ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА
КООРДИНАЦИОННЫЙ НАУЧНЫЙ СОВЕТ ПО САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ОХРАНЕ ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ КАЗЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ «РОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ «МИКРОБ»

ПРОБЛЕМЫ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

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

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

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

Выпуск 2

2020

САРАТОВ

Подписной индекс в каталогах «Почта России» – 24687, «Пресса России» – 29448

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

Журнал «Проблемы особо опасных инфекций» является рецензируемым изданием

Все рукописи проходят проверку системой «Антиплагиат»

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

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

Адрес редакции:
410005, Саратов,
ул. Университетская, д. 46
E-mail: jour@microbe.ru
Сайт: **http://journal.microbe.ru**

Начальник редакционно-издательского отдела *Е.С. Герасимова*
Тел. (845-2) 51-82-22
Факс (845-2) 51-52-12

Редакторы
А.А. Ковалева, В.В. Россошанская
Технический редактор *Т.К. Меркулова*
Перевод на английский
А.П. Ножкиной, Т.Б. Караваевой

Проблемы особо опасных инфекций
2020. Вып. 2. 144 с.

Подписано в печать 24.06.20
Формат 60×88 1/8
Бумага мелованная
Печать офсетная
Усл. печ. л. 17,64
Гарнитура Таймс. Заказ 1620-20/08070

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

© Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», 2020

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, член-корр. 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, член-корр. 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)
Кейта С., канд. мед. наук (Конакри, Гвинейская Республика)
Мотин В.Л., профессор (Галвестон, США)
Скурник М., профессор (Хельсинки, Финляндия)
Титов Л.П., докт. мед. наук, профессор, член-корр. НАН Беларуси, иностранный член РАН (Минск, Беларусь)
Цогбадрах Нямдорж, канд. мед. наук (Улаанбаатар, Монголия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Альховский С.В., докт. биол. наук (Москва, Россия)
Андаев Е.И., докт. мед. наук (Иркутск, Россия)
Бугоркова С.А., докт. мед. наук (Саратов, Россия)
Викторов Д.В., докт. биол. наук (Волгоград, 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)
Шемякин И.Г., докт. биол. наук, профессор (Оболенск, Россия)
Щербакова С.А., докт. биол. наук (Саратов, Россия)

ИНОСТРАННЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:

Красько А.Г., канд. мед. наук, доцент (Минск, Беларусь)
Магассубо Н., канд. биол. наук (Гвинейская Республика)
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

2020, Issue 2

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

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

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

Editorial Council

Abdikarimov S.T., Doctor of Medical Science, Associate Professor (Bishkek, Kyrgyzstan)
Akimkin V.G., Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Moscow, Russia)
Balakhonov S.V., Doctor of Medical Science, Professor (Irkutsk, Russia)
Bondarev V.P., Doctor of Medical Science, Professor (Moscow, Russia)
Borisevich S.V., Doctor of Biological Science, Professor, Corresponding 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)
Keita S., Ph. D, Conakry, Republic of Guinea
Kulichenko A.N., Doctor of Medical Science, Professor, Corresponding 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)
Skurnik M., Professor (Helsinki, Finland)
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 (Moscow, Russia)
Andaev E.I., Doctor of Medical Science (Irkutsk, Russia)
Bugorkova S.A., Doctor of Medical Science (Saratov, Russia)
Victorov D.V., Doctor of Biological Science (Volgograd, Russia)
Guliy O.I., Doctor of Biological Science (Saratov, Russia)
Eroshenko G.A., Doctor of Biological Science (Saratov, Russia)
Zharnikova I.V., Doctor of Biological Science (Stavropol, Russia)
Karpunina L.V., Doctor of Biological Science, Professor (Saratov, Russia)
Kras'ko A.G., Ph. D., Associate Professor (Minsk, Belarus)
Kruglikov V.D., Doctor of Medical Science (Rostov-on-Don, Russia)
Magassouba N., Ph. D, Conakry, Republic of Guinea
Maletskaya O.V., Doctor of Medical Science, Professor (Stavropol, Russia)
Meka-Mechenko T.V., Doctor of Medical Science (Almaty, Kazakhstan)
Mikerov A.N., Doctor of Biological Science (Saratov, Russia)
Pen'evskaya N.A., Doctor of Medical Science, Associate Professor (Omsk, Russia)
Popov N.V., Doctor of Biological Science, Professor (Saratov, Russia)
Sayapina L.V., Doctor of Medical Science (Moscow, Russia)
Smirnova N.I., Doctor of Biological Science, Professor (Saratov, Russia)
Shemyakin I.G., Doctor of Biological Science, Professor (Obolensk, Russia)
Shcherbakova S.A., Doctor of Biological Science (Saratov, Russia)
Toporkov V.P., Doctor of Medical Science, Professor (Saratov, Russia)
Tserennorov Damdindorj, Ph. D. (Ulaanbaatar, Mongolia)
Usenbaev N.T., Ph. D (Bishkek, Kyrgyzstan)

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

СОДЕРЖАНИЕ

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..... 6

Обзоры

Ботвинкин А.Д., Сидоров Г.Н., Полещук Е.М., Зарва И.Д., Нашатырева Д.Н., Яковчиц Н.В., Андаев Е.И., Балахонов С.В., Рудаков Н.В. Ретроспективная оценка реализации долгосрочного прогноза пространственного распространения бешенства в азиатской части России..... 13

Карташов М.Ю., Чуб Е.В., Микрюкова Т.П., Найденова Е.В., Терновой В.А. Перспективы применения петлевой изотермической амплификации в диагностике опасных инфекционных болезней, вызванных вирусами I группы патогенности..... 22

Марченко В.Ю., Гончарова Н.И., Tran Thi Nhai, Trinh Khac Sau, Nguyen Ngoc Quyen, Гаврилова Е.В., Максютов Р.А., Рыжиков А.Б. Обзор эпизоотологической ситуации по высокопатогенному вирусу гриппа птиц в России в 2019 г..... 31

Москвитина Э.А., Янович Е.Г., Куриленко М.Л., Кругликов В.Д., Титова С.В., Левченко Д.А., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Мишанькин Б.М., Кривенко А.С., Анисимова Г.Б., Носков А.К. Холера: мониторинг эпидемиологической обстановки в мире и России (2010–2019 гг.). Прогноз на 2020 г. 38

Пономаренко Д.Г., Русанова Д.В., Хачатурова А.А., Скударева О.Н., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Семенко О.В., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Анализ эпидемической и эпизоотической ситуации по бруцеллезу в мире в 2019 г. и прогноз на 2020 г. в Российской Федерации 48

Рязанова А.Г., Скударева О.Н., Герасименко Д.К., Семенова О.В., Аксенова Л.Ю., Еременко Е.И., Буравцева Н.П., Головинская Т.М., Варфоломеева Н.Г., Печковский Г.А., Чмеренко Д.К., Куличенко А.Н. Анализ ситуации по сибирской язве в 2019 г., прогноз на 2020 г. 57

Савицкая Т.А., Иванова А.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Трифонов В.А., Зиатдинов В.Б., Серова И.В., Сафронов В.А. Оценка эпидемиологической ситуации по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в мире и России, прогноз на 2020 г. 62

Оригинальные статьи

Гончарова А.Ю., Бугоркова С.А., Кудрявцева О.М., Кожевников В.А., Кравцов А.Л., Каштанова Т.Н., Щуковская Т.Н. Экспериментальная оценка эффективности применения вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ в сочетании с иммуномодуляторами 71

Иванова А.В., Сафронов В.А., Попов Н.В., Кожанова О.И., Матвеева Н.И., Кресова У.А., Чумачкова Е.А., Поспелов М.В., Архипова Г.Н., Вяткин И.Н., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Эпидемиологические особенности вспышки ГЛПС в Саратовской области 2019 г..... 78

CONTENTS

Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Safronov V.A., Karnaukhov I.G., Ivanova A.V., Shcherbakova S.A. Epidemiological Peculiarities of New Coronavirus Infection (COVID-2019). Communication 2: Peculiarities of epidemic process development in conjunction with performed anti-epidemic measures around the world and in the Russian Federation

Reviews

Botvinkin A.D., Sidorov G.N., Poleshchuk E.M., Zarva I.D., Nashatyreva D.N., Yakovchits N.V., Andaev E.I., Balakhonov S.V., Rudakov N.V. Retrospective Evaluation of Implementation of Long-Term Forecast on Spatial Spread of Rabies in the Asian Part of Russia

Kartashov M.Yu., Chub E.V., Mikryukova T.P., Naidenova E.V., Ternovoy V.A. Prospects For the Use of Loop Isothermal Amplification in the Diagnosis of Particularly Dangerous Infectious Diseases Caused by the Viruses of the Pathogenicity Group I

Marchenko V.Yu., Goncharova N.I., Tran Thi Nhai, Trinh Khac Sau, Nguyen Ngoc Quyen, Gavrilova E.V., Maksyutov R.A., Ryzhikov A.B. Overview of the Epizootiological Situation on Highly Pathogenic Avian Influenza Virus in Russia in 2019

Moskvitina E.A., Yanovich E.G., Kurilenko M.L., Kruglikov V.D., Titova S.V., Levchenko D.A., Vodop'yanov A.S., Lopatin A.A., Ivanova S.M., Mishan'kin B.M., Krivenko A.S., Anisimova G.B., Noskov A.K. Cholera: Monitoring of Epidemiological Situation around the World and in Russia (2010–2019). Forecast for 2020.

