак-Басты с последующим распространением чумы от больных людей с помощью зараженных человеческих блох *Pulex irritans*.

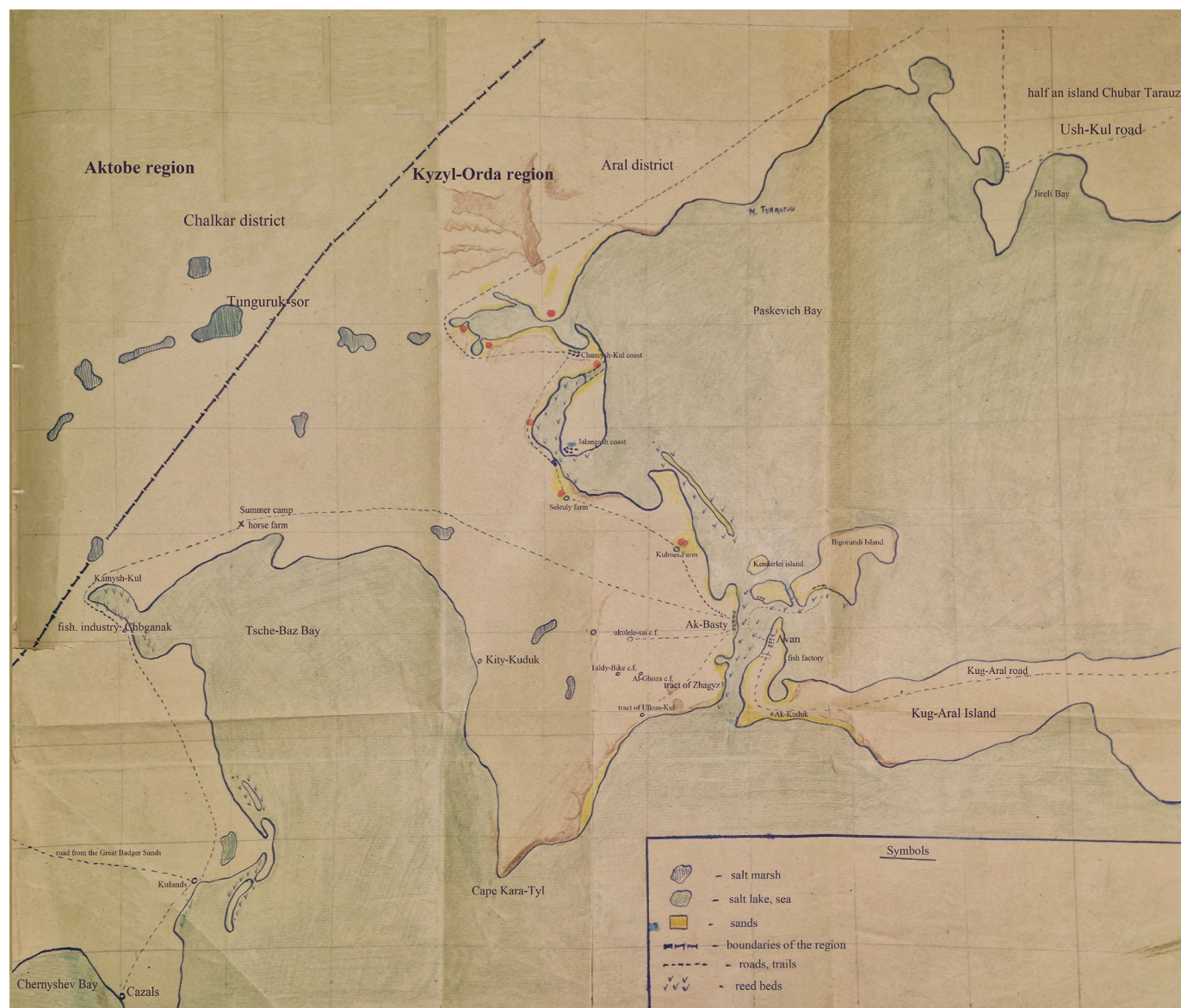


Рис. 1. Карта территории, охваченной вспышкой чумы в августе – октябре 1945 г. на северном побережье Аральского моря в п. Ак-Басты, Авань, Ак-Кудук и на о. Бюуркунды Аральского района Кзыл-Ординской области Казахстана, из архивного отчета противочумного отряда, участвовавшего в ликвидации этой вспышки [8]

Fig. 1. Map of the territory covered by the plague outbreak in August-October, 1945 on the northern coast of the Aral Sea in Ak-Basty, Avan, Ak-Kuduk settlements and on Byuurkundy Island, Aralsk District, Kyzyl-Orda Province, Kazakhstan, from the archival report of the anti-plague unit that participated in the elimination of that outbreak [8]

tans в п. Авань и Ак-Кудук, на о. Бюуркунды (рис. 1). Ярким свидетельством участия блох, по мнению специалистов, служат «...10–15–20-дневные разрывы между отдельными, но несомненно связанными между собой заболеваниями» [8]. В архивном отчете сообщается, что «этот факт заражения людей от верблюда хотя и не подтвержден медработниками бактериологически, но все же не может быть исключен как источник заражения группы людей». Заражение верблюда произошло в окрестностях п. Ак-Басты, где в это время протекали интенсивные эпизоотии чумы на больших песчанках *Rhombomys opimus* с обилием блох на них. Зараженность блохами больших песчанок была высокой [1, 8, 9].

В нашем распоряжении было 11 штаммов *Y. pestis*, выделенных от больных людей и от но-

сителей на разных участках охваченной вспышкой территории в 1945 г. В том числе 8 штаммов получено от людей (п. Ак-Басты, 1 штамм [609]; п. Авань, 6 штаммов [578, 582, 592, 600, 602, 605] и о. Бюуркунды, 1 штамм [580]). Кроме них два штамма получены от носителей и переносчиков: 1 штамм (617) от полуденной песчанки *Pallasiomys meridianus*, 1 штамм (621) от блох *Captopsylla* большой песчанки. Еще один штамм (615) выделен в 1945 г. на сопредельной территории Приаральско-Каракумского очага от большой песчанки. Все клинические штаммы получены во второй половине Аваньской вспышки, с 29 сентября по 28 октября 1945 г., в то время как прирезка верблюда произошла 2 августа. Штаммов *Y. pestis* от верблюда и заразившихся непосредственно от него людей не по-

лучено, поскольку противочумный отряд прибыл позже. Штаммы 621 и 617 от большой песчанки изолированы чуть позже клинических штаммов – 20 и 27 ноября 1945 г., а штамм 615 получен в начале декабря 1945 г.

Филогенетический анализ показал, что все выделенные в 1945 г. в Северном Приаралье штаммы *Y. pestis* относятся к филогенетической ветви 2.MED1 средневекового биовара и происходят от ее каспийской подветви (рис. 2). Ветвь с северо-приаральскими штаммами ведет свое происхождение непосредственно от каспийской подветви, и их разделяют две мутации единичных нуклеотидов SNPs в генах YPO_RS04355 (замена C>T в позиции 105 последовательности гена) и YPO_RS13470 (C>T в позиции 1012 гена со сменой аминокислоты в кодируемом белке Arg>Cys) (рис. 2, филогенетический узел MN3, табл. 2). На дендрограмме штаммам из Северного Приаралья 1945 г. предшествуют преимущественно штаммы 1923–1945 гг. из Северного Прикаспия. Это свидетельствует в пользу того, что штаммы 2.MED1 достигли Северного Приаралья в 1945 г. из этих очагов, что согласуется с ранее полученными данными [2].

Все 8 штаммов (578, 580, 582, 592, 600, 602, 605, 609), полученных от людей во время Аваньской вспышки в 1945 г., отходят непосредственно от ствола вновь образовавшейся северо-приаральской подветви (рис. 2). При проведении полногеномного выравнивания установлено наличие общей SNP для этих штаммов с координатой 2495569 по геному референсного штамма CO92 (NC_003143): C>T в позиции 224 гена гипотетического белка YPO_RS12105, вызвавшей замену Ala>Val в позиции 75 аминокислотной последовательности белка.

Для каждого штамма из вспышки 1945 г. характерно наличие большого количества индивидуальных SNPs, инсерций и делеций, отсутствующих у других штаммов *Y. pestis* из Северного Приаралья: *Y. pestis* 580: инсерции – 50, SNPs – 8, делеции – 8; *Y. pestis* 605: инсерции – 14, SNPs – 105, делеции – 74; *Y. pestis* 600: инсерции – 70, SNPs – 7, делеции – 25; *Y. pestis* 592: инсерции – 1, SNPs – 8, делеции – 1; *Y. pestis* 578: инсерции – 5, SNPs – 7, делеции – 44; *Y. pestis* 609: инсерции – 2, SNPs – 4, делеции – 2; *Y. pestis* 602: инсерции – 30, SNPs – 177, делеции – 40; *Y. pestis* 582: инсерции – 0, SNPs – 17, делеции – 3; *Y. pestis* 615: инсерции – 3, SNPs – 17, делеции – 19.

Делеции и инсерции у этих штаммов в большинстве случаев состояли из 1–2 нуклеотидов.

Как следует из дендрограммы, клинические штаммы *Y. pestis* периода вспышки 1945 г. не имеют между собой тесного родства, не ведут своего происхождения друг от друга и между ними не наблюдается преемственности. Из этого следует, что заражение людей происходило не в результате последовательного переноса штаммов от человека к человеку с помощью блох. Наиболее вероятен путь независимого заражения людей блохами от грызунов в полевых

условиях, поскольку в это время в окрестностях поселков протекали интенсивные эпизоотии на больших песчанках, на которых отмечалось большое количество блох. Эта версия поддерживается тем фактом, что параллельно с клиническими штаммами от ствола образовавшейся северо-приаральской подветви отходит штамм, полученный в этом регионе от большой песчанки (штамм 615). Кроме того, в пользу этой версии свидетельствует и высокий процент септической чумы у заболевших, что может объясняться большим числом укусов блох и заражением больных из полевых источников.

Маловероятен вариант, что все полученные от людей в период Аваньской вспышки 1945 г. штаммы *Y. pestis* были производными одного природного штамма, вызвавшего гибель верблюда и заражение участвующих в его разделке людей с последующим распространением инфекции с помощью блох. В этом случае на дендрограмме вспышечные штаммы должны были образовать кластер родственных изолятов. По-видимому, структура вспышки в п. Авань в 1945 г. более сложная. Возможно, что часть заболеваний в начале вспышки была вызвана одним штаммом, от которого погиб верблюд и заразились люди. Эти штаммы на дендрограмме не представлены. Однако это лишь часть заболеваний. Данные филогенетического анализа свидетельствуют в пользу того, что от людей в период второй половины вспышки выделялись не родственные друг другу штаммы, что говорит о независимом заражении людей из полевых источников. В отчете по Аваньской вспышке сообщается: «Не исключена возможность наличия отдельных случаев заражения от блох грызунов. Однако прямые доказательства этого отсутствуют» [8]. Данные генетического анализа свидетельствуют о том, что это были не единичные, а множественные случаи заражения чумой людей.

Также нами проведен анализ штаммов *Y. pestis* из Аваньской вспышки 1945 г. с помощью мультилокусного анализа варибельного числа tandemных повторов MLVA25 (рис. 3). Все клинические штаммы и штамм 615 от песчанки имели идентичный MLVA25 профиль, за исключением штамма 609, у которого в локусе ms46 присутствовало 13 повторов, в то время как у всех других штаммов этой группы их было 14. Еще у одного клинического штамма – 578 – в другом локусе ms62 содержалось 15 повторов, в то время как у всех других штаммов было 14. По остальным 22 локусам VNTR все штаммы идентичны (рис. 3). Еще два штамма – 617 (полуденная песчанка) и 621 (блохи *Captosylla*) из Северо-Приаральского очага – отличались от штаммов 1945 г. по локусу ms62 и имели в нем 4 повтора, в то время как другие штаммы 1945 г. несли 14 повторов.

Таким образом, штаммы, выделенные во время Аваньской вспышки 1945 г., имели практически идентичные MLVA25-профили. Это свидетельствует о том, что эти штаммы прошли адаптацию к Северо-Приаральскому региону, поскольку известна взаимо-

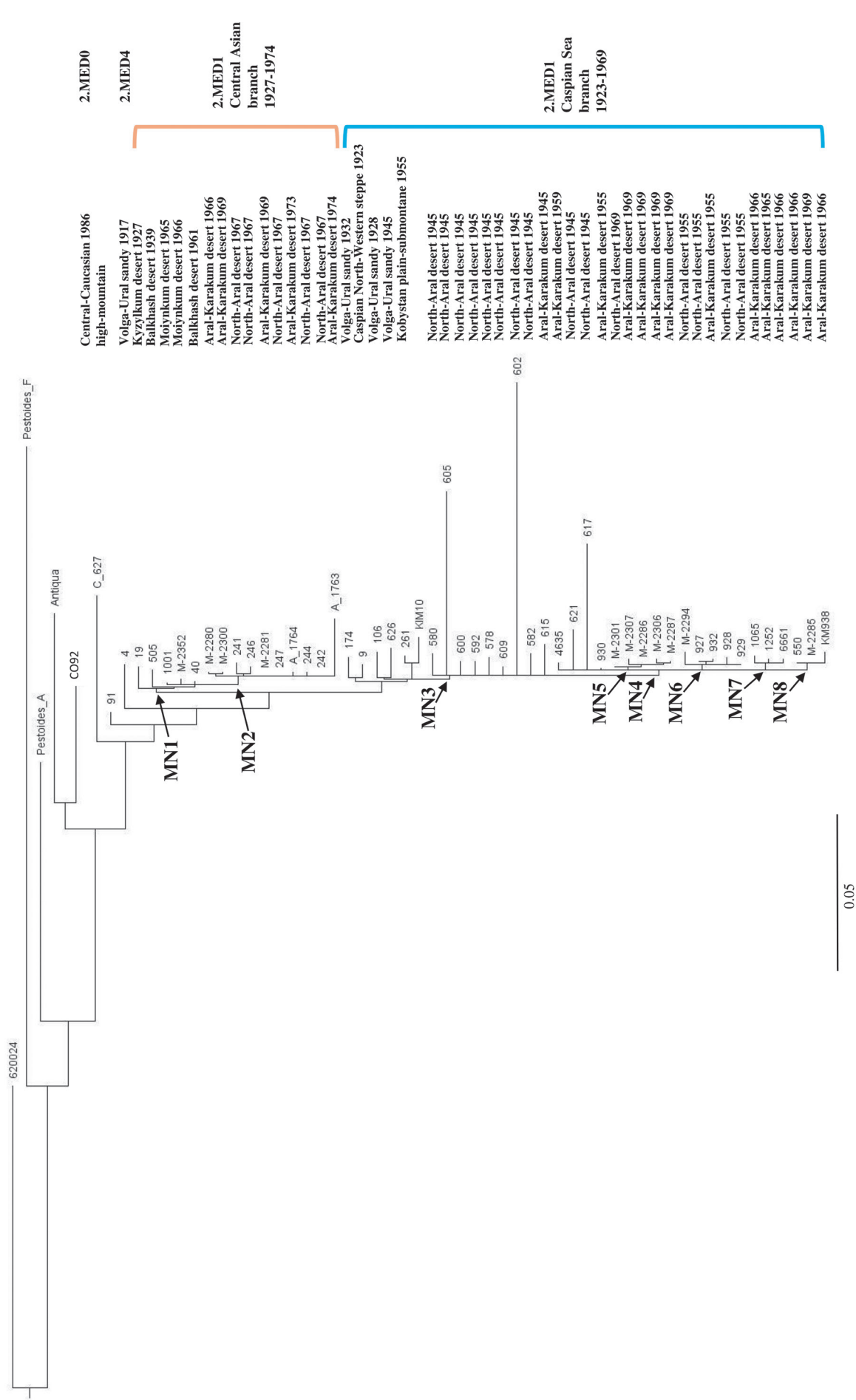


Рис. 2. Дендрограмма филогенетического родства штаммов *Y. pestis*, вызвавших вспышки чумы в Северном Приаралье в середине XX в., по данным полногеномного SNP-анализа на основе выявленных 1753 SNPs в коровом геноме. Алгоритм Maximum Likelihood с применением программы PhyML v3.1, встроенной в SeaView v5.0.5, модели GTR, 500 бутстреп-реплик. Визуализацию филогенетического дерева выполняли в программе FigTree v1.4.4

Fig. 2. Dendrogram of phylogenetic relations of *Y. pestis* strains that caused outbreaks of plague in the Northern Aral Sea region in mid-20th century, according to the whole-genome SNP analysis based on the identified 1753 SNPs in the core genome. Maximum Likelihood algorithm and PhyML v3.1 program embedded in SeaView v5.0.5, GTR model, 500 bootstrap replicates. The phylogenetic tree was visualized in FigTree v1.4.4 software

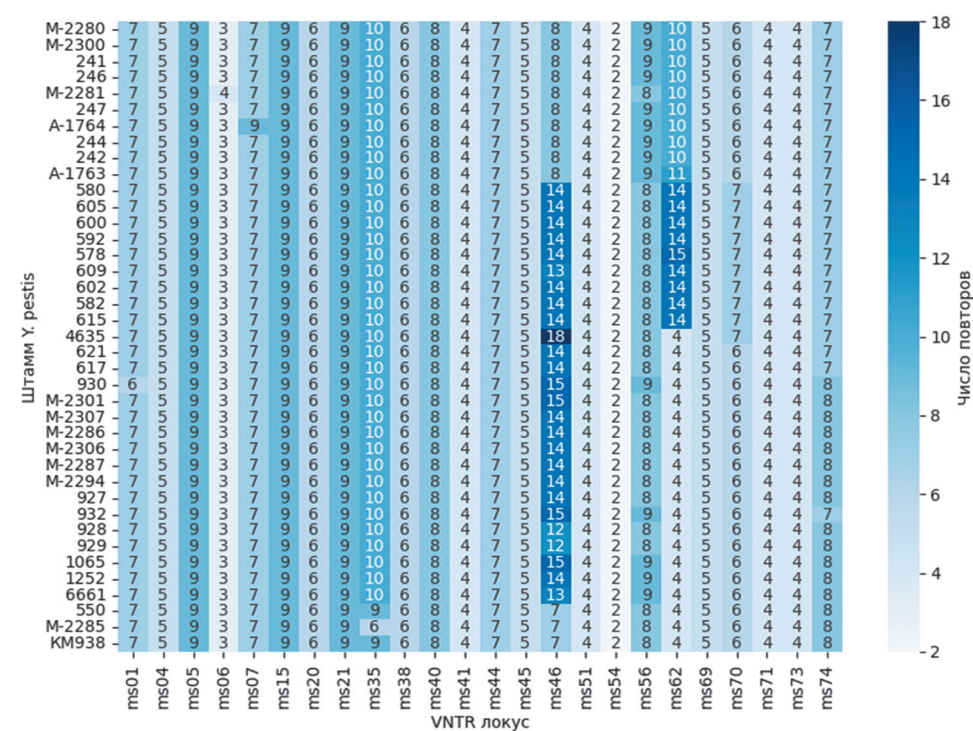
Таблица 2 / Table 2

SNPs, маркерные для филогенетических узлов дендрограммы (рис. 2) штаммов *Y. pestis* из очагов чумы Северного Приаралья
 SNPs, marker ones for phylogenetic nodes of the dendrogram (Fig. 2) of *Y. pestis* strains from the plague foci in the Northern Aral Sea region

Узел, штаммы <i>Y. pestis</i> Node, <i>Y. pestis</i> strains	Нуклеотидная замена Nucleotide substitution	Позиция нуклеотида в геноме CO92 (NC_003143) Nucleotide position in the CO92 genome (NC_003143)	ID гена Gene ID	Продукт Product
1	2	3	4	5
MN1 Central Asia	T → C	3399782	Межгенный / Intergenic: <i>acrD</i> – YPO_RS16195	Отсутствует Not available
	stop_gained c.593G>A p.Trp198 ^{3*}	3437042	<i>tesA</i>	Многофункциональная ацил-КоА-тиоэстераза I/протеаза I/лизофосфолипаза L1 Multifunctional acyl-CoA thioesterase I/protease I/lysophospholipase L1
MN2 M-2280, M2281, M-2300, 241, 246, 244, 247, A1763, A1764	missense_variant c.3460G>A p.Val1154Ile	1812955	<i>rne</i>	Рибонуклеаза E Ribonuclease E
	A → T	2429318	Межгенный / Intergenic: YPO_RS11780 – <i>pncA</i>	Отсутствует Not available
	missense_variant c.149G>T p.Arg50Met	2930750	<i>lptE</i>	Липопротейн, собирающий ЛПС, LptE LPS assembly lipoprotein LptE
	C → T	3217929	Межгенный / Intergenic: <i>pilW</i> – YPO_RS15375	Отсутствует Not available
	missense_variant c.52G>A p.Gly18Arg	3436501	<i>tesA</i>	Многофункциональная ацил-КоА-тиоэстераза I/протеаза I/лизофосфолипаза L1 Multifunctional acyl-CoA thioesterase I/protease I/lysophospholipase L1
MN3 Вместе с Приаральской полиморфией Together with the Aral polytomy	synonymous_variant c.105C>T p.Phe35Phe	739446	YPO_RS04355	Гипотетический белок Hypothetical protein
	missense_variant c.1012C>T p.Arg338Cys	2803151	YPO_RS13470	Транспортер семейства BCCT BCCT family transporter
MN4	synonymous_variant c.121C>T p.Leu41Leu	2445173	<i>rssB</i>	Регулятор срабатывания двухкомпонентной системы RssB Two-component system response regulator RssB
	missense_variant c.691C>T p.Arg231Cys	2911550	YPO_RS13900	Белок, содержащий трансмембранный домен транспортера ABC ABC transporter transmembrane domain-containing protein
	missense_variant c.76G>T p.Ala26Ser	512181	<i>carA</i>	Малая субъединица карбамоилфосфатсинтазы, гидролизующая глутамин Glutamine-hydrolyzing carbamoyl-phosphate synthase small subunit
MN5 M-2301, M-2307, M-2286 M-2306, M- 2287	synonymous_variant c.603A>G p.Lys201Lys	2507711	<i>fsa</i>	Фруктозо-6-фосфатальдолаза Fructose-6-phosphate aldolase
	synonymous_variant c.615C>T p.Phe205Phe	3565057	<i>brnQ</i>	Белок-носитель II системы транспорта аминокислот с разветвленной цепью Branched-chain amino acid transport system II carrier protein
MN5 Без M-2301 Without M-2301	synonymous_variant c.1242G>A p.Thr414Thr	1848978	<i>mfd</i>	Фактор связи репарации транскрипции Transcription-repair coupling factor
MN6 M-2294, 927, 932, 928, 929	G → A	2708103	Межгенный / Intergenic: <i>rprA-ppsA</i>	Отсутствует Not available
	missense_variant c.133A>G p.Asn45Asp	4104429	YPO_RS22320	Гипотетический белок Hypothetical protein

Окончание табл. 2 / Ending of table 2

1	2	3	4	5
MN7 1252, 1065, 6661	missense_variant c.163G>T p.Val55Phe	584179	<i>ilvI</i>	Большая субъединица ацетолактатсинтазы 3Acetolactate synthase 3 large subunit
	missense_variant c.869C>T p.Ala290Val	1459945	<i>fruA</i>	Субъединица переносчика фруктозы PTS IIBC PTS fructose transporter subunit IIBC
	missense_variant c.5C>T p.Ala2Val	2936507	YPO_RS14030	Аминокислота ABC транспортер пермеаза Amino acid ABC transporter permease
	synonymous_variant c.171C>T p.Ala57Ala	4333237	<i>rffA</i>	dTDP-4-амино-4,6-дидезоксигалактозотрансминаза dTDP-4-amino-4,6-dideoxygalactose transaminase
MN8 550, M-2285, KM938	stop_gained c.1214T>A p.Leu405*	1062044	<i>speF</i>	Орнитиндекарбоксилаза SpeF Ornithine decarboxylase SpeF
	stop_gained c.429T>A p.Tyr143*	1481904	YPO_RS07565	Субстрат-связывающий белок-транспортер ABC семейства MetQ/NlpA MetQ/NlpA family ABC transporter substrate-binding protein
	synonymous_variant c.162A>C p.Ile54Ile	2329406	YPO_RS11255	Семейство MAPEG белков MAPEG family protein
	synonymous_variant c.402G>T p.Ala134Ala	3178310	YPO_RS15200	ABC-транспортер АТФ-связывающий белок ABC transporter ATP-binding protein



связь между MLVA-генотипами и географическими регионами. В то же время остаются не выясненными причины такого большого количества SNPs, индивидуальных для каждого клинического и эпизоотического штамма *Y. pestis* в период вспышки 1945 г. Практически все штаммы этого года из Северного Приаралья имели в геноме большое число специфических для каждого штамма SNPs. Одной из возможных причин этого явления может быть ускоренная эволюция штаммов, вызванная приходом штаммов из Северного Прикаспия на новые территории с другими ландшафтно-экологическими условиями.

Как видно из дендрограммы, в дальнейшем от сформировавшейся северо-приаральской подветви

образовалась новая политомия 2.MED1, которая отличается от исходной северо-приаральской подветви 3 SNPs-мутациями (рис. 2, MN4, табл. 2). Мутации единичных нуклеотидов содержатся в генах *rssB* (C>T, в позиции 121), YPO_RS13900 (C>T, 691, с заменой Arg>Cys в белке), *carA* (G>T, 76, Ala>Ser). Эта политомия возникла в Северном Приаралье также в 1945 г., поскольку на ней расположены вышеописанные по MLVA25-профилю два штамма – 617 и 621. Отличительной особенностью этих двух природных штаммов было также значительное число индивидуальных SNPs.

Образовавшиеся в результате проникновения в 1945 г. в Северное Приаралье штаммы 2.MED1 за-

Рис. 3. Тепловая карта VNTR-повторов в геномах штаммов *Y. pestis* из очагов Северного Приаралья (python 3.10 с использованием библиотеки Seaborn 0.13.2)

Fig. 3. Heat map of VNTR repeats in the genomes of *Y. pestis* strains from the Northern Aral Sea region (python 3.10 using the Seaborn 0.13.2 library)

крепились здесь на фоне благоприятных климатических условий с формированием стабильных природных очагов. После прохождения периода адаптации скорость эволюции северо-приаральской популяции замедлилась, у штаммов 1955–1974 гг. в геноме присутствует значительно меньшее количество SNPs по сравнению со штаммами 1945 г. Об укоренении и адаптации образовавшейся популяции свидетельствует формирование на стволе возникшего клона отдельных кластеров родственных штаммов, с незначительной диверсификацией внутри этих кластеров (рис. 2). В дальнейшем штаммы этих кластеров послужили причинами вспышек в Кызыл-Ордынской области в 1955, 1966 и 1969 гг.

Молекулярная экспертиза вспышки чумы, произошедшей в Аральском районе Кызыл-Ордынской области Казахстана в 1955 г. Вспышка произошла с 1 по 21 августа 1955 г., заболели 11 человек, из которых 4 умерли. При этом в г. Аральске было два случая заболевания, один из которых закончился смертью. На разъезде 88 Оренбургской железной дороги – два случая, оба из которых закончились смертью. На станции Саксаульская – 7 заболевших с двумя смертями. Появлению заболевших предшествовало заболевание и прирезка трех верблюдов на разъезде 88. Специалистами Среднеазиатского противочумного института, участвовавшими в ликвидации вспышки, сделано эпидемиологическое заключение о том, что вспышка бубонной чумы в Аральском районе в августе 1955 г. носила ярко выраженный характер «верблюжьей чумы» [10]. Заражение чумой верблюдов произошло на эпизоотической территории в окрестностях разъезда 88. От верблюдов культуры *Y. pestis* выделить не удалось. В 7 из 9 несомненных заболеваний установлена бубонная чума, в 6 случаях бубоны были локализованы в левой подмышечной впадине, что характерно для заболевших чумой, участвовавших в разделке зараженного мяса. Нами изучено шесть штаммов *Y. pestis*, полученных в 1955 г. в Северном Приаралье. Четыре штамма происходили из Северо-Приаральского очага, в том числе два штамма *Y. pestis* – 927 (24.08.1955) и 928 (22.08.1955) – получены во время вспышки от человека, один штамм (929) – от носителя – большой песчанки *R. opimus* и один штамм (М-2294, Р-1901) был из неизвестного источника. Также в выборке 1955 г. присутствовали два штамма из Приаральско-Каракумского пустынного очага, выделенные от полуденной песчанки *P. meridianus* (930) и переносчика (932) – блохи *Xenopsylla scrjabini*. Пять из шести штаммов 1955 г. образовали на дендрограмме кластер близкородственных штаммов, включая два клинических штамма, штамм от большой песчанки и штамм из неизвестного источника, выделенные в Северо-Приаральском очаге. В этот же кластер вошел штамм, полученный от блохи *X. scrjabini* в Приаральско-Каракумском пустынном очаге. На дендрограмме этот кластер отделяется от других штаммов из Северного Приаралья 2 SNPs (рис. 2, MN6,

табл. 2). В процессе эволюции SNPs образовались в межгенном пространстве *rprA-ppsA* (G>A, в позиции 2708103 генома) и в гене *YPO_RS22320* (A>G, 13, Asn>Asp).

В основании кластера 1955 г. лежит штамм 929 от большой песчанки, который не имеет отличительных SNPs и является представителем того клона, который вызвал вспышку. Таким же штаммом заразился верблюд, а через его посредство заболели люди. От этого штамма происходят два клинических штамма, выделенные от людей на разъезде 88 и станции Саксаульская, а также один штамм от *X. scrjabini* из Приаральско-Каракумского пустынного очага, которые незначительно отличаются от исходного штамма. Наибольшие отличия имеет штамм М-2294 (Р-1901) из неизвестного источника. Существенная диверсификация у штаммов из этого кластера отсутствует. Отличия по MLVA25-локусам также невелики (рис. 3). У двух клинических штаммов отличия наблюдаются только по локусу *ms46*, у штамма 927 здесь содержится 14 повторов, а у штамма 928 – 12. Исходный штамм 929 от песчанки, лежащий в основании кластера, идентичен клиническому штамму 928. Еще один штамм – 932 – отличается от других штаммов 1955 г. 15 повторами в локусе *ms46*, 9 повторами в *ms56* и 7 повторами в *ms74*. Штамм М-2294 идентичен клиническому штамму 927. Еще один штамм 1955 г. в кластер с другими штаммами 1955 г. не вошел и отличается от них 6 повторами в локусе *ms01* и 15 повторами в локусе *ms46*.

Данные филогенетического анализа свидетельствуют в пользу сделанного в процессе ликвидации вспышки эпидемиологического заключения о том, что люди заразились непосредственно при уходе, прирезке верблюдов и разделке мяса зараженных животных. Отсутствие существенной диверсификации штаммов *Y. pestis* в кластере 1955 г. связано с тем, что вспышка была короткой и блохи в ее развитии не участвовали.

Молекулярная экспертиза вспышек чумы в Аральском районе Кызыл-Ордынской области в 1960-х гг. В июне 1969 г. в урочище Костам заразились чумой у колодца два человека – жители п. Аралсульфат Кызыл-Ордынской области, расположенного в 21 км от г. Аральска, которые впоследствии быстро умерли. Причиной заражения были предположительно больные зайцы [1, 11]. В контакте с заболевшими людьми находились 33 человека, из которых благодаря принятым мероприятиям никто не заболел. На дендрограмме штамм *Y. pestis* М-2301, выделенный от одного из больных, вошел в один кластер со штаммами М-2306, М-2307, М-2286, М-2287, полученными в мае 1969 г. от больших песчанок в 120 км от п. Новоказалинск Кызыл-Ордынской области. Это подтверждает факт заражения людей из полевых источников. Кластер штаммов 1969 г. отличается от других кластеров этой политомии 2 SNPs (рис. 2, MN5, табл. 2). Мутации образовались в генах *fsa* (A>G, 603) и *brnQ* (C>T, 615). Клинический

штамм М-2301 отличается от других штаммов этого кластера отсутствием мутации в гене *mfd* (G>A, 1242). По профилю MLVA25 все эти штаммы идентичны, за исключением клинического штамма М-2301, который содержит 15 повторов в *ms46*, а другие – 14.

Клинический штамм М-2301 и природные штаммы этого кластера, по данным филогенетического анализа, принадлежали к каспийской подветви 2.MED1; а именно к политомии, возникшей от исходной северо-приаральской подветви 1945 г. Один из клонов этой политомии вызвал вышеописанную вспышку, возникшую на разъезде 88 в 1955 г.

Также в августе (с 13 по 17 августа) 1966 г. в Приаральско-Каракумском очаге в 165 км северо-восточнее п. Новоказалинск произошла вспышка чумы (6 заболевших, 3 умерших). По заключению эпидемиологов, причиной вспышки была прирезка больного верблюда [12]. Выделенный от больного штамм КМ938 на дендрограмме вошел в кластер со штаммами 550 и М-2285, полученными в этом очаге в Казалинском районе Кзыл-Ординской области от больших песчанок в 1966 и 1969 гг. (рис. 2, MN8, табл. 2). Этот кластер также принадлежал к политомии, возникшей от исходной северо-приаральской подветви – потомка каспийской подветви 2.MED1. Кластер отличается от других кластеров политомии 4 SNPs в генах *speF* (T>A, 1214), *YPO_RS07565* (T>A, 429), *YPO_RS11255* (A>C, 162) и *YPO_RS15200* (G>T, 402). По MLVA25 штаммы идентичны, за исключением локуса *ms35*, в котором у штамма М-2285 содержится 6 повторов, а у штаммов 550 и КМ938 – 9.

Этому кластеру на дендрограмме предшествует кластер из трех природных штаммов 1965–1966 гг. из Приаральско-Каракумского очага штаммов *Y. pestis* 1065, 1252, 6661 (1961 г.), выделенных от большой песчанки и сусликов *Spermophilus fulvus* и *S. pygmaeus* (рис. 2, MN7, табл. 2). Этот кластер от ствола общей политомии отделяет 4 SNPs в генах *ihvI* (G>T, 163, Val>Phe), *fruA* (C>T, 869, Ala>Val), *YPO_RS14030* (C>T, 5, Ala>Val), *rffA* (C>T, 171). По MLVA25-профилю штаммы отличаются только по локусу *ms46*, в котором содержится 15, 14 и 13 повторов соответственно (рис. 3).

Молекулярная экспертиза вспышки чумы, произошедшей в ноябре 1967 г. в г. Аральске. В связи с возникновением вспышки в г. Аральске и ур. Кара-Куль с 22 августа по 3 сентября 1967 г. был наложен карантин. Участвовавшими в ликвидации вспышки специалистами установлено, что 13 августа 1967 г. в ур. Кара-Куль был прирезан больной верблюд. Мясо получили 22 семьи. Всего контактных – 144 человека. В августе 1967 г. возникло шесть случаев заболевания чумой людей. Из мяса верблюда выделен возбудитель чумы. Установлено, что в ур. Кара-Куль происходила в это время интенсивная эпизоотия чумы [13]. В нашем распоряжении было 5 штаммов, полученных в период вспышки, из них 1 культура получена от больного

верблюда (штамм 247) и 4 – от больных людей (241, 242, 244 и 246). В основании кластера вспышечных штаммов на дендрограмме лежит *Y. pestis* 247, выделенный от верблюда. Геном штамма 247 идентичен геному возникшего клона, вызвавшего вспышку. Идентичен ему и геном одного из клинических штаммов *Y. pestis* – 42. Остальные три клинических штамма – 241, 244 и 246 – незначительно отличаются от исходного штамма несколькими SNPs. Все пять штаммов очень близки друг к другу, что свидетельствует в пользу заражения людей от больного верблюда. В этот кластер (рис. 2, MN2, табл. 2) также входят штаммы (М-2280, М-2281, М-2300, 1763, 1764), полученные в Приаральско-Каракумском очаге в период с 1966 по 1974 г. от больших песчанок и блохи *X. skrjabini*, что говорит об устойчивости этой филогеографической популяции на северном побережье Аральского моря. Однако отличительная особенность вспышки чумы 1967 г. состоит в том, что ее штаммы не относятся к прикаспийской подветви 2.MED1, к которой принадлежали все выше обсужденные штаммы из Северного Приаралья. По данным филогенетического анализа, вспышка 1967 г. вызвана штаммами *Y. pestis*, принадлежавшими к центральноазиатской подветви 2.MED1 средневекового биовара. Из дендрограммы следует, что предшественниками этого кластера 1967 г. были штаммы: 40 (1961) из Прибалхашского очага, 1001 (1965) и М-2352 (1966) из Муюнкумского очага, входящие в центральноазиатскую подветвь 2.MED1. Анализ MLVA25-профилей вспышечных штаммов 1967 г. показал, что по локусу *ms06* отличается штамм М-2281 (4 повтора вместо 3), по локусу *ms07* отличен штамм А-1764 (9 вместо 7), а по *ms62* – штамм А-1763 (11 вместо 10) (рис. 3). По остальным локусам все 10 штаммов 1967 г. идентичны.

В целом MLVA25-профили у штаммов *Y. pestis* из Северного Приаралья схожи, несмотря на их принадлежность к разным подветвям (каспийской и центральноазиатской) ветви 2.MED1 средневекового биовара. По большинству VNTR-локусов отличия между 39 изученными северо-приаральскими штаммами отсутствуют. Вариабельность выявлена по локусам *ms01* (1 штамм), *ms06* (1), *ms07* (1), *ms35* (3), *ms46* (22), *ms56* (14), *ms62* (19), *ms70* (10), *ms74* (16). Наиболее вариабельными у штаммов из Северного Приаралья оказались пять VNTR-локусов (*ms46*, *ms56*, *ms62*, *ms70*, *ms74*), изменчивость которых по числу копий наблюдалась у 14–22 штаммов.

Полученные данные означают, что в 1945 г. интервенция штаммов 2.MED1 в Северное Приаралье произошла из Северного Прикаспия, с их укоренением и образованием устойчивых очагов, что вызвало вспышки и единичные случаи заболевания чумой. Причиной заболеваемости были эпизоотии, протекавшие на песчанках и паразитирующих на них блохах. Заражение людей происходило либо непосредственно в полевых условиях при контакте с больными носителями или зараженными переносчи-

ками, либо при прирезке и разделке мяса больных верблюдов. Штаммы 1945 г. отличаются большим числом специфических SNPs, что, возможно, связано с их быстрой адаптацией к новым условиям существования в Северном Приаралье. В дальнейшем скорость сформировавшейся северо-приаральской популяции значительно снизилась, и штаммы 1950–1960-х гг. содержат небольшое количество индивидуальных SNPs.

В 1967 г. в Северное Приаралье проникли штаммы *Y. pestis* центральноазиатской подветви 2.MED1. В 1960-е гг. в Северном Приаралье одновременно циркулировали штаммы каспийской и центральноазиатской подветвей 2.MED1, которые вызвали эпизоотии и вспышки чумы на северном побережье Аральского моря.

Полученные в настоящей работе результаты свидетельствуют о том, что данные филогенетического анализа важны для проведения молекулярной экспертизы вспышек чумы, установления источников заражения людей и путей развития чумных вспышек. Выяснение этих механизмов необходимо для определения комплекса и масштаба противоэпидемических и профилактических мер, направленных на ликвидацию вспышек и недопущение их развития.

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. Кадастр эпидемиологических и эпизоотических проявлений чумы на территории Российской Федерации и стран ближнего зарубежья (с 1876 по 2016 год). Саратов: ООО «Амирит»; 2016. 248 с.
2. Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Zh.V., Kukleva L.M., Balykova A.N., Grazhdanov A.K., Ayazbaev T.Z., Maikanov N.S., Kutyrev V.V. [Dissemination of *Yersinia pestis* of medieval biovar in Northern, North-Western Caspian Sea Region and fore-Caucasus in the second half of the twentieth century]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (4):48–55. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-48-55.
3. Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Z.V., Kukleva L.M., Balykova A.N., Chervyakova N.S., Naryshkina E.A., Kutyrev V.V. Evolution and circulation of *Yersinia pestis* in the Northern Caspian and Northern Aral Sea regions in the 20th–21st centuries. *PLoS One*. 2021; 16(2):e0244615. DOI: 10.1371/journal.pone.0244615.
4. Le Flèche P., Hauck Y., Onteniente L., Prieur A., Denoeud F., Ramisse V., Sylvestre P., Benson G., Ramisse F., Vergnaud G. A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*. *BMC Microbiol.* 2001; 1:2. DOI: 10.1186/1471-2180-1-2.
5. Li Y., Cui Y., Hauck Y., Platonov M.E., Dai E., Song Y., Guo Z., Pourcel C., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P., Yang R., Vergnaud G. Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: insights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci. *PLoS One*. 2009; 4(6):e6000. DOI: 10.1371/journal.pone.0006000.
6. Benson G. Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences. *Nucleic Acids Res.* 1999. 27(2):573–80. DOI: 10.1093/nar/27.2.573.
7. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Атлас природных очагов чумы России и зарубежных государств. Калининград: РА Полиграфичъ; 2022. 348 с.
8. Отчет о работе Аваньского противочумного отряда по ликвидации вспышки чумы в поселке Авань Аральского района Гурьевской области Казахской ССР в 1945 г. Архив института «Микроб». Ед. хран. № 135 на 26 л.
9. Материал о вспышке эпидемии чумы на берегу Аральского моря и принятии меры по ликвидации ее Араломорской противочумной станцией в 1945 г. Архив института «Микроб». Ед. хран. № 148 на 4 л.
10. Краткий отчет Среднеазиатского ПЧИ о вспышке в Аральском районе в августе 1955 г. Архив института «Микроб». Ед. хран. № 770 на 28 л.
11. Отчет о ликвидации вспышки чумы в Аральском районе Кызыл-Ординской области в июне 1969 г. Архив института «Микроб». Ед. хран. № 721. 101 с.
12. Материалы о заболеваниях особо опасными инфекциями за 1966 г. Отчет о вспышке чумы в Аральском районе Кызыл-Ординской области в комплексе противоэпидемических мероприятий (29/IX – 18/XII – 1966 г.). 29 ноября 1966 г. С. 177–122.
13. Отчет о противоэпидемических мероприятиях, проведенных в г. Аральске в связи с заболеваниями людей чумой в августе 1967 г. Архив института «Микроб». Ед. хран. № 678 на 11 л.

References

1. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Cadastre of Epidemiological and Epizootic Manifestations of Plague in the Territory of the Russian Federation and Former Soviet Union (1876–2016)]. Saratov: “Amirit” LLC; 2016. 248 p.
2. Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Zh.V., Kukleva L.M., Balykova A.N., Grazhdanov A.K., Ayazbaev T.Z., Maikanov N.S., Kutyrev V.V. [Dissemination of *Yersinia pestis* of medieval biovar in Northern, North-Western Caspian Sea Region and fore-Caucasus in the second half of the twentieth century]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (4):48–55. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-48-55.
3. Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Z.V., Kukleva L.M., Balykova A.N., Chervyakova N.S., Naryshkina E.A., Kutyrev V.V. Evolution and circulation of *Yersinia pestis* in the Northern Caspian and Northern Aral Sea regions in the 20th–21st centuries. *PLoS One*. 2021; 16(2):e0244615. DOI: 10.1371/journal.pone.0244615.
4. Le Flèche P., Hauck Y., Onteniente L., Prieur A., Denoeud F., Ramisse V., Sylvestre P., Benson G., Ramisse F., Vergnaud G. A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*. *BMC Microbiol.* 2001; 1:2. DOI: 10.1186/1471-2180-1-2.
5. Li Y., Cui Y., Hauck Y., Platonov M.E., Dai E., Song Y., Guo Z., Pourcel C., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P., Yang R., Vergnaud G. Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: insights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci. *PLoS One*. 2009; 4(6):e6000. DOI: 10.1371/journal.pone.0006000.
6. Benson G. Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences. *Nucleic Acids Res.* 1999. 27(2):573–80. DOI: 10.1093/nar/27.2.573.
7. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Atlas of Natural Foci of Plague in Russia and Foreign Countries]. Kaliningrad: “Poligrafich”; 2022. 348 p.
8. [Report on the work of the Avan anti-plague squad to eliminate a plague outbreak in the Avan village, Aral district, Guryev region, Kazakh SSR in 1945]. Archive of the Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. Unit storage No. 135, 26 p.
9. [Materials about the plague epidemic on the shores of the Aral Sea and the measures taken to eliminate it by the Aral Sea Plague Control Station in 1945]. Archive of the Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. Unit storage No. 148, 4 p.
10. [Brief report of the Central Asian Anti-Plague Institute on the outbreak in the Aral region in August, 1955]. Archive of the Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. Unit storage No. 770, 28 p.
11. [Report on the elimination of plague outbreak in the Aral district of the Kzyl-Orda region in June, 1969]. Archive of the Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. Unit storage No. 721, 101 p.
12. [Materials on cases of particularly dangerous infections for 1966. Report on the outbreak of plague in the Aral district of the Kzyl-Orda region in the complex of anti-epidemic measures (29/IX – 18/XII – 1966)]. November 29, 1966. P. 177–22.
13. [Report on anti-epidemic measures carried out in Aralsk in connection with human cases of plague in August, 1967]. Archive of the Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. Unit storage No. 678, 11 p.

Authors:

Karapetyan L.A., Balykova A.N., Chervyakova N.S., Fedorov A.V., Eroshenko G.A., Abramova E.G., Germanchuk V.G., Kuklev E.V., Toporkov V.P. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Карпетян Л.А., Балыкова А.Н., Червякова Н.С., Федоров А.В., Ерошенко Г.А., Абрамова Е.Г., Германчук В.Г., Куклев Е.В., Топорков В.П. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-107-114

УДК 579.842.23:616-07

М.Г. Мелоян¹, А.С. Водопьянов¹, Е.А. Воскресенская², Р.В. Писанов¹, М.В. Чеснокова³,
В.Т. Климов³, Г.И. Кокорина², Е.А. Богумильчик², Н.П. Перетолчина^{3,4}, А.Л. Трухачев¹

Генотипирование штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*, выделенных на территории России, с помощью MLST

¹ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация;
²ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»,
Санкт-Петербург, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири
и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; ⁴ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иркутск, Российская Федерация

Цель исследования – генотипирование штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*, выделенных в России, с помощью мультилокусного сиквенс-типирования (MLST), сравнительный анализ результатов MLST с результатами INDEL-типирования. **Материалы и методы.** В работе анализировали 348 штаммов различных серотипов, выделенных в разных регионах мира, включая 59 российских штаммов. Из базы данных NCBI использовано 302 штамма. Определение нуклеотидных последовательностей штаммов проводили при использовании технологической платформы MiSeq. Для MLST-анализа применена авторская программа MLSTtyper. **Результаты и обсуждение.** Выяснено, что на территории России циркулируют штаммы как минимум 2, 9, 19, 26, 32, 42, 43 ST-типов. Большинство изученных российских штаммов относились к ST2-типу (58 %). Филогенетический анализ, проведенный с помощью данных MLST, показал, что ряд кластеров содержат штаммы, которые циркулируют на территории России долгое время, а штаммы этих генотипов не встречаются за рубежом. Часть российских штаммов вошла в кластеры, содержащие штаммы, выделенные в различных регионах мира, и может быть отнесена к штаммам либо «азиатского», либо «европейского» типов. Данные, полученные с помощью программы MLSTtyper, совпали с данными зарубежных авторов при анализе методом MLST тех же самых штаммов. Сравнение результатов генетической дифференциации штаммов *Y. pseudotuberculosis* с помощью MLST и INDEL-типирования свидетельствует о том, что MLST обладает большей дискриминационной способностью, однако в ряде случаев INDEL-генотипирование позволяет дифференцировать те штаммы, которые имели один ST-генотип.

Ключевые слова: *Yersinia pseudotuberculosis*, псевдотуберкулез, генотипирование, MLST.

Корреспондирующий автор: Мелоян Мисак Геворгович, e-mail: meloyan_mg@antiplague.ru.

Для цитирования: Мелоян М.Г., Водопьянов А.С., Воскресенская Е.А., Писанов Р.В., Чеснокова М.В., Климов В.Т., Кокорина Г.И., Богумильчик Е.А., Перетолчина Н.П., Трухачев А.Л. Генотипирование штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*, выделенных на территории России, с помощью MLST. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:107–114. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-107-114

Поступила 30.01.2024. Отправлена на доработку 15.03.2024. Принята к публ. 23.04.2024.

M.G. Meloyan¹, A.S. Vodop'yanov¹, E.A. Voskresenskaya², R.V. Pisanov¹, M.V. Chesnokova³,
V.T. Klimov³, G.I. Kokorina², E.A. Bogumil'chik², N.P. Peretolchina^{3,4}, A.L. Trukhachev¹

Genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis* Strains Isolated in Russia Using MLST

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

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

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

⁴Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. The aim of this study was the genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis* strains isolated in Russia using multilocus sequence typing (MLST), a comparative analysis of MLST results with INDEL typing results. **Materials and methods.** 348 strains of various serotypes isolated in different regions of the world, including 59 Russian strains, were analyzed. 302 strains from the NCBI database were used. The nucleotide sequences of the strains were determined using the MiSeq technology platform. The author MLSTtyper program was used for MLST analysis. **Results and discussion.** It has been found out that strains of at least, 2, 9, 19, 26, 32, 42, 43 ST-types circulate in Russia. The majority of the studied Russian strains belong to the ST2 type (58 %). Phylogenetic analysis conducted using MLST data showed that a number of clusters contains strains that have been circulating in Russia for a long time, and strains of these genotypes are not found abroad. Some of the Russian strains are included in clusters containing strains isolated in various regions of the world and can be attributed to strains of either “Asian” or “European” types. The data obtained using the MLSTtyper program coincided with the data of foreign authors when analyzing the same strains using the MLST method. Comparison of the results of genetic differentiation of *Y. pseudotuberculosis* strains using MLST and INDEL typing indicates that MLST has a greater discriminatory ability; however, in some cases INDEL genotyping allows differentiating those strains that had the same ST genotype.

Key words: *Yersinia pseudotuberculosis*, pseudotuberculosis, genotyping, MLST.

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

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

Corresponding author: Misak G. Meloyan, e-mail: meloyan_mg@antiplague.ru.

Citation: Meloyan M.G., Vodop'yanov A.S., Voskresenskaya E.A., Pisanov R.V., Chesnokova M.V., Klimov V.T., Kokorina G.I., Bogumil'chik E.A., Peretolchina N.P., Trukhachev A.L. Genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis* Strains Isolated in Russia Using MLST. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:107–114. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-107-114

Received 30.01.2024. Revised 15.03.2024. Accepted 23.04.2024.

Meloyan M.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7268-9298>
Vodop'yanov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>
Voskresenskaya E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6380-1153>
Pisanov R.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7178-8021>
Chesnokova M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5489-9363>

Klimov V.T., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0036-0017>
Kokorina G.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1973-3138>
Bogumil'chik E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3181-4328>
Peretolchina N.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9426-5197>
Trukhachev A.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3531-1146>

Псевдотуберкулез является природно-очаговым инфекционным заболеванием, которое регистрируется в различных климатических зонах мира. В нашей стране периодически регистрируют вспышки этого заболевания, чаще всего у детей. В 2022 г. псевдотуберкулезом переболело 318 человек, при этом чаще заболевания регистрировали в Новосибирской, Ленинградской областях и г. Санкт-Петербурге [1], а наибольшее число выделенных культур отмечали в Северо-Западном, Сибирском и Дальневосточном федеральных округах. Эти данные говорят о том, что стоящая перед лабораторной службой задача систематического мониторинга псевдотуберкулеза остается актуальной. Одним из этапов изучения выделенных штаммов возбудителя псевдотуберкулеза (*Yersinia pseudotuberculosis*) является их генотипирование и определение генетического разнообразия штаммов, выделенных на различных территориях. Зарубежными исследователями для этих целей широко используется метод мультилокусного сиквенс-типирования (MLST). Метод основан на сравнительном анализе нуклеотидных последовательностей 7 генов «домашнего хозяйства» и установления генотипа штамма, который определяется исходя из набора генотипов каждого гена, представленных в микробной клетке [2]. Исследование этим методом ряда штаммов *Y. pseudotuberculosis*, выделенных на территории России, проводилось в 2011 г. [3]. Авторами установлено, что в России циркулируют в основном штаммы 2, 26, 32, 42, 43 ST-типов. Также обнаружены единичные штаммы 3, 9, 14 типов. Российские штаммы, выделенные после 2011 г., не изучались с помощью MLST. Нами ранее проводилась внутри-видовая генетическая дифференциация российских штаммов возбудителя псевдотуберкулеза, выделенных из клинического материала и из внешней среды с помощью метода INDEL-типирования [4]. Всего было проанализировано более 300 штаммов *Y. pseudotuberculosis*, выделенных в различных странах, и показано, что все исследованные штаммы с помощью INDEL-типирования разделяются на 30 генетических групп. Среди российских обнаружены 1, 2, 3, 4, 5, 9 INDEL-типы штаммов *Y. pseudotuberculosis*. **Целью** настоящей работы стало генотипирование штаммов *Y. pseudotuberculosis*, выделенных в России, с помощью MLST, сравнительный анализ результатов MLST с результатами INDEL-типирования.

Материалы и методы

Для анализа геномов штаммов *Y. pseudotuberculosis* в работе использовали нуклеотидные

последовательности 348 штаммов различных серотипов, выделенных в разных регионах мира, включая 59 российских штаммов. Из базы данных NCBI использовано 302 штамма, среди которых были данные о 13 российских штаммах. Из коллекции патогенных микроорганизмов ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора получены 46 штаммов, выделенных в России. Эти 46 штаммов секвенированы ранее либо в ходе настоящего исследования. Определение нуклеотидных последовательностей штаммов проведено методом высокопроизводительного секвенирования при использовании технологической платформы MiSeq (Illumina, www.illumina.com). В реакции использовали 20 нг ДНК каждого из исследованных штаммов. Библиотеки готовили с помощью коммерческого набора Nextera DNA Library Preparation Kit (Illumina) согласно прилагаемой инструкции. Для секвенирования полученных библиотек использовали набор картриджей MiSeq v.2 Reagents Kit 300 Cycles PE (Illumina). Сборку геномов, представленных в виде ридов, проводили с использованием программы Spades (github.com). В качестве референс-штамма при анализе использовался первый секвенированный штамм *Y. pseudotuberculosis* IP32953 либо проводили сборку *de novo*. Для MLST-анализа применена авторская программа MLSTtyper (<http://antiplague.ru/mlst-typer>). Программа позволяет проводить типирование большого количества штаммов одновременно при анализе нуклеотидных последовательностей генов «домашнего хозяйства» различных возбудителей. Совокупность генотипов отдельных генов «домашнего хозяйства» и предопределяет ST-тип штамма. Результат достигается сравнением нуклеотидных последовательностей 7 генов «домашнего хозяйства», полученных при секвенировании, и этих же генов, находящихся в базах данных генотипов (pubmlst.org и bigsd.b.pasteur.fr), заложенных в программу. Филогенетические связи использованных в работе штаммов *Y. pseudotuberculosis* определены путем построения филогенетического дерева на основе сравнительного анализа их INDEL-маркеров с помощью авторской программы «Астролябия». Способ распределения штаммов основан на методе UPGMA (метод невзвешенного попарного среднего – Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages). Наличие плазмидных генов у секвенированных штаммов выявляли с помощью авторской программы ContigSearcher [5], в которой проводили поиск фрагментов ДНК, характерных для плазмиды pVM82 (*Y. pseudotuberculosis* IP31758 plasmid p_153kb, complete sequence, ID: CP000719.1). Серо-

генотипирование проводили в соответствии с данными, полученными в работе Т. Bogdanovich *et al.* [6]. Для анализа и идентификации различных штаммов иерсиний использована авторская программа YersiniaPestisAnalyzer.

Результаты и обсуждение

Метод MLST часто используется для генотипирования различных возбудителей. С его помощью также проводят генотипирование штаммов

Y. pseudotuberculosis. Для MLST-анализа возбудителя псевдотуберкулеза используют нуклеотидные последовательности 7 housekeeping генов: *adhA*, *argA*, *aroA*, *glnA*, *thrA*, *tmk*, *trpE* [2, 3]. Определение ST-типов проводили с помощью авторской программы MLSTtyper с использованием данных нуклеотидных последовательностей 348 штаммов. Особое внимание было обращено на российские штаммы. В анализе использовались также два штамма, выделенные на Украине, и один штамм из Туркменистана. Результаты MLST-анализа представлены в табл. 1.

Таблица 1 / Table 1

Результаты MLST-анализа российских штаммов *Y. pseudotuberculosis*, использованных в работе
Results of MLST analysis of Russian *Y. pseudotuberculosis* strains used in this work

Номер штамма или количество штаммов Strain number or number of strains	Место выделения Site of isolation	Год выделения Year of isolation	Источник Source	Серотип Serotype	ST	pVM82
1	2	3	4	5	6	7
IP31758	Россия Russia	1966	Человек Human	O:1b	2	+
1231	Россия Russia	1985	н/д n/d	O:4b	2	н/д n/d
IP33228	Россия, г. Горно-Алтайск Russia, Gorno-Altai	1993	Человек Human	O:1b	2	–
IP33255	Россия Russia	н/д n/d	н/д n/d	O:1	2	н/д n/d
3 штамма 3 strains	Россия, г. Санкт-Петербург Russia, Saint-Petersburg	2000	Человек Human	O:1b	2	+
3 штамма 3 strains	Россия, г. Владивосток Russia, Vladivostok	1965	Человек Human	O:1	2	+
3 штамма 3 strains	Россия, г. Санкт-Петербург Russia, Saint-Petersburg	2000	Картофель Potato	O:1b	2	+
1193	Украина, Хмельницкая обл. Ukraine, Khmel'nitskaya Region	2005	Полевка обыкновенная Common vole	O:1	2	+
4 штамма 4 strains	Россия, г. Новый Уренгой Russia, New Urengoy	2007	Человек Human	O:1	2	–
8 штаммов 8 strains	Россия, г. Томск Russia, Tomsk	2021	Человек Human	O:1b	2	–
8 штаммов 8 strains	Россия, г. Красноярск Russia, Krasnoyarsk	2021	Человек Human	O:1b	2	+
IP33163	Россия, г. Зима Russia, Zima	н/д n/d	Человек Human	O:1a	9	–
B-6796	Россия, Ставропольский край Russia, Stavropol Territory	1957	Малый суслик Little ground squirrel	O:3	19	н/д n/d
B-6863	Россия, Ставропольский край Russia, Stavropol Territory	1961	Малый суслик Little ground squirrel	O:3	19	н/д n/d
B-6864	Россия, Ставропольский край Russia, Stavropol Territory	1940	Малый суслик Little ground squirrel	O:3	19	н/д n/d
2 штамма 2 strains	Россия, Ленинградская область Russia, Leningrad Region	1955	Домовая мышь House mouse	O:3	19	н/д n/d
IP33177	Россия, г. Зима Russia, Zima	1998	Капуста Cabbage	O:1b	26	–
10 штаммов 10 strains	Россия, г. Зима Russia, Zima	1998–2000	Человек Human	O:1b	26	–

Окончание табл. 1 / Ending of the table 1

1	2	3	4	5	6	7
2 штамма 2 strains	Россия Russia	2001	Человек Human	O:3	32	н/д n/d
IP33122	Россия, г. Великий Новгород Russia, Novgorod the Great	н/д n/d	н/д n/d	O:1a	42	–
IP33111	Россия, г. Санкт-Петербург Russia, Saint-Petersburg	н/д n/d	Грызун Rodent	O:1a	42	–
1212	Украина, Хмельницкая обл. Ukraine, Khmelnytskaya Region	2005	Рыжая полевка Bank vole	O:1	42	–
B-7194	Россия Russia	н/д n/d	Крыса Rat	O:1b	43	н/д n/d
B-7195	Россия Russia	1975	Мышь Mouse	O:1b	43	н/д n/d
IP33290	Россия, г. Ростов-на-Дону Russia, Rostov-on-Don	н/д n/d	н/д n/d	O:1	43	н/д n/d
B-6862	Туркменистан Turkmenistan	1961	Большая песчанка Great gerbil	O:3	50	н/д n/d

Примечание: н/д – нет данных.

Note: n/d – no data.

Полученные с помощью программы MLST-типер данные совпадали с данными зарубежных авторов при анализе одних и тех же штаммов. Ранее ряд российских штаммов тестировали с помощью MLST и все ST-типы совпали с теми, которые были получены в настоящем исследовании. Совпадали ST-типы таких штаммов, как *Y. pseudotuberculosis* IP31758, 1231, IP33177, IP33250, IP33251, IP33255, IP33254, использованные и в настоящей работе, и в исследовании R. Laukkanen-Ninios *et al.* [3]. Штаммы, выделенные в Ставропольском крае и Ленинградской области, были нами отнесены к ST19, так же как и в ранее выполненном исследовании [7]. Два штамма *Y. pseudotuberculosis*, выделенные в 1975 г., и штамм из Ростова-на-Дону имели генотип ST43, как и в работе других авторов [8]. Программа MLST-типер корректно работала также и по отношению к зарубежным штаммам, сиквенс-тип которых был известен. Также отмечено, что на территории России как минимум циркулируют штаммы 2, 9, 19, 26, 32, 42, 43 ST-типов. В более раннем исследовании описаны также штаммы, имеющие ST 3, 14, 48, 64 [3].

Для выяснения филогенетических связей исследованных штаммов полученные в MLST результаты проанализированы с помощью авторской программы «Астролябия» при использовании метода UPGMA. В результате анализа 80 штаммов, которые включали все штаммы, выделенные в России, а также зарубежные штаммы со сходными ST-типами, построено филогенетическое дерево (рис. 1). При изучении филогенетических связей, представленных в дендрограмме, выявлены определенные закономерности.

Большинство российских штаммов распределились в кластер, объединяющий штаммы ST2-типа. Кроме российских штаммов в этот генотип вошли штаммы из Украины, Германии и Японии. Один

из кластеров содержал штаммы двух генетических групп ST26- и ST32-типов. Штаммы, относящиеся к ST-типам 26, 32, встречаются в основном на территории России, а штаммы ST2-типа кроме России еще выделены в Японии, Германии и на Украине. ST42 был представлен штаммами из Франции, Англии, Канады, Украины и двумя штаммами из России. Группа генотипа ST43 включала штаммы в основном серотипа O:1b и состояла, так же как и предыдущая, из штаммов, выделенных в Европе. Можно сказать, что в группах ST42 и ST43 находятся штаммы «европейского» типа, тогда как в кластере ST2 объединены штаммы, выделенные преимущественно в азиатской части России. Последние в дендрограмме кластеры содержали штаммы трех MLST-генотипов. Один кластер ST9 содержал один штамм российского происхождения, а также штаммы, выделенные в Италии, Германии, Турции, Японии. Все штаммы из этого кластера имели серотип O:1a. Другой кластер содержал генотипы ST19 и ST50. Генетическая группа ST19 состояла из штаммов O:3 или неизвестных серотипов из России, а также из штаммов, выделенных в ЮАР, Северной и Южной Америке. Вторая группа этого кластера включала штаммы ST50-типа. Она содержала один штамм из Туркменистана и один из Индии.

Полученные результаты генетической дифференциации штаммов *Y. pseudotuberculosis* с помощью MLST сравнили с результатами INDEL-типирования, которое было проведено при использовании тех же штаммов [4]. Сравнение результатов показало, что штаммы одного INDEL-типа могли быть разделены с помощью MLST-анализа на два или три ST-генотипа (рис. 2). Примером генетической дифференциации с помощью двух методов может служить сравнение результатов генотипирования двух штам-

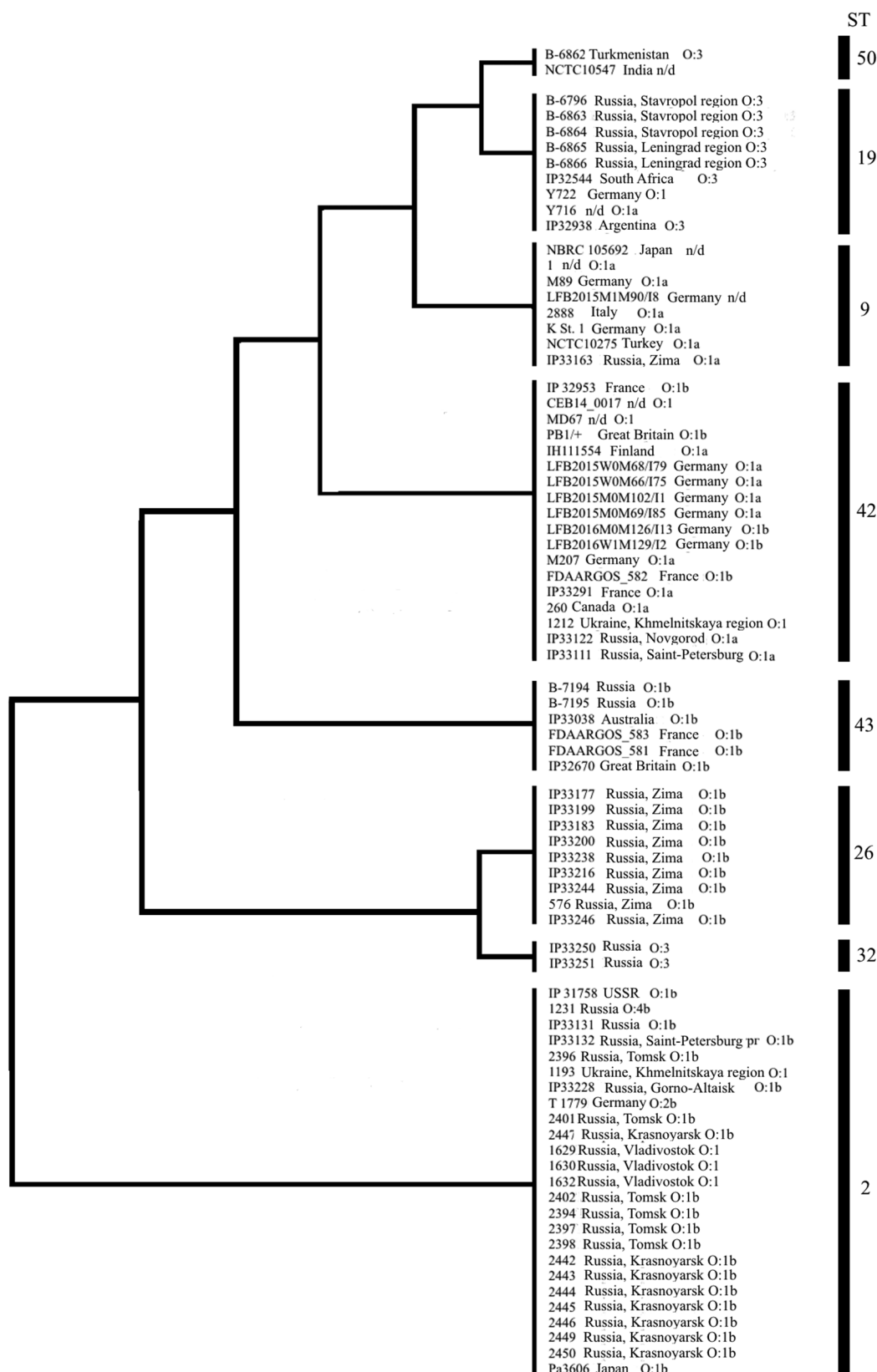


Рис. 1. Филогенетическое дерево, основанное на результатах MLST-анализа 80 штаммов *Y. pseudotuberculosis*, построенное с помощью авторской программы «Астролэбия» при использовании метода невзвешенного попарного среднего

Fig. 1. A phylogenetic tree based on the results of MLST analysis of 80 strains of *Y. pseudotuberculosis*, constructed using the author "Astrolabe" program and the unweighted pairwise mean method

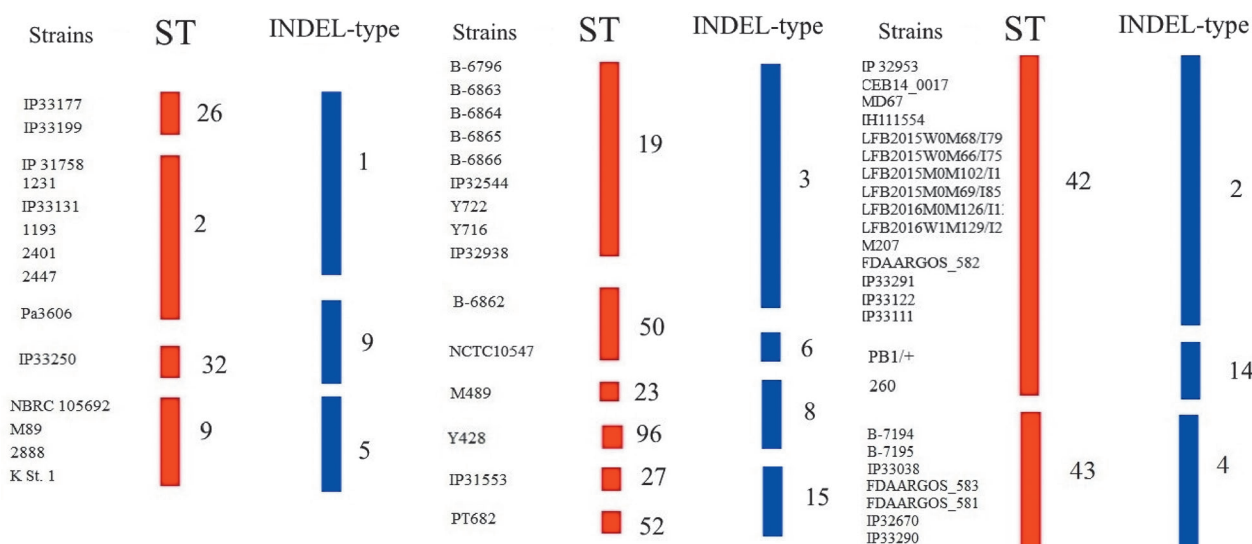


Fig. 2. Comparison of the results of MLST and INDEL typing of *Y. pseudotuberculosis* strains using graphical genotype notation. Groups of strains with different ST are highlighted in red, and groups of strains of different INDEL genotypes are highlighted in blue. For clarity and compactness, some gene groups are not represented by all the strains used

для внутривидовой генетической дифференциации штаммов *Y. pseudotuberculosis* российского происхождения, как вновь выделенных, так и штаммов, полученных из коллекций патогенных микроорганизмов для ретроспективного анализа. Данные MLST-типирования российских штаммов возбудителя псевдотуберкулеза, полученные с помощью программы MLSTtyper, совпадают с данными по ряду штаммов, которые были типированы методом MLST в более ранних работах.

MLST-анализ позволил выявить среди использованных в работе штаммов ST-типы, которые циркулировали на территории России. Всего таких генотипов в нашем исследовании и в работе [3] выявлено одиннадцать: 2, 3, 9, 14, 19, 26, 32, 42, 43, 48, 64. Установлено также, что штаммы ST-типов 26 и 32 встречаются только на территории России, штаммы ST2 обнаруживаются в России, на Украине, в Германии и Японии, штаммы других ST-типов распространены и в России, и в Европе и встречаются на других континентах.

Использование программы MLSTyper позволило также среди штаммов, числящихся в базе данных NCBI как штаммы возбудителя чумы – *Y. pestis*, выявить штамм *Y. pseudotuberculosis*. Этот факт выяснился при типировании 600 штаммов *Y. pestis*, нуклеотидные последовательности которых находятся в интернет-базах данных. Среди всех исследованных штаммов *Y. pestis* выявлен один штамм MGYG-NGUT-02476, имеющий генотип ST2 (табл. 2).

Генотип ST2 может быть только у штаммов *Y. pseudotuberculosis*. Более детальное изучение генетических свойств спорного штамма показало, что при проведении ПЦР *in silico* с использованием специфических праймеров для штаммов возбудителя псевдотуберкулеза “IS” получен положительный ре-

Таблица 2 / Table 2

Результаты генотипирования штаммов *Y. pestis* методом MLST
Results of genotyping of *Y. pestis* strains by MLST method

Название штамма Strain	ST	Типы генов «домашнего хозяйства» Types of housekeeping genes						
		<i>adk</i>	<i>argA</i>	<i>aroA</i>	<i>glnA</i>	<i>thrA</i>	<i>tmk</i>	<i>trpE</i>
MGJZ7	90	1	2	1	2	5	2	10
MGJZ9	90	1	2	1	2	5	2	10
MGYG-HGUT-02476	2	1	2	1	6	8	3	2
NCTC144	90	1	2	1	2	5	2	10
NCTC5923	90	1	2	1	2	5	2	10

зультат, при использовании специфических для чумы праймеров vlm12 [12] результат был отрицательным. Кроме того, проведен анализ нуклеотидных последовательностей исследуемого штамма с помощью программы YersiniaPestisAnalyzer. В базе данных этой программы заложены специфические референсные последовательности штаммов чумы, псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза. Программа позволяет проводить сравнение и идентификацию указанных видов с помощью этих последовательностей. Программа YersiniaPestisAnalyzer определила, что штамм MGYG-HGUT-02476 относится к виду *Y. pseudotuberculosis*.

Паспортные данные штамма *Y. pestis* MGYG-HGUT-02476 (NZ_CABMLZ010000001) нам недоступны, но есть данные при описании штамма в NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/biosample/SAMEA5851981>). В описании указано, что штамм является российским. Это хорошо согласуется с тем, что штаммы генотипа ST2 встречаются преимущественно на территории России. В дальнейшем выяснено, что штамм *Y. pestis* MGYG-HGUT-02476 ранее уже был идентифицирован в качестве штамма *Y. pseudotuberculosis* [13], однако в базе данных NCBI он продолжает числиться как штамм, относящийся к виду *Y. pestis*.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют, что MLST-типирование штаммов *Y. pseudotuberculosis* обладает большей внутривидовой дифференцирующей способностью по сравнению с методами генотипирования, не требующими определения структуры генома и основанными на использовании ПЦР-анализа. Вместе с тем в ряде случаев способ INDEL-типирования может дополнять другой способ типирования и разделять штаммы одной генетической группы. Для более полной генетической характеристики штаммов необходимо использование нескольких методов генотипирования.

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. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2022 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2023. 256 с.
2. Duan R., Liang J., Shi G., Cui Z., Hai R., Wang P., Xiao Y., Li K., Qiu H., Gu W., Du X., Jing H., Wang X. Homology analysis of pathogenic *Yersinia* species *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, and *Yersinia pestis* based on multilocus sequence typing. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(1):20–9. DOI: 10.1128/JCM.02185-13.
3. Laukkanen-Ninios R., Didelot X., Jolley K.A., Morelli G., Sangal V., Kristo P., Brehony C., Imori P.F., Fukushima H., Siitonen A., Tseneva G., Voskressenskaya E., Falcao J.P., Korkeala H., Maiden M.C., Mazzoni C., Carniel E., Skurnik M., Achtman M. Population structure of the *Yersinia pseudotuberculosis* complex according to multilocus sequence typing. *Environ. Microbiol.* 2011; 13(12):3114–27. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2011.02588.x.
4. Трухачев А.Л., Мелоян М.Г., Воскресенская Е.А., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Подладчиков О.Н., Писанов Р.В., Чеснокова М.В., Рыкова В.А., Кузнецова Д.А., Климов В.Т., Кокорина Г.И., Богумильчик Е.А. INDEL-типирование штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 4:102–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-102-109.
5. Водопьянов А.С., Трухачев А.Л., Подладчиков О.Н., Писанов Р.В. ContigSearcher – программа для анализа результатов полногеномного секвенирования, определения наличия последовательностей различных генов в контигах, полученных при секвенировании, выявления INDEL-мутаций. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2018611348 от 01.02.2018.
6. 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.
7. 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):e00122-13. DOI: 10.1128/genomeA.00122-13.
8. Blouin Y., Platonov M.E., Pourcel C., Evseeva V.V., Afanas'ev M.V., Balakhonov S.V., Anisimov A.P., Vergnaud G. Draft genome sequences of two *Yersinia pseudotuberculosis* ST43 (O:1b) strains, B-7194 and B-7195. *Genome Announc.* 2013; 1(4):e00510-13. DOI: 10.1128/genomeA.00510-13.
9. Тимченко Н.Ф., Ермолаева С.А., Адгамов Р.Р., Кузнецова Н.А., Шубин Ф.Н. Возбудитель дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки – клон *Yersinia pseudotuberculosis*. *Национальные приоритеты России*. 2011; 2:176.
10. Сомова Л.М., Тимченко Н.Ф., Ляпун И.Н., Дробот Е.И. Основные итоги изучения дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки как особого клинико-эпидемиологического проявления псевдотуберкулеза (Обзор комплексных исследований). *Здоровье населения и среда обитания – ЗНСО*. 2021; 5:39–45. DOI: 10.35627/2219-5238/2021-338-5-39-45.
11. Timchenko N.F., Adgamon R.R., Popov A.F., Psareva E.K., Sobyatin K.A., Gintsburg A.L., Ermolaeva S.A. Far East scarlet-like fever caused by a few related genotypes of *Yersinia pseudotuberculosis*, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(3):503–6. DOI: 10.3201/eid2203.150552.
12. Трухачев А.Л., Иванова В.С., Арсеньева Т.Е., Лебедева С.А., Гончаренко Е.В. Поиск праймеров на основе хромосомной ДНК *Yersinia pestis* для эффективной ПЦР-идентификации типичных и атипичных штаммов возбудителя чумы. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2008; 12:49–52.

13. Chen G., Lyu Y., Wang D., Zhu L., Cao S., Pan C., Feng E., Zhang W., Liu X., Cui Y., Wang H. Obtaining specific sequence tags for *Yersinia pestis* and visually detecting them was using the CRISPR-Cas12a system. *Pathogens*. 2021; 10(5):562. DOI: 10.3390/pathogens10050562.

References

1. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Russian Federation in 2022: State Report]. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumers Rights Protection and Human Well-being; 2023. 256 p.

2. Duan R., Liang J., Shi G., Cui Z., Hai R., Wang P., Xiao Y., Li K., Qiu H., Gu W., Du X., Jing H., Wang X. Homology analysis of pathogenic *Yersinia* species *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, and *Yersinia pestis* based on multilocus sequence typing. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(1):20–9. DOI: 10.1128/JCM.02185-13.

3. Laukkanen-Ninios R., Didelot X., Jolley K.A., Morelli G., Sangal V., Kristo P., Brehony C., Imori P.F., Fukushima H., Siitonen A., Tseneva G., Voskresenskaya E., Falcao J.P., Korkeala H., Maiden M.C., Mazzoni C., Carniel E., Skurnik M., Achtman M. Population structure of the *Yersinia pseudotuberculosis* complex according to multilocus sequence typing. *Environ. Microbiol.* 2011; 13(12):3114–27. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2011.02588.x.

4. Trukhachev A.L., Meloyan M.G., Voskresenskaya E.A., Vodopyanov A.S., Vodopyanov S.O., Podladchikova O.N., Pisanov R.V., Chesnokova M.V., Rykova V.A., Kuznetsova D.A., Klimov V.T., Kokorina G.I., Bogumilchik E.A. [INDEL-typing of *Yersinia pseudotuberculosis* strains]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (4):102–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-102-109.

5. Vodopyanov A.S., Trukhachev A.L., Podladchikova O.N., Pisanov R.V. [ContigSearcher is a program for analyzing the results of genome-wide sequencing, determining the presence of sequences of various genes in the contigs obtained during sequencing, detecting INDEL mutations]. Certificate of state registration of the computer program No. 2018611348 dated 02/01/2018.

6. 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.

7. 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):e00122-13. DOI: 10.1128/genomeA.00122-13.

8. Blouin Y., Platonov M.E., Pourcel C., Evseeva V.V., Afanas'ev M.V., Balakhonov S.V., Anisimov A.P., Vergnaud G. Draft genome sequences of two *Yersinia pseudotuberculosis* ST43 (O:1b) strains, B-7194 and B-7195. *Genome Announc.* 2013; 1(4):e00510-13. DOI: 10.1128/genomeA.00510-13.

9. Timchenko N.F., Ermolaeva S.A., Adgamov R.R., Kuznetsova N.A., Shubin F.N. [The causative agent of Far Eastern scarlet fever is a clone of *Yersinia pseudotuberculosis*]. *Natsional'nye Prioritety Rossii [National Priorities of Russia]*. 2011; (2):176.

10. Somova L.M., Timchenko N.F., Lyapun I.N., Drobot E.I. [Main results of the research on the Far Eastern scarlet-like fever as a specific clinical and epidemic manifestation of pseudotuberculosis: a review of comprehensive studies]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya. [Public Health and Life Environment]*. 2021; (5):39–45. DOI: 10.35627/2219-5238/2021-338-5-39-45.

11. Timchenko N.F., Adgamov R.R., Popov A.F., Psareva E.K., Sobyenin K.A., Gintsburg A.L., Ermolaeva S.A. Far East scarlet-like fever caused by a few related genotypes of *Yersinia pseudotuberculosis*, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(3):503–6. DOI: 10.3201/eid2203.150552.

12. Trukhachev A.L., Ivanova V.S., Arsenyeva T.Ye., Lebedeva S.A., Goncharenko Ye.V. [Search for primers based on *Yersinia pestis* chromosomal DNA for the most effective PCR identification of typical and atypical strains of the plague pathogen]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2008; (12):49–52.