Ponomarenko D.G., Rusanova D.V., Khachaturova A.A., Skudareva O.N., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Semenko O.V., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. Analysis of the Epidemic and Epizootic Situation on Brucellosis around the World in 2019 and the Forecast for the Russian Federation for 2020

Ryazanova A.G., Skudareva O.N., Gerasimenko D.K., Semenova O.V., Aksenova L.Yu., Eremenko E.I., Buravtseva N.P., Golovinskaya T.M., Varfolomeeva N.G., Pechkovsky G.A., Chmerenko D.K., Kulichenko A.N. Analysis of the Situation on Anthrax in 2019, the Forecast for 2020

Savitskaya T.A., Ivanova A.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Trifonov V.A., Ziatdinov V.B., Serova I.V., Safronov V.A. Assessment of Epidemiological Situation on Hemorhhagic Fever with Renal Syndrome around the World and in Russia, Forecast for 2020

Original articles

Goncharova A.Yu., Bugorkova S.A., Kudryavtseva O.M., Kozhevnikov V.A., Kravtsov A.L., Kashtanova T.N., Shchukovskaya T.N. Experimental Evaluation of Application of the Vaccine Strain *Yersinia pestis* EV NIIEG in Combination with Immune-Modulators

Ivanova A.V., Safronov V.A., Popov N.V., Kozhanova O.I., Matveeva N.I., Kresova U.A., Chumachkova E.A., Pospelov M.V., Arkhipova G.N., Vyatkin I.N., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Epidemiological Features of HFRS (Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome) Outbreak in the Saratov Region in 2019

Красильникова Е.А., Шайхутдинова Р.З., Светоч Т.Э., Платонов М.Е., Комбарова Т.И., Иванов С.А., Дентовская С.В., Анисимов А.П. Вирулентность $HtpG^+$ и $HtpG^-$ штаммов *Yersinia pestis* для мышей и морских свинок 86

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 91

Никифоров К.А., Куклева Л.М., Альхова Ж.В., Оглодин Е.Г., Макашова М.А., Нарышкина Е.А., Гусева Н.П., Ерошенко Г.А., Dang Hong Chien, Lyong Thi Mo, Vo Viet Kyong, Кутырев В.В. Филогения и историко-географический анализ штаммов *Yersinia pestis* из Вьетнама 98

Туранов А.О., Никитин А.Я., Андаев Е.И., Балахонов С.В., Шашина Н.И. Дифференциация территории Забайкальского края по заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом 108

Фомина Е.Г., Григорьева Е.Е., Владыко А.С. Рекомбинантные ретровирусные частицы: технология получения и использование в качестве положительных контрольных образцов для ПЦР-диагностики опасных вирусных инфекций 115

Хаммадов Н.И. Поиск генетических маркеров вируса клещевого энцефалита для его специфичной индикации 122

Холин А.В., Шаракшанов М.Б., Вержуцкий Д.Б., Корзун В.М., Оргилбаяр Л., Ганхуяг Ц., Гандболд Д., Цогбадрах Н., Цэрэнноров Д., Цэрэндулам Б., Эрдэнэдэлгэр Г., Пагмадулам Н., Бадамцэцэг М., Бужинлхам Л., Эрдэнэцэцэг Я., Амарсанаа Г., Алтангэрэл Я., Балахонов С.В. Результаты эпизоотологического обследования приграничной с Россией части Хархира-Тургенского природного очага чумы Монголии в 2019 г. 129

Краткие сообщения

Коваленко И.С., Якунин С.Н., Абибулаев Д.Э., Владычак В.В., Бородай Н.В., Смелянский В.П., Фомина В.К., Зинич Л.С., Тихонов С.Н. Обнаружение *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1895) в Крыму 135

Саидалиев С.С., Мирзабаев Д.С., Мадаминов М.М. Опыт борьбы с коронавирусной инфекцией в Республике Узбекистан 138

Хегай С.В., Джапарова А.К., Дуйшеналиева Э.М., Калмырзаев Б., Касымбекова К.Т., Кучук Т.Э., Усенбаев Н.Т., Жунушов А.Т. Молекулярная диагностика коронавирусной инфекции в Кыргызской Республике 141

Памяти коллеги

Памяти Валентина Леонидовича Шевченко (1929–2020 гг.) 144

Krasil'nikova E.A., Shaikhutdinova R.Z., Svetoch T.E., Platonov M.E., Kombarova T.I., Ivanov S.A., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. Virulence of $HtpG^+$ and $HtpG^-$ strains of *Yersinia pestis* for mice and Guinea Pigs

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 NIIEG

Nikiforov K.A., Kukleva L.M., Al'khova Zh.V., Oglodin E.G., Makashova M.A., Naryshkina E.A., Guseva N.P., Eroshenko G.A., Dang Hong Chien, Lyong Thi Mo, Vo Viet Kyong, Kutyrev V.V. Phylogeny and Historical-Geographical Analysis of *Yersinia pestis* Strains from Vietnam

Turanov A.O., Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Balakhonov S.V., Shashina N.I. Differentiation of Transbaikal Territory by Tick-Borne Viral Encephalitis Incidence

Fomina E.G., Grigorieva E.E., Vladyko A.S. Recombinant Retroviral Particles: Technology of Poduction and Application as Positive Controls for PCR Diagnostics of Dangerous Viral Infections

Khammadov N.I. Search for Genetic Markers of Tick-Borne Encephalitis Virus for Its Specific Indication, Genomic Analysis

Kholin A.V., Sharakshanov M.B., Verzhutsky D.B., Korzun V.M., Orgilbayar L., Gankhuyag Ts., Gandbold D., Tsogbadrakh N., Tserennorov D., Tserendulam B., Erdenedelger G., Pagmadulam N., Badamtsetseg M., Buzhinlkham L., Erdenetsetseg Ya., Amarsanaa G., Altangerel Ya., Balakhonov S.V. Results of Epizootiological Survey along the Border Areas of Kharkhira-Turgensky Natural Plague Focus between Russia and Mongolia in 2019

Brief communications

Kovalenko I.S., Yakunin S.N., Abibulaev D.E., Vladychak V.V., Boroday N.V., Smelyansky V.P., Fomina V.K., Zinich L.S., Tikhonov S.N. Reporting of *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1895) in the Territory of Crimea

Saidaliev S.S., Mirzabaev D.S., Madaminov M.M. Lessons Learned from Fighting Coronavirus Disease in the Republic of Uzbekistan

Khegay S.V., Dzhaparova A.K., Dushenalieva E.M., Kalmyrzaev B., Kasymbekova K.T., Kuchuk T.E., Usenbaev N.T., Zhunushov A.T. Molecular Diagnostics of Coronavirus Infection in the Kyrgyz Republic

Revering the Memory of the Colleague

Of blessed memory of Valentin L. Shevchenko (1929–2020)

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-6-12

УДК 616.98:578.2

В.В. Кутырев[1], А.Ю. Попова[2,3], В.Ю. Смоленский[2], Е.Б. Ежлова[2], Ю.В. Демина[2], В.А. Сафронов[1], И.Г. Карнаухов[1], А.В. Иванова[1], С.А. Щербакова[1]

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

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

Проведен анализ информации по распространению COVID-19 в мире и в Российской Федерации, имеющейся по состоянию на 15.06.2020 г. Рассмотрена динамика и географическое распространение COVID-19 в Российской Федерации. Приведена структура заболеваемости по полу и возрасту заболевших COVID-19. Дана оценка основных эпидемиологических параметров (заболеваемость и летальность). Рассмотрены вопросы эффективности проводимых мер по борьбе с COVID-19.

Ключевые слова: COVID-19, эпидемиологические особенности, противоэпидемические мероприятия.

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

Для цитирования: 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

Поступила 15.06.20. *Принята к публ.* 18.06.20.

V.V. Kutyrev[1], A.Yu. Popova[2,3], V.Yu. Smolensky[2], E.B. Ezhlova[2], Yu.V. Demina[2], V.A. Safronov[1], I.G. Karnaukhov[1], A.V. Ivanova[1], S.A. Shcherbakova[1]

Epidemiological Peculiarities of New Coronavirus Infection (COVID-2019). Communication 2: Peculiarities of epidemic process development in conjunction with performed anti-epidemic measures around the world and in the Russian Federation

[1]Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;
[2]Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation;
[3]Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation

Abstract. The review presents the analysis of the data on the spread of COVID-19 around the world and in Russia available as of June 15, 2020. Dynamics and geographical dissemination of COVID-19 in the Russian Federation is considered. The structure of incidence by gender and age is presented. Assessment of the key epidemiological parameters (morbidity rates and lethality) is provided. The effectiveness of the response measures conducted to control COVID-19 is discussed.

Key words: COVID-19, epidemiological peculiarities, anti-epidemic measures.

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

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

Citation: Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Safronov V.A., Karnaukhov I.G., Ivanova A.V., Shcherbakova S.A. Epidemiological Peculiarities of New Coronavirus Infection (COVID-2019). Communication 2: Peculiarities of epidemic process development in conjunction with performed anti-epidemic measures around the world and in the Russian Federation. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:6–12. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-6-12

Received 15.06.20. *Accepted* 18.06.20.

С декабря 2019 г. по настоящее время в мире развивается пандемия новой коронавирусной инфекции COVID-19, вызванная вирусом SARS-CoV-2, которая началась как вспышка ранее неизвестной инфекции в Китайской Народной Республике (КНР), а сегодня охватила весь мир [1].

По состоянию на 15 июня 2020 г. в мире зарегистрировано свыше 8 млн инфицированных COVID-19 в большинстве стран на всех континентах на фоне ограничительных мероприятий, направленных на резкое сокращение международных и внутренних пассажиропотоков, мобильности населения на национальном уровне, социального дистанцирования и активного эпидемиологического надзора, проводимого в большинстве государств.