13. Chen G., Lyu Y., Wang D., Zhu L., Cao S., Pan C., Feng E., Zhang W., Liu X., Cui Y., Wang H. Obtaining specific sequence tags for *Yersinia pestis* and visually detecting them was using the CRISPR-Cas12a system. *Pathogens*. 2021; 10(5):562. DOI: 10.3390/pathogens10050562.

Authors:

Meloyan M.G., Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Trukhachev A.L. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gorky St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

Voskresenskaya E.A., Kokorina G.I., Bogumil'chik E.A. Pasteur St. Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology. 14, Mira St., St. Petersburg, 197101, Russian Federation. E-mail: pasteur@pasteurorg.ru.

Chesnokova M.V., Klimov V.T. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and the Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Peretolchina N.P. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and the Far East; 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation; e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru. Irkutsk State Medical University; 1, Krasnogo Vosstaniya St., Irkutsk, 664003, Russian Federation.

Об авторах:

Мелоян М.Г., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Трухачев А.Л. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.

Воскресенская Е.А., Кокорина Г.И., Богумильчик Е.А. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Российская Федерация, 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14. E-mail: pasteur@pasteurorg.ru.

Чеснокова М.В., Климов В.Т. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Перетолчина Н.П. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока; Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78; e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru. Иркутский государственный медицинский университет; Российская Федерация, 664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, 1.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-115-123

УДК 616.98:578.834.1(470)

А.В. Семенов^{1,2}, С.С. Смирнова^{1,2}, И.А. Егоров¹, Н.Н. Жуйков¹

Результаты двухлетнего мониторинга за соблюдением требований санитарного законодательства в инфекционных госпиталях Российской Федерации для лечения больных с COVID-19

¹ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Виром», Екатеринбург, Российская Федерация;²ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Екатеринбург, Российская Федерация

В условиях пандемии COVID-19 проблема биологической безопасности пациентов и персонала медицинских организаций вышла на новый уровень. Особенности функционирования инфекционных госпиталей для лечения больных COVID-19 привели к формированию искусственной экосистемы, в которой сформировались условия для активной циркуляции вирусных и бактериальных патогенов. **Цель** исследования – проведение анализа данных мониторинга соблюдения требований санитарного законодательства в инфекционных госпиталях Российской Федерации, где проходят лечение пациенты с COVID-19, за двухлетний период. **Материалы и методы.** Проведен ретроспективный эпидемиологический анализ базы данных, созданной в Microsoft Office Excel, объемом 8,73 МБ, сформированной по данным результатов еженедельного мониторинга соблюдения требований санитарного законодательства в инфекционных госпиталях Российской Федерации для лечения больных COVID-19, в системе report.gsen.ru за период с 42-й недели 2021 г. по 42-ю неделю 2023 г. В анализ включены сведения о выполнении требований санитарного законодательства в 614 инфекционных госпиталях для лечения больных COVID-19 с общим коечным фондом 37 270 коек, в том числе 5 961 – реанимационных. **Результаты и обсуждение.** Обследование инфекционных госпиталей органами Роспотребнадзора проводилось преимущественно в рамках санитарно-эпидемиологических расследований, основные нарушения санитарного законодательства касались вопросов дезинфекции (27,7 %), обеспечения персонала средствами индивидуальной защиты (13,4 %) и разграничения потоков разной степени эпидемиологической значимости (12,3 %). Уровень контаминации объектов больничной среды инфекционных госпиталей SARS-CoV-2 и условно-патогенными микроорганизмами (УПМ) составил 0,3 и 0,6 % соответственно. Бактериальная микрофлора, выделенная из биологического материала пациентов и объектов больничной среды инфекционных госпиталей, была сопоставима между собой и представлена семействами *Staphylococcus*, *Enterobacteriales* (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*) и грамотрицательными неферментирующими бактериями (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*). Таким образом, в условиях пандемии и повышенной нагрузки на инфекционные госпитали увеличиваются риски распространения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), среди персонала и пациентов. Результаты данного исследования необходимо учитывать при проведении контрольно-надзорных мероприятий, эпидемиологических расследований и организации учебно-тренировочных занятий по подготовке медицинских организаций к работе в условиях массового распространения инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: пандемия COVID-19, мониторинг, инфекционный госпиталь, ИСМП, условно-патогенная микрофлора, SARS-CoV-2.

Корреспондирующий автор: Смирнова Светлана Сергеевна, e-mail: smirnova_ss@niivrom.ru.

Для цитирования: Семенов А.В., Смирнова С.С., Егоров И.А., Жуйков Н.Н. Результаты двухлетнего мониторинга за соблюдением требований санитарного законодательства в инфекционных госпиталях Российской Федерации для лечения больных с COVID-19. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:115–123. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-115-123

Поступила 12.08.2024. Отправлена на доработку 10.09.2024. Принята к публ. 07.10.2024.

A.V. Semenov^{1,2}, S.S. Smirnova^{1,2}, I.A. Egorov¹, N.N. Zhuikov¹

The Results of Two-Year Monitoring of Compliance with the Requirements of Sanitary Legislation in Infectious Diseases Hospitals of the Russian Federation for the Treatment of Patients with COVID-19

¹Federal Research Institute of Viral Infections “Viro” of the Rospotrebnadzor, Yekaterinburg, Russian Federation;²Ural State Medical University of the ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. In the context of the COVID-19 pandemic, the problem of biological safety of patients and staff of medical organizations has reached a new level. The peculiarities of the functioning of infectious diseases hospitals for the treatment of patients with COVID-19 led to the formation of an artificial ecosystem in which conditions for the active circulation of viral and bacterial pathogens were formed. **The aim** of the study was to analyze monitoring data on compliance with sanitary legislation requirements in infectious disease hospitals of the Russian Federation where patients with COVID-19 are treated over a two-year period. **Materials and methods.** A retrospective epidemiological analysis of the Microsoft Office Excel database with a volume of 8.73 MB was carried out, based on the results of weekly monitoring of compliance with sanitary legislation in infectious diseases hospitals for the treatment of COVID-19 patients in the Russian Federation in the system report.gsen.ru for the period from week 42 of 2021 to week 42 of 2023. The analysis includes information on compliance with the requirements of sanitary legislation in 614 infectious diseases hospitals for

the treatment of COVID-19 patients with a total bed capacity of 37,270, including 5,961 in intensive care units. **Results and discussion.** The inspection of infectious diseases hospitals by the Rospotrebnadzor bodies was carried out mainly within the framework of sanitary and epidemiological investigations. The main violations of sanitary legislation related to disinfection (27.7 %), provision of personnel with personal protective equipment (13.4 %) and separation of flows of varying degrees of epidemiological significance (12.3 %). The level of contamination of hospital facilities in infectious diseases hospitals with SARS-CoV-2 and opportunistic micro-flora was 0.3 % and 0.6 %, respectively. The opportunistic micro-flora isolated from the biological material of patients and from the objects of the hospital environment of infectious hospitals was comparable to each other, and represented by the families *Staphylococcus*, *Enterobacteriales* (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*) and gram-negative non-fermenting bacteria (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*). Thus, in the context of the pandemic and the increased burden on infectious diseases hospitals, conditions are formed that increase the risks of the spread of HAIs among staff and patients. The results of this study should be taken into account when conducting control and supervisory measures, epidemiological investigations and organizing training sessions to prepare medical organizations to work in conditions of mass spread of infectious diseases.

Key words: COVID-19 pandemic, monitoring, infectious disease hospital, HAIs, opportunistic pathogens, SARS-CoV-2.

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

Funding. Research work “Study of the epidemic process and prevention of viral infections associated with the provision of medical care (by the example of chickenpox, norovirus and rotavirus infections, etc.)”, reg. No. research, development and technological work 121040500099-5.

Corresponding author: Svetlana S. Smirnova, e-mail: smirnova_ss@niivrom.ru.

Citation: Semenov A.V., Smirnova S.S., Egorov I.A., Zhuikov N.N. The Results of Two-Year Monitoring of Compliance with the Requirements of Sanitary Legislation in Infectious Diseases Hospitals of the Russian Federation for the Treatment of Patients with COVID-19. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2024; 4:115–123. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-115-123

Received 12.08.2024. Revised 10.09.2024. Accepted 07.10.2024.

Semenov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>

Smirnova S.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9749-4611>

Egorov I.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7153-2827>

Zhuikov N.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7018-7582>

Современная доктрина профилактики и контроля инфекционных болезней однозначно определяет, что все типы медицинских организаций (МО) в любых странах мира не свободны от риска возникновения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) [1, 2]. Особое место среди объектов риска возникновения и распространения ИСМП занимают инфекционные стационары, которые за свою многолетнюю историю прошли сложный путь от «заразных» барачков до современных медицинских центров.

Массовое распространение инфекционных болезней в популяции всегда негативно влияет на возможность своевременного и качественного проведения в МО санитарно-противоэпидемических мероприятий, регламентированных нормативными документами. В период пандемии COVID-19 в многочисленных исследованиях описаны случаи внутрибольничной передачи вируса SARS-CoV-2 в разных типах медицинских учреждений, где в качестве источника инфекции выступали как пациенты, так и персонал [3, 4]. В частности, в городе Ухань (Китай) дефекты применения персоналом средств индивидуальной защиты (СИЗ) привели к инфицированию работников, оказывавших медицинскую помощь больным COVID-19, с последующим распространением инфекции среди персонала других структурных подразделений больницы [5].

Описаны случаи инфицирования COVID-19 у пациентов непрофильных медицинских организаций, связанные с внутрибольничным распространением SARS-CoV-2. Результаты исследования по оценке риска заражения COVID-19 в медицинских организациях Лондона (Великобритания) указывали

на то, что в течение месяца каждый седьмой пациент непрофильной МО инфицировался SARS-CoV-2 в условиях стационара [3]. Количество пострадавших во внутрибольничных очагах COVID-19 достигало сотен человек, с преимущественным вовлечением в эпидемический процесс персонала МО [6].

Отдельные исследования, посвященные эпидемиологическим особенностям вспышек COVID-19 в МО Российской Федерации, также свидетельствуют об активном вовлечении в эпидемический процесс работников МО. Среди источников инфекции в каждой второй вспышке выступали лица из числа персонала и в каждой четвертой – пациенты МО. По официальным данным, в 2021 г. в МО Российской Федерации зарегистрировано 113 внутрибольничных очагов COVID-19 с общим числом пострадавших более 2 тыс. человек [7]. По результатам эпидемиологических расследований установлено, что свыше 60 тыс. работников МО инфицировались при исполнении служебных обязанностей.

В условиях пандемии COVID-19 проблема биологической безопасности пациентов и персонала медицинских организаций вышла на новый уровень [1]. Специфика противоэпидемического режима медицинских организаций, оказывающих медицинскую помощь пациентам с COVID-19 в стационарных условиях, привела к изменениям госпитальной среды, способствующим активной циркуляции вирусов и микроорганизмов из группы ESCAPE. Высокий риск распространения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, среди пациентов и персонала инфекционных госпиталей явился основанием для организации еженедельного мониторинга со-

блюдения требований санитарного законодательства в учреждениях данного профиля [8, 9].

Цель исследования – проведение анализа данных мониторинга соблюдения требований санитарного законодательства в инфекционных госпиталях Российской Федерации, где проходят лечение пациенты с COVID-19, за двухлетний период.

Материалы и методы

Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор) организован мониторинг соблюдения требований санитарного законодательства в инфекционных госпиталях, предназначенных для лечения пациентов с COVID-19.

Сбор данных проводился с использованием специализированных электронных таблиц, разработанных Роспотребнадзором. Они включали в себя информацию о количестве инфекционных госпиталей (отделений) и их коечном фонде; результатах контрольно-надзорных мероприятий и выявленных нарушениях; объемах и результатах микробиологических исследований пациентов и объектов больницы среды инфекционных госпиталей; проведении дезинфекционных мероприятий и результатах контроля их качества.

Ввод информации осуществлялся специалистами управлений Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации в еженедельном режиме. Анализ статистических данных проводился специалистами Урало-Сибирского научно-методического центра по профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Виром» Роспотребнадзора.

Проведен ретроспективный эпидемиологический анализ базы данных, созданной в Microsoft Office Excel, объемом 8,73 МБ, сформированной по данным результатов мониторинга за период с 42-й недели 2021 г. по 42-ю неделю 2023 г. Группировка данных по субъектам и федеральным округам и последовательность федеральных округов при перечислении проведена в соответствии с Общероссийским классификатором экономических регионов ОК 024-95: Центральный федеральный округ (ЦФО) – 030, Северо-Западный федеральный округ (СЗФО) – 031, Приволжский федеральный округ (ПФО) – 033, Уральский федеральный округ (УФО) – 034, Северо-Кавказский федеральный округ (СКФО) – 038, Южный федеральный округ (ЮФО) – 040, Сибирский федеральный округ (СФО) – 041, Дальневосточный федеральный округ (ДФО) – 042. Результаты мониторинга по инфекционным госпиталям ОАО «РЖД» представлены вне привязки к субъектам и федеральным округам.

В исследовании применяли эпидемиологические (описательно-оценочный и аналитический) и статистические методы исследований. Результаты исследова-

ования представлены в текстовой форме, а также в виде абсолютных и относительных значений в таблице. Для определения статистической значимости различий применялся точный критерий Фишера (ϕ) при уровне значимости $p \leq 0,05$. Обработка данных осуществлялась с использованием программного пакета Statistica 10 (<https://medstatistic.ru/algorithm.html>).

Результаты и обсуждение

В анализ включены данные о работе 614 инфекционных госпиталей для лечения больных COVID-19 с общим коечным фондом 37 270 коек, в том числе 5 961 – реанимационных. Вариабельность количества госпиталей и коечного фонда соответствовала динамике развития эпидемического процесса COVID-19 в субъектах Российской Федерации. За период мониторинга каждый четвертый госпиталь закрывался для проведения заключительной дезинфекции, в каждом втором осуществлялся лабораторный контроль качества проведения заключительной дезинфекции.

Анализ результатов контрольно-надзорных мероприятий, проведенных в инфекционных госпиталях. В течение анализируемого периода Роспотребнадзор осуществил 3 503 надзорных мероприятия в отношении инфекционных стационаров, предназначенных для лечения пациентов с COVID-19. В структуре оснований для проведения надзора доминировали санитарно-эпидемиологические расследования (2 116 случаев; 60,4 %). Кроме того, проверки проводились по жалобам (266; 7,6 %) и другим причинам (1 121; 32,0 %) (таблица). Анализ данных мониторинга выявил неравномерность надзорной активности в федеральных округах. Наибольшее количество мероприятий в отношении инфекционных госпиталей проведено в СКФО (818; 23,3 % от общего числа надзорных мероприятий), ЦФО (731; 20,9 %) и ЮФО (588; 16,8 %).

Процентное соотношение санитарно-эпидемиологических расследований в структуре проведенных надзорных мероприятий варьировало по федеральным округам от 26,4 до 88,5 % (среднее – 60,4 %). Высокий удельный вес санитарно-эпидемиологических расследований в структуре надзорных мероприятий отмечен в СКФО – 88,5 % ($\phi_{\text{эмп}}=17,24$; $p<0,01$), ЮФО – 74,8 % ($\phi_{\text{эмп}}=6,957$; $p<0,01$), СЗФО – 68,3 % ($\phi_{\text{эмп}}=2,584$; $p<0,01$) и УФО – 66,0 % ($\phi_{\text{эмп}}=1,761$; H_1 на $p<0,05$ и H_0 на $p>0,01$).

Доля надзорных мероприятий по жалобам в среднем составила 7,6 % (266). Высокий удельный вес надзорных мероприятий по жалобам отмечен в ЮФО – 16,5 % ($\phi_{\text{эмп}}=6,241$; $p<0,01$), УФО – 16,2 % ($\phi_{\text{эмп}}=4,101$; $p<0,01$) и СФО – 13,6 % ($\phi_{\text{эмп}}=3,104$; $p<0,01$).

По результатам проведенных надзорных мероприятий выявлено 3 903 нарушения требований санитарного законодательства, в среднем – 1,1 на одно надзорное мероприятие. В структуре выявленных

Результаты мониторинга санитарно-противоэпидемического режима инфекционных госпиталей для больных COVID-19 в Российской Федерации
Results of monitoring the sanitary and anti-epidemic regime of infectious diseases hospitals for patients with COVID-19 in the Russian Federation

Раздел электронной таблицы Spreadsheet section	Показатели Indicators	Величина Rate	Федеральные округа Federal districts								РФ Russian Federation	
			ДФО FEFD	ПФО VFD	СЗФО NWFD	СКФО NCFD	СФО SibFD	УФО UFD	ЦФО CFD	ЮФО SFD		ОАО «РЖД» JSCo “RZD”
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Надзорные мероприятия Supervisory activities	Всего, из них / Total, of these	абс. число abs. number	168	425	262	818	264	247	731	588	–	3503
	санитарно-эпидемиологические исследования sanitary and epidemiological investigations	%	46,4	48,5	68,3	88,5	50,4	66,0	26,4	74,8	–	60,4
	жалобы / complaints	%	8,3	4,9	5,7	1,7	13,6	16,2	4,0	16,5	–	7,6
	прочие / other events	%	45,2	46,6	26,0	9,8	36,0	17,8	69,6	8,7	–	32,0
	Всего, из них / Total, of these	абс. число abs. number	153	395	616	1023	409	654	467	186	–	3903
Выявленные нарушения Detected violations	неразграничение потоков разной эпидемиологичности non-compliance with the separation of flows of different epidemiological significance	%	19,6	5,8	18,5	15,2	5,9	2,9	10,9	34,4	–	12,3
	нарушения в работе вентиляционных систем violations in the operation of ventilation systems	%	2,6	4,8	1,3	2,2	0,7	4,1	9,0	1,1	–	3,3
	нарушения правил применения СИЗ violations of the rules for the use of PPE	%	2,6	2,8	2,6	33,2	5,1	6,7	18,4	0,5	–	13,4
	нарушения правил гигиены рук violations of hand hygiene rules	%	3,9	9,4	6,7	14,8	2,2	7,8	2,4	2,7	–	8,0
	нарушение правил дезинфекции, стерилизации violation of the rules of disinfection, sterilization	%	41,2	43,0	32,8	14,6	26,2	25,5	34,9	31,7	–	27,7
	нарушение требований к изоляции пациентов с устойчивыми штаммами violation of isolation requirements for patients with resistant strains	%	7,8	5,3	1,6	3,7	2,0	2,3	0,6	18,3	–	3,6
	прочие / other	%	22,2	28,9	36,5	16,3	57,9	50,6	23,8	11,3	–	31,8

Окончание таблицы / Ending of the table

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Результаты микробиологического обследования пациентов Results of microbiological examination of patients	Среднее количество проб на одного пациента Average number of samples per patient	абс. число abs. number	1,1	1,5	1,5	1,2	1,4	1,4	1,4	1,1	1,6	1,3
	Всего проб, из них / Total samples, of these	абс. число abs. number	88299	475593	341796	128734	132006	165426	356288	852273	9898	2550313
	доля проб с ростом УПМ the proportion of samples with opportunistic micro-flora	%	24,4	26,4	32,7	23,5	28,3	32,4	30,7	6,0	47,6	21,4
	выделено штаммов микроорганизмов isolated strains of microorganisms	абс. число abs. number	17704	88509	83114	26834	29735	41588	119785	26726	4236	438231
	<i>Staphylococcus</i> spp.	%	21,3	17,9	19,9	29,2	18,5	22,6	26,5	32,3	26,1	22,9
	<i>Acinetobacter</i> spp.	%	7,1	7,5	10,3	2,4	8,3	9,7	8,9	14,3	6,4	8,8
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	%	4,0	5,1	3,8	2,4	4,0	5,9	5,5	6,4	2,5	4,8
	<i>Escherichia coli</i>	%	10,9	8,5	10,0	2,5	5,4	9,0	8,1	7,4	10,1	8,2
	<i>Klebsiella</i> spp.	%	17,9	13,6	18,4	47,6	11,2	18,0	14,3	4,0	11,9	16,6
	<i>Enterobacter</i> spp.	%	4,7	5,3	4,3	3,0	7,0	3,8	4,9	4,0	2,5	4,7
Результаты исследования смывов с ООС на РНК SARS-CoV-2 Results of the study of swabs from environmental objects for SARS-CoV-2 RNA	<i>Proteus</i>	%	2,5	1,9	3,2	0,5	2,1	3,3	3,5	2,2	1,8	2,7
	<i>Candida</i>	%	31,5	40,1	30,0	12,4	43,7	27,7	28,2	29,4	38,7	31,3
	Всего проб, из них / Total samples, of these	абс. число abs. number	44491	84477	45368	17719	51973	26514	121514	65354	3619	461029
	нестандартных проб non-standard samples	%	0,2	0,3	1,0	0,1	0,8	0,2	0,2	–	–	0,3
	Всего проб, из них / Total samples, of these	абс. число abs. number	57731	192601	88153	56872	59347	53573	241225	155313	1345	906160
	нестандартных проб non-standard samples	%	0,4	0,4	0,9	0,8	1,0	1,0	0,9	0,1	0,2	0,6
	количество выделенных штаммов number of isolated strains	абс. число	216	998	587	418	414	639	1535	151	3	4961
	<i>Staphylococcus</i> spp.	%	30,6	36,5	28,4	20,8	50,2	44,8	46,9	27,8	66,7	39,1
	<i>Acinetobacter</i> spp.	%	8,8	9,0	17,5	4,3	7,7	9,7	13,8	0,7	0,0	10,8
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	%	8,8	13,1	4,6	15,8	2,7	4,2	5,7	0,0	0,0	7,4
Результаты исследования смывов с ООС на УПМ Results of the study of swabs from environmental objects for opportunistic micro-flora	<i>Escherichia coli</i>	%	33,8	23,6	14,5	27,8	4,1	17,8	10,8	28,5	0,0	17,1
	<i>Klebsiella</i> spp.	%	11,6	11,2	29,0	21,5	14,7	12,2	12,6	1,3	33,3	14,8
	<i>Enterobacter</i> spp.	%	6,5	6,5	6,0	9,8	20,5	11,3	10,1	41,7	0,0	10,7
		%										

нарушений преобладали: несоблюдение правил текущей и заключительной дезинфекции, стерилизации (1 080; 27,7 %), недостаточная обеспеченность и нарушение правил применения СИЗ (523; 13,4 %) и несоблюдение разграничения потоков разной эпидемиологической значимости (481; 12,3 %). Кроме того, выявлялись нарушения правил гигиены рук и применения перчаток (311; 8,0 %), требований к изоляции пациентов с инфекцией, вызванной устойчивыми штаммами микроорганизмов (141; 3,3 %), и нарушения в работе вентиляционных систем (127; 3,3 %). Около 1/3 составили прочие нарушения санитарного законодательства, не обозначенные отдельно в таблицах для сбора информации (1 240; 31,8 %).

В различных странах медицинский персонал инфекционных госпиталей столкнулся с нехваткой СИЗ и несоблюдением правил их использования [10, 11], имело место нарушение правил гигиены рук и применения перчаток [12, 13], нарушение маршрутизации пациентов [14], а также дефекты дезинфекционного режима [15, 16]. Результаты мониторинга, проведенного на территории Российской Федерации, в целом указывают на наличие ряда проблем, связанных с нарушением правил дезинфекции, недостаточным обеспечением СИЗ и несоблюдением разграничения потоков разной степени эпидемиологической значимости.

Результаты микробиологического обследования пациентов инфекционных госпиталей на ESCAPE-патогены. В процессе лечения в инфекционных стационарах для пациентов с COVID-19 существовал высокий риск возникновения внутрибольничных инфекций, что обусловило необходимость проведения дополнительного микробиологического обследования пациентов для выявления случаев присоединения бактериальной флоры.

За рассматриваемый период проведено исследование 2 550 313 образцов биологического материала от 1 967 571 пациента инфекционных госпиталей для лечения больных с COVID-19; в среднем – 1,3 пробы на пациента. В инфекционных госпиталях, относящихся к ОАО «РЖД», данный показатель составил 1,6 пробы на одного пациента; в ПФО и СЗФО – по 1,5; СФО, УФО и ЦФО – по 1,4; СКФО – 1,2; ДФО и ЮФО – по 1,1 пробы.

Подходы к проведению обследования имели региональные особенности, а доля лабораторного подтверждения выделения бактериальной микрофлоры у пациентов инфекционных госпиталей для лечения больных с COVID-19 варьировала от 6,0 до 47,6 %, при среднероссийской – 21,4 %.

Доля проб, содержащих культуры микроорганизмов, превышала среднероссийский показатель во всех федеральных округах, за исключением ЮФО (6,0 %; $\varphi_{\text{эмп}}=371,671$; $p<0,01$), что существенно отразилось на среднероссийском показателе. По результатам обследования пациентов выделен 438 231 штамм микроорганизмов, в структуре которых преобладали дрожжеподобные грибки рода *Candida* (31,3 %).

Структура бактериальных агентов представлена *Staphylococcus* spp. (22,9 %), *Klebsiella* spp. (16,6 %), *Acinetobacter* spp. (8,8 %), *Escherichia coli* (8,2 %), *Pseudomonas aeruginosa* (4,8 %), *Enterobacter* spp. (4,7 %), бактериями рода *Proteus* (2,7 %). Процентное соотношение распространенных патогенов, вызывающих инфекции, связанные с медицинской помощью (*Klebsiella* spp., *Acinetobacter* spp. и *P. aeruginosa*), колебалось в диапазоне от 20,9 до 52,4 %, в среднем составляя 30,2 %.

Данные систематических обзоров свидетельствуют о развитии у пациентов инфекционных госпиталей вторичных инфекций, вызванных микроорганизмами из группы ESCAPE, с преобладанием в этиологической структуре резистентных штаммов возбудителей: метициллин-резистентного золотистого стафилококка, ванкомицин-резистентного энтерококка, – а также увеличением этиологической роли *Klebsiella pneumoniae*, устойчивой к карбапенемам [17]. Результаты, полученные в ходе исследования, демонстрируют преобладание дрожжеподобных грибков рода *Candida* в структуре условно-патогенных микроорганизмов (УПМ), выделенных от пациентов. Среди бактериальных патогенов, выделенных от пациентов, преобладали *Staphylococcus* spp., *Klebsiella* spp. и *E. coli*, встречались также *Acinetobacter baumannii* и *P. aeruginosa*.

Характеристика вирусно-бактериальной контаминации объектов окружающей среды инфекционных госпиталей. Для оценки вирусно-бактериальной контаминации объектов окружающей среды (ООС) инфекционных госпиталей исследовано 461 029 проб на наличие РНК SARS-CoV-2, из которых в 1 484 пробах обнаружен генетический материал SARS-CoV-2 (0,3 %). На наличие УПМ исследовано 906 160 проб, из которых в 5 657 пробах обнаружены условно-патогенные микроорганизмы (0,6 %). Пробы отбирались в рамках государственного надзора и производственного контроля.

Доля нестандартных проб при исследовании вирусной контаминации варьировала от 0,1 до 1,0 %. Превышение среднероссийского показателя установлено в СФО – в 2,7 раза (0,8 %; $\varphi_{\text{эмп}}=13,905$; $p<0,01$) и СЗФО – в 3,3 раза (1,0 %; $\varphi_{\text{эмп}}=8,266$; $p<0,01$).

Доля нестандартных проб при исследовании бактериальной контаминации варьировала от 0,1 до 1,0 %. Превышение среднероссийского показателя установлено для СФО в 1,7 раза (1,0 %; $\varphi_{\text{эмп}}=9,928$; $p<0,01$), УФО – в 1,7 раза (1,0 %; $\varphi_{\text{эмп}}=10,533$; $p<0,01$), СЗФО – в 1,5 раза (0,9 %; $\varphi_{\text{эмп}}=9,044$; $p<0,01$), ЦФО – в 1,5 раза (0,9 %; $\varphi_{\text{эмп}}=12,172$; $p<0,01$), СКФО – в 1,3 раза (0,8 %; $\varphi_{\text{эмп}}=6,104$; $p<0,01$).

При исследовании бактериальной контаминации объектов больничной среды инфекционных госпиталей выделен 4 961 штамм бактерий, представленных *Staphylococcus* spp. (1 942 штамма; 39,1 %), *E. coli* (850; 17,1 %), *Klebsiella* spp. (733; 14,8 %), *Acinetobacter* spp. (537; 10,8 %), *Enterobacter* spp. (530; 10,7 %), *P. aeruginosa* (369; 7,5 %).

Доля грамположительных бактерий составила 39,1 %, а представителей семейства *Enterobacterales* (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *E. coli*) – 42,6 %, грамотрицательных неферментирующих бактерий (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*) – 18,3 %. Доля типичных возбудителей ИСМП (*Klebsiella* spp., *Acinetobacter* spp. и *P. aeruginosa*), выделенных из объектов больничной среды, варьировала от 2,0 до 51,1 %, составляя в среднем 33,0 %.

Многочисленные исследования, посвященные оценке уровня контаминации объектов больничной среды реанимационных отделений SARS-CoV-2, проведенные в различных странах, указывают на вариабельность контаминации от 6,0 до 43,5 % (Китай – 43,5 %, Италия – 24,3 %, Южная Корея – 17,5 %, США – от 6,0 до 16,0 %) [18–21]. Результаты исследований по оценке спектра УПМ, циркулирующих в инфекционных госпиталях, демонстрируют присутствие на объектах окружающей среды представителей рода *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, семейства *Enterobacterales*, реже – *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Neisseria* и *Streptococcus* [22, 23]. Отдельные результаты исследований, проведенных в госпиталях Российской Федерации, указывают на то, что лидирующие позиции в структуре УПМ, выделенных от пациентов реанимационного отделения и из объектов окружающей среды, занимали *Enterococcus faecalis*, *K. pneumoniae*, *E. coli* [9], *K. pneumoniae*, *Achromobacter* spp., *Staphylococcus aureus* и *P. aeruginosa* [24, 25].

В настоящем исследовании для пациентов оказалось характерно преимущественное преобладание дрожжеподобных грибов рода *Candida*, бактерий рода *Staphylococcus* spp., представителей семейства *Enterobacterales* (*Klebsiella* spp., *E. coli*) и грамотрицательных неферментирующих бактерий (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*), для объектов больничной среды – бактерий рода *Staphylococcus* spp. и представителей семейства *Enterobacterales* (*Klebsiella* spp., *E. coli* spp.). В целом микрофлора, изолированная из объектов больничной среды и биологического материала пациентов, была схожа и включала в себя следующие микроорганизмы: *Staphylococcus* spp., *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Acinetobacter* spp., *Enterobacter* spp. и *P. aeruginosa*, – что свидетельствует об отсутствии практики изоляции пациентов, выделяющих резистентные штаммы микроорганизмов. Данный фактор создает условия для постоянной циркуляции устойчивых штаммов УПМ и формирования их госпитальной популяции. Превалирование грибов рода *Candida* в структуре УПМ, выделенных от пациентов в некоторых федеральных округах, указывает на некорректное проведение антимикробной терапии.

Таким образом, в условиях пандемии и повышенной нагрузки на инфекционные госпитали возрастают риски распространения ИСМП среди персонала и пациентов. Внедрение системы мониторинга позволяет осуществлять динамическое наблюдение за санитарно-эпидемиологическим состоянием ин-

фекционных госпиталей и своевременно выявлять предпосылки и предвестники осложнения эпидемиологической ситуации. Результаты данного исследования должны быть учтены при проведении контрольно-надзорных мероприятий, эпидемиологических расследований и организации учебно-тренировочных занятий по подготовке медицинских организаций к работе в условиях массового распространения инфекционных заболеваний. Необходимо обеспечить трансляцию полученного опыта оперативного мониторинга на все инфекционные стационары Российской Федерации.

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

Финансирование. Научно-исследовательская работа «Изучение эпидемического процесса и профилактика вирусных инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (на примере ветряной оспы, норо- и ротавирусной инфекции и др.)», рег. № НИОКТР 121040500099-5.

Список литературы

1. Брико Н.И., Брусина Е.Б., Зуева Л.П., Ковалишена О.В., Стасенко В.Л., Фельдблюм И.В., Шкарин В.В. Стратегия обеспечения эпидемиологической безопасности медицинской деятельности. *Вестник Росздравнадзора*. 2017; 4:15–21.
2. WHO. Global report on infection prevention and control. 2022. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240051164>.
3. Abbas M., Robalo Nunes T., Martischang R., Zingg W., Iten A., Pittet D., Harbarth S. Nosocomial transmission and outbreaks of coronavirus disease 2019: the need to protect both patients and healthcare workers. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*. 2021; 10:7. DOI: 10.1186/s13756-020-00875-7.
4. Borges V., Isidro J., Macedo F., Neves J., Silva L., Paiva M., Barata J., Catarino J., Ciobanu L., Duarte S., Vieira L., Guiomar R., Gomes J.P. Nosocomial outbreak of SARS-CoV-2 in a “Non-COVID-19” hospital ward: virus genome sequencing as a key tool to understand cryptic transmission. *Viruses*. 2021; 13(4):604. DOI: 10.3390/v13040604.
5. Wang X., Zhou Q., He Y., Liu L., Ma X., Wei X., Jiang N., Liang L., Zheng Y., Ma L., Xu Y., Yang D., Zhang J., Yang B., Jiang N., Deng T., Zhai B., Gao Y., Liu W., Bai X., Pan T., Wang G., Chang Y., Zhang Z., Shi H., Ma W.L., Gao Z. Nosocomial outbreak of COVID-19 pneumonia in Wuhan, China. *Eur. Respir. J.* 2020; 55(6):2000544. DOI: 10.1183/13993003.00544-2020.
6. Leal J., O’Grady H.M., Armstrong L., Dixit D., Khawaja Z., Snedeker K., Ellison J., Erebor J., Jamieson P., Weiss A., Salcedo D., Roberts K., Wiens K., Croxen M.A., Berenger B.M., Pabbaraju K., Lin Y.C., Evans D., Conly J.M. Patient and ward related risk factors in a multi-ward nosocomial outbreak of COVID-19: Outbreak investigation and matched case-control study. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*. 2023; 12(1):21. DOI: 10.1186/s13756-023-01215-1.
7. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2021 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2022. 340 с.
8. Брусина Е.Б., Зуева Л.П., Ковалишена О.В., Стасенко В.Л., Фельдблюм И.В., Брико Н.И., Акимкин В.Г. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи: современная доктрина профилактики. Часть 2. Основные положения. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018; 17(6):4–10. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-6-4-10.
9. Егоров И.А., Смирнова С.С., Мищенко В.А., Вялых И.В., Маркарян А.Ю., Жуikov Н.Н., Романов С.В., Пономарёва А.В., Чистякова И.В., Киячина А.С., Аверьянов О.Ю., Смирнова В.А., Большакова А.Н., Верник Е.В., Пушкарёва Н.А., Семёнов А.В. Особенности вирусно-бактериальной контаминации объектов больничной среды инфекционного госпиталя для лечения больных COVID-19 в период пандемии. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2022; 21(6):13–23. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-6-13-23.
10. Gómez-Ochoa S.A., Franco O.H., Rojas L.Z., Raguindin P.F., Roa-Díaz Z.M., Wyssmann B.M., Guevara S.L.R., Echeverría

L.E., Glisic M., Muka T. COVID-19 in health-care workers: a living systematic review and meta-analysis of prevalence, risk factors, clinical characteristics, and outcomes. *Am. J. Epidemiol.* 2021; 190(1):161–75. DOI: 10.1093/aje/kwaa191.

11. Nguyen L.H., Drew D.A., Graham M.S., Joshi A.D., Guo C.G., Ma W., Mehta R.S., Warner E.T., Sikavi D.R., Lo C.H., Kwon S., Song M., Mucci L.A., Stampfer M.J., Willett W.C., Eliassen A.H., Hart J.E., Chavarro J.E., Rich-Edwards J.W., Davies R., Capdevila J., Lee K.A., Lochlainn M.N., Varsavsky T., Sudre C.H., Cardoso M.J., Wolf J., Spector T.D., Ourselin S., Steves C.J., Chan A.T.: CO-ronavirus Pandemic Epidemiology Consortium. Risk of COVID-19 among front-line health-care workers and the general community: a prospective cohort study. *Lancet Public Health.* 2020; 5(9):e475–e483. DOI: 10.1016/S2468-2667(20)30164-X.

12. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Сафронов В.А., Карнаухов И.Г., Иванова А.В., Шербакова С.А. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Сообщение 1: Модели реализации профилактических и противоэпидемических мероприятий. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 1:6–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-6-13.

13. Ran L., Chen X., Wang Y., Wu W., Zhang L., Tan X. Risk factors of healthcare workers with coronavirus disease 2019: a retrospective cohort study in a designated hospital of wuhan in China. *Clin. Infect. Dis.* 2020; 71(16):2218–21. DOI: 10.1093/cid/ciaa287.

14. Crocimo C., Bachi B., Calabrese A., Callovin T., Cavaleri D., Cioni R.M., Moretti F., Bartoli F., Carra G. Some of us are most at risk: Systematic review and meta-analysis of correlates of depressive symptoms among healthcare workers during the SARS-CoV-2 outbreak. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2021; 131:912–22. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2021.10.010.

15. Moore G., Rickard H., Stevenson D., Aranega-Bou P., Pitman J., Crook A., Davies K., Spencer A., Burton C., Easterbrook L., Love H.E., Summers S., Welch S.R., Wand N., Thompson K.-A., Pottage T., Richards K.S., Dunning J., Bennett A. Detection of SARS-CoV-2 within the healthcare environment: a multi-centre study conducted during the first wave of the COVID-19 outbreak in England. *J. Hosp. Infect.* 2021; 108:189–96. DOI: 10.1016/j.jhin.2020.11.024.

16. Ge T., Lu Y., Zheng S., Zhuo L., Yu L., Ni Z., Zhou Y., Ni L., Qu T., Zhong Z. Evaluation of disinfection procedures in a designated hospital for COVID-19. *Am. J. Infect. Control.* 2021; 49(4):447–51. DOI: 10.1016/j.ajic.2020.08.028.

17. O'Toole R.F. The interface between COVID-19 and bacterial healthcare-associated infections. *Clin. Microbiol. Infect.* 2021; 27(12):1772–6. DOI: 10.1016/j.cmi.2021.06.001.

18. Wu S., Wang Y., Jin X., Tian J., Liu J., Mao Y. Environmental contamination by SARS-CoV-2 in a designated hospital for coronavirus disease 2019. *Am. J. Infect. Control.* 2020; 48(8):910–4. DOI: 10.1016/j.ajic.2020.05.003.

19. Guo Z.D., Wang Z.Y., Zhang S.F., Li X., Li L., Li C., Cui Y., Fu R.B., Dong Y.Z., Chi X.Y., Zhang M.Y., Liu K., Cao C., Liu B., Zhang K., Gao Y.W., Lu B., Chen W. Aerosol and surface distribution of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in hospital wards, Wuhan, China, 2020. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(7):1583–91. DOI: 10.3201/eid2607.200885.

20. Ryu B.H., Cho Y., Cho O.H., Hong S.I., Kim S., Lee S. Environmental contamination of SARS-CoV-2 during the COVID-19 outbreak in South Korea. *Am. J. Infect. Control.* 2020; 48(8):875–9. DOI: 10.1016/j.ajic.2020.05.027.

21. Marotz C., Belda-Ferre P., Ali F., Das P., Huang S., Cantrell K., Jiang L., Martino C., Diner R.E., Rahman G., McDonald D., Armstrong G., Koder S., Donato S., Ecklu-Mensah G., Gottle N., Salas Garcia M.C., Chiang L.Y., Salido R.A., Shaffer J.P., Bryant M.K., Sanders K., Humphrey G., Ackermann G., Haiminen N., Beck K.L., Kim H.C., Carrieri A.P., Parida L., Vázquez-Baeza Y., Torriani F.J., Knight R., Gilbert J., Sweeney D.A., Allard S.M. SARS-CoV-2 detection status associates with bacterial community composition in patients and the hospital environment. *Microbiome.* 2021; 9(1):132. DOI: 10.1186/s40168-021-01083-0.

22. Hemati S., Mobini G.R., Heidari M., Rahmani F., Soleymani Babadi A., Farhadkhani M., Nourmoradi H., Raiesi A., Ahmadi A., Khodabakhshi A., Sadeghi M., Bagheri M., Validi M., Taghipour S., Mohammadi-Moghadam F. Simultaneous monitoring of SARS-CoV-2, bacteria, and fungi in indoor air of hospital: a study on Hajar Hospital in Shahrekord, Iran. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2021; 28(32):43792–802. DOI: 10.1007/s11356-021-13628-9.

23. Minich J.J., Ali F., Marotz C., Belda-Ferre P., Chiang L., Shaffer J.P., Carpenter C.S., McDonald D., Gilbert J., Allard S.M., Allen E.E., Knight R., Sweeney D.A., Swafford A.D. Feasibility of using alternative swabs and storage solutions for paired SARS-CoV-2 detection and microbiome analysis in the hospital environment. *Microbiome.* 2021; 9(1):25. DOI: 10.1186/s40168-020-00960-4.

24. Pochtoviy A.A., Vasina D.V., Kustova D.D., Divisenko E.V., Kuznetsova N.A., Burgasova O.A., Kolobukhina L.V., Tkachuk A.P., Gushchin V.A., Gintsburg A.L. Contamination of hospital surfaces with bacterial pathogens under the current COVID-19 outbreak. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2021; 18(17):9042. DOI: 10.3390/ijerph18179042.

25. Смирнова С.С., Жуйков Н.Н., Егоров И.А., Пушкарева Н.А., Семенов А.В. Сравнительный анализ методов отбора проб смывов с объектов внешней среды для оценки вирусно-бактериальной контаминации. *Здоровье населения и среда обитания.* 2023; 31(4):77–84. DOI: 10.35627/2219-5238/2023-31-4-77-84.

References

1. Briko N.I., Brusina E.B., Zueva L.P., Kovalishena O.V., Stasenko V.L., Feldblum I.V., Shkarin V.V. [The strategy of ensuring epidemiological safety of medical activity]. *Vestnik Roszdravnadzora [Bulletin of Federal Service for Surveillance in Healthcare]*. 2017; (4):15–21.

2. WHO. Global report on infection prevention and control. 2022. [Internet]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240051164>.

3. Abbas M., Robalo Nunes T., Martischang R., Zingg W., Iten A., Pittet D., Harbarth S. Nosocomial transmission and outbreaks of coronavirus disease 2019: the need to protect both patients and healthcare workers. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2021; 10:7. DOI: 10.1186/s13756-020-00875-7.

4. Borges V., Isidro J., Macedo F., Neves J., Silva L., Paiva M., Barata J., Catarino J., Ciobanu L., Duarte S., Vieira L., Guiomar R., Gomes J.P. Nosocomial outbreak of SARS-CoV-2 in a “Non-COVID-19” hospital ward: virus genome sequencing as a key tool to understand cryptic transmission. *Viruses.* 2021; 13(4):604. DOI: 10.3390/v13040604.

5. Wang X., Zhou Q., He Y., Liu L., Ma X., Wei X., Jiang N., Liang L., Zheng Y., Ma L., Xu Y., Yang D., Zhang J., Yang B., Jiang N., Deng T., Zhai B., Gao Y., Liu W., Bai X., Pan T., Wang G., Chang Y., Zhang Z., Shi H., Ma W.L., Gao Z. Nosocomial outbreak of COVID-19 pneumonia in Wuhan, China. *Eur. Respir. J.* 2020; 55(6):2000544. DOI: 10.1183/13993003.00544-2020.

6. Leal J., O'Grady H.M., Armstrong L., Dixit D., Khawaja Z., Snedeker K., Ellison J., Erebor J., Jamieson P., Weiss A., Salcedo D., Roberts K., Wiens K., Croxson M.A., Berenger B.M., Pabbaraju K., Lin Y.C., Evans D., Conly J.M. Patient and ward related risk factors in a multi-ward nosocomial outbreak of COVID-19: Outbreak investigation and matched case-control study. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2023; 12(1):21. DOI: 10.1186/s13756-023-01215-1.

7. [On the State of Sanitary and Epidemiological Well-being of the Population in the Russian Federation in 2021: State Report]. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumers Rights Protection and Human Wellbeing, 2022. 340 p.

8. Brusina E.B., Zuyeva L.P., Kovalishena O.V., Stasenko V.L., Feldblum I.V., Briko N.I., Akimkin V.G. [Healthcare-associated infections: modern doctrine of prophylaxis. Part II. Basic concept]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2018; 17(6):4–10. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-6-4-10.

9. Egorov I.A., Smirnova S.S., Mishchenko V.A., Vialykh I.V., Markarian A.Yu., Zhuikov N.N., Romanov S.V., Ponomareva A.V., Chistiakova I.V., Kiliachina A.S., Averianov O.Yu., Smirnova V.A., Bolshakova A.N., Vernik E.V., Pushkareva N.A., Semenov A.V. [Characteristic of viral and bacterial contamination in objects of the infectious hospital environment of the hospital for the treatment of patients with COVID-19 during the pandemic period]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2022; 21(6):13–23. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-6-13-23.

10. Gómez-Ochoa S.A., Franco O.H., Rojas L.Z., Raguindin P.F., Roa-Díaz Z.M., Wyssmann B.M., Guevara S.L.R., Echeverría L.E., Glisic M., Muka T. COVID-19 in health-care workers: a living systematic review and meta-analysis of prevalence, risk factors, clinical characteristics, and outcomes. *Am. J. Epidemiol.* 2021; 190(1):161–75. DOI: 10.1093/aje/kwaa191.

11. Nguyen L.H., Drew D.A., Graham M.S., Joshi A.D., Guo C.G., Ma W., Mehta R.S., Warner E.T., Sikavi D.R., Lo C.H., Kwon S., Song M., Mucci L.A., Stampfer M.J., Willett W.C., Eliassen A.H., Hart J.E., Chavarro J.E., Rich-Edwards J.W., Davies R., Capdevila J., Lee K.A., Lochlainn M.N., Varsavsky T., Sudre C.H., Cardoso M.J., Wolf J., Spector T.D., Ourselin S., Steves C.J., Chan A.T.: CO-ronavirus Pandemic Epidemiology Consortium. Risk of COVID-19 among front-line health-care workers and the general community: a prospective cohort study. *Lancet Public Health.* 2020; 5(9):e475–e483. DOI: 10.1016/S2468-2667(20)30164-X.

12. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Safronov V.A., Karnaukhov I.G., Ivanova A.V., Shcherbakova S.A. [Epidemiological features of new coronavirus infection (COVID-19). Communication 1: Modes of implementation of preventive and anti-epidemic measures]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (1):6–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-6-13.

13. Ran L., Chen X., Wang Y., Wu W., Zhang L., Tan X. Risk factors of healthcare workers with coronavirus disease 2019: a retrospective cohort study in a designated hospital of wuhan in China. *Clin. Infect. Dis.* 2020; 71(16):2218–21. DOI: 10.1093/cid/ciaa287.

14. Crocarno C., Bachi B., Calabrese A., Callovin T., Cavaleri D., Cioni R.M., Moretti F., Bartoli F., Carra G. Some of us are most at risk: Systematic review and meta-analysis of correlates of depressive symptoms among healthcare workers during the SARS-CoV-2 outbreak. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2021; 131:912–22. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2021.10.010.
15. Moore G., Rickard H., Stevenson D., Aranega-Bou P., Pitman J., Crook A., Davies K., Spencer A., Burton C., Easterbrook L., Love H.E., Summers S., Welch S.R., Wand N., Thompson K.-A., Pottage T., Richards K.S., Dunning J., Bennett A. Detection of SARS-CoV-2 within the healthcare environment: a multi-centre study conducted during the first wave of the COVID-19 outbreak in England. *J. Hosp. Infect.* 2021; 108:189–96. DOI: 10.1016/j.jhin.2020.11.024.
16. Ge T., Lu Y., Zheng S., Zhuo L., Yu L., Ni Z., Zhou Y., Ni L., Qu T., Zhong Z. Evaluation of disinfection procedures in a designated hospital for COVID-19. *Am. J. Infect. Control.* 2021; 49(4):447–51. DOI: 10.1016/j.ajic.2020.08.028.
17. O'Toole R.F. The interface between COVID-19 and bacterial healthcare-associated infections. *Clin. Microbiol. Infect.* 2021; 27(12):1772–6. DOI: 10.1016/j.cmi.2021.06.001.
18. Wu S., Wang Y., Jin X., Tian J., Liu J., Mao Y. Environmental contamination by SARS-CoV-2 in a designated hospital for coronavirus disease 2019. *Am. J. Infect. Control.* 2020; 48(8):910–4. DOI: 10.1016/j.ajic.2020.05.003.
19. Guo Z.D., Wang Z.Y., Zhang S.F., Li X., Li L., Li C., Cui Y., Fu R.B., Dong Y.Z., Chi X.Y., Zhang M.Y., Liu K., Cao C., Liu B., Zhang K., Gao Y.W., Lu B., Chen W. Aerosol and surface distribution of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in hospital wards, Wuhan, China, 2020. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(7):1583–91. DOI: 10.3201/eid2607.200885.
20. Ryu B.H., Cho Y., Cho O.H., Hong S.I., Kim S., Lee S. Environmental contamination of SARS-CoV-2 during the COVID-19 outbreak in South Korea. *Am. J. Infect. Control.* 2020; 48(8):875–9. DOI: 10.1016/j.ajic.2020.05.027.
21. Marotz C., Belda-Ferre P., Ali F., Das P., Huang S., Cantrell K., Jiang L., Martino C., Diner R.E., Rahman G., McDonald D., Armstrong G., Kadera S., Donato S., Ecklu-Mensah G., Gottel N., Salas Garcia M.C., Chiang L.Y., Salido R.A., Shaffer J.P., Bryant M.K., Sanders K., Humphrey G., Ackermann G., Haiminen N., Beck K.L., Kim H.C., Carrieri A.P., Parida L., Vázquez-Baeza Y., Torriani F.J., Knight R., Gilbert J., Sweeney D.A., Allard S.M. SARS-CoV-2 detection status associates with bacterial community composition in patients and the hospital environment. *Microbiome.* 2021; 9(1):132. DOI: 10.1186/s40168-021-01083-0.
22. Hemati S., Mobini G.R., Heidari M., Rahmani F., Soleymani Babadi A., Farhadkhani M., Nourmoradi H., Raeisi A., Ahmadi A., Khodabakhshi A., Sadeghi M., Bagheri M., Validi M., Taghipour S., Mohammadi-Moghadam F. Simultaneous monitoring of SARS-CoV-2, bacteria, and fungi in indoor air of hospital: a study on Hajar Hospital in Shahrekord, Iran. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2021; 28(32):43792–802. DOI: 10.1007/s11356-021-13628-9.
23. Minich J.J., Ali F., Marotz C., Belda-Ferre P., Chiang L., Shaffer J.P., Carpenter C.S., McDonald D., Gilbert J., Allard S.M., Allen E.E., Knight R., Sweeney D.A., Swafford A.D. Feasibility of using alternative swabs and storage solutions for paired SARS-CoV-2 detection and microbiome analysis in the hospital environment. *Microbiome.* 2021; 9(1):25. DOI: 10.1186/s40168-020-00960-4.
24. Pochtovyi A.A., Vasina D.V., Kustova D.D., Divisenko E.V., Kuznetsova N.A., Burgasova O.A., Kolobukhina L.V., Tkachuk A.P., Gushchin V.A., Gintsburg A.L. Contamination of hospital surfaces with bacterial pathogens under the current COVID-19 outbreak. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2021; 18(17):9042. DOI: 10.3390/ijerph18179042.
25. Smirnova S.S., Zhuikov N.N., Egorov I.A., Pushkareva N.A., Semenov A.V. [Comparative analysis of methods of environmental surface sampling for assessment of viral and bacterial contamination]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2023; 31(4):77–84. DOI: 10.35627/2219-5238/2023-31-4-77-84.

Authors:

Semenov A.V., Smirnova S.S. Federal Research Institute of Viral Infections “ViroM”. 23, Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russian Federation; e-mail: info@niiivrom.ru. Ural State Medical University. 3, Repina St., Yekaterinburg, 620028, Russian Federation; e-mail: usma@usma.ru.

Egorov I.A., Zhuikov N.N. Federal Research Institute of Viral Infections “ViroM”. 23, Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russian Federation. E-mail: info@niiivrom.ru.

Об авторах:

Семенов А.В., Смирнова С.С. Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Виром». Российская Федерация, 620030, Екатеринбург, ул. Летняя, 23; e-mail: info@niiivrom.ru. Уральский государственный медицинский университет. Российская Федерация, 620028, Екатеринбург, ул. Репина, 3; e-mail: usma@usma.ru.

Егоров И.А., Жуиков Н.Н. Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Виром». Российская Федерация, 620030, Екатеринбург, ул. Летняя, 23. E-mail: info@niiivrom.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-124-130

УДК 616.932:578.347

Ю.В. Сизова, М.П. Погожова, Н.Е. Гаевская, А.В. Тюрина, А.С. Водопьянов

Биологическая и генетическая характеристика нового бактериофага, выделенного из холерных вибрионов, изолированных от больного (Москва, 2023 г.)

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

В настоящее время холера остается актуальной инфекционной болезнью, требующей поиска новых альтернативных антимикробных агентов для лечения и профилактики, в роли которых могут выступать бактериофаги. **Цель** исследования – выделение нового бактериофага из культуры холерных вибрионов, изолированных от больного в Москве в 2023 г., и характеристика его биологических и генетических свойств. **Материалы и методы.** В работе использовали токсигенный штамм *Vibrio cholerae* O1 Ogawa 21197. Для изучения биологических свойств бактериофага (морфологии негативных колоний, чувствительности к высоким и низким температурам и хлороформу, литической активности и специфичности) использовали двухслойный агаровый метод Грация. Морфологию фаговых частиц изучали в электронном микроскопе. Генетическая характеристика проведена на основе полногеномного секвенирования с использованием программ SeqAnalyzer, PhageAnalyzer 2.0, а также алгоритмов BLASTN 2.2.29 и BLASTX 2.12.0+. **Результаты и обсуждение.** Выделенный бактериофаг на питательных средах формирует прозрачные негативные колонии с неровным краем без вторичного роста и ореола. В электронной микроскопии выявлено, что бактериофаг имеет многогранную головку и короткий хвост. Фаг специфичен и обладает высокой литической активностью в отношении холерных вибрионов, выделенных от человека, чувствителен к нагреванию и устойчив к воздействию хлороформа и заморозке. Анализ результатов секвенирования показал, что бактериофаг принадлежит к классу *Caudoviricetes* семейства *Zobellviridae*, размер генома составляет 48 074 п.н. с содержанием G+C=42,7 %. Полученный геном проверен на гомологию нуклеотидной последовательности с последовательностями ДНК других бактериофагов. Обнаружено 9 геномов *Vibrio phage* семейства *Zobellviridae* класса *Caudoviricetes* с высоким процентом перекрытия, выделенных из воды в Индии.

Ключевые слова: бактериофаг, холера, биологические свойства.

Корреспондирующий автор: Сизова Юлия Владимировна, e-mail: sizova_yuv@antiplague.ru.

Для цитирования: Сизова Ю.В., Погожова М.П., Гаевская Н.Е., Тюрина А.В., Водопьянов А.С. Биологическая и генетическая характеристика нового бактериофага, выделенного из холерных вибрионов, изолированных от больного (Москва, 2023 г.). Проблемы особо опасных инфекций. 2024; 4:124–130. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-124-130

Поступила 12.07.2024. Отправлена на доработку 01.10.2024. Принята к публ. 09.10.2024.

Yu.V. Sizova, M.P. Pogozhova, N.E. Gaevskaya, A.V. Tyurina, A.S. Vodop'yanov

Biological and Genetic Characteristics of a New Bacteriophage Isolated from Cholera Vibrios from a Patient (Moscow, 2023)

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

Abstract. Currently, cholera remains a relevant infectious disease that requires new alternative antimicrobial agents for treatment and prevention, which can be bacteriophages. **The aim** of the study was to obtain a new bacteriophage from a culture of cholera vibrios isolated from a patient in Moscow in 2023, and characterize its biological and genetic properties. **Materials and methods.** The toxigenic strain *Vibrio cholerae* O1 Ogawa 21197 was used in the work. A two-layer agar Grazia method was applied to study biological properties of the bacteriophage (morphology of negative colonies, sensitivity to high and low temperatures and chloroform, lytic activity and specificity). The morphology of phage particles was studied under an electron microscope. The genetic characterization was carried out on the basis of genome-wide sequencing using the programs “SeqAnalyzer”, “PhageAnalyzer 2.0”, as well as the algorithms BLASTN 2.2.29 and BLASTX 2.12.0+. **Results and discussion.** Isolated bacteriophage forms transparent negative colonies with an uneven edge without secondary growth and halo on nutrient media. Electron microscopy revealed that the isolated bacteriophage has a multifaceted head and a short tail. The phage is specific and has high lytic activity against cholera vibrios isolated from humans, is sensitive to heat and resistant to chloroform and freezing. Analysis of the sequencing results has shown that the phage belongs to the *Caudoviricetes* class of the *Zobellviridae* family, the genome size is 48,074 bp with a G+C content=42.7 %. The resulting genome was checked for nucleotide sequence homology with DNA sequences of other bacteriophages. 9 *Vibrio phage* genomes of the *Zobellviridae* family of the *Caudoviricetes* class were found, having a high percentage of overlap, isolated out of the water in India.

Key words: bacteriophage, cholera, biological properties.

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

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

Corresponding author: Yulia V. Sizova, e-mail: sizova_yuv@antiplague.ru.

Citation: Sizova Yu.V., Pogozhova M.P., Gaevskaya N.E., Tyurina A.V., Vodop'yanov A.S. Biological and Genetic Characteristics of a New Bacteriophage Isolated from Cholera Vibrios from a Patient (Moscow, 2023). *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:124–130. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-124-130

Received 12.07.2024. Revised 01.10.2024. Accepted 09.10.2024.

Sizova Yu.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7831-7767>
Pogozhova M.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9779-3577>
Gaevskaya N.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0762-3628>

Tyurina A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9359-3997>
Vodop'yanov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>

Холера – острое инфекционное заболевание, характеризующееся диарейным синдромом и фекально-оральным механизмом передачи возбудителя, водным, пищевым и контактно-бытовыми путями распространения инфекции. Относится к группе особо опасных инфекций. Данное заболевание могут вызывать холерные вибрионы O1-серогруппы (биоваров Эль Тор и классического) и O139-серогруппы (МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры»).

За последние 30 лет в мире зарегистрировано 9 607 470 случаев холеры, из которых 45 % – в странах Азии. С 2013 по 2022 г. зарегистрированы случаи заболевания холерой в 71 стране мира, в том числе в 29 странах Азии (3 871 687 случаев – 77,4 % мировой заболеваемости), в 34 странах Африки (официально 944 298 случаев) и т.д. При этом в рассматриваемый период выявлено 1903 случая завоза болезни, в том числе в странах Азии – 1319 (69,3 %), Африки – 420 (22,1 %), Европы – 80 (4,2 %), Америки – 72 (3,8 %) и Австралии с Океанией – 12 (0,6 %) [1].

Приведенные цифры говорят о сохранении угрозы завоза холеры на территорию Российской Федерации из отдельных стран Азии, Африки и региона Карибского бассейна, где сформировались эндемичные очаги. Примером этому может служить случай выявления больного на территории Москвы. У прилетевшего в сентябре 2023 г. из Нью-Дели журналиста на фоне проявления характерного симптомокомплекса были выявлены холерные вибрионы. Обследованы все контактные лица, установлено медицинское наблюдение, включая проведение медосмотра, лабораторных обследований, антибиотикопрофилактики, однако проявлений инфекционного заболевания, как и обнаружения культуры, у обследованных не было [2]. Выделенная культура передана в Референс-центр по мониторингу за холерой на базе ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора для дальнейшей характеристики биологических и генетических свойств, в том числе возможного выделения специфического бактериофага, в рамках поиска новых альтернативных антимикробных агентов для лечения и профилактики холеры.

Впервые холерный бактериофаг был обнаружен Ф. Д'Эреллем в 1921 г. в испражнениях больного холерой на стадии выздоровления. Ученый считал, что бактериофаг играет значимую роль в процессе развития эпидемий холеры, характере течения инфекционного процесса у человека и его выздоровлении [3]. Дальнейшее изучение холерных бактериофагов показало, что они могут демонстрировать два различных жизненных цикла: в литическом жизненном цикле фаг заражает и быстро убивает клетку-хозяина, а в лизогенном цикле фаг интегрируется

в геном хозяина как профаг или существует в виде плазмид, кодирующих факторы вирулентности, внутри клетки-хозяина [4]. Поиск новых средств для лечения, профилактики и диагностики инфекционных заболеваний, в том числе холеры, в настоящее время приобрел особую актуальность в связи с увеличением числа выделений антибиотикоустойчивых и фагоустойчивых (к уже существующим диагностическим препаратам) культур. Дифференциация вирулентных или умеренных бактериофагов играет большую роль при создании диагностических и профилактических препаратов на их основе, в связи с чем необходимо знание биологических и генетических свойств применяемых бактериофагов [5, 6].

В связи с этим **цель** нашего исследования состояла в выделении нового бактериофага из культуры холерных вибрионов, изолированных от больного в Москве в 2023 г., и характеристике его биологических и генетических свойств.

Материалы и методы

В работе использовали токсигенный штамм *Vibrio cholerae* O1 Ogawa 21197, выделенный от больного с подозрением на острую кишечную инфекцию невыясненной этиологии в Москве. Свойства штамма изучали в соответствии с МУК 4.2.3745-22.

В качестве индикаторного штамма при выделении бактериофага использовали *V. cholerae* O1 Ogawa 2066/75M (*ctx⁺tcp⁺*, выделен в Индии, 1966 г.). В суточную бульонную культуру *V. cholerae* 21197 добавляли хлороформ, перемешивали, после чего пробу центрифугировали при 2000 об/мин в течение 30 мин. Полученный супернатант наносили на индикаторный штамм *V. cholerae* 2066, засеянный двухслойным методом. Посевы выращивали при 37 °C в течение 18–20 ч. Отмечали форму и величину негативных колоний, характер краев, степень прозрачности, наличие вторичного роста и зоны неполного лизиса по периферии. Моноизоляты получали последовательным трехкратным выделением из отдельных негативных колоний.

Для проведения электронной микроскопии готовый препарат после центрифугирования и добавления полиэтиленгликоля вновь центрифугировали, удаляли супернатант и растворяли осадок деионизованной водой. Контрастирование образцов на специальной основе проводили 2 % водным раствором уранилацетата. Просмотр подготовленного препарата проводили в трансмиссионном электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL) с использованием программного обеспечения iTEM-TEMimagingPlatform (ResAlta) [6].

Титр обнаруженного фага, оценку специфичности и спектра литической активности осуществляли

с помощью метода Грация (метод агаровых слоев) в соответствии с ОФС 1.7.1.0002.15 «Бактериофаги лечебно-профилактические» с использованием 181 штамма холерных вибрионов из разных источников выделения с различной генотипической характеристикой: 140 штаммов *V. cholerae* O1 биовара El Tor, 20 штаммов биовара classical, 20 штаммов *V. cholerae* O139, а также штаммы *V. methchnikovii*, *V. parahemolyticus*, *V. alginolyticus*, *Sh. dysenteriae*, *S. Typhi*, *S. paratyphi*, *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. pestis*, хранящиеся в коллекции лаборатории бактериофагов ФКУЗ Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора.

Исследуемый бактериофаг наносили дорожками на двухслойный агар Мартена с испытуемыми штаммами [7]. Чашки инкубировали в течение 18–20 ч при 37 °С. Оценку литической активности выделенного бактериофага учитывали по крестовой системе, где (+) – низкая литическая активность, (++) – образование зоны лизиса с большим количеством колоний вторичного роста бактерий, (+++) – зона лизиса с единичными колониями вторичного роста культуры, (+++++) – прозрачная зона лизиса без колоний вторичного роста [8].

Для оценки биологических свойств изучали влияние температур на холерный бактериофаг. Бульонную культуру бактериофага (10^9 БОЕ/мл) прогревали при +60 и +70 °С в течение 30 и 60 мин. Также исследовали влияние заморозки при –20 °С в течение 3 мес. с повторным замораживанием [9, 10].

Выделение ДНК холерных вибрионов и фага осуществляли в соответствии со стандартными методами [11]. При помощи флуориметра QuantiFluor контролировали количество ДНК в пробе, а качество – проведением электрофореза в 0,8 % агарозном геле. Дополнительно методом ПЦР оценивали наличие бактериальной ДНК в пробах. Геномную последовательность определяли с использованием полногеномного секвенатора Miseq (Illumina). Использование программы FastQC позволило провести оценку первичных данных, полученных при секвенировании [12]. Также использовали программу Spades 13.0 для сборки в контиги [13] и алгоритм

Trimmomatic 0.39 для корректировки ридов [14]. Анализ данных полногеномного секвенирования холерного вибриона проводили с помощью программы SeqAnalyzer (<http://antiplague.ru/seqanalyzer>).

С помощью алгоритма BLASTN 2.2.29 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) проводили сравнение полученного генома с геномными последовательностями известных холерных фагов. Присутствие генов, свойственных умеренным или вирулентным бактериофагам, оценивали при помощи созданной базы данных и программного обеспечения PhageAnalyzer 2.0 (<http://antiplague.ru/phageanalyzer/>) [6]. Используя программу BLASTX 2.12.0+ (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), проводили прогнозирование возможных функций белков [15].

Результаты и обсуждение

Первый этап исследования состоял в изучении свойств токсигенного штамма *V. cholerae* 21197. Культура характеризовалась специфическим ростом на щелочном агаре, характерной морфологией клеток, положительным оксидазным тестом, агглютинировалась холерными диагностическими сыворотками O1 до 1/1600 и Ogawa до 1/800, лизировалась диагностическим холерным бактериофагом эльтор до 10^{-3} , содержала гены *ompW*, *wbeT*, *hlyA*, *ctxA* и *ctxB7*, *cep*, *ace*, *zot*, *tcpA*, *mshA*, ICE-элемент индийского типа.

При изучении культуры на наличие лизогении и возможности использования в качестве штамм-хозяина для выделения бактериофага с применением разных индикаторных культур и методов выделения получен бактериофаг, сохранивший активность при многократных пассажах (рабочее название 5342). При культивировании на питательных средах он формирует крупные и мелкие прозрачные негативные колонии (2–5 мм) с неровным краем без вторичного роста и ореола (рис. 1, А).

При изучении морфологии бактериофага методом электронной микроскопии выявлено, что он имеет многогранную головку и короткий хвост (рис. 1, В), что позволило отнести его к подовирусам.

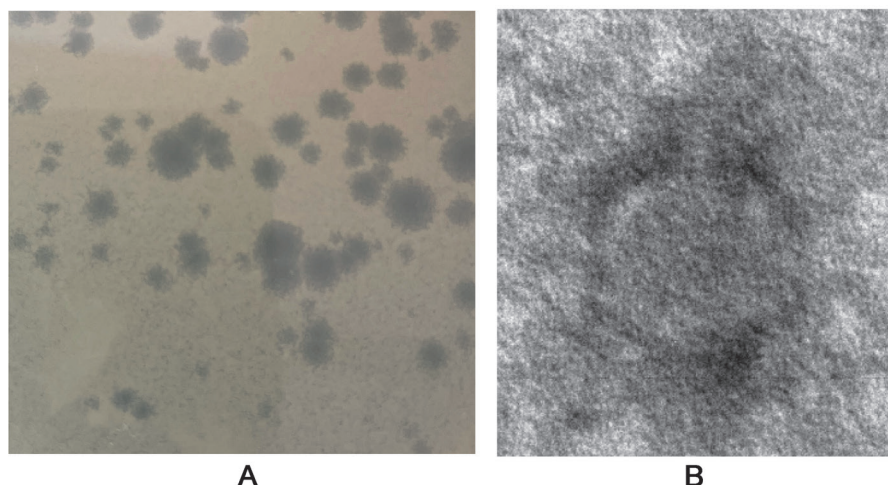


Рис. 1. Морфология бактериофага 5342:

А – морфология негативных колоний; В – морфология в электронном микроскопе (Jeol JEM 1011, увеличение 200000)

Fig. 1. Morphology of bacteriophage 5342:

А – morphology of negative colonies; В – morphology in electron microscopy (Jeol JEM 1011, magnification 200000)

Концентрация бактериофага 5342 (по Грациа) составила $3,2 \cdot 10^9$ БОЕ/мл в фаголизате, полученном при размножении на индикаторной культуре *V. cholerae* 13169 в бульоне Мартена.

Исследованный фаг устойчив к воздействию хлороформа. Изучение влияния высоких температур на полученный бактериофаг проводили при температуре +60 и +70 °C в течение 30 и 60 мин. Как показали исследования, бактериофаг плохо переносит повышенные температуры: при прогревании в течение 30 мин при +60 °C титр снизился до $2 \cdot 10^6$ БОЕ/мл, а с увеличением экспозиции до 60 мин концентрация составила $4 \cdot 10^5$ БОЕ/мл. После прогревания при +70 °C в течение 30 мин бактериофаг обнаружить не удалось.

При выяснении отношения бактериофага к низкой температуре (–20 °C) отмечено, что он не только не снижает титр после замораживания и последующего размораживания в течение месяца (рис. 2, А, В), но и неплохо переносит повторное замораживание (рис. 2, С).

При дальнейшем хранении бактериофага 5342 в условиях низкой температуры спустя 2 и 3 мес. отмечалось незначительное снижение титра: с $5 \cdot 10^9$ до $3,5 \cdot 10^9$ БОЕ/мл (2 мес.) и до $7 \cdot 10^8$ БОЕ/мл (3 мес.).

Для оценки литической активности фага в работу взяты штаммы холерных вибрионов различных серологических групп и биоваров, выделенные как от людей, так и из водных объектов окружающей среды (ООС). Исследуемый бактериофаг не лизировал культуры вибрионов, относящиеся к O139-серогруппе. В отношении классических холерных вибрионов O1-серогруппы наблюдалась низкая литическая активность, составившая 30 %. Несколько выше оказалась литическая активность *V. cholerae* O1 биовара El Tor. Она составила 43 %. Однако при проведении исследований нами учтено, что бактериофаг выделен из штамма холерных вибрионов, полученного от больного человека, в связи с чем представляло интерес проверить литическую активность в отношении

культур из разных источников. Для этого проанализирована активность бактериофага в отношении 66 штаммов, выделенных из объектов окружающей среды (вода речная, морская, сточная, ил и т.д.), и 71 штамма от людей и обнаружено, что наиболее подвержены воздействию фага именно последние – чувствительными оказались 50 штаммов *V. cholerae* El Tor, т.е. литическая активность составила 70 %, в то время как у «водных» штаммов – только 17 % (11 штаммов чувствительны к бактериофагу 5342).

Специфичность бактериофага в отношении хозяина подтверждена на большом наборе представителей семейства *Vibrionaceae* и порядка *Enterobacteriales*.

Результаты секвенирования холерного бактериофага 5342 показали, что размер генома составляет 48 074 п.н. с содержанием G+C=42,7 % и выделенный фаг принадлежит к классу *Caudoviricetes* семейства *Zobellviridae*. Полученный геном проверен на гомологию нуклеотидной последовательности с последовательностями ДНК других бактериофагов с помощью алгоритма BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) (рис. 3).

При проведении анализа обнаружено 9 геномов *Vibrio phage* семейства *Zobellviridae* класса *Caudoviricetes*, имеющих высокий процент перекрытия (от 91 до 100 %) и идентичность (от 97,73 до 99,99 %) (таблица).

Пик заболеваемости холерой в странах Южной Азии обычно коррелирует с присутствием холерных бактериофагов в водной среде. Появление вирулентных фагов в водных объектах окружающей среды совпадало с выделением фага в образцах стула больных холерой [16, 17]. Из таблицы видно 100 % покрытие и 99,99 % идентичность с ранее депонированными в GenBank фагами Saratov-12 (GenBank: MT066160.1) и Saratov-15 (GenBank: MT767883.1). Данные вирулентные фаги были выделены из воды в Индии. В настоящее время хранятся в производственной коллекции лаборатории диагностических препаратов

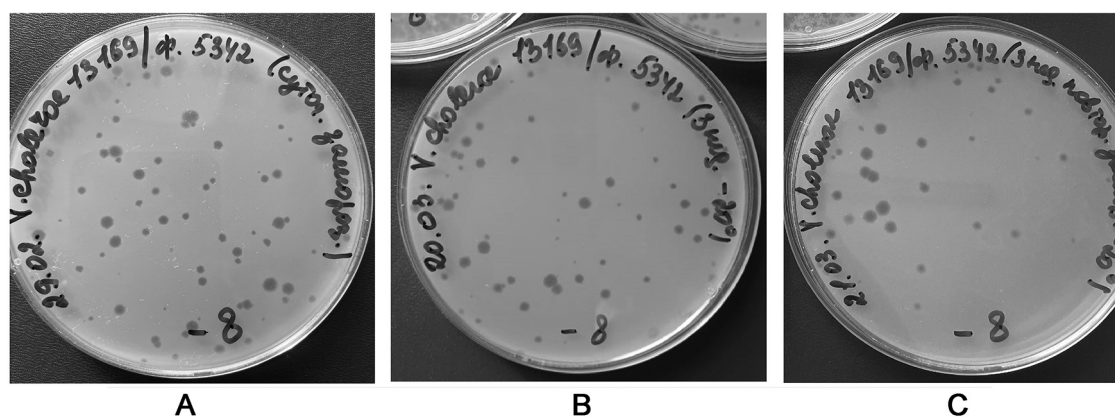


Рис. 2. Влияние низкой температуры на бактериофаг 5342:

А – через сутки при –20 °C; В – через 3 недели при –20 °C; С – через 3 недели при –20 °C и повторном замораживании

Fig. 2. The effect of low temperature on bacteriophage 5342:

А – after a day at –20 °C; В – after 3 weeks at –20 °C; С – after 3 weeks at –20 °C and repeated freezing

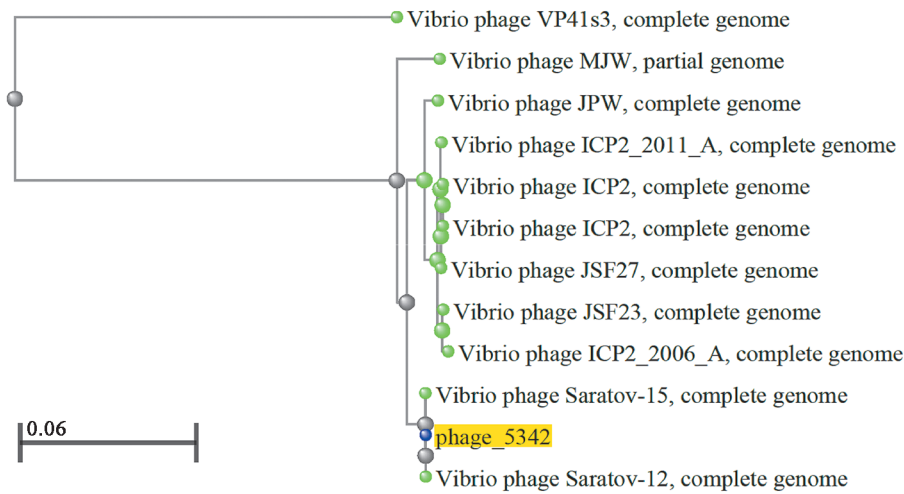


Рис. 3. Дендрограмма бактериофага 5342 в алгоритме BLAST

Fig. 3. Dendrogram of bacteriophage 5342 in the BLAST algorithm

Данные о гомологичных представителях *Vibrio phage*, предоставленные в системах BLASTN и PubMed

Data on homologous representatives of *Vibrio phage* contained in the BLASTN and PubMed systems

№ п/п No.	Название фага (№ GenBank) Name of the phage	Значимые детерминанты Significant determinants	Тип фага Phage type	Место, источник выделения Site, source of isolation	Хозяин Host	% покрытия и гомологии с фагом 5342 % coverage and homology with phage 5342
1	Saratov-12 (MT066160.1)	porphyrin biosynthesis – YP_004251213.1	Вирулентный Virulent	Индия, окружающая среда India, environment	<i>V. cholerae</i> O1 El Tor	100 и/and 99,99
2	Saratov-15 (MT767883.1)	porphyrin biosynthesis – YP_004251213.1	Вирулентный Virulent	Индия, окружающая среда India, environment	<i>V. cholerae</i> O1 El Tor	100 и/and 99,99
3	JPW (OR039881.1)	porphyrin biosynthesis – WJJ54310.1	Вирулентный Virulent	Индия, окружающая среда India, environment	<i>V. cholerae</i>	96 и/and 98,22
4	ICP2_2011_A (KM224878.1)	Нет / No	Вирулентный Virulent	Бангладеш, стул больного холерой Bangladesh, cholera patient's feces	<i>V. cholerae</i> O1 и/and O139	96 и/and 97,83
5	JSF23 (KY883657.1)	aerobic cobaltochelatase CobT subunit – ASV43738.1; aerobic cobaltochelatase CobS subunit – ASV43739.1	Вирулентный Virulent	Бангладеш, окружающая среда Bangladesh, environment	<i>V. cholerae</i> O1 El Tor	96 и/and 97,76
6	ICP2 (NC_015158.1)	CobS, porphyrin biosynthesis – YP_004251213.1; aerobic cobaltochelatase CobT subunit – YP_004251212.1	Вирулентный Virulent	Бангладеш, стул больного холерой Bangladesh, cholera patient's feces	<i>V. cholerae</i> O1 и/and O139	92 и/and 97,83
7	ICP2_2013_A_Haiti (NC_024791.1)	aerobic cobaltochelatase CobT subunit – YP_009056252.1; porphyrin biosynthesis – YP_009056253.1	Вирулентный Virulent	Гаити, стул больного холерой Haiti, cholera patient's feces	<i>V. cholerae</i> O1 и/and O139	92 и/and 84,90
8	JSF27 (KY883658.1)	aerobic cobaltochelatase CobT subunit – ASV43834.1; aerobic cobaltochelatase CobS subunit – ASV43835.1	Вирулентный Virulent	Бангладеш, окружающая среда Bangladesh, environment	<i>V. cholerae</i> O1 El Tor	91 и/and 97,94
9	ICP2_2006-A (HQ641346.1)	putative cobalamin biosynthesis protein CobT – ADX87791.1; putative cobalamin biosynthesis protein CobS – ADX87792.1	Вирулентный Virulent	Бангладеш, стул больного холерой Bangladesh, cholera patient's feces	<i>V. cholerae</i> O1 и O139	91 и/and 97,73

ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора и входят в состав коммерческого диагностического препарата бактериофага холерного эльтор. Высокая степень гомологии *Vibrio phage*, представленных в таблице, и фага 5342 объяснима тем, что они имеют общее происхождение, поскольку циркулировали в одном географическом регионе, хоть и в разные промежутки времени.

Особенностью генома фага 5342 является заложенная в нем информация, в том числе кодирующая предполагаемый белок, который принимает участие в биосинтезе кобаламина (витамина B12), представляющего собой структурно сложный кофактор, синтезируемый бактериями и необходимый для выработки ферментов бактерий, простейших и животных [18], с номером доступа GenBank: ADX87791.1, а также субъединицу кобальт-хелатазы CobT (aerobic cobaltochelatase CobT subunit, GenBank: YP_004251212.1) с гомологией 99 %.

Предположительно, эти метаболические ферменты улучшают метаболизм инфицированной бактериальной клетки, тем самым способствуя увеличению пролиферации фага. Также в геноме фага 5342 идентифицирован с гомологией 100 % вирионный белок pb (porphyrin biosynthesis, GenBank: YP_004251213.1), отвечающий за распознавание и связывание с клеточными рецепторами внешней мембраны энтеробактерий, представленными крупными трансмембранными белками-транспортерами, участвующими в переносе ионов металлов (железа, кобальта) в составе белковых и порфириновых комплексов [16, 19]. Детерминанты CobS/CobT и pb взаимосвязаны и способствуют успешному прикреплению фага к клетке-мишени. Они обнаружены практически у всех фагов, гомологичных 5342, независимо от времени и источника выделения (стул больного холерой или окружающая среда).

В результате биоинформационного анализа при помощи программы PhageAnalyzer и алгоритма BLASTX установлено, что выделенный бактериофаг является вирулентным, как и холерные бактериофаги, гомологичные ему, поражающие преимущественно клинические изоляты *V. cholerae*, выделенные от пациентов [16, 17], что является общим биологическим свойством.

Таким образом, в рамках поиска альтернативных антимикробных агентов для лечения и профилактики холеры выделен новый вирулентный бактериофаг, проведены оценка его биологических свойств и генетическая характеристика.

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

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

Список литературы

1. Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Соболева Е.Г., Чемисова О.С.,

Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Меньшикова Е.А., Подойницына О.А., Ежова М.И., Евтеев А.В. Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:56–66. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66.

2. Вспыхнет ли эпидемия? Журналист пула МИД РФ заразился холерой и привез ее в Москву. [Электронный ресурс]. URL: <https://msk1.ru/text/health/2023/09/22/72733892/?ysclid=lt8j7kdcx5532579309> (дата обращения 03.06.2024).

3. Д'Эрелль Ф. Бактериофаг и феномен выздоровления. Тифлис: Изд-во Тифлис. гос. ун-та; 1935. 262 с.

4. Faruque S.M. Role of phages in the epidemiology of cholera. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2014; 379:165–80. DOI: 10.1007/82_2013_358.

5. Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Погожова М.П., Аноприенко А.О. Аспекты конструирования экспериментальных профилактических препаратов на основе холерных бактериофагов. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова*. 2021; 17(3):60–8.