После крупной вспышки COVID-19 в Китае в январе–феврале 2020 г. [2], уже в марте 2020 г. общая динамика ежедневного прироста числа новых случаев заболевания продемонстрировала доминирование эпидемиологического неблагополучия в европейских странах и США на фоне относительного благополучия в других странах мира. Еженедельный прирост инфицированных COVID-19 по неделям (рис. 1) демонстрирует снижение доли Китая и стран

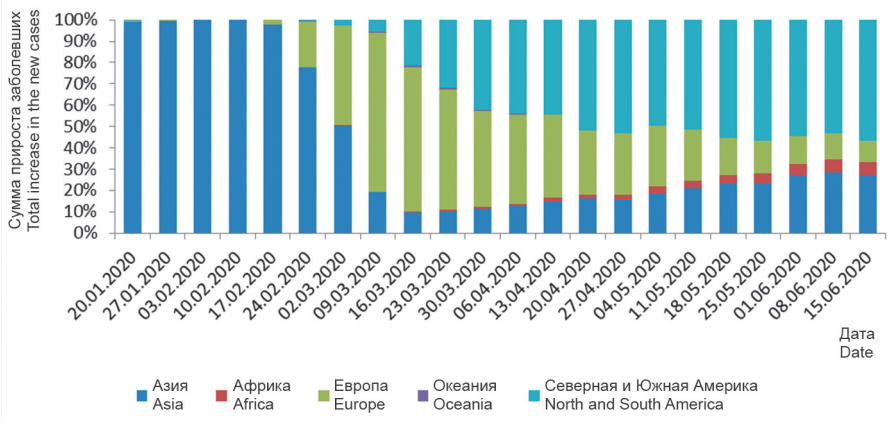


Рис. 1. Сравнительная динамика распространения COVID-19 по континентам (еженедельный прирост инфицированных)

Fig. 1. Comparative dynamics of COVID-19 dissemination by continents (weekly increase in new cases)

Азии до 10 % к середине марта за счет резкого увеличения числа выявляемых больных в Европе, при этом с конца марта наблюдается рост доли случаев COVID-19 на американском континенте.

В июне 2020 г. Южная Америка стала лидером по доле случаев от ежедневного количества зарегистрированных больных (стабильно больше 25–30 %), опередив Северную Америку, которая занимала лидирующие позиции по наибольшему приросту новых случаев. Однако США сохраняют первое место по количеству зарегистрированных случаев в мире – в июне страна преодолела отметку в 2 млн случаев заражения.

В Европейском регионе с середины апреля наблюдается постепенное снижение доли новых случаев. Большая часть стран прошла пик заболеваемости (из наиболее пострадавших – Испания, Великобритания, Италия, Франция, Германия, Бельгия, Нидерланды, Швейцария, Португалия) и приступила к ослаблению ограничительных мер.

Среди стран Восточной Европы стабилизировалась ситуация в Чехии и Сербии, где значительно снизился ежедневный прирост; в то же время в ряде стран данного региона наблюдаемая ранее стабилизация заболеваемости сменилась незначительным ухудшением эпидемиологических показателей на фоне смягчения ограничений. Тренд на увеличение ежедневного прироста новых случаев демонстрируют Молдова и Армения. Продолжает нарастать число ежедневно выявляемых случаев заболевания в Узбекистане. Вторая волна заболеваемости, более интенсивная, чем первая, отмечается в Албании, Болгарии и Северной Македонии.

На Ближнем Востоке продолжает ухудшаться эпидемиологическая обстановка в ряде стран региона. Наиболее пораженная страна региона – Иран. В результате отмены большинства ограничений, введенных в связи с коронавирусом, наблюдается увеличение суточного прироста новых случаев заболевания, которое привело ко второй волне заболеваемости, возможно, более интенсивной, чем первая.

В Юго-Восточной Азии рост числа зарегистрированных больных отмечается в странах с наиболее развитой системой лабораторной диагностики. В Индии наблюдается активное неконтролируемое распространение инфекции, имеет место устойчивый тренд на увеличение числа регистрируемых ежедневно случаев. Также тренд на увеличение прироста отмечается в Бангладеш и Непале.

Оценка обстановки в Африканском регионе осложняется отсутствием достаточной лабораторной базы для мониторинга ситуации в странах континента. Как правило, большее количество случаев зарегистрировано в странах с наибольшим количеством проведенных исследований: ЮАР, Египет, Марокко, Нигерия и Гана. Вероятно, что в регионе присутствует активная, неконтролируемая местная передача инфекции во всех государствах.

В странах СНГ показатель заболеваемости на 100 тыс. населения варьирует от 18,9 в Узбекистане до 619,1 в Республике Беларусь и 684,0 в Армении (рис. 2).

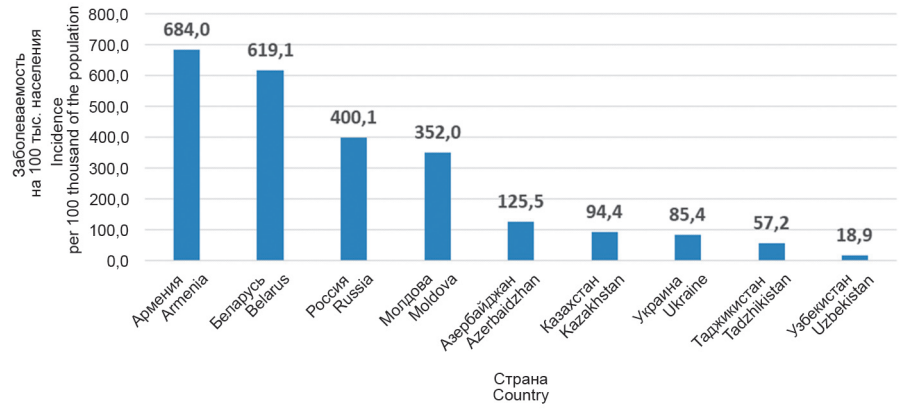


Рис. 2. Показатель заболеваемости на 100 тыс. населения в странах СНГ

Fig. 2. Incidence rate per 100 thousand of the population in CIS countries

Рис. 3. Показатель отношения числа лабораторных исследований на 1 млн населения в странах СНГ

Fig. 3. The ratio of the laboratory tests to 1 million of the population in CIS countries

В большинстве стран СНГ в настоящее время постепенно отменяются ограничительные мероприятия, что осложняет эпидемиологическую обстановку как на отдельных территориях государств, так и в целом на национальном уровне. В частности, в последние недели на фоне отмены ограничений в Армении фиксируется стремительный рост заражений COVID-19. В Армении заработал общественный транспорт, железнодорожное и грузовое сообщение. Открылись торговые центры, объекты общественного питания, спортклубы, разрешена работа парикмахерских и салонов красоты. Сняты ограничения на передвижения людей. При этом со стороны правительства рассматривается возможность возвращения к строгим ограничениям при условии продолжения ухудшения эпидемиологической обстановки. Также на фоне смягчения ограничений наблюдается осложнение эпидемиологической обстановки в Азербайджане, что побудило правительство страны к временному ужесточению карантинных мероприятий. Динамику к росту заболеваемости в связи с отменой части ограничений демонстрируют Молдова и Узбекистан. В Украине отмечается нестабильная динамика заболеваемости. В ряде регионов страны отмечен резкий рост заболеваемости на фоне стабилизации эпидемиологической обстановки в других регионах. С учетом отмеченных тенденций не исключено дальнейшее ускорение эпидемического процесса в указанных странах с ростом нагрузки на лечебную сеть и ростом летальности.

На территории России со второй декады мая в результате жестких превентивных ограничительных мероприятий активный рост сменяется стабилизацией, а с начала июня прослеживается тенденция к снижению заболеваемости. Подобное развитие ситуации также отмечено в республиках Беларусь, Казахстан, Таджикистан и Киргизия.

В связи с тем, что статистика заболеваемости (инфицированности) COVID-19 определяется не только масштабами эпидемического распространения, но и объемами лабораторных исследований, которые обеспечиваются на национальном уровне, следует учитывать соотношение числа исследований к численности населения (рис. 3). В настоящее время наращивание лабораторных мощностей отмечается во многих государства мира, в том числе и странах СНГ.

Лидирующие позиции по числу проведенных тестов не только в странах СНГ, но и в мире занимает Россия. Больших успехов в диагностике новой коронавирусной инфекции в Российской Федерации удалось достичь благодаря налаживанию в кратчайшие сроки производства тест-систем и значительному расширению лабораторной сети за счет проведения исследований в лабораториях учреждений Роспотребнадзора и медицинских организаций различных форм собственности. Необходимо отметить, что развернутые мощности по производству тест-систем позволили не только обеспечить потребности страны в этих диагностических препаратах, но и осуществить поставки в другие государства.

Благодаря использованию опыта борьбы с COVID-19 в других странах, а также реализации стратегии опережающего реагирования, главным компонентом которой является проведение комплекса превентивных мероприятий, направленных на ограничение распространения новой коронавирусной инфекции в Российской Федерации, получена возможность обеспечить подготовку к завозу и распространению инфекции и усилить национальные возможности по ключевым направлениям реагирования (санитарная охрана территории, обеспечение лабораторного тестирования, организация медицинской помощи и др.).

В Российской Федерации заболеваемость COVID-19 регистрируется с 31 января 2020 г., начиная с единичных завозных случаев из Китая [3]. При этом до начала апреля 2020 г. число выявленных инфицированных лиц не превышало 500 человек в сутки, большая часть из которых приходилась на Москву. Дальнейшая динамика характеризовалась постоянным ростом ежедневно регистрируемых случаев COVID-19 до достижения пиковых значений в первой декаде мая 2020 г. (11656 случаев 11 мая 2020 г.) (рис. 4).

Начиная со второй декады мая 2020 г., наблюдается смещение числа ежедневно регистрируемых случаев в пользу регионов на фоне стабильного снижения числа выявляемых случаев в Москве и Московской области и снижения темпов прироста

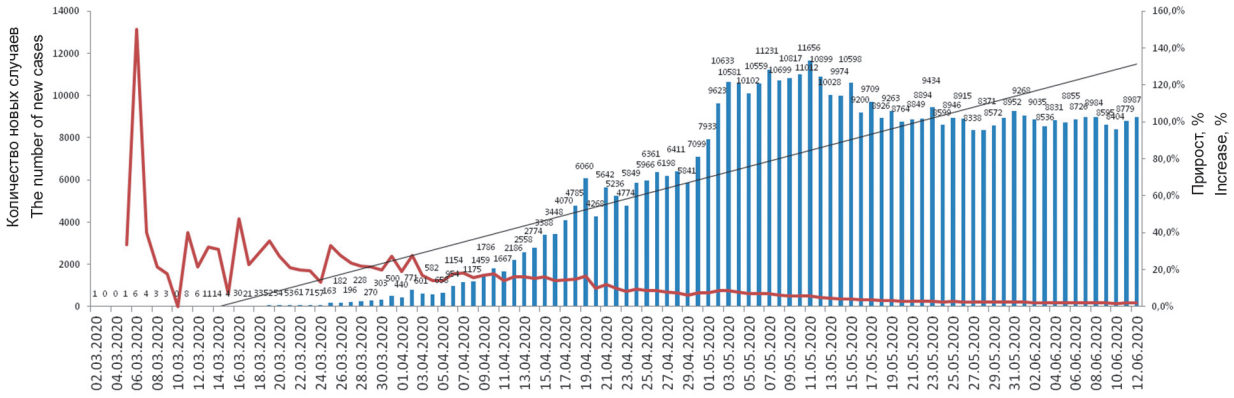


Рис. 4. Ежедневный прирост подтвержденных случаев в Российской Федерации

Fig. 4. Weekly increase in laboratory confirmed cases in the Russian Federation

новых случаев в целом по стране (рис. 5). В 78 субъектах РФ среднее значение прироста новых случаев в сутки за неделю не превышает 5 %, а в 22 субъектах данный показатель составляет менее 2 %.