6. Погожова М.П., Гаевская Н.Е., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Аноприенко А.О., Романова Л.В., Тюрина А.В. Биологические свойства и генетическая характеристика экспериментальных диагностических бактериофагов *Vibrio cholerae*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(3):290–7. DOI: 10.36233/0372-9311-39.

7. Адамс М. Бактериофаги. М.: Изд-во иностр. лит-ры; 1961. 527 с.

8. Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике. Методические рекомендации. М.; 2014. 32 с.

9. Кудрякова Т.А., Евтеева Е.И., Македонова Л.Д., Саямов С.Р., Дудкина О.В., Смирнова Е.В. Изучение биологических свойств холерных фагов и штаммов вибрионов Эль-Тор, выделенных из внешней среды Донецка. *Гигиена и санитария*. 1993; 12:14–7.

10. Гаевская Н.Е., Кудрякова Т.А., Македонова Л.Д., Качкина Г.В. Идентификация и дифференциация бактериофагов патогенных для человека вибрионов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 4:62–4.

11. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии: Молекулярное клонирование. Пер. с англ. под ред. А.А. Баева, К.Г. Скрыбина. М.: Мир; 1984. 479 с.

12. Andrews S. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. 2010. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>.

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

14. 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.

15. Погожова М.П., Гаевская Н.Е., Тюрина А.В., Аноприенко А.О. Создание коллекции фагов патогенных вибрионов и ее применение в диагностических и профилактических целях. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова*. 2023; 19(3):37–45.

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

17. Seed K.D., Yen M., Shapiro B.J., Hilaire I.J., Charles R.C., Teng J.E., Ivers L.C., Boncy J., Harris J.B., Camilli A. Evolutionary consequences of intra-patient phage predation on microbial populations. *Elife*. 2014; 3:e03497. DOI: 10.7554/eLife.03497.

18. Rodionov D.A., Vitreschak A.G., Mironov A.A., Gelfand M.S. Comparative genomics of the vitamin B12 metabolism and regulation in prokaryotes. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(42):41148–59. DOI: 10.1074/jbc.M305837200.

19. Flayhan A., Wien F., Paternostre M., Boulanger P., Breyton C. New insights into pb5, the receptor binding protein of bacteriophage T5, and its interaction with its *Escherichia coli* receptor FhuA. *Biochimie*. 2012; 94(9):1982–9. DOI: 10.1016/j.biochi.2012.05.021.

References

1. Noskov A.K., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., Mironova L.V., Monakhova E.V., Soboлева E.G., Chemisova O.S., Vodop'yanov A.S., Lopatin A.A., Ivanova S.M., Men'shikova E.A., Podoyitsyna O.A., Ezhova M.I., Evteev A.V. [Cholera: analysis and assessment of the epidemiological situation in the world and Russia. Forecast for 2023]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (1):56–66. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66.

2. Will an Epidemic Break Out? A Russian Foreign Ministry Pool Journalist Contracted Cholera and Brought It to Moscow. (Cited 03 June 2024). [Internet]. Available from: <https://mskl.ru/text/health/2023/09/22/72733892/?ysclid=lt8j7kdcxs532579309>.
3. D'Herelle F. [Bacteriophage and the Phenomenon of Recovery]. Tiflis: Publishing house of Tiflis State University; 1935. 262 p.
4. Faruque S.M. Role of phages in the epidemiology of cholera. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2014; 379:165–80. DOI: 10.1007/82_2013_358.
5. Tyurina A.V., Gaevskaya N.E., Pogozhova M.P., Anoprienko A.O. [Aspects of designing experimental prophylactic drugs based on cholera bacteriophages]. *Vestnik Biotekhnologii i Fiziko-Khimicheskoi Biologii imeni Yu.A. Ovchinnikova [Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov]*. 2021; 17(3):60–8.
6. Pogozhova M.P., Gaevskaya N.E., Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Anoprienko A.O., Romanova L.V., Tyurina A.V. [Biological properties and genetic characteristics of experimental diagnostic bacteriophages of *Vibrio cholerae*]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2021; 98(3):290–7. DOI: 10.36233/0372-9311-39.
7. Adams M. [Bacteriophages]. Moscow: Publishing House of Foreign Literature; 1961. 527 p.
8. [Rational Use of Bacteriophages in Medical and Anti-Epidemic Practice. Methodological Recommendations]. Moscow; 2014. 32 p.
9. Kudryakova T.A., Evteeva E.I., Makedonova L.D., Sayamov S.R., Dudkina O.V., Smirnova E.V. [Study of biological properties of cholera phages and El Tor vibrio strains isolated from the external environment of Donetsk]. *Gigiena i Sanitariya [Hygiene and Sanitation]*. 1993; (12):14–7.
10. Gaevskaya N.E., Kudryakova T.A., Makedonova L.D., Kachkina G.V. [Identification and differentiation of bacteriophages of vibrios pathogenic for humans]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2015; (4):62–4.
11. Maniatis T., Fritsch E., Sambrook J. [Methods of Genetic Engineering: Molecular Cloning]. Translated from English, edited by Baev A.A., Skryabin K.G. Moscow: "Mir"; 1984. 479 p.
12. Andrews S. [FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data]. 2010. [Internet]. Available from: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>.
13. 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.
14. 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.
15. Pogozhova M.P., Gaevskaya N.E., Tyurina A.V., Anoprienko A.O. [Creation of a collection of pathogenic vibrio phages and its use for diagnostic and prophylactic purposes]. *Vestnik Biotekhnologii i Fiziko-Khimicheskoi Biologii imeni Yu.A. Ovchinnikova [Bulletin of Biotechnology and Physical-Chemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov]*. 2023; 19(3):37–45.
16. Seed K.D., Bodi K.L., Kropinski A.M., Ackermann H.W., Calderwood S.B., Qadri F., Camilli A. Evidence of a dominant lineage of *Vibrio cholerae*-specific lytic bacteriophages shed by cholera patients over a 10-year period in Dhaka, Bangladesh. *mBio.* 2011; 2(1):e00334–10. DOI: 10.1128/mBio.00334–10.
17. Seed K.D., Yen M., Shapiro B.J., Hilaire I.J., Charles R.C., Teng J.E., Ivers L.C., Boncy J., Harris J.B., Camilli A. Evolutionary consequences of intra-patient phage predation on microbial populations. *Elife.* 2014; 3:e03497. DOI: 10.7554/eLife.03497.
18. Rodionov D.A., Vitreschak A.G., Mironov A.A., Gelfand M.S. Comparative genomics of the vitamin B12 metabolism and regulation in prokaryotes. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(42):41148–59. DOI: 10.1074/jbc.M305837200.
19. Flayhan A., Wien F., Paternostre M., Boulanger P., Breyton C. New insights into pb5, the receptor binding protein of bacteriophage T5, and its interaction with its *Escherichia coli* receptor FhuA. *Biochimie.* 2012; 94(9):1982–9. DOI: 10.1016/j.biochi.2012.05.021.

Authors:

Sizova Yu.V., Pogozhova M.P., Gaevskaya N.E., Tyurina A.V., Vodop'yanov A.S. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

Об авторах:

Сизова Ю.В., Погужова М.П., Гаевская Н.Е., Тюрина А.В., Водопьянов А.С. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-131-138

УДК 579.841.95:579

В.М. Сорокин, Н.В. Павлович, М.В. Цимбалистова, Н.В. Аронова,
А.С. Водопьянов, Р.В. Писанов, А.К. Носков

Пространственно-временной анализ популяции возбудителя туляремии в Ростовской области, ДНР, ЛНР и на Украине с 1943 по 2023 год

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

Цель исследования – пространственно-временной ретроспективный и оперативный генетический анализ популяции возбудителя туляремии в Ростовской области (РО), Донецкой (ДНР), Луганской (ЛНР) народных республиках и на Украине в период с 1943 по 2023 г. **Материалы и методы.** Использовали штаммы *Francisella tularensis*, выделенные на территории РО, ДНР, ЛНР и на Украине в период с 1943 по 2023 г. VNTR-генотипирование проводили по пяти локусам. Кластерный анализ и построение филогенетического дерева проводили с использованием программы GrapeTree (алгоритмы NJ и MST). Полногеномное секвенирование осуществляли на платформе MiSeq Illumina. Сборку геномов, представленных в виде ридов, проводили с использованием программы Spades. **Результаты и обсуждение.** Проведен сравнительный анализ VNTR-генотипов 72 штаммов *F. tularensis*, из них 35 штаммов, выделенных из различных природных очагов России и, в частности, в РО с 1928 по 2023 г., 11 штаммов – из ДНР и ЛНР (2022–2023 гг.) и 26 штаммов из коллекции Ростовского-на-Дону противочумного института, изолированных на территории Украины с 1949 по 1990 г. У изученных штаммов выявлено 20 индивидуальных генотипов, распределенных по трем клональным комплексам (CC1 – CC3). Молекулярно-генетический анализ штаммов *F. tularensis* позволил выявить три клональных комплекса возбудителя туляремии (CC1 – CC3), циркулирующих на изученных территориях. Все они присутствуют на территории РО и только комплекс CC2 проявляет географическую приуроченность к южным районам РО. Штаммы, выделенные на территории Западной Украины до 90-х гг. прошлого столетия, принадлежат исключительно к комплексу CC3. Судя по широте распространения и разнообразию генотипов, популяция штаммов комплексов CC3 и CC1 существует на изученных территориях длительное время. Штаммы одного генотипа могут обнаруживаться в эндемичных районах в течение 80 лет и на расстоянии около 1000 км друг от друга. Напротив, популяция комплекса CC2 является самой недавней по времени происхождения и территориально ограничена территорией РО. Географические данные о происхождении клонов – предшественников клональных комплексов возбудителя туляремии CC1 и CC3 позволяют предположить расширение генетического разнообразия популяции возбудителя туляремии с востока на запад.

Ключевые слова: *Francisella tularensis*, VNTR, полногеномное секвенирование, филогенетический анализ.

Корреспондирующий автор: Сорокин Владимир Михайлович, e-mail: sorokin_vm@antiplague.ru.

Для цитирования: Сорокин В.М., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Аронова Н.В., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Носков А.К. Пространственно-временной анализ популяции возбудителя туляремии в Ростовской области, ДНР, ЛНР и на Украине с 1943 по 2023 год. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:131–138. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-131-138

Поступила 08.07.2024. Отправлена на доработку 14.08.2024. Принята к публ. 19.08.2024.

V.M. Sorokin, N.V. Pavlovich, M.V. Tsimbalistova, N.V. Aronova, A.S. Vodop'yanov, R.V. Pisanov,
A.K. Noskov

Spatio-Temporal Analysis of the Tularemia Agent Population in the Rostov Region, DPR, LPR and Ukraine from 1943 to 2023

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

Abstract. The aim of the study was to conduct spatio-temporal retrospective and operational genetic analysis of the tularemia agent population in the Rostov Region, Donetsk People's Republic (DPR), Lugansk PR and Ukraine in the period of 1943–2023. **Materials and methods.** We used *Francisella tularensis* strains isolated in the Rostov Region (RR), DPR, LPR and Ukraine between 1943 and 2023. VNTR genotyping was performed by 5 loci. Cluster analysis and construction of a phylogenetic tree were carried out using the GrapeTree software (NJ and MST algorithms). Whole-genome sequencing was performed on the MiSeq Illumina platform. The assembly of genomes in the form of reads was carried out using the Spades program. **Results and discussion.** A comparative analysis of the VNTR genotypes in 72 *F. tularensis* strains has been conducted: 35 strains isolated from various natural foci of Russia and the Rostov Region in particular from 1928 to 2023, 11 strains from the DPR and LPR (2022–2023) and 26 strains from the collection of the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute, isolated on the territory of Ukraine from 1949 to 1990. In the studied strains, 20 individual genotypes have been identified, distributed among three clonal complexes (CC1 – CC3). Molecular-genetic analysis of *F. tularensis* strains has made it possible to identify three clonal complexes of tularemia agent (CC1 – CC3), circulating in the studied areas. All of them are present on the territory of the RR and only complex CC2 shows a geographic confidedness to the southern areas of the RR. Strains isolated in western Ukraine before the 1990s belong exclusively to the CC3 complex. Judging by the range of distribution and diversity of genotypes, the population of strains of the CC3 and CC1 complexes has been existing for a long time in the studied areas. Strains of the same genotype can be found in endemic areas for up to 80 years and at a distance of about 1000 km from each other. On the contrary, the population of

the CC2 complex is the most recent in time of origin and is geographically limited to the territory of RR. Geographic data on the origin of the CC1 and CC3 progenitor clones of the tularemia agent clonal complexes suggest an expansion of the genetic diversity of tularemia agent population from east to west.

Key words: *Francisella tularensis*, VNTR, whole genome sequencing, phylogenetic analysis.

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

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

Corresponding author: Vladimir M. Sorokin, e-mail: sorokin_vm@antiplague.ru.

Citation: Sorokin V.M., Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Aronova N.V., Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Noskov A.K. Spatio-Temporal Analysis of the Tularemia Agent Population in the Rostov Region, DPR, LPR and Ukraine from 1943 to 2023. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:131–138. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-131-138

Received 08.07.2024. Revised 14.08.2024. Accepted 19.08.2024.

Sorokin V.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1835-1496>

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

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

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

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

Pisanov R.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7178-8021>

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

Туляремия относится к природно-очаговым инфекциям, эндемичные очаги которой широко распространены в Северном полушарии, включая Россию. Несмотря на безусловные успехи в борьбе с этим заболеванием, связанные с введением массовой иммунизации населения, периодические спорадические и эпидемические вспышки туляремии у людей в различных районах не снимают проблему с повестки дня. Более того, в последние годы регистрируются тревожные тенденции как к расширению ареала циркуляции туляремийного микроба, так и к появлению штаммов, не характерных для данного региона. В странах Северной Европы, несмотря на большое сходство климатических, ландшафтных и других природных условий, выявлено значительное генетическое разнообразие популяций *Francisella tularensis* subsp. *holarctica*, представленных тремя основными генетическими группами: В.4, В.6 (биовар Ery^S) и В.12 (биовар Ery^R) – с различным географическим распределением. Норвежские штаммы примерно одинаково распределены по этим филогенетическим группам, тогда как более 90 % финских штаммов принадлежат к группе В.12. Таким образом, генетическое разнообразие *F. tularensis* возрастает в направлении с востока на запад [1].

Распространение штаммов группы В.12 в Евразии носит глобальный характер, в частности на европейской территории они преобладают в Восточной Европе, а в Западной Европе доминируют представители группы В.6. В Центральной Европе циркулируют как штаммы генотипа В.12, так и В.6. В настоящее время наблюдается процесс продвижения популяции *F. tularensis*, принадлежащей к генетической группе В.12, с востока на запад. В Швейцарии проведено масштабное исследование штаммов *F. tularensis*, выделенных в 1996–2013 гг. Как оказалось, вплоть до 2012 г. на территории страны изолировали только Ery^S-штаммы возбудителя туляремии подгруппы В.FTNF002-00 (В.10), входящей в группу В.6. В то же время уже в 2013 г. было отмечено появление Ery^R-штаммов группы В.12 и их совместная циркуляция с Ery^S-штаммами в трех кантонах Швейцарии [2]. В России зафиксирован процесс

расширения ареала популяции подвида *F. tularensis mediasiatica*. Так, в 2013 г. были опубликованы данные о первом выделении штаммов среднеазиатского подвида на территории Алтайского края [3], что может свидетельствовать либо о слабой изученности очагов туляремии, либо о дрейфе среднеазиатских штаммов в сторону Сибири. В дальнейшем возбудитель туляремии среднеазиатского подвида был изолирован более чем в 500 км восточнее, а именно в Красноярском крае [4]. По мнению D. Orlov *et al.* [5], процесс существенного потепления климата будет сопровождаться постепенным вовлечением северных территорий, изменением паразитарной системы и возможным изменением фенотипических и генетических свойств возбудителя. Поэтому изучение вопросов филогеографии туляремийного микроба представляет не только практический, но и научный интерес, так как позволяет оценить эволюционные процессы *F. tularensis* в современных условиях. При проведении генетического мониторинга природных очагов туляремии в Ростовской области (РО) в 2020–2023 гг. нами подтверждено существование общего очага на территории РО, Донецкой (ДНР) и Луганской (ЛНР) народных республик [6]. Полученные результаты послужили основанием для дальнейшего изучения популяции возбудителя туляремии на географически удаленных территориях и в течение длительного времени.

Цель исследования – пространственно-временной ретроспективный и оперативный генетический анализ популяции возбудителя туляремии в Ростовской области, ДНР, ЛНР и на Украине в период с 1943 по 2023 г.

Материалы и методы

Бактерии *F. tularensis* выращивали на среде Т в течение 24 ч при 37 °С. Культурально-морфологические, биохимические и биологические свойства туляремийного микроба изучали в соответствии с МУ 3.1.2007-05 «Эпидемиологический надзор за туляремией» (2005 г.). Антибиотикочувствительность исследуемых культур изучали диско-диффузионным

методом согласно МУК 4.2.2495-09 «Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллез, сепсис, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам» (2009 г.). Полногеномное секвенирование проводили на платформе MiSeq Illumina. Сборку геномов, представленных в виде ридов, осуществляли с использованием программы Spades. Алгоритм выбора SNP для анализа WGS описан ранее [7]. VNTR-генотипирование проводили по пяти локусам, как описано ранее [6].

Результаты и обсуждение

Сравнительный анализ VNTR-генотипов проведен для 72 штаммов *F. tularensis*, из них 35 штаммов, выделенных из различных природных очагов России и, в частности, в РО с 1928 по 2023 г., 11 штаммов – из ДНР и ЛНР (2022–2023 гг.) и 26 штаммов из коллекции Ростовского-на-Дону противочумного института, изолированных на территории Украины с 1949 по 1990 г. Туляремия является эндемичной инфекцией для территории Украины, на которой зарегистрирован 51 природный очаг. Из них наиболее активные расположены в Волынской, Ровенской, Полтавской, Черниговской и Сумской областях (рис. 1) [8].

В период с 1941 по 2008 г. на территории Украины было выделено 3086 штаммов *F. tularensis* в 1084 географических пунктах. За пять лет (2012–2017 гг.) зарегистрировано 18 случаев

заболевания людей – в Волынской, Сумской, Киевской и Черкасской областях [9]. Вакцинация против туляремии прекратилась в стране в 1991 г., после распада СССР. В настоящее время иммунопрофилактика проводится гражданским лицам, а также военнослужащим, находящимся в эпидемически неблагоприятных районах ДНР и ЛНР [10]. Сведения о генотипировании «украинских» штаммов в доступной литературе отсутствуют. Проведенное исследование показало, что все изученные нами штаммы принадлежат к подгруппе B.12 подвида *holarctica* Ery^R. VNTR-генотипирование по пяти локусам позволило выявить у 72 изученных штаммов 20 индивидуальных генотипов (рис. 2).

Общепринятым методом выявления клональных комплексов является метод MST (minimum spanning tree). При анализе VNTR-генотипов методом MST (рис. 3) выявлено три клональных комплекса (CC1 – CC3), все они присутствуют на территории РО и только комплекс CC2 проявляет географическую приуроченность к южным районам РО (Азовский, Орловский, Целинский, Сальский, Ремонтненский районы) (рис. 4). Следует особо подчеркнуть, что циркуляция штаммов комплекса CC2 регистрируется в течение длительного времени – с 1949 по 2023 г.

Центральным клоном – предшественником клонального комплекса CC1 является генотип типового штамма 503, выделенного в России до 1980-х гг. Позднее этот же генотип обнаружен у штаммов, выделенных в Калмыкии в 1987 г. и Одессе в 1990 г.

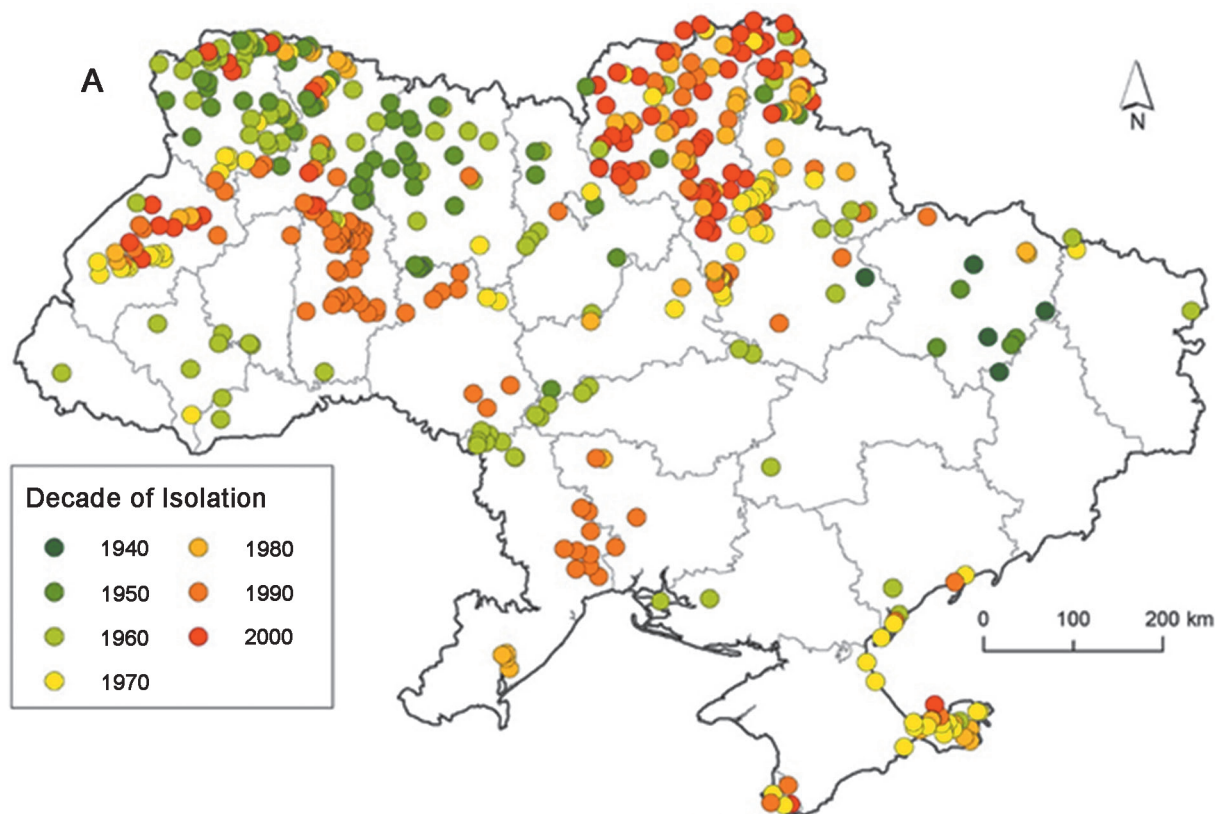


Рис. 1. Территориальное распределение точек выделения культур туляремиального микроба на Украине с 1940 по 2000 г. [8]

Fig. 1. Territorial distribution of points of isolation of *F. tularensis* cultures in Ukraine from 1940 to 2000 [8]

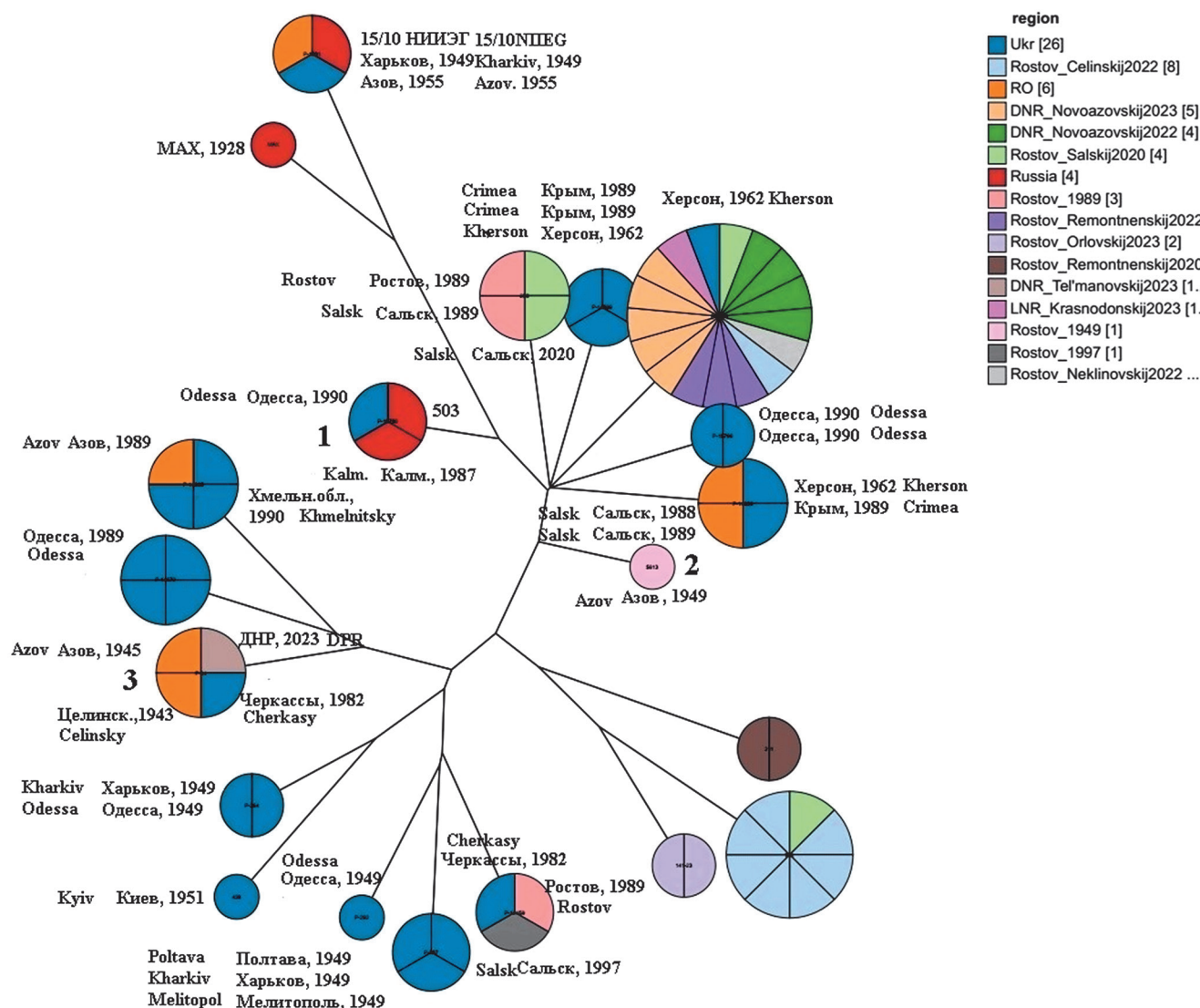


Рис. 2. Филогенетическое дерево VNTR-генотипов 72 штаммов *F. tularensis*, принадлежащих к подгруппе B.12, построенное по алгоритму NJ (генотипы клонов-предшественников обозначены цифрами)

Fig. 2. Phylogenetic tree of VNTR genotypes of 72 *F. tularensis* strains belonging to subgroup B.12, constructed using the NJ algorithm (genotypes of predecessor clones are indicated by numbers)

Дочерние клоны получили распространение как в РО, так и на Восточной Украине.

По такому же сценарию происходило распространение клонального комплекса СС3. Центральным клоном-предшественником является генотип штамма Р-37, выделенного в Целинском районе РО в 1943 г., штамма Р-34, выделенного в Азовском районе РО в 1945 г. и позднее в Черкасской области Украины в 1982 г. и ДНР в 2023 г.

Штаммы генотипа 3 (СС3) выделяются на разных территориях в течение 80 лет (1943, 1982 и 2023 гг.), причем точки их выделения находятся на максимальном расстоянии друг от друга около 1000 км (Целинский район РО и Черкасская область Украины). Полученные результаты еще раз подтверждают стабильность природных очагов туляремии и необходимость их постоянного мониторинга. На одной и той же территории, а именно в Сальском районе, отмечено выделение штаммов

одного генотипа (СС1) с разницей во времени около 30 лет. Таким образом, штаммы одного генотипа могут циркулировать не только на больших расстояниях (более 1000 км), но и в течение длительного времени (до 80 лет). Возможность выделения штаммов одного генотипа на удаленных территориях и на протяжении длительного времени была отмечена и в других географических зонах Северного полушария. Исследование популяции *F. tularensis* в Скандинавии выявило большое генетическое разнообразие штаммов трех подгрупп (В.4, В.6 и В.12). Также зарегистрировано появление идентичных клональных комплексов на значительном расстоянии (>600 км) или с разницей во времени (>11 лет) [1]. Необходимо отметить выявленные различия в географическом распределении клональных комплексов. Так, на территории Западной Украины были выделены исключительно штаммы комплекса СС3 (1949–1990 гг.). Восточнее, а именно в Харькове (1949 г.) и Одессе

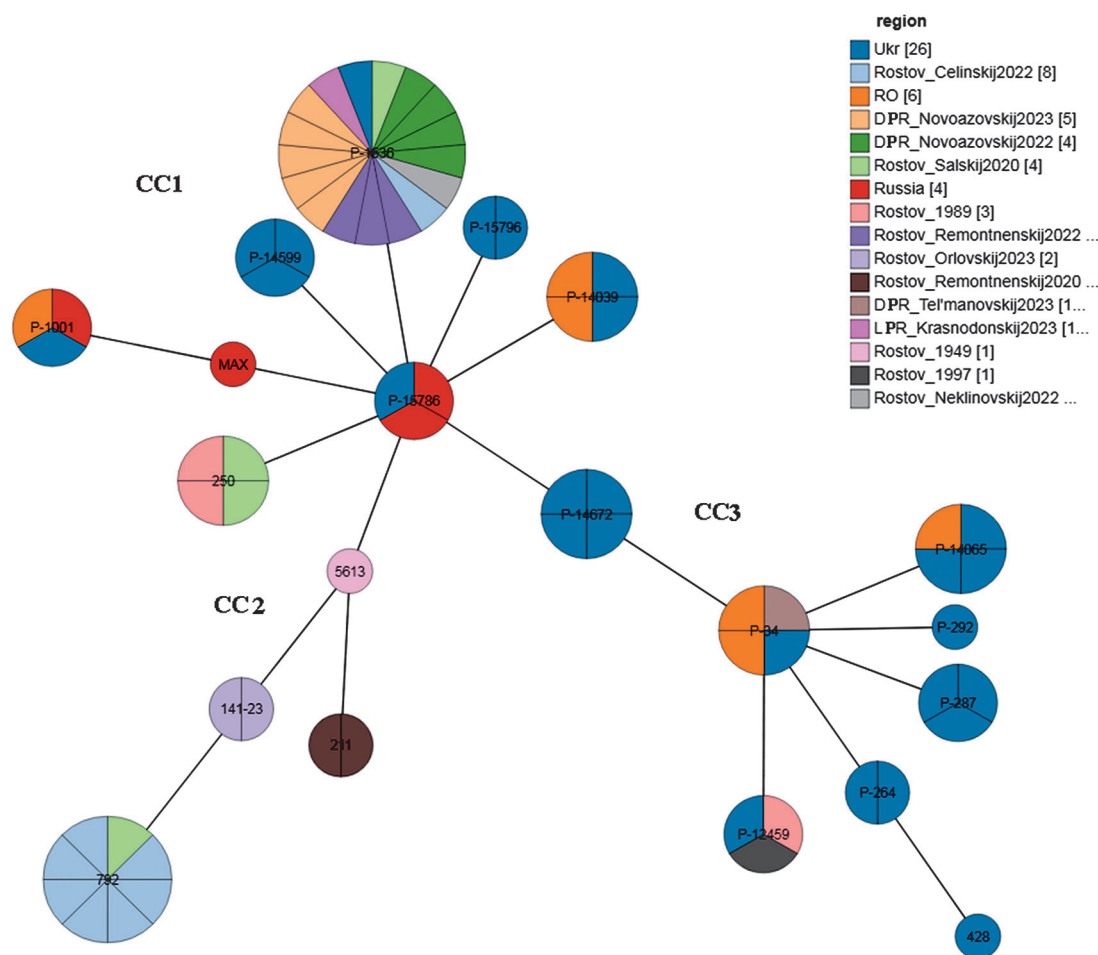


Рис. 3. Структура клональных комплексов *F. tularensis*, определенная методом MST (minimum spanning tree)

Fig. 3. Structure of clonal complexes of *F. tularensis* determined by the MST (minimum spanning tree) method

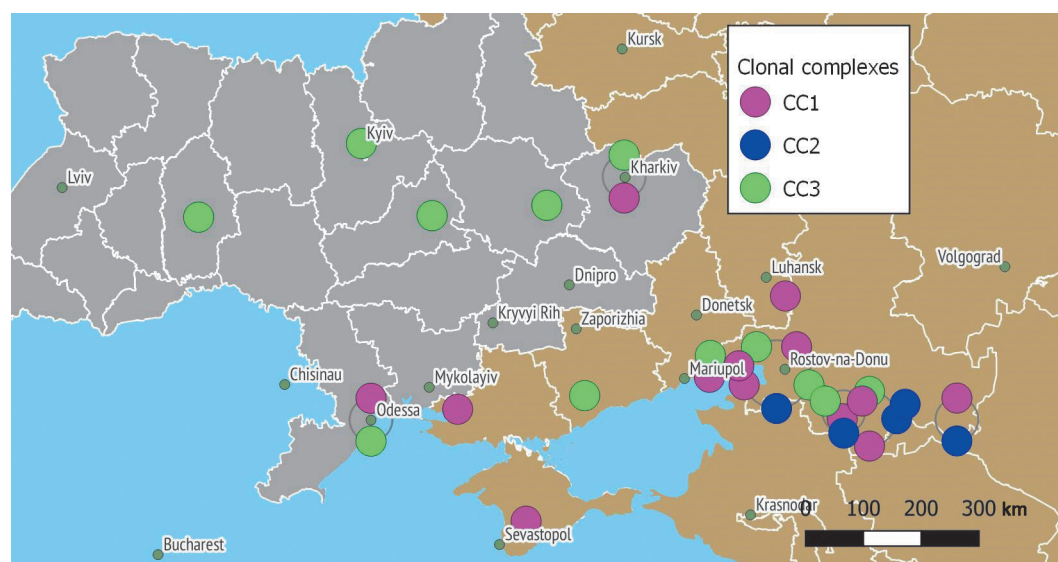


Рис. 4. Пространственное распределение клональных комплексов *F. tularensis* в регионах России и на Украине

Fig. 4. Spatial distribution of clonal complexes of *F. tularensis* in regions of Russia and Ukraine

(1990 г.), наряду с комплексом CC3 появляются и штаммы комплекса CC1.

На локальное разнообразие штаммов тулярийного микроба влияют два различных фактора: во-первых, локальный фактор, ограничивающий распространение, при котором бактерии накапливают генетическое разнообразие и циркулируют на ограниченной территории; и, во-вторых, компонент

перемещения на большие расстояния, что приводит к импорту генетического разнообразия и выявлению очень схожих генотипов на значительных расстояниях [11]. В результате проведенного нами анализа установлено, что клональный комплекс CC2 ограничен территорией РО, штаммы комплекса CC3 выявляются на всех описанных территориях, а комплекс CC1 распространяется на территории от востока

РО до новых регионов РФ и Восточной Украины. Детальное изучение состава комплекса СС1 показало наличие удаленного от центрального клона варианта VNTR-генотипа, общего для вакцинного штамма 15 НИИЭГ и природных штаммов Р-265 и Р-1001, выделенных в Харьковской области в 1949 г. и Азовском районе РО в 1955 г. На этой же генетической линии, но ближе к центральному клону, расположен штамм МАХ, выделенный в России в 1928 г. и отличающийся, по данным Е.А. Нарышкиной и соавт. [12], от вакцинного штамма 15 НИИЭГ на 15 коровых SNPs. При анализе результатов полногеномного секвенирования удалось обнаружить наличие у штаммов Р-265 и Р-1001 одной из двух делеций, описанных у вакцинного штамма, а именно делеции в области RD18. Таким образом, нами выявлены природные штаммы *F. tularensis* с генетической структурой, близкой к таковой вакцинного штамма 15 НИИЭГ. Влияние этих генетических изменений на вирулентность природных штаммов еще предстоит выяснить. Возвращаясь к структуре клональных комплексов, нужно отметить, что штаммы из коллекции института, выделенные на территории Западной Украины до 90-х гг. прошлого столетия, принадлежат исключительно к комплексу СС3. Принимая во внимание происхождение клона-предшественника, широту распространения и разнообразие генотипов, популяция штаммов комплекса СС3 циркулирует на изученных территориях длительное время. Напротив, популяция комплекса СС2 является самой недавней по времени происхождения и территориально ограничена территорией РО. Полученные данные позволяют предположить расширение генетического разнообразия популяции возбудителя туляремии с востока на запад, подобно процессу, происходящему в европейских странах [11, 13–15]. На территории Франции выявлено несколько пространственно-временных кластеров возбудителя туляремии и показано расширение одного из них с течением времени на территорию Испании [14]. Это согласуется с гипотезой персистенции *F. tularensis* в окружающей среде и медленными темпами репликации микроба в межэпизотический период. Выделение штаммов с идентичными генотипами в течение длительных периодов времени на одной территории подтверждает эту гипотезу, а их появление на удаленных друг от друга территориях предполагает возможность распространения бактерий на большие расстояния. Ключевыми резервуарами и хозяевами *F. tularensis* считаются мелкие грызуны и зайцеобразные, которые и служат основным источником инфицирования человека [16, 17]. Членистоногие (особенно клещи) и окружающая среда также могут быть долгосрочным резервуаром *F. tularensis*. В Европе для штаммов *F. tularensis* описаны два жизненных цикла (наземный и водный) [17, 18]. Особого внимания заслуживает тот факт, что все большую роль в сохранении туляремийного микроба в природе приобретают водные экосистемы [19–22].

Механизмы распространения штаммов *F. tularensis* на большие расстояния до сих пор мало изучены. Одной из возможностей является перенос возбудителя туляремии инфицированными домашними или дикими животными. Известно, что в настоящее время *F. tularensis* subsp. *holarctica* демонстрирует широкое генетическое разнообразие в европейских странах. Штаммы основной группы В.6 (биовар I, Ery^S) преобладают в Западной Европе, а штаммы группы В.12 (биовар II, Ery^R) преимущественно распространены в Северо-Восточной Европе [23]. В странах Центральной Европы в последние годы отмечено появление штаммов группы В.12 и их сегрегация со штаммами группы В.6 [2, 15]. Возможной причиной распространения клонов группы В.12 в Германии и Швейцарии является импорт из стран Восточной Европы поголовья зайцев, предназначенных для охотничьих угодий и инфицированных штаммами группы В.12. Важным преимуществом для продвижения штаммов этой группы в западном направлении является их сниженная вирулентность по сравнению со штаммами группы В.6 [24]. Расширение ареала популяции возбудителя туляремии может быть обусловлено также ветровыми потоками. Известное свойство возбудителя быть частью аэрозоля наряду со способностью к длительному выживанию в окружающей среде обеспечивает ему возможность распространения на большие расстояния, подобно другим микробным популяциям [25, 26]. Перенос клещей, инфицированных бактериями *F. tularensis*, на очень большие расстояния может быть обусловлен миграционными потоками перелетных птиц [27–29]. Все описанные механизмы широкого территориального распространения возбудителя туляремии не обязательно приводят к формированию новых эндемичных территорий из-за неподходящих экологических условий в этих новых районах.

Итак, молекулярно-генетический анализ штаммов *F. tularensis*, выделенных ранее на Украине с 1949 по 1990 г., а также изолированных в России и, в частности, в РО с 1928 по 2023 г., и 11 штаммов из ДНР и ЛНР (2022–2023 гг.) позволил выявить три клональных комплекса возбудителя туляремии (СС1 – СС3), циркулирующих на изученных территориях. Все они присутствуют на территории РО и только комплекс СС2 проявляет географическую приуроченность к южным районам РО. Штаммы, выделенные на территории Западной Украины до 90-х гг. прошлого столетия, принадлежат исключительно к комплексу СС3. Судя по широте распространения и разнообразию генотипов, популяция штаммов комплексов СС3 и СС1 существует на изученных территориях длительное время. Штаммы одного генотипа могут обнаруживаться в эндемичных районах в течение 80 лет и на расстоянии около 1000 км друг от друга. Напротив, популяция комплекса СС2 является самой недавней по времени происхождения и территориально ограничена территорией РО. Географические данные о происхождении клонов – предшественни-

ков клональных комплексов возбудителя туляремии СС1 и СС3 позволяют предположить расширение генетического разнообразия популяции возбудителя туляремии с востока на запад. Представленные результаты согласуются с гипотезой о длительной персистенции *F. tularensis* в окружающей среде и медленными темпами репликации микроба в межэпизотический период. Выявление идентичных генотипов *F. tularensis* в течение длительных периодов времени и на большом удалении друг от друга предполагает возможность распространения бактерий на большие расстояния.