В настоящее время (15.06.2020 г.) наибольшее количество заболевших зарегистрировано в Москве (39,8 %), Московской области (9,4 %) и Санкт-Петербурге (3,9 %).

До первой декады марта большую часть выявляемых больных составляли завозные случаи, доля которых снизилась вследствие введения строгих ограничений на въезд и, начиная с апреля, не превышала 2 %. Вместе со снижением количества завозных случаев изменилась и возрастная структура инфицированных COVID-19. В частности, ранние завозные случаи в основном регистрировались среди женщин в возрасте от 30 до 40 лет и мужчин от 40 до 50 лет, в то время как вследствие местной передачи инфекция распространилась на лица в группе риска (65 лет и старше), доля которых выросла с 8,3 до 18,2 %.

Среди 545458 инфицированных COVID-19 в Российской Федерации (на 15.06.2020 г.) 46,7 % приходится на мужчин, 53,3 % – на женщин. Средний возраст заболевших COVID-19 мужчин составляет 43,6 года, женщин – 47,9 лет. Возрастная структура инфицированных коррелирует с возрастным распределением населения Российской Федерации (рис. 6).

Как представлено на диаграмме, форма возрастного распределения инфицированных и населения практически совпадает среди лиц 60 лет и старше, включая характерное снижение доли лиц 74–79 лет, связанное с демографическими последствиями Великой Отечественной войны. Относительное превышение доли больных наблюдается в группе от 45 до 64 лет, что, по-видимому, связано с трудовой активностью граждан данной возрастной категории. При этом дети до 18 лет представлены среди инфицированных значительно реже, что может отражать результат раннего (в феврале–марте 2020 г.) разобщения организованных детских коллективов и, вероятно, более высокую долю бессимптомных случаев у детей, что снижает вероятность их регистрации.

В целом наблюдается соответствие структуры инфицированных и населения Российской Федерации как по полу, так и по возрасту, что свидетельствует об отсутствии специфичного поражения отдельных возрастных групп.

Показатель летальности в Российской Федера-

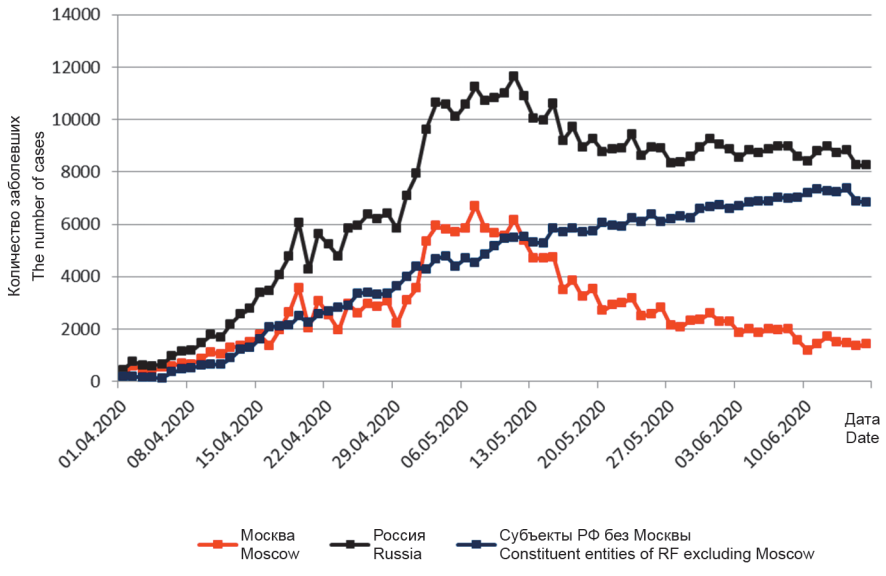


Рис. 5. Сравнительная динамика ежедневного числа зарегистрированных лиц с лабораторным подтверждением COVID-19 в Москве, регионах без учета Москвы и в Российской Федерации в целом

Fig. 5. Comparative dynamics of weekly registered cases with laboratory confirmed COVID-19 in Moscow, in the regions excluding Moscow, and in the Russian Federation on the whole

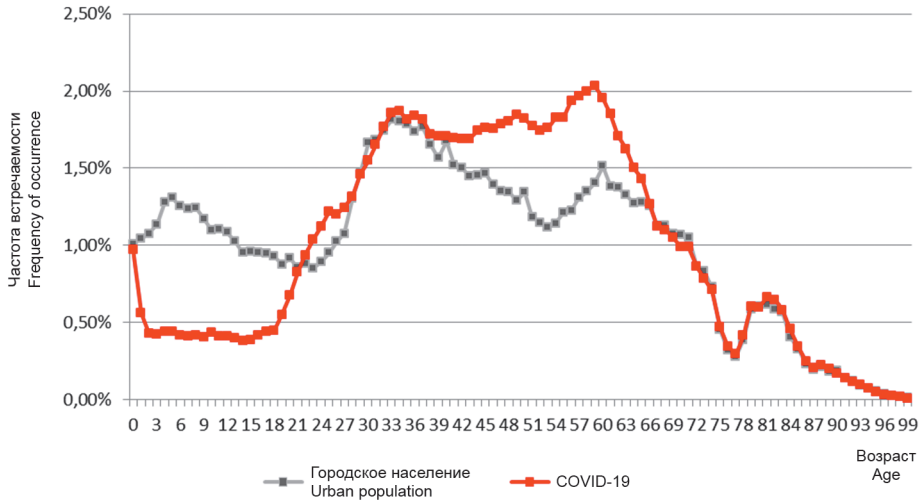


Рис. 6. Сравнение возрастного распределения инфицированных и населения Российской Федерации (по вертикальной оси частота возрастной группы от минимальной до максимальной)

Fig. 6. Comparison of the age distribution of infected persons and the population of the Russian Federation (the y-axis of this graph is the frequency of the age group from minimum to maximum)

ции на 15.06.2020 г. в целом составил 1,25 %, при этом заболевание в различных возрастных группах значительно отличается по вероятности неблагоприятного исхода (рис. 7).

Летальность в возрасте от 50 лет и старше превышает 1,2 %, при этом в возрастной группе 65 лет и старше показатель составляет 4,8 %. Данное наблюдение также согласуется с международным опытом и подчеркивает важность адресных мероприятий в отношении защиты возрастных групп риска [4, 5]. Среди лиц до 18 лет отмечено три летальных исхода (0,04 %). Следует отметить, что летальность среди мужчин составляет 1,6 %, в то время как среди женщин – 1,1 %.

На снижение доли смертельных исходов от COVID-19 в Российской Федерации (по сравнению с подавляющим большинством зарубежных стран) повлияли превентивные меры в отношении наиболее уязвимого контингента страны (дети, лица пенсионного возраста и медицинские работники): режим самоизоляции для лиц в возрасте 65 лет и старше, лиц, страдающих хроническими заболеваниями сердечно-сосудистой и эндокринной систем, и других контингентов рисков; отмена посещений социальных, медицинских учреждений, учреждений пенитенциарной системы и другие меры, направленные на социальное дистанцирование и минимизацию риска ухудшения эпидемиологической обстановки.

Отдельно следует подчеркнуть, что среди инфицированных отмечается высокая доля работников медицинских организаций – 7,6 %, при этом 7,7 % от всех заболевших заражаются в медучреждениях. Данное наблюдение обращает внимание на важность обеспечения противоэпидемического режима и выполнения требований биологической безопасности в период пандемии COVID-19 как в специализированных медицинских учреждениях, так и в клиниках общего профиля [6, 7].

По результатам проведенного анализа также установлено, что преимущественно заражение COVID-19 в Российской Федерации происходит в семейных очагах – 42,7 %, при этом в 18,8 % случаев не удалось установить источник инфекции, что может быть связано с бессимптомными случаями.

Доля лабораторно подтвержденных случаев COVID-19 без клинических проявлений составляет от 40 % и выше. Особенно высокая частота случаев без развития симптомов (90 % и выше) характерна для профессиональных очагов в случае инфицирования возрастных групп до 50 лет без сопутствующей патологии.

Таким образом, эпидемическая ситуация по COVID-19 в Российской Федерации по основным характеристикам контингентов и факторов риска в целом соответствует наблюдаемой картине в зарубежных странах [8–12]. Российская Федерация во-

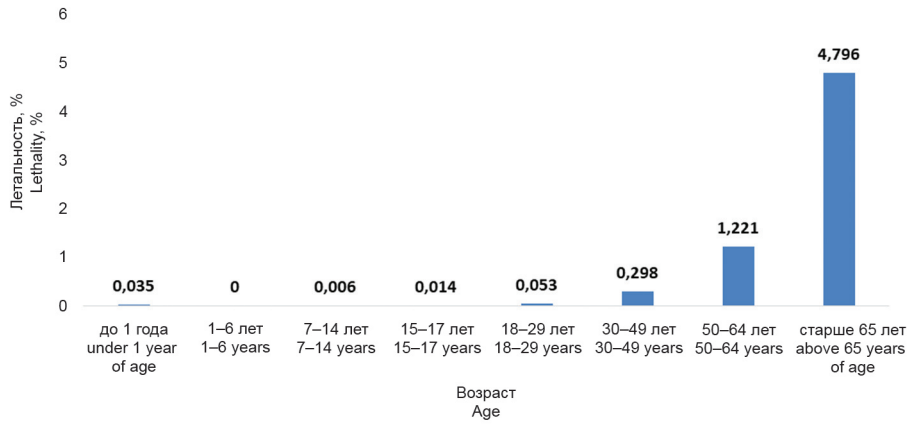


Рис. 7. Показатель летальности при COVID-19 в различных возрастных группах (%)

Fig. 7. Lethality rate of COVID-19 in different age groups (%)

шла в активную фазу эпидемии в среднем на 3–5 недель позднее других государств за счет целенаправленных усилий по санитарной охране территории и реализации комплекса профилактических мероприятий. Особенности развития эпидемического процесса в Российской Федерации характеризуются снижением темпов распространения и показателей летальности за счет своевременных и активных мер реагирования (санитарная охрана территории, обеспечение лабораторного тестирования, организация медицинской помощи и др.), что привело к замедлению процесса, минимизации нагрузки на лечебную сеть и снижению заболеваемости в наиболее пораженных регионах. Эффективно справиться с эпидемией помогла подготовка системы здравоохранения, обеспечение необходимым количеством требующихся мест в профильных стационарах и средствами для лечения больных COVID-19. Ключевым звеном в обеспечении готовности медицинской сети стал временной интервал (от получения информации о распространении COVID-19 до начала активной фазы эпидемического процесса в стране), который удалось продлить благодаря стратегии опережающего реагирования и поэтапному введению ограничительных мероприятий.

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

Список литературы

1. Novel Coronavirus – China. [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int/csr/don/12-january-2020-novel-coronavirus-china/en/ (дата обращения 15.06.2020).

2. Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf (дата обращения 15.06.2020).

3. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. COVID-19 коронавирус. Информация для граждан. [Электронный ресурс]. URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/about/info/news_time/news_details.php?ELEMENT_ID=13566 (дата обращения 15.06.2020).

4. Estimating the infection fatality rate among symptomatic COVID-19 cases in the United States. [Электронный ресурс]. URL: https://www.healthaffairs.org/doi/pdf/10.1377/hlthaff.2020.00455 (дата обращения 15.06.2020).

5. CEBM. Global Covid-19 Case Fatality Rates. [Электронный ресурс]. URL: https://www.cebm.net/covid-19/global-covid-19-case-fatality-rates/ (дата обращения 15.06.2020).

6. Lombardi A., Consonni D., Carugno M., Bozzi G., Mangioni D., Muscatello A., Castelli V., Palomba E., Cantù A.P. Ceriotti F., Tiso B., Pesatori A.C., Riboldi L., Bandera A., Gori A. Characteristics of 1,573 healthcare workers who underwent nasopharyngeal swab for SARS-CoV-2 in Milano, Lombardy, Italy. [Электронный ресурс]. URL: https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.05.07.20094276v1 (дата обращения 15.06.2020).

7. Takita M., Matsumura T., Yamamoto K., Yamashita E., Hosoda K., Hamaki T., Kusumi E. Preliminary Results of Seroprevalence of SARS-CoV-2 at Community Clinics in Tokyo. [Электронный ресурс]. URL: https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.29.20085449v1 (дата обращения 15.06.2020).

8. 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.

9. Zhongwei Huang, Jianping Huang, Qianqing Gu, Pengyue Du, Hongbin Liang, Qing Dong Optimal temperature zone for the dispersal of COVID-19. [Электронный ресурс]. URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720330047 (дата обращения 15.06.2020).

10. de Lusignan S., Dorward J., Correa A., Jones N., Akinyemi O., Amirthalingam G., Andrews N., Byford R., Dabrera G., Elliot A., Ellis J., Ferreira F., Bernal J.L., Okusi C., Ramsay M., Sherlock J., Smith G., Williams J., Howsam G., Zambon M., Joy M., Hobbs R. Risk factors for SARS-CoV-2 among patients in the Oxford Royal College of General Practitioners Research and Surveillance Centre primary care network: a cross-sectional study [Электронный ресурс]. URL: https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(20)30371-6/fulltext (дата обращения 15.06.2020).

11. Coelho M.T.P., Rodrigues J.F.M., Medina A.M., Scalco P., Terribile L.C., Bruno Vilela B., Diniz-Filho J.A.F., Dobrovolski R. Exponential phase of covid19 expansion is driven by airport connections. [Электронный ресурс]. URL: https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.02.20050773v2 (дата обращения 15.06.2020).

12. Zou J., Bretin A., Gewirtz A. Antibodies to SARS/CoV-2 in arbitrarily-selected Atlanta residents. [Электронный ресурс]. URL: https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.05.01.20087478v1 (дата обращения 15.06.2020).

References

1. Novel Coronavirus – China. (Cited 15 June 2020). [Internet]. Available from: https://www.who.int/csr/don/12-january-2020-novel-coronavirus-china/en/.

2. Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). (Cited 15 June 2020). [Internet]. Available from: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf.

3. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare. COVID-19 Coronavirus. Information for citizens. (Cited 15 June 2020). [Internet]. Available from: https://www.rospotrebnadzor.ru/about/info/news_time/news_details.php?ELEMENT_ID=13566.

4. Estimating the infection fatality rate among symptomatic COVID-19 cases in the United States. (Cited 15 June 2020). [Internet]. Available from: https://www.healthaffairs.org/doi/pdf/10.1377/hlthaff.2020.00455.

5. CEBM. Global Covid-19 Case Fatality Rates. (Cited 15 June 2020). [Internet]. Available from: https://www.cebm.net/covid-19/global-covid-19-case-fatality-rates/.

6. Lombardi A., Consonni D., Carugno M., Bozzi G., Mangioni D., Muscatello A., Castelli V., Palomba E., Cantù A.P. Ceriotti F., Tiso B., Pesatori A.C., Riboldi L., Bandera A., Gori A. Characteristics of 1,573 healthcare workers who underwent nasopharyngeal swab for SARS-CoV-2 in Milano, Lombardy, Italy. (Cited 15 June 2020). [Internet]. Available from: https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.05.07.20094276v1.

7. Takita M., Matsumura T., Yamamoto K., Yamashita E., Hosoda K., Hamaki T., Kusumi E. Preliminary Results of Seroprevalence of SARS-CoV-2 at Community Clinics in Tokyo. (Cited 15 June 2020). [Internet]. Available from: https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.29.20085449v1.

8. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Y.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.

9. Zhongwei Huang, Jianping Huang, Qianqing Gu, Pengyue Du, Hongbin Liang, Qing Dong Optimal temperature zone for the dispersal of COVID-19. (Cited 15 June 2020). [Internet]. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720330047.

10. de Lusignan S., Dorward J., Correa A., Jones N., Akinyemi O., Amirthalingam G., Andrews N., Byford R., Dabrera G., Elliot A., Ellis J., Ferreira F., Bernal J.L., Okusi C., Ramsay M., Sherlock J., Smith G., Williams J., Howsam G., Zambon M., Joy M., Hobbs R. Risk factors for SARS-CoV-2 among patients in the Oxford Royal College of General Practitioners Research and Surveillance Centre primary care network: a cross-sectional study. (Cited 15 June 2020). [Internet]. Available from: https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(20)30371-6/fulltext.

11. Coelho M.T.P., Rodrigues J.F.M., Medina A.M., Scalco P., Terribile L.C., Bruno Vilela B., Diniz-Filho J.A.F., Dobrovolski R. Exponential phase of covid19 expansion is driven by airport connections. (Cited 15 June 2020). [Internet]. Available from: https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.02.20050773v2.

12. Zou J., Bretin A., Gewirtz A. Antibodies to SARS/CoV-2 in arbitrarily-selected Atlanta residents. (Cited 15 June 2020). [Internet]. Available from: https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.05.01.20087478v1.

Authors:

Kutyrev V.V., Safronov V.A., Karnaukhov I.G., Ivanova A.V., Shcherbakova S.A. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe".

46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Popova A.Yu. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare; 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Pereulok, Moscow, 127994, Russian Federation. Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; 2/1, Barrikadnaya St., Moscow, 125993, Russian Federation.

Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare. 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Pereulok, Moscow, 127994, Russian Federation.

Об авторах:

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

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

Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, дом 18, строение 5 и 7.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-13-21

УДК 616.98:578.824.11(470)

А.Д. Ботвинкин[1], Г.Н. Сидоров[2,4], Е.М. Полещук[2], И.Д. Зарва[1], Д.Н. Нашатырева[2,5], Н.В. Яковчиц[3], Е.И. Андаев[3], С.В. Балахонов[3], Н.В. Рудаков[2,5]

РЕТРОСПЕКТИВНАЯ ОЦЕНКА РЕАЛИЗАЦИИ ДОЛГОСРОЧНОГО ПРОГНОЗА ПРОСТРАНСТВЕННОГО РАСПРОСТРАНЕНИЯ БЕШЕНСТВА В АЗИАТСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

[1]ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет», Иркутск, Российская Федерация;
[2]ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций», Омск, Российская Федерация;
[3]ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; [4]ФГБОУ ВО «Омский государственный педагогический университет», Омск, Российская Федерация;
[5]ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет», Омск, Российская Федерация

Цель – оценить, насколько оправдался долгосрочный прогноз территориального распространения бешенства в Сибири и на Дальнем Востоке, опубликованный около 40 лет назад, и дать характеристику современных подходов к пространственному прогнозированию. Подвергнута критическому анализу концепция пространственного распространения бешенства в азиатской части России, разработанная в 80-е годы XX в. на основании сведений о регистрации бешенства за 1881–1980 гг. и зоогеографических данных. Тогда выделили пять неблагополучных по бешенству регионов и участки наиболее вероятного выноса инфекции. На первом этапе проведен обзор опубликованных работ за 1985–2019 гг., включая информационно-справочные издания. Отобраны сведения о случаях бешенства среди людей и животных, для которых можно было определить географические координаты. Картографирование проведено с использованием ГИС-технологий (программа «QGIS 3.12.0 и электронные ландшафтно-географические карты «Natural Earth» и «OpenStreetMap»). Сравнение картограмм за разные периоды времени показало, что заболеваемость регистрировалась, в основном, в пределах ранее обозначенных территорий риска. Однако частота заболевания людей в разных регионах не всегда соответствовала интенсивности эпизоотий и прогнозируемому риску. На следующем этапе для корректировки прогноза пространственно-временного распространения бешенства представлен обзор публикаций по применению молекулярно-генетических данных, ГИС-технологий и моделирования. Распространение трех основных клад вируса бешенства («steppe», «Arctic-like», «Arctic») соответствовало неблагополучным по бешенству регионам, которые выделили ранее. Отмечено продвижение «лисьего» бешенства (клада «steppe») в северо-восточном направлении. В ряде случаев вспышки на юге Сибири и Дальнего Востока связаны с трансграничным заносом вируса бешенства. Представлены данные по скорости распространения волны эпизоотии, путям распространения и естественным барьерам. Коррекция прогноза пространственного распространения бешенства имеет значение для разработки стратегии борьбы с бешенством в регионе, включая оральную вакцинацию диких животных.