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

- Birdsell D., Myrtenäs K., Tonteri E., Sissonen S., Helland S., Johansson A., Granberg M., Hemmälä H., Pelkonen K., Grub C., Nikkari S., Forsman M., Wagner D., Genetic analyses of *Francisella tularensis* in Fennoscandia reveal distinct subclade distribution and closely related isolates with large temporal and geographic distances. In: 9th International Conference on Tularemia. 16–19 October, 2018. Abstract book. 2018. P. 57.
- Origi F.C., Frey J., Pilo P. Characterisation of a new group of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* in Switzerland with altered antimicrobial susceptibilities, 1996 to 2013. *Euro Surveill.* 2014; 19(29):20858. DOI: 10.2807/1560-7917.es2014.19.29.20858.
- Мокриевич А.Н., Тимофеев В.С., Кудрявцева Т.Ю., Уланова Г.И., Карбышева С.Б., Миронова Р.И., Вахрамеева Г.М., Губарева Т.И., Павлов В.М., Дятлов И.А. Выделение среднеазиатского подвида туляремийного микроба на территории Алтайского края. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2013; 1:66–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-1-66-69.
- Timofeev V., Bakhteeva I., Mokrievich A., Vakhrameeva G., Gritskova E., Anisimov Yu., Rozhdestvensky E., Bazarova G., Zhumakaev R., Dyatlov I., Vergnaud G. The first finding of *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica* in Krasnoyarsk Territory, Siberia, and an update of the subspecies genetic diversity. *Bacteria.* 2022; 1(4):242–9. DOI: 10.3390/bacteria1040018.
- Orlov D., Menshakova M., Thierfelder T., Zaika Yu., Böhme S., Evengard B., Pshenichnaya N. Healthy ecosystems are a prerequisite for human health – a call for action in the era of climate change with a focus on Russia. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020; 17(22):8453. DOI: 10.3390/ijerph17228453.
- Сорокин В.М., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Носков А.К. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Francisella tularensis*, выделенных во время эпизоотии 2022–2023 гг. в Ростовской области и Донецкой Народной Республике. *Бактериология.* 2023; 8(3):68–74. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-3-68-74.
- Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Мишанькин Б.Н., Олейников И.П., Кругликов В.Д., Титова С.В. Молекулярная эпидемиология *Vibrio cholerae* – разработка алгоритма анализа данных полногеномного секвенирования. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2016; 21(3):146–52. DOI: 10.17816/EID40917.
- Hightower J., Kracalik I.T., Vydanko N., Goodin D., Glass G., Blackburn J.K. Historical distribution and host-vector diversity of *Francisella tularensis*, the causative agent of tularemia, in Ukraine. *Parasit. Vectors.* 2014; 7:453. DOI: 10.1186/s13071-014-0453-2.
- Небогаткин И., Новохатний Ю., Выдайко Н., Билоник О., Свита В. Туляремия в Украине, современное ландшафтно-географическое деление очагов, трансграничный аспект. *Ветеринарная медицина.* 2017; 103:56–7.
- Прилуцкий А.С., Роговая Ю.Д., Зубко В.Г. Туляремия: этиология, эпидемиология, вакцинопрофилактика. *Университетская клиника.* 2017; 13(2):231–9.
- Dwivedi C., Birdsell D., Lärkeryd A., Myrtenäs K., Öhrman S., Nilsson E., Karlsson E., Hochhalter C., Rivera A., Maltinsky S., Bayer B., Keim P., Scholz H.C., Tomaso H., Wittwer M., Beuret C., Schuerch N., Pilo P., Hernández Pérez M., Rodríguez-Lazaro D., Escudero R., Anda P., Forsman M., Wagner D.M., Larsson P., Johansson A. Long-range dispersal moved *Francisella tularensis* into Western Europe from the East. *Microb. Genom.* 2016; 2(12):e000100. DOI: 10.1099/mgen.0.000100.
- Нарышкина Е.А., Краснов Я.М., Альхова Ж.В., Баданин Д.В., Осин А.В., Ляшова О.Ю., Саяпина Л.В., Бондарев В.П., Меркулов В.А., Олефир Ю.В., Кутырев В.В. Полногеномное секвенирование и филогенетический анализ вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:91–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-91-97.
- Seiwald S., Simeon A., Hofer E., Weiss G., Bellmann-Weiler R. Tularemia goes west: epidemiology of an emerging infection in Austria. *Microorganisms.* 2020; 8(10):1597. DOI: 10.3390/microorganisms8101597.
- Kevin M., Girault G., Caspar Y., Cherfa M.A., Mendy C., Tomaso H., Gavier-Widen D., Escudero R., Maurin M., Durand B., Ponsart C., Madani N. Phylogeography and genetic diversity of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* in France (1947–2018). *Front. Microbiol.* 2020; 11:287. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00287.
- Appelt S., Köppen K., Radonić A., Drechsel O., Jacob D., Grunow R., Heuner K. Genetic diversity and spatial segregation of *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* in Germany. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019; 9:376. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00376.
- Gyuranecz M., Birdsell D.N., Spletstoeffer W., Seibold E., Beckstrom-Sternberg S.M., Makrai L., Fodor L., Fabbì M., Vicari N., Johansson A., Busch J.D., Vogler A.J., Keim P., Wagner D.M. Phylogeography of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica*, Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(2):290–3. DOI: 10.3201/eid1802.111305.
- Maurin M., Gyuranecz M. Tularemia: clinical aspects in Europe. *Lancet. Infect. Dis.* 2016; 16(1):113–24. DOI: 10.1016/s1473-3099(15)00355-2.
- Luque-Larena J.J., Mougeot F., Arroyo B., Vidal M.D., Rodríguez-Pastor R., Escudero R., Anda P., Lambin X. Irruptive mammal host populations shape tularemia epidemiology. *PLoS Pathog.* 2017; 13(11):e1006622. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006622.
- Golovliov I., Bäckman S., Granberg M., Salomonsson E., Lundmark E., Näslund J., Busch J.D., Birdsell D., Sahl J.W., Wagner D.M., Johansson A., Forsman M., Thelaus J. Long-term survival of virulent tularemia pathogens outside a host in conditions that mimic natural aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 2021; 87(6):e02713-20. DOI: 10.1128/AEM.02713-20.
- Schaudinn C., Rydzewski K., Meister B., Grunow R., Heuner K. *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* wild-type is able to colonize natural aquatic ex vivo biofilms. *Front. Microbiol.* 2023; 14:1113412. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1113412.
- Myrtenäs K., Escudero R., Zaballos A., González-Martín Niño R., Gyuranecz M., Johansson A. Genetic traces of the *Francisella tularensis* colonization of Spain, 1998–2020. *Microorganisms.* 2020; 8(11):1784. DOI: 10.3390/microorganisms8111784.
- Rodríguez D.H., Escudero R., Mougeot F., Cofreces S.H., Jado I., Luque-Larena J.J., Martín-Niño R.G., Vidal D. *Francisella* spp. prevalence in environmental compartments during epizootic and inter-epizootic periods in Castilla-y-León, Spain (S2-02). In: 10th International Conference on Tularemia, Grenoble, France. Sept. 25–28. Abstracts. 2023. P. 27.
- Appelt S., Faber M., Köppen K., Jacob D., Grunow R., Heuner K. *Francisella tularensis* Subspecies *holarctica* and Tularemia in Germany. *Microorganisms.* 2020; 8(9):1448. DOI: 10.3390/microorganisms8091448.
- Kreizinger Z., Erdélyi K., Felde O., Fabbì M., Sulyok K.M., Magyar T., Gyuranecz M. Comparison of virulence of *Francisella tularensis* spp. *holarctica* genotypes B.12 and B.FTNF002-00. *BMC Vet. Res.* 2017; 13(1):46. DOI: 10.1186/s12917-017-0968-9.
- Nguyen T.M., Ille D., Jarraud S., Rouil L., Campese C., Che D., Haeghebaert S., Ganiayre F., Marcel F., Etienne J., Desenclos J.C. A community-wide outbreak of legionnaires disease linked to industrial cooling towers – how far can contaminated aerosols spread? *J. Infect. Dis.* 2006; 193(1):102–11. DOI: 10.1086/498575.
- Smith D.J., Timonen H.J., Jaffe D.A., Griffin D.W., Birmele M.N., Perry K.D., Ward P.D., Roberts M.S. Intercontinental dispersal of bacteria and archaea by transpacific winds. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013; 79(4):1134–9. DOI: 10.1128/AEM.03029-12.
- Lopes de Carvalho I., Zé-Zé L., Alves A.S., Pardal S., Lopes R.J., Mendes L., Nuncio M.S. *Borrelia garinii* and *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* detected in migratory shorebirds in Portugal. *Eur. J. Wildl. Res.* 2012; 58(5):857–61. DOI: 10.1007/s10344-012-0617-3.
- Padeshki P.I., Ivanov I.N., Popov B., Kantardjiev T.V. The role of birds in dissemination of *Francisella tularensis*: first direct molecular evidence for bird-to-human transmission. *Epidemiol. Infect.* 2010; 138(3):376–9. DOI: 10.1017/S0950268809990513.
- Сорокин В.М., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Хаметова А.П., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Носков А.К. Филогенетическая характеристика штаммов возбудителя туляремии на территории Ростовской области и выявление эритроминочувствительных геновариантов. *Антибиотики и химиотерапия.* 2024; 69(1-2):23–8. DOI: 10.37489/0235-2990-2024-69-1-2-23-28.

References

- Birdsell D., Myrtenäs K., Tonteri E., Sissonen S., Helland S., Johansson A., Granberg M., Hemmälä H., Pelkonen K., Grub C., Nikkari S., Forsman M., Wagner D. Genetic analyses of *Francisella tularensis* in Fennoscandia reveal distinct subclade distribution and closely related isolates with large temporal and geographic distances. In: 9th International Conference on Tularemia. 16–19 October, 2018. Abstract book. 2018. P. 57.
- Origi F.C., Frey J., Pilo P. Characterisation of a new group of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* in Switzerland with altered antimicrobial susceptibilities, 1996 to 2013. *Euro Surveill.* 2014; 19(29):20858. DOI: 10.2807/1560-7917.es2014.19.29.20858.
- Mokrievich A.N., Timofeev V.S., Kudryavtseva T.Yu., Ulanova G.I., Karbysheva S.B., Mironova R.I., Vakhrameeva G.M., Gubareva T.I., Pavlov V.M., Dyatlov I.A. [Isolation of the Central Asian subspecies of the tularemia microbe in the Altai Territory]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; (1):66–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-1-66-69.
- Timofeev V., Bakhteeva I., Mokrievich A., Vakhrameeva G., Gritskova E., Anisimov Yu., Rozhdestvensky E., Bazarova G., Zhumakayev R., Dyatlov I., Vergnaud G. The first finding of *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica* in Krasnoyarsk Territory, Siberia, and an update of the subspecies genetic diversity. *Bacteria*. 2022; 1(4):242–9. DOI: 10.3390/bacteria1040018.
- Orlov D., Menshakova M., Thierfelder T., Zaika Yu., Böhme S., Evengard B., Pshenichnaya N. Healthy ecosystems are a prerequisite for human health – a call for action in the era of climate change with a focus on Russia. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020; 17(22):8453. DOI: 10.3390/ijerph17228453.
- Sorokin V.M., Pavlovich N.V., Cimbalistova M.V., Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Noskov A.K. [Molecular genetic characteristics of *Francisella tularensis* strains isolated during the 2022–2023 epizootic in the Rostov region and the Donetsk People's Republic]. *Bakteriologiya [Bacteriology]*. 2023; 8(3):68–74. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-3-68-74.
- Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Vodopyanov S.O., Mishankin B.N., Olejnikov I.P., Kruglikov V.D., Titova S.V. [Molecular epidemiology of *Vibrio cholerae* – development of the algorithm for data analysis of whole genome sequencing]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2016; 21(3):146–52. DOI: 10.17816/EID40917.
- Hightower J., Kracalik I.T., Vydayko N., Goodin D., Glass G., Blackburn J.K. Historical distribution and host-vector diversity of *Francisella tularensis*, the causative agent of tularemia, in Ukraine. *Parasit. Vectors*. 2014; 7:453. DOI: 10.1186/s13071-014-0453-2.
- Nebogatkin I., Novohatny Yu., Vydayko N., Bilonyk O., Svita V. [Tularemia in Ukraine, contemporary landscape-geographical division of the foci, the transboundary aspect]. *Veterinarnaya Meditsina [Veterinary Medicine]*. 2017; (103):56–7.
- Prilutsky A.S., Rogovaya Yu.D., Zubko V.G. [Tularemia: etiology, epidemiology, vaccinoprophylactic]. *Universitetskaya Klinika [University Clinic]*. 2017; 13(2):231–9.
- Dwivedi C., Birdsell D., Lärkeryd A., Myrtenäs K., Öhrman C., Nilsson E., Karlsson E., Hochhalter C., Rivera A., Maltinsky S., Bayer B., Keim P., Scholz H.C., Tomaso H., Wittwer M., Beuret C., Schuerch N., Pilo P., Hernández Pérez M., Rodríguez-Lazaro D., Escudero R., Anda P., Forsman M., Wagner D.M., Larsson P., Johansson A. Long-range dispersal moved *Francisella tularensis* into Western Europe from the East. *Microb. Genom.* 2016; 2(12):e000100. DOI: 10.1099/mgen.0.000100.
- Naryshkina E.A., Krasnov Ya.M., Alhova Zh.V., Badanin D.V., Osin A.V., Lyashova O.Yu., Sayapina L.V., Bondarev V.P., Merkulov V.A., Olefir Yu.V., Kutyrev V.V. [Whole-genome sequencing and phylogenetic analysis of *Francisella tularensis* vaccine strain 15 NIEG]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (2):91–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-91-97.
- Seiwald S., Simeon A., Hofer E., Weiss G., Bellmann-Weiler R. Tularemia goes west: epidemiology of an emerging infection in Austria. *Microorganisms*. 2020; 8(10):1597. DOI: 10.3390/microorganisms8101597.
- Kevin M., Girault G., Caspar Y., Cherfa M.A., Mendy C., Tomaso H., Gavier-Widen D., Escudero R., Maurin M., Durand B., Ponsart C., Madani N. Phylogeography and genetic diversity of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* in France (1947–2018). *Front. Microbiol.* 2020; 11:287. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00287.
- Appelt S., Köppen K., Radonić A., Drechsel O., Jacob D., Grunow R., Heuner K. Genetic diversity and spatial segregation of *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* in Germany. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019; 9:376. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00376.
- Gyuranecz M., Birdsell D.N., Spletstoesser W., Seibold E., Beckstrom-Sternberg S.M., Makrai L., Fodor L., Fabbri M., Vicari N., Johansson A., Busch J.D., Vogler A.J., Keim P., Wagner D.M. Phylogeography of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica*, Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(2):290–3. DOI: 10.3201/eid1802.111305.
- Maurin M., Gyuranecz M. Tularemia: clinical aspects in Europe. *Lancet. Infect. Dis.* 2016; 16(1):113–24. DOI: 10.1016/s1473-3099(15)00355-2.
- Luque-Larena J.J., Mougeot F., Arroyo B., Vidal M.D., Rodríguez-Pastor R., Escudero R., Anda P., Lambin X. Irruption mammal host populations shape tularemia epidemiology. *PLoS Pathog.* 2017; 13(11):e1006622. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006622.
- Golovliov I., Bäckman S., Granberg M., Salomonsson E., Lundmark E., Näslund J., Busch J.D., Birdsell D., Sahl J.W., Wagner D.M., Johansson A., Forsman M., Thelaus J. Long-term survival of virulent tularemia pathogens outside a host in conditions that mimic natural aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 2021; 87(6):e02713–20. DOI: 10.1128/AEM.02713-20.
- Schaudinn C., Rydzewski K., Meister B., Grunow R., Heuner K. *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* wild-type is able to colonize natural aquatic *ex vivo* biofilms. *Front. Microbiol.* 2023; 14:1113412. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1113412.
- Myrtenäs K., Escudero R., Zaballos A., González-Martín-Niño R., Gyuranecz M., Johansson A. Genetic traces of the *Francisella tularensis* colonization of Spain, 1998–2020. *Microorganisms*. 2020; 8(11):1784. DOI: 10.3390/microorganisms8111784.
- Rodríguez D.H., Escudero R., Mougeot F., Cofreces S.H., Jado I., Luque-Larena J.J., Martín-Niño R.G., Vidal D. *Francisella* spp. prevalence in environmental compartments during epizootic and inter-epizootic periods in Castilla-y-León, Spain (S2-02). In: 10th International Conference on Tularemia, Grenoble, France. Sept. 25–28. Abstracts. 2023. P. 27.
- Appelt S., Faber M., Köppen K., Jacob D., Grunow R., Heuner K. *Francisella tularensis* Subspecies *holarctica* and Tularemia in Germany. *Microorganisms*. 2020; 8(9):1448. DOI: 10.3390/microorganisms8091448.
- Kreisinger Z., Erdélyi K., Felde O., Fabbri M., Sulyok K.M., Magyar T., Gyuranecz M. Comparison of virulence of *Francisella tularensis* ssp. *holarctica* genotypes B.12 and B.FTNF002-00. *BMC Vet. Res.* 2017; 13(1):46. DOI: 10.1186/s12917-017-0968-9.
- Nguyen T.M., Ille D., Jarraud S., Rouil L., Campese C., Che D., Haeghebaert S., Ganiayre F., Marcel F., Etienne J., Desenclos J.C. A community-wide outbreak of legionnaires disease linked to industrial cooling towers – how far can contaminated aerosols spread? *J. Infect. Dis.* 2006; 193(1):102–11. DOI: 10.1086/498575.
- Smith D.J., Timonen H.J., Jaffe D.A., Griffin D.W., Birmele M.N., Perry K.D., Ward P.D., Roberts M.S. Intercontinental dispersal of bacteria and archaea by transpacific winds. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013; 79(4):1134–9. DOI: 10.1128/AEM.03029-12.
- Lopes de Carvalho I., Zé-Zé L., Alves A.S., Pardo S., Lopes R.J., Mendes L., Nuncio M.S. *Borrelia garinii* and *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* detected in migratory shorebirds in Portugal. *Eur. J. Wildl. Res.* 2012; 58(5):857–61. DOI: 10.1007/s10344-012-0617-3.
- Padeshki P.I., Ivanov I.N., Popov B., Kantardjiev T.V. The role of birds in dissemination of *Francisella tularensis*: first direct molecular evidence for bird-to-human transmission. *Epidemiol. Infect.* 2010; 138(3):376–9. DOI: 10.1017/S0950268809990513.
- Sorokin V.M., Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Khametova A.P., Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Noskov A.K. [Phylogenetic characteristics of strains of the causative agent of tularemia in the Rostov region and identification of erythromycin-sensitive genovariants]. *Antibiotiki i Himioter [Antibiotics and Chemotherapy]*. 2024; 69(1-2):23–8. DOI: 10.37489/0235-2990-2024-69-1-2-23-28.

Authors:

Sorokin V.M., Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Aronova N.V., Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Noskov A.K. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

Об авторах:

Сорокин В.М., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Аронова Н.В., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Носков А.К. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-139-145

УДК 579.841.95614.4

А.А. Тушинский, А.В. Цай, А.С. Анисимова, Н.В. Аронова,
Н.Л. Пичурина, Н.В. Павлович, **А.К. Носков**

Использование серологического мониторинга для оценки возможного контакта населения с возбудителем туляремии на территориях Донецкой и Луганской народных республик, Запорожской и Херсонской областей

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

Серологический мониторинг как один из компонентов эпидемиологического надзора является методом оценки интенсивности возможных контактов населения с возбудителем природно-очаговой болезни. **Цель** исследования – оценка вероятных контактов населения с возбудителем туляремии по результатам серологического исследования сывороток крови здорового населения, проведенного в 2023 г. на территориях Донецкой и Луганской народных республик, Запорожской и Херсонской областей. **Материалы и методы.** Серологическими методами РНГА/РТНГА проведено исследование 829 сывороток крови, полученных в 2023 г. от людей, проживающих на территориях повышенного риска осложнений эпидемиологической ситуации по туляремии, ранее не участвовавших в специфической профилактике против туляремии. **Результаты и обсуждение.** Положительные результаты на наличие противотуляремийных антител в РНГА/РТНГА по четырем исследуемым территориям составляли от 18,5 до 40,0 %. Анализ анкет, заполненных донорами, позволил определить условия возможного контакта человека с возбудителем в природных очагах инфекции. Контакты населения с компонентами природного очага туляремии на обследованных территориях можно оценить как интенсивные, так как наличие специфических антител к возбудителю туляремии у доноров всех исследуемых регионов в среднем составляет 24,4 %. Анализ данных проведенного анкетирования показал, что все пробы, в которых выявлены антитела к возбудителю туляремии, зарегистрированы у доноров, которые, возможно, имели контакт с носителями и переносчиками возбудителя инфекции. Согласно результатам исследования, наибольший вклад в вероятный контакт с возбудителем туляремии вносят мелкие млекопитающие.

Ключевые слова: туляремия, эпидемиология, серологический мониторинг.

Корреспондирующий автор: Тушинский Атан Атанович, e-mail: tushinsky_aa@antiplague.ru.

Для цитирования: Тушинский А.А., Цай А.В., Анисимова А.С., Аронова Н.В., Пичурина Н.Л., Павлович Н.В., Носков А.К. Использование серологического мониторинга для оценки возможного контакта населения с возбудителем туляремии на территориях Донецкой и Луганской народных республик, Запорожской и Херсонской областей. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:139–145. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-139-145

Поступила 13.08.2024. Отправлена на доработку 16.10.2024. Принята к публ. 31.10.2024.

A.A. Tushinsky, A.V. Tsai, A.S. Anisimova, N.V. Aronova, N.L. Pichurina, N.V. Pavlovich, **A.K. Noskov**

The Use of the Serologic Monitoring for the Assessment of Possible Contact of the Population with Tularemia Pathogen in the Territories of the Donetsk and Lugansk People's Republics and Zaporozhe and Kherson Regions

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

Abstract. Serological monitoring as a component of the epidemiological surveillance, serves as a method for assessing the intensity of possible contacts of the population with the natural-focal disease pathogen. **The aim** of the study was to analyze possible contacts of the population with the causative agent of tularemia, based on the results of serological study of blood sera of the healthy population conducted in 2023 on the territories of Donetsk and Lugansk People's Republics, Zaporozhe and Kherson Regions. **Materials and methods.** Applying IHR/IHIR serological methods, we have tested 829 blood sera obtained in 2023, from individuals living in areas at increased risk of aggravation of epidemiological situation on tularemia, who had not previously participated in specific prevention measures against tularemia. **Results and discussion.** Positive results on the presence of anti-tularemia antibodies in IHR/IHIR in the four studied territories ranged from 18.5 to 40.0 %. The analysis of questionnaires, that were filled out by donors has made it possible to determine the conditions of possible human contact with the pathogen in the foci of infection. According to the results of the study, the contacts of the population with the components of the natural tularemia focus in the surveyed territories can be assessed as intense, since the presence of specific antibodies to the causative agent of tularemia in donors of all the studied regions, on average, amounted to 24.4 %. Analysis of the data from the survey showed that all samples, in which antibodies to tularemia causative agent were detected, were registered from donors who may have had contact with carriers and vectors of the pathogen. According to the results of the study, small mammals contribute the most to the possible contact of the population with the causative agent of tularemia.

Key words: tularemia, epidemiology, serological monitoring.

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

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

Bioethics: The biomaterial was collected in accordance with the principles of legality and compliance with ethical standards. Informed voluntary consent was obtained from each donor.

Corresponding author: Atlan A. Tushinsky, e-mail: tushinsky_aa@antiplague.ru.

Citation: Tushinsky A.A., Tsai A.V., Anisimova A.S., Aronova N.V., Pichurina N.L., Pavlovich N.V., Noskov A.K. The Use of the Serologic Monitoring for the Assessment of Possible Contact of the Population with Tularemia Pathogen in the Territories of the Donetsk and Lugansk People's Republics and Zaporozhe and Kherson Regions. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:139–145. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-139-145

Received 13.08.2024. Revised 16.10.2024. Accepted 31.10.2024.

Tushinsky A.A., ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-2889-4724>

Tsai A.V., ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-1905-3549>

Anisimova A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4010-2138>

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

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

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

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

Изучение иммунной прослойки населения является одним из компонентов эпидемиологического надзора за природно-очаговыми инфекциями, в том числе за туляремией. Выявление специфических антител в сыворотках крови людей, проживающих на территориях природного очага туляремии, способствует более раннему выявлению инфекционного агента, прогнозированию эпидемиологической ситуации и предотвращению эпидемических осложнений [1, 2].

Впервые случаи туляремии на территории Украинской ССР выявлены в первой половине XX в. [3]. В последующем заболеваемость различной степени интенсивности регистрировали в очагах степного и интразонально расположенных пойменно-болотного и луго-полевого типов [4–6]. Благоприятными географическими, ландшафтными и климатическими условиями для циркуляции этиологического агента, а также существования других компонентов паразитарной системы природного очага обладают территории Донецкой (ДНР) и Луганской (ЛНР) народных республик, Запорожской (ЗО) и Херсонской (ХО) областей [7].

По данным литературных источников, природный очаг туляремии располагается на территории четырех исследуемых субъектов, а присутствие возбудителя в объектах окружающей среды и биологическом материале регистрировали начиная с 1940 г. [8]. В 2023 г. на территориях ДНР и ЛНР сотрудниками ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора проведен эпизоотологический мониторинг, по результатам которого зарегистрировано присутствие возбудителя туляремии в иксодовых клещах, комарах, погадках хищных птиц, в воде и иле открытых водоемов, а также в блохах и помете хищных млекопитающих.

Поддержание санитарно-эпидемиологического благополучия указанных субъектов Российской Федерации по туляремии является актуальным [6, 7, 9, 10], поскольку профилактические мероприятия, прежде всего объемы вакцинации декретированных групп населения на энзоотических территориях, недостаточны [6, 10]. С 2016 по 2023 г. в ДНР, ЗО и ХО выявлено 76 случаев заболевания туляремией. В ЛНР заболеваемость туляремией с 2001 г. по настоящий период не регистрировали [6]. Возможно, выявление случаев заболевания туляремией связано с широким спектром симптомов [9], а также затрудненной диагностикой инфекции. Анализ эпидемиологической ситуации на исследуемых территориях позволит оценить объем необходимых противоэпидемических мероприятий.

В настоящее время ввиду сложной социально-политической обстановки отсутствует возможность получения полного представления о распространении природно-очаговых инфекций на этих территориях. Проведение серологического мониторинга на наличие у населения специфических антител позволит оценить интенсивность возможных контактов человека с тулярийным микробом.

Цель исследования – оценка вероятных контактов населения с возбудителем туляремии по результатам серологического исследования сывороток крови здорового населения, проведенного в 2023 г. на территориях Донецкой и Луганской народных республик, Запорожской и Херсонской областей.

Материалы и методы

Проведено исследование 829 сывороток крови, собранных в 2023 г. от условно здоровых доноров, проживающих на территориях повышенного риска осложнений эпидемиологической ситуации по туляремии: ДНР – 189 проб (Амвросиевский, Волновахский, Шахтерский, Мариупольский районы, города Амвросиевка, Волноваха, Мариуполь), ЛНР – 435 проб (Антрацитовский, Беловодский, Краснодонский, Лутугинский, Меловский, Свердловский, Станично-Луганский районы и города Луганск, Лутугино), ЗО – 105 проб (Акимовский, Бердянский, Васильевский, Веселовский, Запорожский, Каменско-Днепровский, Мелитопольский, Приморский, Пологовский районы, города Мелитополь, Приморск, Токмак, Энергодар), ХО – 100 проб (Генический муниципальный округ). Образцы крови собраны медицинским персоналом на базе медицинских учреждений, находящихся на исследуемых территориях. Биоматериал получен в соответствии с принципами законности и соблюдения этических норм. От каждого донора получено информированное добровольное согласие. При отборе крови у доноров учитывали следующие показатели: фактическое проживание на территории повышенного риска осложнения эпидемиологической ситуации по туляремии, отсутствие в анамнезе ранее перенесенной туляремии, характер трудовой занятости, возраст, данные об иммунизации. Каждый образец сывороток крови сопровождался специально разработанной анкетой, содержащей основные эпидемиологические сведения для оценки условий возможного инфицирования.

В исследование включены 467 лиц мужского пола (56,3 %) и 362 – женского пола (43,7 %) в возрастных группах от 15 до 90 лет, ранее не подвергавшиеся специфической профилактике против туляремии.

Наличие специфических противотуляреми-ных антител в сыворотках крови выявляли в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) с диагностическим эритроцитарным туляреминым антигенным жидким «РНГА-Тул-Аг-СтаВНИПЧИ» (ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Россия) с подтверждением специфичности выявленных антител в реакции торможения непрямой гемагглютинации (РТНГА) в соответствии с МУ 3.1.2007-05 «Эпидемиологический надзор за туляремией» и МУК 4.2.2939-11 «Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней». Учет результатов проведен согласно инструкции к диагностическому препарату.

Доверительные интервалы для доли положительных проб определяли по методу Уилсона при доверительной вероятности $p \geq 0,95$ с использованием программных средств (<https://epitools.ausvet.com.au>).

Результаты и обсуждение

На территории ДНР с 2016 по 2023 г. выявлено 72 случая заболевания туляремией [6]. Подобный уровень заболеваемости населения может свидетельствовать о высокой активности природного очага, что подтверждается результатами эпизоотологического мониторинга, проведенного в 2023 г., а именно: выделением культур туляремиального микроба, обнаружением антигена и выявлением ДНК *Francisella tularensis* в пробах биологического материала и объектах окружающей среды [8]. На эпидемиологически неблагополучных территориях указанных субъектов выявлена высокая численность мелких млекопитающих (ММ). Относительная численность ММ в среднем по всем исследуемым территориям составила 13,13 %.

При лабораторном исследовании 829 образцов сывороток крови в РНГА выявлены специфические антитела к *F. tularensis* у 202 жителей ДНР, ЛНР,

ХО и ЗО, что составило 24,4 %, доверительный интервал [21,5–27,4 %] от общего числа исследованных проб. В том числе в ДНР – у 35 человек (18,5% [13,6–24,6 %]), ЛНР – 109 (24,9 % [21,2–29,3 %]), в ЗО – 18 (17,1 % [11,1–25,5 %]) и ХО – 40 (40,0 % [30,9–49,8 %]), что является высоким уровнем положительных результатов в условиях недостаточной специфической профилактики. Данные о положительных результатах исследования сывороток крови доноров на наличие противотуляреминых антител представлены на рис. 1 и 2.

Согласно произведенным расчетам, различия долей серопозитивных сывороток по ДНР, ЛНР, ЗО статистически незначимы. Однако, как видно из рис. 1, отсутствие трансгрессии доверительных интервалов доли для ХО по сравнению с другими регионами говорит о статистически значимых различиях результатов, полученных по ХО. Высокая доля положительных результатов в ХО позволяет предположить циркуляцию *F. tularensis* на обследуемых территориях и активный контакт местных жителей с компонентами паразитарной системы природного очага туляремии, что формирует реальные риски инфицирования в условиях отсутствия специфической профилактики. Распределение позитивных результатов по административным территориям представлено на рис. 2.

Следует отметить неравномерное распределение серопозитивных лиц по исследуемым территориям. Наибольшая доля лиц с наличием противотуляреминых антител выявлена в Меловском и Беловодском районах ЛНР, Волновахском и Амвросиевском районах ДНР, Геническом муниципальном округе ХО. Однако к территориям, где отмечен высокий уровень относительного показателя людей со специфическими антителами против туляремии, прилегают территории с низким относительным показателем. Вероятно, в границах первых территорий протекают активные эпизоотические процессы среди ММ, что повышает вероятность возможного контакта человека с возбудителем туляремии.

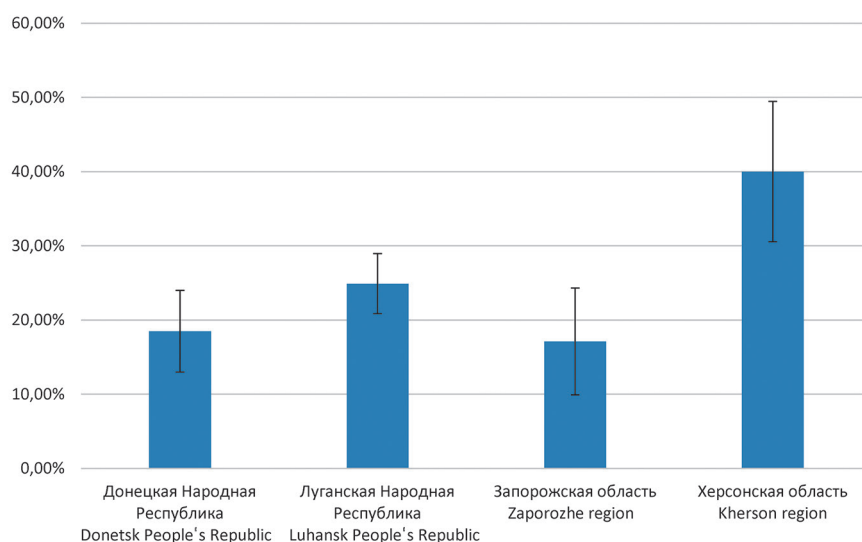


Рис. 1. Частота выявления серопозитивных результатов исследуемых территорий на наличие противотуляреминых антител

Fig. 1. Relative ratio of positive results of blood tests for anti-tularemia antibodies in the population of the studied areas

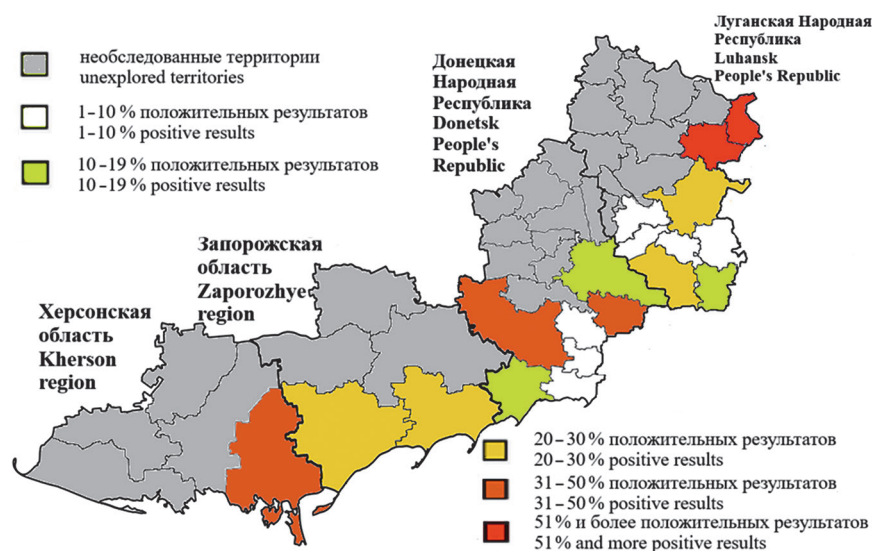


Рис. 2. Доля положительных результатов в РНГА/ПНГА на исследуемых территориях

Fig. 2. The proportion of IHR/ИИР positive results in the studied territories

Род деятельности, гигиена труда и отдыха, а также условия профессиональной занятости могут служить факторами, способствующими инфицированию восприимчивого непривитого населения. Социальный состав положительно реагирующих лиц представлен на рис. 3.

При анализе полученных данных проведена дифференциация социального состава доноров по следующим группам: «неработающие» (пенсионеры, обучающиеся, безработные), «медицинские работники» (сотрудники медицинских организаций), «имеющие контакт с животными» (работники лесхоза, сельхозработники, рыбаки, охотники, ветеринарный фельдшер), «представители иных профессий» (инженеры, операторы, военнослужащие, индивидуальные предприниматели и др.). «Неработающие», «медицинские работники» и «представители иных профессий» отрицают какие-либо контакты с животными.

На территориях ДНР и ЛНР самой многочисленной группой среди лиц с позитивными результатами исследования сывороток являлись «неработающие», тогда как в ЗО и ХО – «имеющие контакт с животными». Следует отметить, что на графике отсутствуют данные по социальным группам «медицинские работники» на территории ХО и «имеющие контакт с животными» в ЛНР. Это объясняется тем, что на перечисленных территориях отсутствовали положительные результаты сывороток крови доноров на наличие противотулярийных антител в данных группах. Согласно приведенным данным, выделяются две группы, являющиеся основными в социальном составе положительно реагирующих доноров, – «неработающие» (от 30 до 50 %) и «имеющие контакт с животными» (от 21,5 до 46 %). Подобное распределение результатов позволяет сделать вывод о том, что представители данных профессий, вероятно, имеют наибольшее количество контактов с возбудителем туляремии.

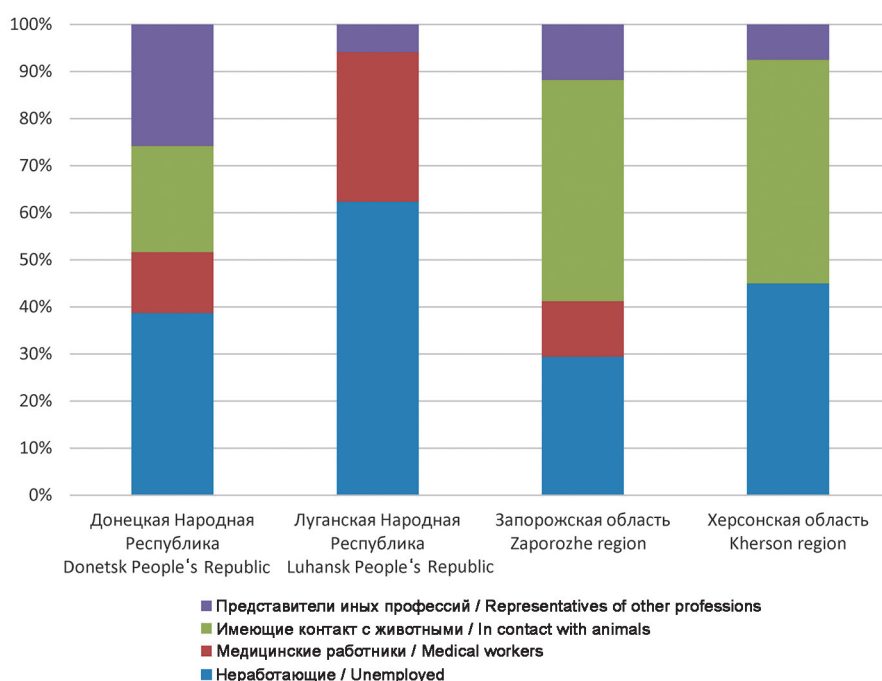


Рис. 3. Социальный состав лиц, положительно реагирующих в РНГА/ПНГА с тулярийным антигенным диагностиком

Fig. 3. Social composition of persons responding positively in IHR/ИИР with tularemia antigen diagnosticum

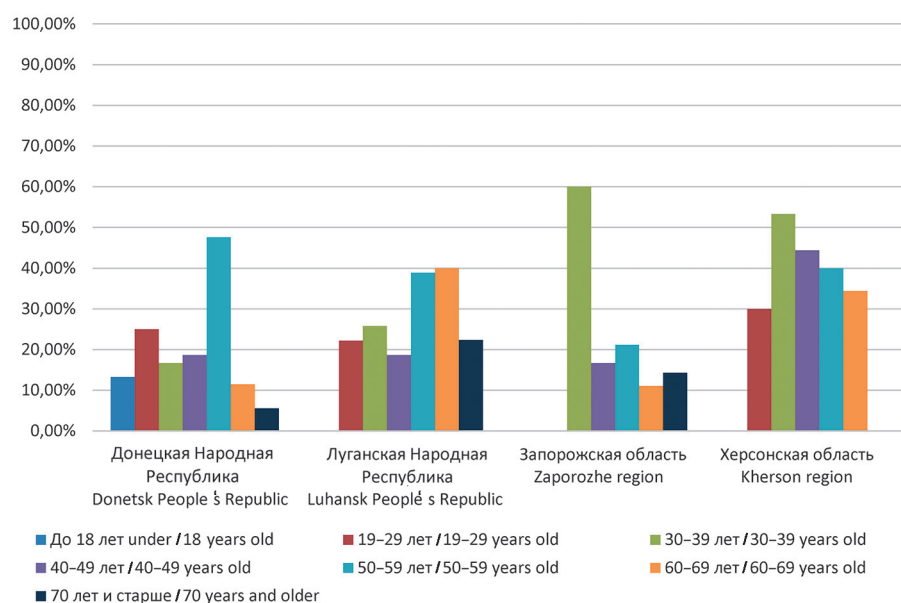


Рис. 4. Возрастная структура доноров с серопозитивными результатами в РНГА/РТНГА

Fig. 4. Age distribution of donors with seropositive results in IHR/IHR

Представляет интерес структура распределения положительно реагирующих лиц по возрастным группам. Результаты, согласно анкетным данным, представлены на рис. 4.