Ключевые слова: бешенство, пространственное распространение, Сибирь, Дальний Восток.

Корреспондирующий автор: Ботвинкин Александр Дмитриевич, e-mail: botvinkin_ismu@mail.ru.

Для цитирования: Ботвинкин А.Д., Сидоров Г.Н., Полещук Е.М., Зарва И.Д., Нашатырева Д.Н., Яковчиц Н.В., Андаев Е.И., Балахонов С.В., Рудаков Н.В. Ретроспективная оценка реализации долгосрочного прогноза пространственного распространения бешенства в азиатской части России. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:13–21. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-13-21

Поступила 24.03.20. *Принята к публ.* 01.06.20.

A.D. Botvinkin[1], G.N. Sidorov[2,4], E.M. Poleshchuk[2], I.D. Zarva[1], D.N. Nashatyreva[2,5], N.V. Yakovchits[3], E.I. Andaev[3], S.V. Balakhonov[3], N.V. Rudakov[2,5]

Retrospective Evaluation of Implementation of Long-Term Forecast on Spatial Spread of Rabies in the Asian Part of Russia

[1]Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation;
[2]Omsk Research Institute of Natural-Focal Infections, Omsk, Russian Federation;
[3]Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation;
[4]Omsk State Pedagogical University, Omsk, Russian Federation;
[5]Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation

Abstract. **Objective:** To evaluate the historical long-term forecast of the spatial spread of rabies in Siberia and Far East and to characterize modern approaches to spatial forecasting. The concept of spatial spread of rabies in the Asian part of Russia, developed in the 80s of the twentieth century, is subjected to critical analysis based on information on rabies registration for 1881–1980 and zoogeographic data. At that time, 5 rabies enzootic regions were identified, and the most probable directions of further exportation of infection suggested. At first, a review of published data on human and animal rabies cases for the period of 1985–2019 was undertaken (including reference publications). Data on cases of rabies among humans and animals were selected for which geographical coordinates could be determined. Mapping was performed using GIS (QGIS 3.12.0 software and "Natural Earth" and "OpenStreetMap" electronic maps). Comparison of maps for different time periods demonstrated that rabies incidence was recorded mainly within the previously identi-

fied risk areas. However, the occurrence of human disease in different regions did not always correspond to the intensity of epizootics and the predicted risk. Next, in an attempt to correct the prognosis of the spatiotemporal rabies spread, we reviewed publications that incorporated virus genetic data along with GIS technology and modeling application. The distribution of the three major rabies virus lineages ("steppe", "Arctic-like", "Arctic") corresponded to the regions that were previously identified. The spread of fox rabies (the "steppe" rabies virus lineage) in the north-east direction was described. In several instances, rabies outbreaks in southern Siberia and Far East were associated with cross-border movement of the virus from Kazakhstan, Mongolia and China. Data on the speed of the epizootic waves, pathways, and natural barriers for virus spread are discussed. The correction of the forecast for rabies virus circulation and spread is important for the development of control strategies in the region, including oral vaccination of wildlife virus reservoirs.

Key words: rabies, spatial spread, Siberia, Far East.

Funding: Investigation was carried out with the support of the Russian Fund of Fundamental Research, Project 19-315-90004/19.

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

Corresponding author: Alexander D. Botvinkin, e-mail: botvinkin_ismu@mail.ru.
Citation: Botvinkin A.D., Sidorov G.N., Poleshchuk E.M., Zarva I.D., Nashatyreva D.N., Yakovchits N.V., Andaev E.I., Balakhonov S.V., Rudakov N.V. Retrospective Evaluation of Implementation of Long-Term Forecast on Spatial Spread of Rabies in the Asian Part of Russia. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:13–21. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-13-21
Received 24.03.20. *Accepted* 01.06.20.

Botvinkin A.D., ORCID: http://orcid.org/0000-0002-0920-1330.
Sidorov G.N., ORCID: http://orcid.org/0000-0002-8344-7726
Poleshchuk E.M., ORCID: http://orcid.org/0000-0002-8217-5159
Zarva I.D., ORCID: http://orcid.org/0000-0002-4225-5998.
Nashatyreva D.N., ORCID: http://orcid.org/000-0001-9890-1031
Yakovchits N.V., ORCID: http://orcid.org/0000-0002-9994-0371
Andaev E.I., ORCID: http://orcid.org/0000-0002-6612-479X
Balakhonov S.V., ORCID: http://orcid.org/0000-0003-4201-5828
Rudakov N.V., ORCID: http://orcid.org/0000-0001-9566-9214

Прогнозирование эпидемических проявлений природных очагов является одной из основных задач эпидемиологического надзора за зоонозными инфекциями [1, 2]. Прогнозы систематически составляются и публикуются для многих зоонозов с природной очаговостью. Значительно меньше публикаций посвящено оценке реализации долгосрочных прогнозов.

Бешенство – зоонозная особо опасная инфекция с глобальным распространением, для которой характерно географическое разнообразие вариантов вируса, адаптированных к различным видам хищных млекопитающих и рукокрылых. Среди других зоонозных инфекций бешенство выделяется продолжительным инкубационным периодом, скоротечностью клинических проявлений и фатальным исходом [3].

В настоящее время в Российской Федерации неблагополучие по бешенству в основном определяется активностью природных очагов [4–7]. К числу основных хозяев вируса бешенства в азиатской части России относятся лисица (*Vulpes vulpes*), песец (*Alopex lagopus*), корсак (*Vulpes corsac*), волк (*Canis lupus*) и енотовидная собака (*Nyctereutes procyonoides*) [5–8]. Для природных очагов бешенства характерна значительная изменчивость границ нозоареала, обусловленная флуктуациями численности и высокой подвижностью хозяев вируса. Расширение нозоареала обычно наблюдается вслед за активизацией бешенства на энзоотичных территориях. В эпизоотический процесс вовлекаются собаки, кошки и сельскохозяйственные животные, которые, наряду с дикими животными, служат источником инфекции для человека [4–7].

На ранних этапах изучения природных очагов бешенства для долгосрочного прогнозирования наибольшую ценность представляли результаты ретроспективного анализа многолетней заболеваемости бешенством и зоогеографические данные. Первые прогностические работы для азиатской части России опубликованы в начале 80-х годов XX в. [8–10]. В настоящее время для этих целей привлекаются результаты молекулярно-генетического анализа вируса и ГИС-технологии [7, 11–15]. Практическая значимость прогнозов пространственного распространения бешенства возросла в связи с реализацией дорогостоящих программ оральной вакцинации диких животных [16–19].

Цель обзора – оценить, насколько оправдался долгосрочный прогноз территориального распространения бешенства в Сибири и на Дальнем Востоке, и дать характеристику современных подходов к пространственному прогнозированию.

Представлен обзор данных о распространении бешенства в азиатской части России. Критическому анализу подвергнуты первые публикации прогностического характера по Сибири и Дальнему Востоку за 1980–1983 гг. [8–10]. Основные итоги исследований этого периода иллюстрирует картограмма (рис. 1), представленная первым автором данной статьи во время доклада на сессии СО РАМН в Новосибирске в 1985 г., которая ранее в печатном виде не публиковалась.

Работа включала в себя два этапа. На первом этапе выполнен обзор работ, опубликованных за 1985–2019 гг. с последующим картографированием обработанных данных. Поиск публикаций проведен по электронным базам данных eLIBRARY.RU, «Киберленинка», Google Scholar и Medline по ключевым словам «бешенство», «прогноз», «прогнози-

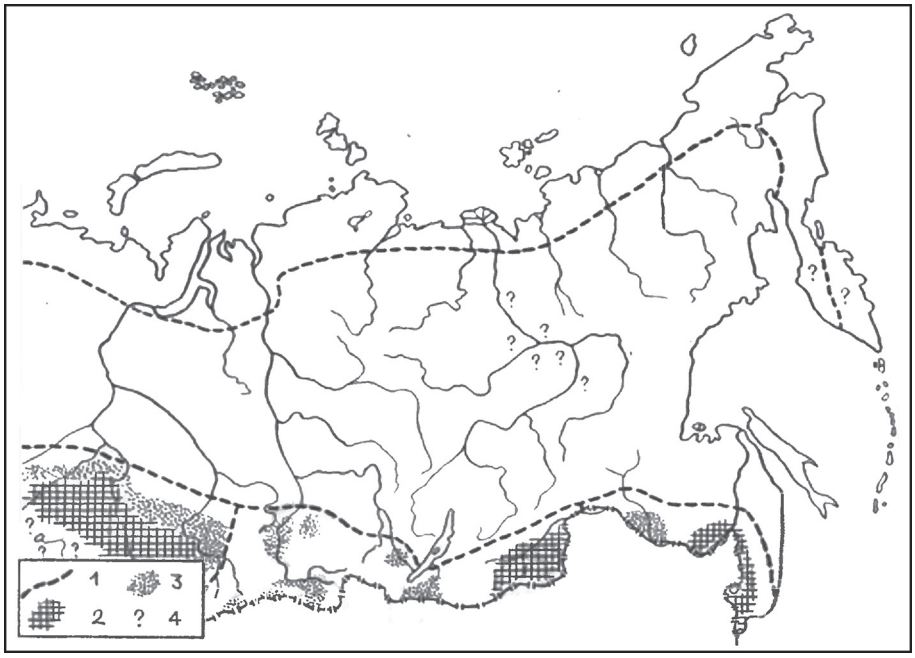


Рис. 1. Прогноз территориального распространения бешенства в Сибири и на Дальнем Востоке (1985 г.):

1 – границы очаговых регионов; *2* – стойкие природные очаги; *3* – районы наиболее вероятного выноса инфекции; *4* – ситуация требует уточнения

Fig. 1. Forecast of the territorial distribution of rabies in Siberia and Far East (1985):

1 – borders of focal regions; *2* – persistent natural foci; *3* – areas of the most likely infection exportation; *4* – the situation requires clarification

рование», «районирование», «Сибирь», «Дальний Восток», «rabies» и «spatiotemporal spread». Большинство публикаций, изданных до 2000 г., подобраны с помощью «ручного» поиска. Кроме монографий и статей [2, 4–7, 11, 12, 14, 20–24], использованы опубликованные в информационно-методических изданиях статистические данные по заболеваемости людей и животных бешенством [25–28]. Отобраны сведения о регистрации заболеваний людей и животных бешенством, имеющие географическую привязку. Картографирование проведено с использованием ГИС-технологий (программа «QGIS 3.12.0 и электронные ландшафтно-географические карты «Natural Earth» и «OpenStreetMap»). Картограмма с точками регистрации случаев заболевания людей бешенством за 1985–2019 гг. (n=26) составлена по географическим координатам места заражения (рис. 2). Не включены заболевания бешенством после укусов летучих мышей. Аналогичный подход использован при картографировании случаев бешенства у животных, при этом дополнительно использованы оперативные данные территориальных учреждений Роспотребнадзора за 2019 г., собранные по специально разработанным формам. В связи с большим числом случаев (n>9000) на рис. 2 нанесены точки по периферии очаговых территорий с заливкой по выделенным контурам постоянно неблагополучных по бешенству участков. На втором этапе проанализированы публикации не только по Сибири и Дальнему Востоку, но и по другим регионам России и зарубежным странам для оценки современных тенденций в изучении пространственной динамики эпизоотий бешенства, которые могли быть полезны для корректировки прогноза.

История разработки прогноза. Азиатская часть России значительно отличается от исторического центра страны по природным условиям, народонаселению и инфраструктуре, что до настоящего времени сказывается на распространенности многих инфекционных болезней. Накопление статистических сведений и научных знаний запаздывало, а результаты эпидемиологических исследований, выполненных в европейской части России и за рубежом, не могли быть механически перенесены на Сибирь и Дальний Восток. Подробная информация о распространении бешенства в европейской части страны систематически публиковалась в бюллетенях ВОЗ [29]. Сведения о бешенстве в Сибири и на Дальнем Востоке до настоящего времени значительно менее известны.

Только во второй половине XX в. началась систематизация разрозненных сведений о бешенстве в Сибири и на Дальнем Востоке, накопленных за предшествующий период пастеровскими станциями и практикующими врачами. В середине 70-х годов XX в. социальный заказ определялся планами хозяйственного освоения Сибири и Дальнего Востока, в частности строительством Байкало-Амурской железнодорожной магистрали. Ключевой научной публикацией прогностического характера в рамках этого заказа стала статья, идея подготовки которой принадлежала В.П. Савицкому [10]. В ней представлена схема районирования Восточной Сибири и Дальнего Востока с выделением зон с различной степенью эпидемиологической опасности. Этому предшествовал исчерпывающий ретроспективный анализ публикаций по бешенству в регионе за 1881–1980 гг. С учетом этих данных Г.Б. Мальков разработал иерархическую схему природных очагов бешенства в Сибири и на Дальнем Востоке [8]. Выделены пять очаговых регионов: два тундровых и лесотундровых, Западно-Сибирско-Казахстанский, горных областей Южной и Восточной Сибири, а также Южно-Дальневосточный. Для уточнения роли

диких животных в формировании нозоареала бешенства на востоке страны проведен анализ численности и плотности хищных млекопитающих семейства *Canidae* – основных природных хозяев вируса бешенства [9]. В совокупности серия выполненных работ указывала на природно-очаговый характер бешенства в азиатской части России и связь очагов с открытыми равнинными или горными ландшафтами (степь, лесостепь, тундра и лесотундра).

Обширные пространства Сибири и Дальнего Востока, занятые таежными лесами разного типа, не включены в состав очаговых регионов (рис. 1). Известные здесь случаи заболевания бешенством крайне редки, а иногда информация о них сомнительна. Единственная вспышка, сопровождавшаяся гибелью четырех человек, описана в Алданском районе Якутии, предположительно возникла в результате завоза бешенства с собаками [5, 20]. Вековой опыт пушного промысла и многочисленные зоологические исследования свидетельствуют, что дикие хищные млекопитающие семейства *Canidae* не достигают высокой численности в сибирской тайге [8, 9].

Распространение бешенства в Сибири и на Дальнем Востоке в 1985–2019 гг.

Заболевания людей бешенством. В 1985–2019 гг. в Сибири и на Дальнем Востоке зарегистрировано 26 случаев смерти людей от бешенства в результате местного заражения (в среднем 0,8 случаев в год) [25–27]. Общее число случаев в сравнении с 1950–1984 гг. сократилось на порядок, более 7 случаев в год [5, 10]. Все они расположены в пределах границ ранее обозначенных очаговых регионов (рис. 1, 2). На юге Западной Сибири и Дальнего Востока заболевания людей зарегистрированы на территориях, которые на рис. 1 обозначены как «стойкие природные очаги». Один случай после волчьего укуса описан в Субарктике [24]. Заболевания людей в этот период не регистрировались на юге Восточной

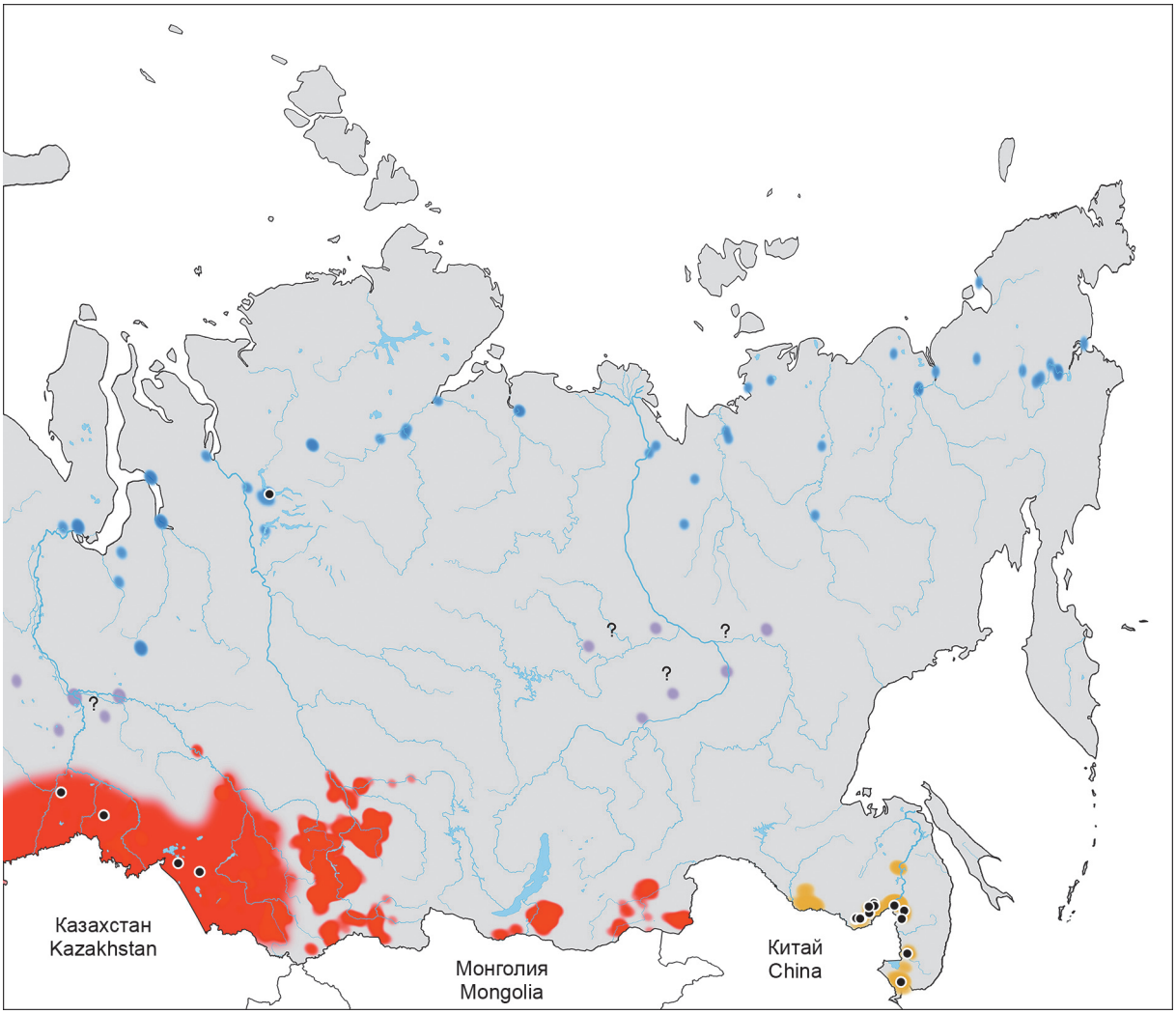


Рис. 2. Картографический анализ распространения бешенства в Сибири и на Дальнем Востоке (1985–2019 гг.):

● – случаи заболевания людей; *цветная заливка* – распространение бешенства среди животных, связанного с разными вариантами вируса бешенства (*красная* – «steppe», *желтая* – «Arctic-like», *голубая* – «Arctic»; *фиолетовая* – противоречивые данные; «?» – сведения о варианте вируса отсутствуют)

Fig. 2. Cartographic analysis of the spread of rabies in Siberia and Far East (1985–2019):

● – cases of human rabies; *color shading* – the spread of animal rabies associated with different variants of the rabies virus (*red* – "steppe", *yellow* – "Arctic-like", *blue* – "Arctic"; *violet* – contradictory data; «?»– there are no information about the variant of the virus)

Сибири. Это наиболее существенное отклонение от прогноза, так как Восточное Забайкалье фигурировало как район высокой эпидемиологической опасности [10]. Последние случаи заболевания людей в Забайкалье зарегистрированы в 1981–1983 гг. В пределах этого очагового региона заболевания людей еще раньше (в 1966 г.) прекратились в Красноярском крае и Иркутской области. За последние три десятилетия ключевая роль в заболеваемости принадлежала Южно-Дальневосточному очаговому региону, где основным источником инфекции для человека оставалась собака [21, 22, 25–27]. В Западной Сибири в половине случаев источником заражения были лисицы [5, 25–27]. В таежной зоне за пределами выделенных очаговых регионов заболевания людей не зарегистрированы.