Относительные показатели в возрастной структуре доноров подсчитывались путем отношения доноров с положительными результатами в серологических реакциях к общему числу доноров в регионе в конкретной возрастной группе. При сравнении долей положительных результатов на наличие протитуберкулезных антител на исследуемых территориях в целом не удается выделить определенные группы, преобладающие в возрастной структуре доноров. Вероятно, это связано с тем, что все участники исследования находятся в тех или иных условиях возможного контакта с возбудителем туляремии. Группы до 18 лет в ЛНР, ЗО, ХО и 19–29 лет в ЗО отсутствуют на рис. 4, поскольку доноры в данном возрастном диапазоне, согласно предоставленной информации, не участвовали в исследовании на перечисленных территориях. Данные о возрасте доноров получены не в полном объеме: в ДНР 21,2 % анкетированных не предоставили данные, в ЛНР – 8,9 %.

Активность населения в трудных социальных условиях сводится к обеспечению жизнедеятельности с помощью такой деятельности, как работа на приусадебных участках с целью выращивания сельскохозяйственных культур, рыбалка, охота и сельскохозяйственные работы с переработкой сена и зерна, что, в свою очередь, увеличивает вероятность появления в пределах жилища мышевидных грызунов [11].

При взятии образца сыворотки крови донору предлагалось пройти анкетирование. Ответы на предложенные вопросы позволили определить условия возможного контакта человека с возбудителем в природных очагах инфекции. Анкеты представляли собой «Универсальный опросник для сбора эпидемиологического анамнеза больных, подозре-

тельных на туляремию», вопросы которого позволяют проанализировать деятельность анкетированного и оценить вероятный контакт с возбудителем природно-очаговой инфекции. Респондентам предлагалось отметить те или иные условия возможного контакта среди следующих вариантов: наличие на подворье / в доме мышевидных грызунов, укусы кровососущими членистоногими, участие в переработке соломы, зерна, овощей, транспортировке сена, уборке складских помещений, выезд за пределы населенного пункта постоянного проживания в течение последнего месяца, употребление воды из открытых источников, купание в местных водоемах [12]. Все участники исследования однозначно отрицали как ранее перенесенное заболевание туляремией, так и вакцинацию против данной инфекции.

Всего в анкетировании приняли участие 235 человек. Больше всего анкетированных – 92 человека (92/235) – отмечали наличие на подворье / в доме мышевидных грызунов. Принимали участие в переработке соломы, зерна, овощей, транспортировке сена, уборке складских помещений 38 человек (38/235), выезжали за пределы населенного пункта постоянного проживания в течение последнего месяца 28 анкетированных (28/235), употребляли воду из открытых источников и/или купались в открытых водоемах 22 человека, выезжали на охоту/рыбалку 11 опрошенных (11/235). Пять респондентов отметили контакт с кровососущими членистоногими (5/235).

Следовательно, наибольшую роль в контакте человека с возбудителем туляремии в природных очагах играет наличие ММ. Данные условия возможного инфицирования преобладали на территориях ДНР и ЛНР, тогда как в природных очагах ЗО не установлено преобладающих обстоятельств контакта человека с носителями или переносчиками туляремии. Сведения о возможных условиях инфицирования в ХО отсутствуют.

Туляремия является актуальной инфекцией и представляет опасность для населения обследованных эпидемически неблагополучных территорий. Проведение серологического мониторинга на наличие у населения специфических антител позволило установить высокий уровень положительных серопозитивных результатов в условиях недостаточной специфической профилактики людей на вновь присоединенных территориях.

Ввиду большого числа источников и переносчиков инфекции, составляющих резервуар возбудителя, плодотворная борьба с туляремией возможна лишь в случае направления основных сил и средств на создание невосприимчивости населения к инфекции.

Согласно результатам проведенного исследования, контакты населения с компонентами природного очага туляремии на территориях Донецкой и Луганской народных республик, Запорожской и Херсонской областей можно оценить как интенсивные, так как наличие специфических антител к возбудителю туляремии у доноров всех исследуемых регионов в среднем составляет 24,4 % [21,5–27,4 %]. Данный показатель варьирует от 17,1 % [11,1–25,5 %] до 40,0 % [30,9–49,8 %].

Наличие противотуляремийных антител в сыворотках крови людей, не вакцинированных против туляремии, может свидетельствовать о контактах с возбудителем. Анализ данных проведенного анкетирования показал, что все пробы, в которых выявлены антитела к возбудителю туляремии, зарегистрированы у доноров, которые, возможно, имели контакт с возбудителем инфекции. Согласно результатам исследования, наибольший вклад в вероятный контакт с возбудителем туляремии вносят мелкие млекопитающие.

Результаты исследования свидетельствуют о необходимости проведения специфической профилактики декретированных групп населения для предотвращения заболеваемости туляремией на эпидемически неблагополучных территориях. Ежегодный эпизоотологический мониторинг как ранее неисследованных, так и частично изученных районов позволит дать динамическую характеристику природных очагов и дополнить общее представление об активности компонентов паразитарной системы. Проведение серологического мониторинга, в свою очередь, даст возможность оценить коллективные риски инфицирования, а также прогнозировать эпидемиологическую обстановку для проведения необходимого объема профилактических (противоэпидемических) 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.

Биоэтика. Биоматериал получен в соответствии с принципами законности и соблюдения этических

норм. От каждого донора получено информированное добровольное согласие.

Список литературы

1. Mattatia C., Agyeman P.K.A., Schöbi N., Aebi S., Duppenhaler A., Büttcher M., Aebi C. Seroepidemiology of human tularemia – systematic review and meta-analysis of seroprevalence studies. *Open Forum Infect. Dis.* 2024; 11(2):ofad636. DOI: 10.1093/ofid/ofad636.
2. Березняк Е.А., Тришина А.В., Аронова Н.В., Пичурина Н.Л., Егизарян Л.А., Анисимова А.С., Симонова И.Р., Павлович Н.В., Ковалев Е.В., Леоненко Н.В., Новикова А.И., Носков А.К. Оценка серологических показателей наличия антител к возбудителям природно-очаговых инфекций у населения Ростовской области в 2021 г. *Медицинский вестник Юга России.* 2023; 14(1):75–82. DOI: 10.21886/2219-8075-2023-14-1-75-82.
3. Hightower J., Krcalik I.T., Vydayko N., Goodin D., Glass G., Blackburn J.K. Historical distribution and host-vector diversity of *Francisella tularensis*, the causative agent of tularemia, in Ukraine. *Parasit. Vectors.* 2014; 7:453. DOI: 10.1186/s13071-014-0453-2.
4. Hatsiy L., Velychko O., Vasiunets L., Semenyshyn O. Study of natural foci of Tularemia in Lviv Oblast, Ukraine. *Int. J. Infect. Dis.* 2019; 79(Suppl. 1):142–3. DOI: 10.1016/j.ijid.2018.11.348.
5. Панченко Г.В., Шкурпат А.В. Состояние заболеваемости туляремией в Херсонской области. В кн.: Всеукраинская научно-практическая конференция с международным участием «Экологические исследования в высших учебных заведениях». Херсон; 2018. С. 91–4. [Электронный ресурс]. URL: <http://ekhsuir.kspu.edu/handle/123456789/7799>.
6. Трунова О.А., Скрипка Л.В., Багрий А.Э., Прохоров Е.В., Резниченко Н.А. Иммунологическая и эпидемиологическая эффективность вакцинопрофилактики туляремии в регионе Донбасса. *Медицинский вестник Юга России.* 2023; 14(4):66–76. DOI: 10.21886/2219-8075-2023-14-4-66-76.
7. Нехороших З.М., Джуртубаева Г.М., Пилипенко Н.В., Процишина Н.М. Эколого-эпидемиологические аспекты туляремии на юге Украины. *Актуальная инфектология.* 2019; 7(2). Интернет-издание «Новости медицины и фармации». [Электронный ресурс]. URL: <http://www.mif-ua.com/archive/issue-34752/>.
8. Попова А.Ю., Куличенко А.Н., Носков А.К., Ефременко Д.В., Волюнкина А.С., Цапко Н.В., Котенев Е.С., Малецкая О.В., Курчева С.А., Васильева О.В., Газиева А.Ю., Добровольский О.П., Забашта М.В., Хаметова А.П., Панасюк Н.В., Чемисова О.С., Цай А.В., Ананьева Н.Е., Докашенко Д.А., Хаттатова Н.В., Туров В.М. Эпизоотологическая ситуация и эпидемиологические риски по природно-очаговым инфекциям на территории новых субъектов Российской Федерации (Донецкая Народная Республика, Луганская Народная Республика, Запорожская и Херсонская области). *Медицинский вестник Юга России.* 2024; 15(1):7–18. DOI: 10.21886/2219-8075-2024-15-1-7-18.
9. Кудрявцева Т.Ю., Попов В.П., Мокриевич А.Н., Куликалова Е.С., Холин А.В., Мазепа А.В., Борзенко М.А., Черепанова Е.А., Матвеева В.А., Транквилевский Д.В., Храмов М.В., Дятлов И.А. Анализ эпизоотологической и эпидемиологической ситуации по туляремии на территории Российской Федерации. *Российской Федерации в 2023 г. и прогноз на 2024 г.* *Проблемы особо опасных инфекций.* 2024; 1:17–29. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-17-29.
10. Jurtubaeva G., Savchuk A., Kozishkurt O., Gerasimenko O., Gaidei V., Kostolonova L. Epidemic process of tularemia in the world and in the south of Ukraine. *Journal of Education, Health and Sport.* 2022; 12(1):503–13. DOI: 10.12775/JEHS.2022.12.01.042.
11. Юсупов М.М. Социальное выживание в условиях регионального вооруженного конфликта. *Научный результат. Социология и управление.* 2023; 9(3):9–20. DOI: 10.18413/2408-9338-2023-9-3-0-2.
12. Куриленко М.Л., Пичурина Н.Л., Федченко А.В., Ковалева Е.И., Сиденко И.С., Шелудько А.А., Ахметов А.П. Некоторые мероприятия по минимизации рисков инфицирования туляремией на территории природного очага степного типа на юго-востоке Ростовской области. В кн.: Актуальные вопросы инфектологии, паразитологии и экологии: Материалы III региональной междисциплинарной научной конференции молодых ученых (Ростов-на-Дону, 4–5 декабря 2020 г.). Ростов-на-Дону: Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии; 2020. С. 43–5.

References

1. Mattatia C., Agyeman P.K.A., Schöbi N., Aebi S., Duppenhaler A., Büttcher M., Aebi C. Seroepidemiology of human tularemia – systematic review and meta-analysis of seroprevalence studies. *Open Forum Infect. Dis.* 2024; 11(2):ofad636. DOI: 10.1093/ofid/ofad636.

2. Bereznayk E.A., Trishina A.V., Aronova N.V., Pichurina N.L., Egiazyran L.A., Anisimova A.S., Simonova I.R., Pavlovich N.V., Kovalev E.V., Leonenko N.V., Novikova A.I., Noskov A.K. [Assessment of serological indicators of the presence of antibodies to pathogens of natural-focal infections in the population of the Rostov region in 2021]. *Meditsinskii Vestnik Yuga Rossii [Medical Bulletin of the South of Russia]*. 2023; 14(1):75–82. DOI: 10.21886/2219-8075-2023-14-1-75-82
3. Hightower J., Kracalik I.T., Vydayko N., Goodin D., Glass G., Blackburn J.K. Historical distribution and host-vector diversity of *Francisella tularensis*, the causative agent of tularemia, in Ukraine. *Parasit. Vectors*. 2014; 7:453. DOI: 10.1186/s13071-014-0453-2.
4. Hatsiy L., Velychko O., Vasiunets L., Semenyshyn O. Study of natural foci of Tularemia in Lviv Oblast, Ukraine. *Int. J. Infect. Dis.* 2019; 79(Suppl. 1):142–3. DOI: 10.1016/j.ijid.2018.11.348.
5. Panchenko G.V., Shkuropat A.V. [The state of tularemia incidence in the Kherson region]. In: [All-Ukrainian Scientific and Practical Conference with International Participation “Environmental Research at Higher Education Institutions”]. Kherson; 2018. P. 91–4. [Internet]. Available from: <http://ekhsuir.kspu.edu/handle/123456789/7799>.
6. Trunova O.A., Skripka L.V., Bagri A.E., Prokhorov E.V., Reznichenko N.A. [Immunological and epidemiological effectiveness of tularemia vaccine prophylaxis in the Donbas region]. *Meditsinskii Vestnik Yuga Rossii [Medical Bulletin of the South of Russia]*. 2023; 14(4):66–76. DOI: 10.21886/2219-8075-2023-14-4-66-76.
7. Nekhoroshikh Z.M., Dzhurtubaeva G.M., Pilipenko N.V., Protsishina N.M. [Ecological and epidemiological aspects of tularemia in the south of Ukraine]. *Aktual'naya Infektologiya [Current Infectology]*. 2019; 7(2). [Online Publication “News of Medicine and Pharmacy”]. [Internet]. Available from: <http://www.mif-ua.com/archive/issue-34752/>.
8. Popova A.Yu., Kulichenko A.N., Noskov A.K., Efremenko D.V., Volynkina A.S., Tsapko N.V., Kotenev E.S., Maletskaya O.V., Kurcheva S.A., Vasilyeva O.V., Gazieva A.Yu., Dobrovolsky O.P., Zabashta M.V., Khametova A.P., Panasyuk N.V., Chemisova O.S., Tsai A.V., Ananyeva N.Ye., Dokashenko D.A., Khattatova N.V., Turov V.M. [Epizootiological situation and epidemiological risks of natural-focal infections in the territory of new subjects of the Russian Federation (Donetsk People's Republic, Lugansk People's Republic, Zaporozhe and Kherson regions)]. *Meditsinskii Vestnik Yuga Rossii [Medical Bulletin of the South of Russia]*. DOI: 10.21886/2219-8075-2024-15-1-7-18.
9. Kudryavtseva T.Yu., Popov V.P., Mokrievich A.N., Kulikalova E.S., Kholin A.V., Mazepa A.V., Borzenko M.A., Cherepanova E.A., Matveeva V.A., Trankvilevsky D.V., Khranov M.V., Dyatlov I.A. [Analysis of the epizootiological and epidemiological situation on tularemia in the territory of the Russian Federation in 2023 and forecast for 2024]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; (1):17–29. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-17-29.
10. Jurtubaeva G., Savchuk A., Kozishkurt O., Gerasimenko O., Gaidei V., Kostolonova L. Epidemic process of tularemia in the world and in the south of Ukraine. *Journal of Education, Health and Sport*. 2022; 12(1):503–13. DOI: 10.12775/JEHS.2022.12.01.042.
11. Yusupov M.M. [Social survival in conditions of regional armed conflict]. *Nauchnyi Rezul'tat. Sotsiologiya i Upravlenie [Research Result. Sociology and Management]*. 2023; 9(3):9–20. DOI: 10.18413/2408-9338-2023-9-3-0-2.
12. Kurylenko M.L., Pichurina N.L., Fedchenko A.V., Kovaleva E.I., Sidenko I.S., Shelud'ko A.A., Akhmetov A.P. [Some measures to minimize the risks of infection with tularemia in the territory of a natural steppe-type focus in the south-east of the Rostov Region]. In: [Topical Issues of Infectology, Parasitology and Ecology: Proceedings of the III Regional Interdisciplinary Scientific Conference of Young Scientists (Rostov-on-Don, December 04–05, 2020)]. Rostov-on-Don: Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology; 2020. P. 43–5.

Authors:

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

Об авторах:

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-146-149

УДК 579.8:578.347

Д.С. Давыдов, Р.Л. Парфенюк, З.В. Дурманова, А.А. Мовсесянц

Основные требования к порядку ведения коллекций производственных штаммов бактериофагов

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация

Разработка и внедрение биологических лекарственных препаратов на основе бактериофагов является одним из направлений Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года, утвержденной решением Правительства Российской Федерации от 25 сентября 2017 г. № 2045-р. Обязательным условием для осуществления задач Стратегии служит создание банков госпитальных штаммов микроорганизмов и банков актуальных бактериофагов. **Цель работы** – определить основные требования к порядку ведения коллекции производственных штаммов бактериофагов. **Материалы и методы.** Проведен анализ нормативно-правовых документов, в которых закреплены цели, задачи, правила создания и использования коллекций патогенных микроорганизмов и вирусов, определены требования к качеству лечебно-профилактических препаратов бактериофагов. Использованы информационные материалы, содержащие актуальные сведения о биологических свойствах бактериофагов, имеющих значение для их терапевтического применения. **Результаты и обсуждение.** Ведение производственной коллекции бактериофагов характеризуется определенными особенностями, которые необходимо учитывать при создании лечебно-профилактических препаратов бактериофагов, соответствующих современной динамике изменчивости клинических бактериальных штаммов. Для обеспечения клинической эффективности и генетической безопасности фаготерапии препараты бактериофагов должны иметь в своем составе бактериофаги, охарактеризованные по морфологическим, биологическим, генетическим характеристикам. Препараты бактериофагов должны быть адаптированы к эпидемиологически значимым возбудителям гнойно-воспалительных и кишечных инфекций.

Ключевые слова: рабочая коллекция патогенов, производственные штаммы бактериофагов, лечебно-профилактические препараты бактериофагов, маточные фаги.

Корреспондирующий автор: Давыдов Дмитрий Сергеевич, e-mail: davydov@exrmed.ru.

Для цитирования: Давыдов Д.С., Парфенюк Р.Л., Дурманова З.В., Мовсесянц А.А. Основные требования к порядку ведения коллекций производственных штаммов бактериофагов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:146–149. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-146-149

Поступила 14.06.2024. Отправлена на доработку 02.07.2024. Принята к публ. 25.09.2024.

D.S. Davydov, R.L. Parfenyuk, Z.V. Durmanova, A.A. Movsesyants

Basic Requirements for the Procedure for Maintaining Collections of Industrial Strains of Bacteriophages

Scientific Center for Expertise of Medical Application Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Abstract. The development and implementation of biological drugs based on bacteriophages is one of the elements of the “Strategy for Preventing the Spread of Antimicrobial Resistance in the Russian Federation for the Period of up to 2030”, approved by the Decision of the Government of the Russian Federation, dated September 25, 2017 No. 2045-r. A prerequisite for the implementation of the objectives of the Strategy is the creation of banks of hospital strains of microorganisms and banks of relevant bacteriophages. **The aim** of the work was to determine the basic requirements for the procedure for maintaining a collection of industrial strains of bacteriophages. **Materials and methods.** An analysis of regulatory documents has been carried out, where goals, objectives, rules for the creation and use of collections of pathogenic microorganisms and viruses are stated, and the requirements for the quality of therapeutic and prophylactic preparations of bacteriophages are set. Information materials containing up-to-date information on the biological properties of bacteriophages that are important for their therapeutic use are considered. **Results and discussion.** Maintaining a production collection of bacteriophages is characterized by certain features that must be taken into account when creating therapeutic and prophylactic preparations of bacteriophages that correspond to the current dynamics of variability of clinical bacterial strains. To ensure the clinical efficacy and genetic safety of phage therapy, bacteriophage preparations should contain bacteriophages that are identified and characterized by morphological, biological, and genetic features. Bacteriophage preparations should be adapted to epidemiologically significant pathogens of purulent-inflammatory and intestinal infections.

Key words: working collection of pathogens, production strains of bacteriophages, therapeutic and prophylactic preparations of bacteriophages, mother phages.

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

Funding: The work was carried out within the framework of the state assignment of the Federal State Budgetary Institution "SCEMAP" of the Ministry of Health of Russia No. 056-00026-24-00 for applied scientific research (state registration number 124022200103-5).

Corresponding author: Dmitry S. Davydov, e-mail: davydov@expmed.ru.

Citation: Davydov D.S., Parfenyuk R.L., Durmanova Z.V., Movsesyants A.A. Basic Requirements for the Procedure for Maintaining Collections of Industrial Strains of Bacteriophages. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:146–149. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-146-149

Received 14.06.2024. *Revised* 02.07.2024. *Accepted* 25.09.2024.

Davydov D.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1768-1362>
Parfenyuk R.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8190-9299>

Durmanova Z.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2845-1359>
Movsesyants A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2132-0962>

Широкое распространение антимикробной резистентности возбудителей гнойно-воспалительных и инфекционных заболеваний представляет угрозу для биологической и экономической безопасности во многих странах с развитым здравоохранением.

В 2017 г. утверждена Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации до 2030 года (далее – Стратегия). Одним из основных этапов реализации мероприятий, направленных на изучение механизмов возникновения антимикробной резистентности и разработку противомикробных препаратов и альтернативных методов, технологий и средств профилактики, диагностики и лечения инфекционных заболеваний человека, животных и растений, является разработка и внедрение биологических лекарственных препаратов на основе бактериофагов.

В рамках реализации государственной Стратегии на базе крупных предприятий и научно-исследовательских центров созданы коллекции бактериофагов. Данные коллекции предназначены для учета, хранения и всестороннего изучения характеристик бактериофагов с применением современных вирусологических методов и создания на основе полученных сведений препаратов для лечения бактериальных инфекций и гнойно-воспалительных заболеваний с учетом тех вызовов, которые сложились на сегодня в системе здравоохранения [1–3].

Ведение производственной коллекции бактериофагов характеризуется определенными особенностями, которые необходимо учитывать при создании лечебно-профилактических препаратов бактериофагов, соответствующих современной динамике изменчивости клинических бактериальных штаммов. **Цель работы** – определить основные требования к порядку ведения коллекции производственных штаммов бактериофагов.

Материалы и методы

В работе использованы нормативно-правовые документы Российской Федерации, определяющие цели, задачи и правила создания коллекций патогенных микроорганизмов и вирусов.

Коллекционная деятельность в Российской Федерации осуществляется в соответствии с Федеральным законом от 30 декабря 2020 г. № 492-ФЗ «О биологической безопасности в Российской Федерации». Правила создания, пополнения, веде-

ния и использования коллекций патогенных микроорганизмов и вирусов, а также создание и ведение национального каталога коллекционных штаммов патогенных микроорганизмов и вирусов утверждены в постановлении Правительства РФ от 30 сентября 2021 г. № 1668.

Основные требования, предъявляемые к производству и качеству лечебно-профилактических препаратов бактериофагов, включены в Государственную фармакопею Российской Федерации, ОФС.1.7.1.0002.15 «Бактериофаги». Информационные материалы, использованные в работе, содержат актуальные сведения о биологических свойствах бактериофагов и методах их исследования.

Результаты и обсуждение

В Российской Федерации существуют государственные, исследовательские и рабочие коллекции патогенов. Штаммы патогенных микроорганизмов и вирусов, используемые для производства иммунобиологических препаратов и бактериофагов, определены как рабочие коллекции патогенов.

Ведение рабочей коллекции патогенов предусматривает:

а) целевое использование штаммов рабочей коллекции патогенов в рамках стоящих перед организацией производственных, диагностических и учебных задач;

б) изучение свойств поддерживаемых штаммов с использованием традиционных и современных молекулярно-генетических методов;

в) передача в исследовательские коллекции патогенов выделенных штаммов патогенов для решения вопроса о размещении их в государственных коллекциях патогенов.

Лечебно-профилактические препараты бактериофагов – это лекарственные средства, содержащие комплексы вирулентных бактериальных вирусов, обладающих высокой литической активностью и широким диапазоном действия по отношению к штаммам гомологичного вида бактерий, стабильностью лизиса и специфической направленностью антимикробного действия. Препараты бактериофагов должны соответствовать современной этиологической структуре возбудителей бактериальных инфекций, поэтому, наряду со сбором свежевыделенных штаммов бактерий, полученных от больных с различными гнойно-воспалительными и кишечными

заболеваниями, большое значение приобретают постоянный целенаправленный поиск и отбор литических бактериофагов для пополнения производственной коллекции.

Ведение коллекции производственных штаммов бактериофагов включает:

1. Формирование, пополнение и поддержание производственной коллекции бактериофагов. При создании лекарственных препаратов бактериофагов используют только вирулентные бактериофаги природного происхождения. Их выделяют из сточных вод, почвы, клинического материала, пассируют на штаммах гомологичного вида бактерий, производственных и свежевыделенных, усиливая таким образом литическую активность и расширяя диапазон действия в отношении циркулирующих бактериальных штаммов. Коллекция производственных штаммов должна постоянно пополняться за счет расширения географии регионов поиска литических бактериофагов, что позволяет создать фаговую основу препарата, высокоэффективную по спектру антибактериальной активности в отношении эпидемиологически значимых госпитальных и клинических штаммов, универсальную для различных удаленных территорий России [4].

2. Изучение кандидатных штаммов бактериофагов для последующего введения в состав маточных фагов: определение биологических свойств штаммов, их качественных и количественных характеристик с применением современных молекулярно-генетических методов исследования; изучение характера взаимодействия с бактериальными клетками (время максимальной адсорбции, длительность внутриклеточного размножения, величина выхода фага из одной инфицированной клетки, частота образования фагоустойчивых мутантов).

3. Определение таксономической принадлежности штаммов бактериофагов и установление их аутентичности заявленным паспортным данным.

На основании результатов молекулярно-генетических методов типирования бактериофагов (полногеномное секвенирование) и электронной микроскопии фаговых частиц проводят сравнение с известными группами бактериофагов, которые заведомо относятся к литическим и пригодным для терапевтического применения.

4. Все штаммы бактериофагов, находящиеся на хранении в коллекции, подлежат паспортизации. Перечень включаемой информации содержит: происхождение штамма, условия культивирования и длительность хранения, характер взаимодействия с бактериальными клетками, морфологические характеристики вириона с указанием принадлежности к определенному морфотипу, наличие генетических мутаций, генов токсичности, лизогении, антибиотикоустойчивости, рекомбиназ, морфологию негативных колоний [5].

5. Хранение и поддержание в жизнеспособном состоянии коллекционных штаммов.

Производственные штаммы бактериофагов хранят в виде стерильных фильтратов фаголизатов при температуре от 2 до 8 °С в течение установленного срока, с ежегодным пересевом на бактериальных штаммах. Используют как источник фагов при получении свежевыделенных штаммов бактерий и обновлении маточных фагов. Длительное хранение производственных штаммов бактериофагов осуществляется в лиофилизированном состоянии при температуре от 2 до 8 °С. Маточные бактериофаги – главные посевные культуры бактериофагов, используемые для получения серий лекарственного средства – хранятся в виде стерильных фильтратов фаголизатов при температуре от 2 до 8 °С в течение 1 года.

6. Депонирование штаммов литических бактериофагов, а также штаммов патогенных микроорганизмов, продуцентов бактериофагов (в том числе контрольных штаммов, используемых для проведения научных исследований в области разработки и производства средств диагностики, профилактики и лечения инфекционных болезней человека, животных и растений).

7. Обеспечение биологической безопасности работ по обнаружению, выделению и культивированию бактериофагов на производственных штаммах бактерий осуществляется при строгом соблюдении санитарно-эпидемиологических правил. К особенностям работы можно отнести защиту производственных штаммов бактерий от внутрилабораторного заражения фагами. Для выделения бактериофагов из объектов внешней среды или клинического материала необходимы изолированные от производства боксированные помещения; в производственной зоне должны быть предусмотрены отдельные микробиологические боксы для работы с производственными бактериальными штаммами и маточными фагами.

Для поддержания эффективности лекарственных средств на основе бактериофагов в условиях роста антибиотикоустойчивости эпидемиологически значимых возбудителей инфекций требуются:

- регулярный мониторинг чувствительности и литической активности бактериофагов к актуальным циркулирующим в клинических условиях штаммам;
- повышение вирулентности фаговых рас путем адаптации к слабочувствительным и фагорезистентным штаммам гомологичных бактерий и расширение диапазона литической активности;
- сбор, хранение, учет и изучение биологических характеристик патогенных штаммов бактерий, выделенных от больных гнойно-воспалительными и инфекционными болезнями, в регионах, где может применяться лекарственное средство на основе бактериофагов.

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

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП»

Минздрава России № 056-00026-24-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022200103-5).

Список литературы

1. Зурабов А.Ю., Каркищенко Н.Н., Попов Д.В., Жиленков Е.Л., Попова В.М. Создание отечественной коллекции бактериофагов и принципы разработки лечебно-профилактических фаговых препаратов. *Биомедицина*. 2012; 1:134–8.
2. Мьякина В.П., Воложанцев Н.В., Денисенко Е.А., Говорунов И.Г. База данных «Коллекция бактериофагов ФБУН ГНЦ ПМБ». В кн.: Материалы V Национального конгресса бактериологов. Москва, 16–17 сентября 2019 г. / Ассоц. Нац. науч.-практ. о-во бактериологов. М.: Династия; 2019. С. 58–9.
3. «Нацимбио» создает всероссийскую базу бактериофагов. [Электронный ресурс]. URL: <https://rostec.ru/news/4521345/> (дата обращения 12.09.2023).
4. Польша О.А., Ворошилова Н.Н., Тикунova Н.В., Морозова В.В., Тикунov А.Ю., Крылов В.Н., Юнусова А.А., Дабизева А.Н. Современные подходы к способам создания фаговой основы лечебно-профилактического препарата бактериофагов *Pseudomonas aeruginosa*. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018; 2:37–45. DOI:10.24411/2073-3046-2018-10004.
5. Производство, качество, доклинические, клинические исследования лечебно-профилактических препаратов бактериофагов. В кн.: Нормативные правовые акты в сфере обращения лекарственных средств в рамках Евразийского экономического союза. Т. 3. Разработка и проведение исследований биологических лекарственных средств. М.: Ремедиум; 2017. С. 341–52.

References

1. Zurabov A.Yu., Karkishchenko N.N., Popov D.V., Zhilenkov E.L., Popova V.M. [Creation of native bacteriophages collection

and principle of treatment and prophylactic phage drug design]. *Biomeditsina [Biomedicine]*. 2012; (1):134–8.

2. Myakinina V.P., Volozhantsev N.V., Denisenko E.A., Govorunov I.G. [Database “Collection of bacteriophages of FBSI SSC AMB”]. In: [Proceedings of the V National Congress of Bacteriologists. Moscow, September 16–17, 2019 / Associated National Scientific-Practical Society of Bacteriologists]. Moscow: Dynasty Publishing House; 2019. P. 58–9.

3. Pharmaceutical Holding “National immunobiological enterprise” creates an all-Russian base of bacteriophages. (Cited 12 Sept 2023). [Internet]. Available from: <https://rostec.ru/news/4521345/>.

4. Polygach O.A., Voroshilova N.N., Tikunova N.V., Morozova V.V., Tikunov A.Yu., Krylov V.N., Yunusova A.A., Dabizheva A.N. [Modern approaches to methods for creating a phage base for a therapeutic and prophylactic preparation of bacteriophages *Pseudomonas aeruginosa*]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2018; (2):37–45. DOI: 10.24411/2073-3046-2018-10004.

5. [Production, quality, preclinical, clinical trials of therapeutic and prophylactic preparations of bacteriophages]. In: [Regulatory Legal Acts in the Field of Circulation of Medicines within the Framework of the Eurasian Economic Union. Volume 3. Development and Conduct of Research on Biological Medicines]. Moscow: “Remedium”; 2017. P. 341–52.

Authors:

Davydov D.S., Parfenyuk R.L., Durmanova Z.V., Movsesyants A.A. Scientific Center for Expertise of Medical Application Products, 8, Bld. 2, Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation. E-mail: general@expmed.ru.

Об авторах:

Давыдов Д.С., Парфенюк Р.Л., Дурманова З.В., Мовсисянц А.А. Научный центр экспертизы средств медицинского применения. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2. E-mail: general@expmed.ru.



DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-150-159

УДК 378.046.4:616.9

Т.А. Малюкова, Ю.А. Попов, Е.В. Сазанова, Е.В. Растунцева, Т.П. Шмелькова, Г.В. Чеховская,
З.Л. Девдариани, А.В. Бойко, С.С. Чекмарева

Служение длиною в век: подготовка специалистов по особо опасным инфекциям в институте «Микроб»

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

В работе представлены краткие сведения об организации, становлении и развитии отдела образовательных программ и подготовки специалистов ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора – первого в стране специализированного подразделения для подготовки кадров к работам с возбудителями особо опасных инфекций, участию в научно-исследовательской деятельности и противоэпидемических мероприятиях на территории России и за рубежом. Накопленный опыт позволил создать эффективную систему обучения специалистов по вопросам микробиологии, эпидемиологии, лабораторной диагностики особо опасных инфекций, сочетая традиционные принципы выработки практических умений и навыков безопасного выполнения манипуляций с патогенами и современные информационно-методическую и материально-техническую базы, минимизировав биориск образовательных технологий. В последнее десятилетие коллектив отдела активно участвует в международной деятельности по подготовке кадров для стран СНГ и дальнего зарубежья, в том числе в рамках функционирования Центра, сотрудничающего с ВОЗ по вопросам реагирования на чрезвычайные ситуации санитарно-эпидемиологического характера, при ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. Анализ современного этапа деятельности отдела позволил сформировать планы и перспективы совершенствования.

Ключевые слова: особо опасные инфекции, противочумный институт, дополнительное профессиональное образование, биологическая безопасность.

Корреспондирующий автор: Малюкова Татьяна Анатольевна, e-mail: rusrapi@microbe.

Для цитирования: Малюкова Т.А., Попов Ю.А., Сазанова Е.В., Растунцева Е.В., Шмелькова Т.П., Чеховская Г.В., Девдариани З.Л., Бойко А.В., Чекмарева С.С. Служение длиною в век: подготовка специалистов по особо опасным инфекциям в институте «Микроб». *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 4:150–159. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-150-159

Поступила 02.10.2024. Принята к публ. 07.10.2024.

T.A. Malyukova, Yu.A. Popov, E.V. Sazanova, E.V. Rastuntseva, T.P. Shmel'kova, G.V. Chekhovskaya,
Z.L. Devdariani, A.V. Boiko, S.S. Chekmareva

A Century-Long Service: Training of Specialists in Particularly Dangerous Infections at the Premises of the Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”

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

Abstract. The paper presents brief information on the organization, evolvement and modernization of the Department of Educational Programs and Training of Specialists at the Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of the Rospotrebnadzor, the first specialized unit in the country to train personnel to work with pathogens of particularly dangerous infections, participate in research activities and anti-epidemic measures in Russia and abroad. The accumulated experience has made it possible to create an effective system for training specialists in microbiology, epidemiology, and laboratory diagnostics of particularly dangerous infections, combining traditional principles of developing skills and abilities in safely handling pathogens with modern information, methodological, and material-technical bases, minimizing the bio-risk of educational technologies. Over the past decade, the department’s staff has been actively involved in international activities to train personnel for the CIS and foreign countries, including within the framework of the WHO Collaborating Center on responding to sanitary and epidemiological emergencies at the Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of the Rospotrebnadzor. An analysis of the current stage of the department’s activities has made it possible to draw plans and outline the prospects for improvement.

Key words: particularly dangerous infections, anti-plague institute, additional professional education, biological safety.

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

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

Corresponding author: Tatiana A. Malyukova, e-mail: rusrapi@microbe.

Citation: Malyukova T.A., Popov Yu.A., Sazanova E.V., Rastuntseva E.V., Shmel'kova T.P., Chekhovskaya G.V., Devdariani Z.L., Boiko A.V., Chekmareva S.S. A Century-Long Service: Training of Specialists in Particularly Dangerous Infections at the Premises of the Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 4:150–159. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-150-159
Received 02.10.2024. Accepted 07.10.2024.

Malyukova T.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5629-4111>
Popov Yu.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7641-6334>
Sazanova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9140-3910>
Rastuntseva E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8663-0270>
Shmel'kova T.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5891-6028>

Chekhovskaya G.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3896-7762>
Devdariani Z.L., ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-8528-1933>
Boiko A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9576-4959>
Chekmareva S.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5487-2240>

В декабре 2024 г. отмечает 100-летие отдел образовательных программ и подготовки специалистов ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора – первое в стране подразделение, созданное с целью подготовки кадров для работ с возбудителями особо опасных инфекций (ООИ).

Институт «Микроб» является преемником Особой лаборатории Императорского института экспериментальной медицины по заготовлению противобубонно-чумных препаратов в форте «Александр I», располагавшейся близ Кронштадта. На ее базе с 1899 г. осуществлялась подготовка специалистов по вопросам бактериологии и диагностики бубонной чумы [1]. Актуальность работы возросла с 1899 по 1913 г. из-за регистрации 41 эпидемии чумы с гибелью более 3200 человек и острой нехватки кадров для борьбы с инфекцией на фоне непростого экономического положения страны.

Сложная эпидемическая ситуация на Юго-Востоке России способствовала организации Астраханской (1901 г.) и Джембейтинской (1912 г., Уральская область) противочумных лабораторий, немногочисленные специалисты которых не только выявляли и ликвидировали вспышки чумы, но и организовали курсы по подготовке медицинского персонала [1, 2].

С 1918 г. был осуществлен ряд реформ в организации медицинского дела в стране, в том числе создан первый противочумный институт – Краевой институт микробиологии и эпидемиологии Юго-Востока России Наркомздрава РСФСР (ныне ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора). На его базе сразу же начал функционировать микробиологический кружок, сыгравший существенную роль в подготовке кадров для института и противочумных лабораторий. Однако выполнение основной задачи – планомерной борьбы с чумой – требовало профессиональных кадров для лабораторий и развертывания противочумных мероприятий на Юго-Востоке страны. Обучение проводили на краткосрочных курсах по чуме, натуральной оспе, малярии, в том числе с освоением на практике бактериологических методов лабораторной диагностики [1].

Несмотря на проводимые противочумные мероприятия в период Гражданской войны (1917–1922 гг.), эпидемиологическая ситуация в стране оставалась сложной: расширилась территория, на которой отмечались вспышки чумы (Забайкалье, Маньчжурия, Дальний Восток, Батуми, Новороссийск и пр.) с преимущественно (70 %) легочной формой течения болезни; регистрировались эпидемии возвратного,

брюшного, сыпного тифов, холеры, «испанки», что требовало квалифицированных кадров как для борьбы, так и для профилактики инфекций [1]. В связи с этим было принято решение (приказ Народного комиссара здравоохранения СССР от 27 декабря 1924 г. № 67) о создании специального подразделения института – курсов подготовки врачей-чумологов [1, 3–7].

Подразделение располагалось в одной комнате с рабочими местами для 10 обучающихся, имело только два микроскопа и состояло из двух человек: заведующей кандидата медицинский наук А.А. Безсоновой и лабораторного служащего З.Я. Антышевой (рис. 1)*. Учебная программа включала краткое знакомство с микробиологией, эпидемиологией чумы, холеры, сибирской язвы, дифтерии, некоторых бактериальных кишечных инфекций человека, проведением противоэпидемических и профилактических мероприятий, а также приобретение навыков выполнения основных методов лабораторной диагностики. В течение 1924–1925 гг. было обучено всего 18 человек и 19 человек прошли стажировку [1].

В 1928–1930 гг. произошли существенные изменения: выделено помещение, оборудованное для работы 30 человек; программу дополнили изучением актуальных ООИ и социально значимых инфекций – бруцеллеза, туляремии, натуральной оспы, малярии, туберкулеза, постановки реакций Шика и Дика врачами, участвующими в вакцинации населения; подготовкой среднего технического персонала и работников прививочных пунктов по оспопрививанию, профилактике дифтерии; в штат влились специалисты с опытом работы на вспышках ООИ [8, 9]. Согласно Уставу противочумной организации Наркомздрава СССР (1939 г.) курсы специализации стали проводить два раза в год. Важная особенность – практическая направленность учебного процесса. Обучающихся после трех месяцев теоретической подготовки и практических занятий под наблюдением преподавателей направляли на полгода в одну из противочумных лабораторий для участия в сезонных обследовательских кампаниях или ликвидации вспышек чумы, в том числе самостоятельного обследования территории, выявления эпизоотии грызунов, проведения патологоанатомического исследования и бактериологической диагностики, организации противоэпидемических мероприятий (рис. 2).

За первые десять лет проведено 13 циклов обучения по лабораторной диагностике и профилак-

* По архивным материалам отдела образовательных программ создан фильм, просмотр которого возможен при использовании QR-кода, расположенного в начале статьи в правом верхнем углу.



Рис. 1. Практическое занятие в учебной комнате, 1924 г.

Fig. 1. Practical session in the classroom, 1924



Рис. 2. Слушатели курсов по дороге в противочумную станцию на практику

Fig. 2. Course participants on their way to Plague Control Station for practical training

тике чумы, которые закончили 170 человек, ставших основной кадровой силой зарождавшейся противочумной системы.

С 1932 по 1973 г. дополнительно были организованы курсы усовершенствования врачей по ООИ; подготовка по профилактике холеры врачей, в том числе для учреждений министерств обороны, путей сообщения, водного транспорта и гражданской авиации.

Продолжительность курсов специализации периодически изменялась от 3 до 9 месяцев. После окончания Великой Отечественной войны приказом Минздрава СССР был установлен 6-месячный срок специализации врачей по ООИ.

Обучение на курсах специализации по ООИ с целью приобретения знаний по мерам профилакти-

ки, практических навыков лабораторной диагностики и безопасного выполнения манипуляций с микроорганизмами являлось обязательным условием работы в противочумной системе с самого начала ее основания. Данное требование впервые зафиксировано в «Инструкции по режиму работы с материалом, зараженным или подозрительным на зараженность возбудителями чумы...» (1967 г.) и в настоящее время регламентировано положениями приказа Руководителя Роспотребнадзора от 20.07.2007 № 225 и СанПиН 3.3686-21.

Специализированные подразделения для профессионального обучения правилам и приемам обеспечения биобезопасности при проведении работ с патогенными биологическими агентами (ПБА) I–II групп при участии заведующей курсовым от-

делом института «Микроб» Г.Н. Ленской были созданы в научно-исследовательских противочумных институтах в Ростове-на-Дону (1934 г.) и Иркутске (1938 г.). В дальнейшем подготовку специалистов начали проводить в противочумных институтах в Ставрополе (1952 г.), Волгограде (1999 г.) и на Астраханской противочумной станции (1986 г.). С 1970-х гг. отдел подготовки и усовершенствования специалистов института «Микроб» стал методическим центром по разработке и пересмотру учебных программ, реализуемых в противочумных учреждениях страны.

Образовательная деятельность на базе института «Микроб» совершенствовалась не только в плане увеличения количества программ обучения с разработкой соответствующих учебных материалов, но и внедрения новых методов лабораторной диагностики, лабораторного оборудования, а также актуальных правил безопасной работы с ПБА и средств защиты. В 1969 г. отделу предоставляется новое помещение общей площадью 511 м², в том числе лекционный зал, лабораторный зал для практических занятий с 25 индивидуальными рабочими местами, блок для работы с инфицированными животными, автоклавная, оборудованные в соответствии с действующими нормативными документами по безопасной работе (рис. 3).

С 1974 г. начали проводить 3-месячные курсы первичной специализации по ООИ для врачей и биологов научных учреждений микробиологического профиля, курсы усовершенствования военных врачей, в том числе слушателей Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова.

Несмотря на сложную социально-экономическую ситуацию в стране после 1991 г., подготовка специалистов не прерывалась: ежегодно проводились курсы первичной специализации и повышения квалификации по ООИ бактериологов, эпидемиологов, лаборантов, зоологов.

С 2006 г. начался подъем интенсивности образовательной деятельности, обусловленный как вну-

тренними, так и внешними факторами, в первую очередь осложнением эпидемиологической ситуации по ряду опасных инфекций и ООИ, требующих проведения мероприятий по санитарной охране государства. В качестве актуальных и приоритетных тем рассматривались действия в условиях чрезвычайной ситуации (ЧС) в области общественного здравоохранения международного значения или санитарно-эпидемиологического характера на территории и за пределами Российской Федерации; организация и проведение разноплановых массовых мероприятий (общественных, политических, спортивных, религиозных), в том числе с международным участием. Разработаны и внедрены программы повышения квалификации по Международным медико-санитарным правилам (ММСП) (2005 г.); обеспечению биобезопасности работ с ПБА в микробиологической лаборатории; применению ПЦР и секвенирования при лабораторной диагностике инфекций; организации и обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия в период проведения массовых мероприятий; подготовке членов специализированных противоэпидемических бригад (СПЭБ) противочумных институтов Роспотребнадзора; подготовке для работы в мобильных лабораториях (мобильных комплексах) на базе автошасси; контролю технического состояния и проверке защитной эффективности боксов микробиологической безопасности и фильтров очистки воздуха в приточно-вытяжных вентиляционных системах; коллекционной деятельности с патогенными бактериями; иммунологическим методам лабораторной диагностики инфекций.

С 2007 г. институт «Микроб» на основании приказа Роспотребнадзора от 20.07.2007 № 225 стал одним из двух центров подготовки членов СПЭБ противочумных институтов Роспотребнадзора. При участии сотрудников отдела разработаны программы повышения квалификации и ежегодно реализуются курсы «Подготовка личного состава СПЭБ для работы в чрезвычайных ситуациях» (с 2007 г.), «Подготовка лаборантов и дезинфекторов для работы



Рис. 3. Практическое занятие в лабораторном зале, 1990 г.

Fig. 3. Tutorial in the laboratory auditorium, 1990

в составе СПЭБ» (с 2014 г.) и «Подготовка по биологической безопасности членов СПЭБ с инженерно-техническим образованием» (с 2014 г.).

Одна из основных задач отдела – методическое обеспечение учебного процесса. С 2010 г. научными сотрудниками разработано 11 учебно-методических пособий, 7 учебно-методических комплексов, комплекты сертификационных тестовых заданий по специальностям «бактериология» и «эпидемиология», явившиеся центрами двух баз данных, на которые получены свидетельства о регистрации в Роспатенте.

Цифровая трансформация образования позволила вывести подготовку кадров медико-профилактического направления на качественно новый уровень. В последнее десятилетие на базе института «Микроб» созданы условия для внедрения цифровой образовательной среды. В частности, научными сотрудниками отдела с привлечением спе-

циалистов других подразделений института с 2015 г. созданы 11 электронных учебно-методических пособий (ЭУМП), включающих более 60 учебных видеороликов, 2D- и 3D-анимационных роликов, 5 комплектов электронных контрольно-измерительных материалов и программное обеспечение для их применения, а также более 100 видеолекций (таблица).

Программное обеспечение «Система оценки (стандарта) уровня подготовки специалистов в области эпидемиологии, лабораторной диагностики и биобезопасности» в настоящее время содержит более 1300 тестовых заданий на русском, английском, французском и узбекском языках. Работа с пособиями актуальна при самоподготовке и дает возможность обучающимся изучать материал многократно, до полного усвоения, провести самоконтроль с помощью тестирования, а затем применять на практических занятиях при решении ситуационных задач, тем самым повысить качество и эффективность при-

Перечень электронных учебно-методических пособий

List of electronic study guides

Название ЭУМП Title of ESG	Количество учебных фильмов Number of educational videos	Количество тестовых вопросов Number of test questions
1. ЭУМП комплекс «Актуальные особо опасные инфекционные болезни: микробиология, эпидемиология, лабораторная диагностика, обеспечение биобезопасности» <i>Electronic educational-methodical complex «Relevant particularly dangerous infectious diseases: microbiology, epidemiology, laboratory diagnostics, biosafety provision»</i>		
ЭУМП «Стандартные операционные процедуры» ESG “Standard operational procedures”	17	170
ЭУМП «Работа в боксе микробиологической безопасности» ESG “Work in a microbiological safety cabinet”	1	28
ЭУМП «Заражение и вскрытие лабораторных животных» ESG “Inoculation and autopsy of laboratory animals”	6	60
ЭУМП «Ликвидация аварий при работе с ПБА» ESG “Elimination of accidents when working with PBA”	8	18
ЭУМП «Забор, упаковка и транспортирование инфицированного биологического материала» ESG “Collection, packaging and transportation of infected biological material”	4	30
ЭУМП «Микробиология, эпидемиология, лабораторный диагноз чумы» ESG “Microbiology, epidemiology, laboratory diagnosis of plague”	–	167
ЭУМП «Микробиология, эпидемиология, лабораторный диагноз холеры» ESG “Microbiology, epidemiology, laboratory diagnosis of cholera”	–	130
ЭУМП «Микробиология, эпидемиология, лабораторный диагноз сибирской язвы» ESG “Microbiology, epidemiology, laboratory diagnosis of anthrax”	–	41
ЭУМП «Микробиология, эпидемиология, лабораторный диагноз бруцеллеза» ESG “Microbiology, epidemiology, laboratory diagnosis of brucellosis”	–	81
ЭУМП «Микробиология, эпидемиология, лабораторный диагноз туляремии» ESG “Microbiology, epidemiology, laboratory diagnosis of tularemia”	–	60
2. ЭУМП «Основные принципы организации и функционирования СПЭБ Роспотребнадзора» <i>ESG “Basic principles of organization and functioning of the Rospotrebnadzor SAET”</i>	26	77
3. «Система оценки (стандарта) уровня подготовки специалистов в области эпидемиологии, лабораторной диагностики и биобезопасности» – включает вопросы по темам «Эпидемиология», «Бактериология», «Лабораторная диагностика», «Зоопаразитология ООИ», «Иммунология и иммунологические методы диагностики» <i>“System for assessing (standard) the level of training of specialists in the field of epidemiology, laboratory diagnostics and biosafety” – includes questions on the topics: “Epidemiology”, “Bacteriology”, “Laboratory diagnostics”, “Zooparasitology of particularly dangerous infectious diseases”, “Immunology and immunological diagnostic methods”</i>	–	1316

обретения умений и навыков. Учебные фильмы могут также выступать в качестве ситуационных задач, так как обсуждение их содержания позволяет оценить не только наличие профессиональных знаний, но также косвенно судить об умениях и навыках безопасной работы с патогенными микроорганизмами.

К настоящему времени обучение с применением ЭУМП прошли более 1400 слушателей курсов, в том числе из шести стран СНГ, Гвинейской Республики, Монголии, Республики Уганда.

В последние годы особое внимание уделяется подготовке специалистов для работы в ЧС. На базе института «Микроб» создан Центр, сотрудничающий со Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) по вопросам реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера. Научными сотрудниками отдела организована разработка программы повышения квалификации членов команд быстрого реагирования стран СНГ, и с 2022 г. обучено, в том числе с использованием ЭУМП, 53 специалиста с последующим их участием в международных учениях. С целью содействия развитию международного взаимодействия России со странами-партнерами в сфере противодействия биологическим угрозам и подготовки специалистов для работы в ЧС в 2024 г. планируется анонсированный на сайте ООН онлайн-курс с использованием материалов семи ЭУМП по программе «Особо опасные инфекции: эпидемиология, лабораторная диагностика, биобезопасность» для специалистов из стран дальнего зарубежья.

Преимущества цифровой трансформации обучения существенны. Опыт применения цифровой образовательной среды, накопленный в течение последних девяти лет, в том числе в период пандемии COVID-19, подтвердил актуальность и целесообразность электронного обучения и дистанционных образовательных технологий с асинхронной и синхронной формами взаимодействия при реализации учебных программ повышения квалификации специалистов.

Вместе с тем цель, содержание, планируемые профессиональные компетенции и учебные планы программ профессиональной переподготовки специалистов (ранее – первичной специализации) для работ с ООИ (73 % учебного времени для практических занятий с целью выработки навыков безопасной работы) обуславливают необходимость продолжительной (не менее 3 месяцев) ежедневной очной формы обучения и исключают возможность использования модели, полностью основанной на электронном и дистанционном взаимодействии.

Цель обучения специалистов (бактериологов, эпидемиологов, зоологов, лаборантов, дезинфекторов) учреждений Роспотребнадзора, министерств здравоохранения, сельского хозяйства и иных ведомств – приобретение профессиональных знаний, умений и навыков лабораторной диагностики ООИ и обеспечения биологической безопасности при выполнении должностных обязанностей с целью защиты здоровья работника, населения и охраны окружающей среды.

Отдел подготовки специалистов достигает цели путем решения следующих задач:

1. Организация и координация разработки и актуализации (каждые 5 лет) единых учебных программ совместно с ведущими специалистами противочумных учреждений с учетом изменений законодательной, нормативно-методической основы в области эпидемиологического надзора и лабораторной диагностики ООИ, обеспечения биобезопасности работ, дополнительного профессионального образования (ДПО) в соответствии с регламентированными для каждой специальности профессиональными компетенциями. Так, в 2021 г. в рамках совещания специалистов пяти противочумных институтов, Противочумного центра, Астраханской противочумной станции, ГНЦ ПМБ и ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора утверждены «Методические рекомендации по разработке дополнительных профессиональных программ» и на их основе актуализированы и разработаны 4 программы профессиональной переподготовки и 16 программ повышения квалификации. Сотрудниками отдела образовательных программ института «Микроб» также осуществлена разработка 7 программ повышения квалификации, размещенных на портале непрерывного медицинского и фармацевтического образования Минздрава России.

2. Ориентирование учебного процесса на практическую деятельность с ПБА в лабораториях и очаге инфекционной болезни: обучение на базе учреждения, имеющего лицензию на работу с ПБА; оборудование учебных рабочих мест в соответствии с требованиями к диагностическим лабораториям; обеспечение адаптации к специфике профессиональной деятельности; постоянное, непосредственное взаимодействие преподавателя и слушателя курсов; решение ситуационных задач, основанных на реальных эпидемических ситуациях.

В настоящее время отдел образовательных программ и подготовки специалистов Российского противочумного института «Микроб» располагается на территории площадью около 700 м², включающей: лекционный зал на 30 мест; компьютерный класс на 12 рабочих мест; лабораторный зал, оборудованный 18 боксами микробиологической безопасности; термостатную комнату; блок для работы с инфицированными животными; проходной автоклав, микробиологические комнаты для подготовки культур микроорганизмов; комнату для люминесцентной микроскопии; комнаты для биохимических, иммунологических исследований, молекулярно-генетической диагностики и вспомогательные помещения (рис. 4). Отдел оснащен современным лабораторным оборудованием для освоения слушателями курсов регламентированных методов индикации и идентификации возбудителей ООИ. Биологическая безопасность обеспечивается за счет современных инженерно-технических мероприятий и средств.

3. Разработка, совершенствование и внедрение методов обучения с целью повышения эффективно-

сти приобретения умений и навыков лабораторной диагностики ООИ и снижения риска лабораторного инфицирования обучающихся на практических занятиях путем максимального сокращения использования патогенных микроорганизмов с учетом Указа Президента РФ от 11.03.2019 № 97.

Специалисты отдела традиционно придерживаются принципа – выработку и закрепление практических навыков безопасного выполнения базовых методов лабораторной работы осуществлять в три этапа: 1) изучение нормативной документации по правилам безопасной работы с ПБА и освоение манипуляций на «чистом» материале (технологические жидкости, питательные среды, незараженные лабораторные животные); 2) работа с ПБА III–IV групп; 3) работа с ПБА I–II групп, в том числе решение ситуационных задач по каждой изучаемой инфекции, основанных на реальных эпидемических ситуациях, с использованием проб – имитаторов ПБА. На всех этапах результаты обучения оценивает преподаватель – научный сотрудник, курирующий слушателя курсов во время практических занятий в течение всего периода обучения.

С целью снижения риска инфицирования обучающихся научными сотрудниками отдела сформированы пять учебных наборов штаммов бактерий I–II групп патогенности, содержащих преимущественно авирулентные культуры, для обучения лабораторной диагностике чумы, холеры, туляремии, бруцеллеза и сибирской язвы. Применение их обеспечивает в полном объеме выполнение учебных планов и приближает условия проведения практических занятий к реальной диагностической деятельности. Совместно с ведущими специалистами противочумных институтов подготовлено методическое пособие по алгоритмам применения наборов в рамках ДПО.

Подобная система организации практических занятий способствует подготовке специалиста, адаптированного к практической деятельности, формированию у него чувства социальной ответственности и выработке в достаточной степени навыков безопасного проведения манипуляций с возбудителями ООИ.

4. Отбор и подготовка специалистов отдела для ведения учебного процесса требуют непрерывного теоретического и методического совершенствования с учетом современной эпидемиологической ситуации в стране и мире, разработки новых методов лабораторной диагностики, правил и средств обеспечения биобезопасности. Особым требованием к преподавателю является осознание личной социальной ответственности за эффективность выработки умений и навыков безопасной работы у курируемых слушателей курсов.

С момента создания образовательного подразделения сотрудники параллельно с учебно-методической работой проводили научные исследования, направленные на решение актуальных проблем в области ООИ: 1924–1973 гг. – изучение микробиологии, изменчивости чумного микроба и возбудителя псевдотуберкулеза; усовершенствование методов лабораторной диагностики ООИ бактериальной природы; 1974–1994 гг. – исследования в области иммунологии чумы и холеры; 1995–2004 гг. – исследования биофизических свойств и роли в иммунопатогенезе поверхностных антигенов чумного и туляремиального микробов; 2006–2024 гг. – исследования в области снижения биориска образовательных технологий, включая разработку учебных наборов штаммов бактерий для практических занятий по лабораторной диагностике чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза. Разработки защищены тремя патентами Российской Федерации. По результатам научных исследований защищены кандидатские (8) и докторские (2) диссертации.

С целью повышения эффективности выработки умений и навыков безопасных манипуляций с ПБА специалистами отдела разработаны 28 стандартных операционных процедур, 7 учебно-методических комплексов, 11 учебно-методических пособий для практических занятий; 10 методических рекомендаций и методическое пособие по подготовке штаммов бактерий учебных наборов и моделированию проб ПБА для практических занятий. Кроме того, научные



Рис. 4. Учебные помещения отдела образовательных программ и подготовки специалистов, 2024 г.:

А – лабораторный зал; В – лекционный зал с компьютерным классом

Fig. 4. Training premises of the Department of Educational Programs and Specialist Training, 2024:

А – laboratory auditorium; В – lecture hall with computer room

сотрудники отдела принимают участие в разработке методических документов федерального уровня, детализирующих правила безопасной работы с инфицированными лабораторными животными и действия при локализации и ликвидации аварий с ПБА.

5. Важным фактором в подготовке сотрудника отдела всегда являлось личное участие в противоэпидемических мероприятиях: в локализации вспышек и эпидемий опасных инфекций и ООИ на территории Российской Федерации и других республик СССР (1924–1990 гг.), включая работу в составе СПЭБ в Спитаке (1979 г.), ликвидацию вспышки брюшного тифа в Вольске (1988 г.); обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия в Ялте и Севастополе (2014 г.), в Казани во время массовых спортивных мероприятий (2013 г.); оказании консультативно-методической помощи лабораториям и медицинским организациям при подготовке к проведению Чемпионата мира по футболу (2018 г.); выполнении оперативной работы в области изучения и мониторинга бактериальных и вирусных инфекций в Гвинейской Республике в рамках реализации распоряжения Правительства РФ о Российско-Гвинейском научно-техническом сотрудничестве (Киндия, 2020 г.); выполнении оперативной работы в рамках борьбы с распространением новой коронавирусной инфекции (2020–2022 гг.), в том числе на базе ФКУЗ Противочумный центр Роспотребнадзора (Москва, 2020 г.).

Продуктивную и эффективную многоплановую работу отдела в разные годы обеспечивали:

– 1924–1934 гг. – руководитель: А.А. Безсонова (1924–1934 гг.); преподаватели: Г.Н. Ленская, Е. Коновалова, В.А. Бердников, Н. Федоров, Е.И. Смирнова, П.Ф. Молодцова; лаборанты, санитарки, препараты: З.Я. Антышева, Е. Турковская, Н. Лучинская, В. Олимпиева, М. Чумакова, Г. Федотова, В. Желтова;

– 1934–1973 гг. – руководители: Г.Н. Ленская (1934–1937, 1940–1952, 1963–1973 гг.), П.Ф. Молодцова (1937–1939 гг.), Е.И. Смирнова (1952–1958 гг.), О.Н. Мосолова (1959–1963 гг.); преподаватели: П.Ф. Молодцова, Е.И. Смирнова, О.Н. Мосолова, В.Г. Твердынина, Е.В. Чибрикова, Н.И. Кузнецова, О.И. Пономарева, О.А. Проценко, Н.М. Соколова, А.Н. Куршева, В.К. Голубева, И.И. Щуркина, Е.И. Вельнер, Л.П. Павлова, Ю.П. Павлова, Н.Б. Игонина; лаборанты и препараты: М.А. Черноусенко, М.И. Глухова, Н.А. Токарева, В.С. Гудяева, З.М. Лесина, Л.М. Фирсова, А.А. Киржанова, Л.Ф. Лачкова, Н.А. Артамонова, П.С. Аннина, Г.М. Афанасьева, Т.П. Богомазова, Н.Ф. Храброва;

– 1974–2004 гг. – руководители: А.В. Горькова (1973–1994 гг.), И.А. Дятлов (1994–1998 гг.), Л.А. Тихомирова (1998–1999, 2004 гг.), А.А. Филиппов (1999–2004 гг.); преподаватели: Н.И. Кузнецова, Л.А. Тихомирова, Е.И. Вельнер, Л.П. Павлова, Г.Ю. Тюмина, Н.Б. Игонина, Ю.П. Павлова, Л.А. Челова, В.П. Дмитриева, Т.Н. Щуковская, Т.Н. Донская, Е.А. Царев, Е.И. Ти-

хомирова, Е.В. Растунцева, О.В. Ульянова, Г.Ю. Тюмина, В.П. Дмитриева, Т.Н. Солодовникова, З.С. Юсупова, М.Ю. Корнеева, Е.В. Сазанова; лаборанты и дезинфекторы: А.А. Киржанова, И.А. Горашко, В.А. Скороход, В.С. Гудяева, В.А. Самохатко, Л.Ф. Лачкова, Н.А. Токарева, Л.А. Трофимова, Н.М. Романцова, И. Шаповалова, И.А. Кириллова, О.А. Головченко, К.П. Сапожникова, Н.Ф. Храброва, В.М. Тяпкина, В.А. Иванова, В.П. Колеш, Л.П. Горбунова, Н.А. Дмитриева;

– 2005–2024 гг. – руководители: А.В. Бойко (2005–2012 гг.), Ю.А. Попов (2013–2022 гг.), Т.А. Малюкова (с 2022 г.); преподаватели: Л.А. Тихомирова, Л.А. Челова, В.П. Дмитриева, Е.Ю. Лоцманова, Е.В. Растунцева, Т.А. Малюкова, Е.В. Сазанова, Т.П. Шмелькова, Ю.А. Попов, Г.В. Чеховская, З.Л. Девдариани, С.С. Чекмарева; лаборанты и медицинские дезинфекторы: В.П. Колеш, Л.П. Горбунова, О.Н. Сердюк, Ю.П. Архипова, Н.А. Дмитриева, С.Н. Скребкова, Ю.А. Осадчая, Н.Ю. Пелагейкина, Н.В. Сосновцева, С.С. Кравченко, М.М. Дусалиева, Е.Г. Ермолаева, В.Н. Петрова.

6. Привлечение к обучению (лекции, семинары, тренировочные занятия, деловые игры, практические занятия) научных сотрудников института «Микроб» – высокопрофессиональных специалистов противочумной системы страны, а в настоящее время Роспотребнадзора, и преподавателей Саратовского медицинского института, имеющих опыт не только научно-исследовательской работы в области эпидемиологии, эпизоотологии, микробиологии, генетики, лабораторной диагностики и профилактики ООИ бактериальной природы, но и практической деятельности по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия на территории Российской Федерации и/или зарубежных государств:

– 1924–1931 гг. – А.А. Безсонова, С.М. Никаноров, И.Г. Иофф, Е.И. Коробкова, Н.Н. Жуков-Вережников, В.А. Бердников, А.В. Берлин, Б.К. Фенюк, Г.Н. Ленская, Е. Коновалова, В.Н. Федоров, Е.И. Смирнова [1];

– 1932–1973 гг. – А.К. Акиев, В.В. Акимович, П.И. Анисимов, С.В. Анохина, А.Н. Балыкова, Е.Э. Бахрах, А.А. Безсонова, В.А. Бердников, А.Л. Берлин, С.И. Борю, Б.М. Брин, Е.В. Бунтин, С.К. Веренина, А.А. Вольферц, С.Г. Гермак, И.С. Глозман, Д.А. Голов, Л.М. Гольдфарб, П.С. Григорьев, Н.И. Грязнов, Е.М. Губарев, И.И. Дертева, А.Н. Желтенков, Н.Н. Жуков, Д.Н. Засухин, Л.Ф. Зыкин, Н.Р. Иванов, Н.Н. Ивановский, И.Г. Иофф, И.В. Исупов, Н.И. Калабухов, М.А. Коза, И.В. Колпаков, Г.А. Кондрашкин, К.И. Кондрашкина, Г.Ф. Котельников, О.Р. Кузнецова, А.Н. Куршева, Н.Е. Кушев, Г.Н. Ленская, В.Н. Лобанов, М.Г. Лохов, С.А. Моногенов, К.М. Мохин, В.А. Мюллер, М.С. Наумшина, Н.С. Новокрещенова, Г.И. Орлов, Ф.Ф. Семикоз, А.М. Симорин, В.В. Сукнев, М.Н. Таринов, В.Е. Тифлов, И.И. Траут, В.М. Туманский, В.Н. Федоров, Б.К. Фенюк, С.А. Царева, Б.Н. Шмидт (архивные материалы отдела);

– 1974–2024 гг. – А.К. Адамов, П.И. Анисимов, Т.И. Анисимова, А.А. Абдрашитова, Д.А. Агафонов, Е.Ю. Агафонова, Р.А. Белобородов, А.В. Бойко, С.А. Бугоркова, А.С. Васенин, С.Н. Варшавский, В.Г. Германчук, С.Н. Голубев, А.Ю. Гончарова, М.В. Гордеева, А.В. Горькова, А.К. Гражданов, З.Л. Девдариани, Л.Н. Дмитриева, Г.А. Ерошенко, С.П. Заднова, К.С. Захаров, А.А. Зубова, А.В. Иванова, Н.Р. Иванов, И.В. Исупов, А.В. Казанцев, И.Г. Карнаухов, Ж.А. Касьян, И.А. Касьян, А.Д. Катышев, М.Н. Киреев, Е.В. Кислицина, Т.В. Князева, О.И. Кожанова, В.П. Козакевич, А.И. Кологоров, А.М. Кокушкин, Г.А. Корнеев, М.Г. Корнеев, Т.А. Костюкова, Я.М. Краснов, И.М. Крепостнова, О.М. Кудрявцева, А.А. Кузнецов, Е.В. Куклев, В.Е. Куклев, И.И. Кураев, В.В. Кутырев, М.Ю. Ледванов, М.Н. Ляпин, А.Н. Матросов, Ш.В. Магеррамов, З.Е. Малинина, К.С. Марцоха, К.М. Морозов, К.М. Мохин, Л.С. Назарова, Е.В. Найденова, А.В. Наумов, А.К. Никифоров, А.В. Осин, Н.А. Осина, Н.Е. Плеханов, О.П. Плотников, Н.Г. Пономарев, Н.В. Попов, Ю.А. Попов, С.А. Портенко, А.М. Поршаков, М.В. Проскурякова, О.А. Проценко, Е.А. Рысцова, О.Ф. Сагеева, Л.В. Самойлова, В.А. Сафронов, А.М. Сеничкина, И.С. Солдаткин, Г.С. Старожицкая, В.П. Топорков, А.Ф. Филиппов, Е.А. Чумачкова, И.Н. Шарова, М.Н. Шилов, Ю.К. Эйгелис.

С 2015 г. научные сотрудники отдела принимают активное участие в международной деятельности института «Микроб» в рамках реализации ряда распоряжений Правительства Российской Федерации о сотрудничестве с сопредельными государствами для снижения рисков завоза и распространения чумы из трансграничных природных очагов; о материально-технической и методической поддержке внедрения ММСП (2005 г.); о научно-техническом сотрудничестве в области изучения эпидемиологии, профилактики и мониторинга бактериальных и вирусных инфекций, а также об оказании поддержки 8 странам СНГ, Монголии, Социалистической Республике Вьетнам, Гвинейской Республике, ряду стран Африки, Боливарианской Республике Венесуэла по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия на территории государства, профилактике и ликвидации эпидемий опасных и особо опасных инфекций, включая подготовку кадров. Сотрудники отдела осуществляют профессиональную переподготовку кадров по бактериологии с основами безопасной работы с возбудителями ООИ, организуют и принимают участие в курсах повышения квалификации, в том числе выездных, для специалистов Гвинейской Республики, Туркменистана, республик Армения, Таджикистан, Казахстан, Беларусь, Узбекистан, Киргизской, Азербайджанской республик, Социалистической Республики Вьетнам, Монголии, Республики Уганда, Боливарианской Республики Венесуэла, Демократической Республики Конго по санитарной охране территории государства, эпидемиологическому надзору и лабораторной диагностике чумы, холеры и других актуальных инфекций, под-

готовке к реагированию на ЧС в области общественного здравоохранения, в том числе с использованием мобильных лабораторий. В настоящее время осуществляется подготовка к проведению онлайн-курса по программе «Особо опасные инфекции: эпидемиология, лабораторная диагностика, биобезопасность» для специалистов зарубежных стран. Заявки получены от 45 специалистов из 17 стран: Буркина-Фасо, республик Узбекистан, Армения, Мали, Уганда, Камерун, Малави, Судан, Филиппины, Кения, Намибия, Демократической Республики Конго, Исламской Республики Мавритания, Исламской Республики Пакистан, Аргентинской Республики, Государства Катар, Королевства Бахрейн.

За время существования отдела подготовки специалистов на различных курсах для работ с возбудителями ООИ подготовлено около 19 тыс. бактериологов, эпидемиологов, биологов, зоологов, ветеринаров, биотехнологов, специалистов медицинских и научно-исследовательских организаций из более чем 40 регионов Российской Федерации, более 700 человек из 8 стран СНГ и около 1200 специалистов из стран дальнего зарубежья.

Отдел образовательных программ и подготовки специалистов награжден почетными грамотами директора института, имеет благодарности директоров противочумных станций, отделов ООИ и ЦНИИ Министерства обороны РФ, лабораторной сети Европейского регионального бюро ВОЗ, профильных министерств и организаций стран СНГ.

Таким образом, за 100 лет отделом образовательных программ и подготовки специалистов института «Микроб» пройден путь от становления и поэтапного развития как подразделения, специализирующегося на подготовке кадров для борьбы с чумой и другими ООИ в стране, до методического центра по реализации ДПО в противочумных учреждениях Роспотребнадзора, координирующего и направляющего деятельность по разработке и совершенствованию программ обучения, информационного, методического и материально-технического обеспечения учебного процесса; оказывающего консультативно-методическую помощь по применению в образовательной деятельности нормативно-методических документов Минздрава, Минобрнауки России, Роспотребнадзора, повышению эффективности и биологической безопасности учебного процесса.

Вместе с тем тематика реализуемых в настоящее время программ ДПО связана с предотвращением биологических угроз (опасностей) только в двух направлениях из целого комплекса мер, обозначенных в Федеральном законе от 30.12.2020 № 492-ФЗ, направленных на защиту населения и охрану окружающей среды от воздействия опасных биологических факторов, на предотвращение биологических угроз (опасностей), создание и развитие системы мониторинга биологических рисков. Обеспечение национальной биологической безопасности требует:

– подготовки более широкого круга специалистов (медико-биологического профиля, психологов,

инженерно-технических работников, IT-специалистов и т.д.);

– разработки актуальных тематических учебных программ и соответствующих учебно-методических и мультимедийных материалов; включения элементов электронного обучения при проведении входного контроля базовых знаний, умений и навыков, мониторинга (с помощью видеозаписи) и оценки качества выполнения обучающимися рутинных манипуляций с патогенами в микробиологической комнате и при работе с лабораторными животными; внедрения технологий виртуальной и дополненной реальности;

– привлечения к учебному процессу широкого круга специалистов не только учреждений Роспотребнадзора, но и классических, медицинских, политехнических университетов и иных организаций, то есть создания научно-образовательного консорциума.

Сотрудники отдела образовательных программ и подготовки специалистов принимают участие в планировании и работе научно-образовательного консорциума «Будущее биологии и медицины» (федеральный проект «Санитарный щит – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)» до 2030 г.) в части разработки новых учебных программ ДПО, создания площадки подготовки специалистов в области ООИ с использованием безопасных технологий; а также реализации программ содействия международному развитию по взаимодействию Российской Федерации со странами-партнерами в сфере противодействия биологическим угрозам, в том числе в рамках сотрудничающего Центра ВОЗ по реагированию на ЧС санитарно-эпидемиологического характера.

Работа продолжается.

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. Николаев Н.М. Роль советского государства в создании противочумной системы СССР и организации борьбы с особо опасными инфекциями: дис. ... канд. ист. наук. Саратов; 1967. С. 63–67, 94–96, 126–132, 144, 177, 209, 212–218.
2. Деминский И.А. О борьбе с чумой в Астраханской губернии. Доклад, заслушанный на заседании 3 февраля 1906 года. *Известия Общества астраханских врачей*. 1908; 3:34.
3. Николаев Н.И., Николаев Н.М. История становления и развитие института «Микроб». В кн.: Материалы конференции, посвященной 50-летию института «Микроб». Саратов; 1968. С. 3–6.
4. Анисимов П.И., Горькова А.В., Кураев И.И. Институту «Микроб» 60 лет. *Проблемы особо опасных инфекций*. 1978; 6:5–8.
5. Дятлов И.А. История, достижения и перспективы подготовки врачей по особо опасным инфекциям в институте «Микроб». В кн.: Материалы научно-практической конференции, посвященной 100-летию образования противочумной службы России (16–18 сент. 1997 г.). Саратов; 1997. Т. 1. С. 41.
6. Филиппов А.А., Челова Л.А., Тихомирова Л.А., Тихомирова Е.И., Ульянова О.В., Дмитриева В.П., Солодовникова Т.Н., Сазанова Е.В., Костромитина В.А. Подготовка специалистов по особо опасным инфекциям в современных условиях.

В кн.: Природно-очаговые особо опасные инфекции на юге России, их профилактика и лабораторная диагностика. Сборник научных трудов, посвященных 100-летию Астраханской противочумной станции МЗ РФ. Астрахань; 2001. С. 361–3.

7. Филиппов А.А., Тихомирова Л.А., Челова Л.А., Ульянова О.В., Куклев Е.В., Кутырев В.В. Подготовка специалистов по особо опасным инфекциям. В кн.: Материалы VIII Всероссийского съезда эпидемиологов, микробиологов и паразитологов: сборник статей: в 4 т. М.: Росинэк; 2002. Т. 4. С. 143–4.

8. Челова Л.А., Филиппов А.А., Тихомирова Л.А., Кутырев В.В. Подготовка специалистов по особо опасным инфекциям в Российской Федерации. В кн.: Вторая межгосударственная научно-практическая конференция по взаимодействию государств – участников СНГ в области санитарной охраны территории. Алматы; 2001. С. 64–5.

9. Челова Л.А., Тихомирова Е.И., Тихомирова Л.А., Ульянова О.В., Растунцева Е.В., Дмитриева В.П., Филиппов А.А. Итоги работы отдела подготовки и усовершенствования специалистов РосНИПЧИ «Микроб» за 75 лет. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2000; 80:182–7.

References

1. Nikolaev N.M. [The role of the Soviet state in the creation of anti-plague system of the USSR and the organization of the fight against particularly dangerous infections: thesis for the degree of Candidate of Historical Sciences]. Saratov; 1967. P. 63–67, 94–96, 126–132, 144, 177, 209, 212–218.
2. Deminsky I.A. [On the fight against plague in the Astrakhan province. Report heard at the meeting on February 3, 1906]. *Izvestiya Obshchestva Astrakhanskikh Vrachey [News of the Society of Astrakhan Doctors]*. 1908; (3):34.
3. Nikolaev N.I., Nikolaev N.M. [History of the establishment and development of the Institute “Microbe”]. In: [Proceedings of the Conference Dedicated to the 50th Anniversary of the Institute “Microbe”]. Saratov; 1968. P. 3–6.
4. Anisimov P.I., Gor'kova A.V., Kuraev I.I. [The Institute “Microbe” is 60 years old]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 1978; (6):5–8.
5. Dyatlov I.A. [History, achievements, and prospects for training doctors in particularly dangerous infections at the Institute “Microbe”]. In: [Proceedings of the Scientific and Practical Conference Dedicated to the 100th Anniversary of the Establishment of Anti-Plague Service of Russia (Saratov, September 16–18, 1997): in 2 volumes]. Saratov; 1997. Vol. 1. P. 41.
6. Filippov A.A., Chelova L.A., Tikhomirova L.A., Tikhomirova E.I., Ul'yanova O.V., Dmitrieva V.P., Solodovnikova T.N., Sazanova E.V., Kostromitina V.A. [Training of specialists in particularly dangerous infections in modern conditions]. In: [Natural-Focal Particularly Dangerous Infections in the South of Russia, their Prevention and Laboratory Diagnosis: Collection of Scientific Papers Dedicated to the 100th Anniversary of the Astrakhan Plague Control Station]. Astrakhan; 2001. P. 361–3.
7. Filippov A.A., Tikhomirova L.A., Chelova L.A., Ul'yanova O.V., Kouklev E.V., Kutyrev V.V. [Training of specialists in particularly dangerous infections]. In: [Proceedings of the VIII Congress of the All-Russian Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists: Collection of Works: in 4 volumes]. Moscow: “Rosinex”; 2002. Vol. 4. P. 143–4.
8. Chelova L.A., Filippov A.A., Tikhomirova L.A., Kutyrev V.V. [Training of specialists in particularly dangerous infections in the Russian Federation]. In: [II Interstate Scientific and Practical Conference on Interaction of the CIS Member States in the Field of Sanitary Protection of the Territory]. Almaty; 2001. P. 64–5.
9. Chelova L.A., Tikhomirova E.I., Tikhomirova L.A., Ul'yanova O.V., Rastuntseva E.V., Dmitrieva V.P., Filippov A.A. [Results of work of the department of specialist training and advancement of the Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe” over 75 years]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2000; (80):182–7.

Authors:

Malyukova T.A., Popov Yu.A., Sazanova E.V., Rastuntseva E.V., Shmel'kova T.P., Chekhovskaya G.V., Devdariani Z.L., Boiko A.V., Chekmareva S.S. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Малюкова Т.А., Попов Ю.А., Сазанова Е.В., Растунцева Е.В., Шмелькова Т.П., Чеховская Г.В., Девдариани З.Л., Бойко А.В., Чекарева С.С. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

К юбилею Николая Викторовича Рудакова

15 ноября 2024 г. отметил свой 70-летний юбилей видный российский ученый, микробиолог и эпидемиолог, доктор медицинских наук, профессор, директор ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России Николай Викторович Рудаков, член редакционного совета журнала «Проблемы особо опасных инфекций».

Николай Викторович – признанный авторитет в области микробиологии и эпидемиологии риккетсиозов группы клещевой пятнистой лихорадки и других трансмиссивных клещевых инфекций, лихорадки Ку и других зоонозных инфекций, микоплазмозов и анаплазмозов. Им внесен значительный вклад в изучение природно-очаговых инфекций и инфекций, общих для человека и животных, и в разработку федеральных нормативно-методических документов по их профилактике. Н.В. Рудаковым создана научная школа микробиологов и эпидемиологов, под его руководством подготовлено более 20 кандидатов и докторов наук. Его монографии, учебники и руководства вошли в золотой фонд научной медицинской литературы.

Научно-общественная деятельность Н.В. Рудакова многогранна: он является председателем и членом проблемных комиссий Ученого совета Роспотребнадзора; главным бактериологом Координационного совета по здравоохранению Сибири Межрегиональной ассоциации «Сибирское соглашение», председателем Омского отделения Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов, Омского отделения общества биотехнологов России; членом нескольких научных советов по медицинским про-



блемам Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера и по санитарно-эпидемиологической охране территории РФ; членом редсоветов журналов «Проблемы особо опасных инфекций», «Эпидемиология и вакцинопрофилактика», «Медицина и экология» (Караганда); членом редколлегий журналов «Здоровье населения и среда обитания», «Фундаментальная и клиническая медицина», «Бактериология»; с 2024 г. – главный редактор журнала «Национальные приоритеты России»; член рабочей группы по микробиологии Учебно-методического объединения вузов РФ по

укрупненной группе профессий, специальностей и направлений подготовки 32.00.00 «Науки о здоровье и профилактическая медицина».

При непосредственном участии Н.В. Рудакова разработан профессиональный стандарт «Специалист в области медицинской микробиологии» (утв. приказом Министерства труда и социальной защиты РФ от 08.06.2021 № 384н), создан федеральный государственный образовательный стандарт высшего образования – подготовка кадров высшей квалификации по программам ординатуры по специальности 32.08.15 Медицинская микробиология (утв. приказом Министерства науки и высшего образования РФ от 13.12.2021 № 1230).

Заслуги Николая Викторовича Рудакова отмечены орденом Пирогова, почетными грамотами, медалями и знаками отличия Роспотребнадзора и Минздрава России.

Редакционный совет и редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» поздравляют Николая Викторовича Рудакова с юбилеем и желают ему новых научных успехов, талантливых учеников, здоровья и благополучия!