Заболевания животных бешенством. За 1985–2019 гг. имеется информация о 9,0 тыс. случаев бешенства среди диких и домашних животных (в среднем около 250 случаев в год) [25–27]. Регистрируемая заболеваемость распределена следующим образом: юг Западной Сибири – 64,0 %, юг Восточной Сибири – 18,0 %, юг Дальнего Востока – 5,0 %, Субарктика – 12,0 %, за пределами очаговых регионов – 1,0 %. Бешенство регистрировалось ежегодно на большей части территорий, обозначенных как «стойкие природные очаги». Эпизоотии не прекращались в степных и лесостепных районах Западной Сибири – от Тюменской области до Алтайского края и Новосибирской области. С перерывами от 1 до 10 лет бешенство регистрировалось в Еврейской автономной области, Хабаровском и Приморском краях. Исключением оказался Забайкальский край, где циркуляция вируса бешенства прекратилась в начале 80-х годов XX в. на многие годы и возобновилась только в 2014–2018 гг. [21, 22, 25–27]. Никаких предпосылок к такому повороту событий в период разработки прогноза не выявлено.

Прогноз оправдался для большинства территорий, обозначенных как «районы наиболее вероятного выноса инфекции» (рис. 1). С 1989 г., после продолжительного перерыва, возобновилась циркуляция вируса бешенства в Кемеровской области на правобережье р. Обь. В дальнейшем эпизоотии бешенства продолжались здесь практически непрерывно до 2015 г. [27]. Незадолго до публикации прогноза, в 1979–1980 гг., в Республике Тыва зарегистрировали вспышку бешенства среди животных и два случая заболевания людей. Повторные вспышки среди животных отмечены в Тувинской котловине и в горной степи на границе с Монголией в 1989 и 1996 гг., а с 2007 г. заболевания регистрировались практически ежегодно [28]. В 2007 г. бешенство впервые лабораторно подтверждено в Чуйской и Курайской степи на соседней территории – в Республике Алтай и в последующем неоднократно регистрировалось у собак и волков [25]. В 2002–2003 гг. бешенство впервые выявлено после многолетнего благополучия в Минусинской котловине на юге Красноярского края и в Хакасии. В дальнейшем бешенство распространилось на Канскую и Ачинскую лесостепь в полном соответствии с прогнозом. Здесь сформировался природный очаг, поддерживаемый лисицами, который функционирует и в настоящее время [2, 14, 15, 27]. В 2011–2013 г. возникла локальная вспышка в Республике Бурятия в непосредственной близости от границы с Монголией [24]. Через несколько лет (2017–2019 гг.) эпизоотия распространилась на значительную часть территории Бурятии (до Улан-Удэ). В 2018 г. бешенство подтверждено на Зейско-Буреинской равнине в Амурской области. Первые случаи зарегистрированы в непосредственной близости от границы с Китаем; эпизоотия продолжалась и в 2019 г. Территория Амурской области оставалась благополучной по бешенству с 70-х годов XX в. [27].

Из всех районов, куда занос инфекции прогнозировался с высокой вероятностью, благополучие по бешенству сохраняется лишь в лесостепном Приангарье (Иркутская область). В прошлом, до начала 70-х годов XX в., на этой территории регистрировались активные эпизоотии городского типа, сопровождавшиеся заболеванием людей [10, 27].

В нескольких случаях отмечен вынос инфекции за пределы очаговых регионов. В Западной Сибири бешенство распространилось примерно на 100–200 км севернее ожидаемой границы – до Томска и ниже по долинам рек Томь и Обь (2013–2018 гг.) [27]. В Восточной Сибири отдельные случаи отмечены в долине р. Енисей до места впадения р. Ангара и далее по Ангаре почти до границ с Иркутской областью [14]. На Дальнем Востоке в 2011–2019 гг. случаи бешенства среди диких и домашних животных зарегистрированы в долине р. Амур до Комсомольска-на-Амуре [27].

На Крайнем Севере эпизоотии периодически выявлялись в разных районах от Ямала до Чукотки. Бешенство среди животных систематически подтверждалось значительно южнее обозначенной границы арктического очагового региона, преимущественно в долинах крупных северных рек. В Западной Сибири наиболее удаленные точки расположены в районе Ханты-Мансийска [25–27]. По долине Енисея бешенство распространялось на юг до устья Нижней Тунгуски [14]. Наиболее полная информация имеется по Республике Саха (Якутия), где бешенство у животных спорадически выявлялось до среднего течения рек Лена и Вилюй [20].

Таким образом, наиболее характерной особенностью южной группы очаговых регионов являлось продвижение бешенства в северо-восточном направлении на территории, ранее обозначенные как «районы наиболее вероятного выноса инфекции», а на некоторых участках и далее. При этом основным резервуаром инфекции служили лисицы.

Для северных территорий прогноз оказался менее точным – бешенство нередко обнаруживалось на сотни километров южнее области постоянного

обитания песца, для которого характерны дальние миграции в южном направлении в холодное время года. Несмотря на «встречное движение» границ, сохраняется разрыв между северными и южными очаговыми регионами. В Западной Сибири он сократился до 200–250 км (участок от Тобольска до Ханты-Мансийска). Основными экологическими руслами для продвижения вируса бешенства в таежную зону за пределы очаговых регионов служили интразональные ландшафты естественного и антропогенного происхождения в долинах крупных рек. Роль основных естественных барьеров выполняли горные хребты и тайга. Бешенство в рассматриваемый период не регистрировалось на большей части подзон средней и северной тайги, а также на Камчатке и Сахалине.

Современные тенденции в изучении пространственно-временной динамики эпизоотий бешенства. После публикации первых обобщающих работ по природной очаговости бешенства в Сибири и на Дальнем Востоке методология эпидемиологического районирования совершенствовалась [2, 27]. Проводилось эпидемиологическое районирование территорий СССР, а позже и Российской Федерации, включая азиатскую часть [2, 4, 6, 7, 10]. Систематически публиковались информационные бюллетени с картограммами распространения бешенства [25–27]. Однако анализ проводился преимущественно на основе административного деления территории. Рассчитанные показатели экстраполировались на всю площадь субъектов с однотонной заливкой на картах. Для Сибири и Дальнего Востока, где площади административных территорий огромны, такой формализованный подход можно рассматривать лишь в качестве первого этапа исследований.

ГИС-технологии и данные дистанционного зондирования Земли существенно повысили точность и оперативность картографирования биомедицинской информации [1, 7, 30]. Аналогичные данные пока имеются лишь для некоторых территорий Сибири и Дальнего Востока, что дает возможность проследить поэтапное распространение бешенства в динамике за многолетний период с учетом ландшафтных особенностей территории [14]. Нозоэкологические карты, разработанные для азиатской части России, демонстрировали общие закономерности ландшафтного распределения различных зоонозных инфекций, включая бешенство, однако требовалась их актуализация с учетом регистрируемой заболеваемости [13].

Важнейшее значение для анализа пространственной структуры природных очагов зоонозов имеют результаты внутривидового типирования возбудителя. Генетический анализ изолятов вируса бешенства указывает на наличие в Сибири и на Дальнем Востоке трех филогенетических групп (клад) вируса бешенства [11, 12], что во многом согласуется со схемой очаговых регионов Г.Б. Малькова [8]. На юге Западной Сибири, в Казахстане и Монголии широко распространен вариант вируса бешенства, адаптированный к лисице, получивший название «степной» («steppe»); изоляты с юга Дальнего Востока и сопредельных территорий Китая принадлежат к группе «подобный арктическому» («Arctic-like»); для сибирской Субарктики характерен арктический вариант вируса («Arctic»), распространенный циркумполярно [12, 24]. В дальнейшем установлено, что природные очаги в островных лесостепях Приенисейской Сибири, в Республике Тыва и Забайкалье сформировались в конце прошлого – начале текущего столетий в результате экспансии «степного» варианта вируса [11, 15, 23, 27]. В Забайкалье, по-видимому, произошла смена доминирующего варианта возбудителя, так как штаммы, выделенные в Читинской области в 1977 г., принадлежали к группе «Arctic-like» [12]. Судя по этим данным и информации с сопредельных территорий Китая и Монголии [31–35], границы распространения генетических вариантов вируса бешенства подвижны. Настораживает, что вирусы филогруппы «Arctic-like» активно распространяются среди собак в густонаселенных районах Китая и Непала с высокой заболеваемостью людей [34]. Кроме того, китайские исследователи отмечают тенденцию распространения другого адаптированного к собакам варианта вируса (China I) из южных провинций на север. Известны находки этого варианта вируса во Внутренней Монголии недалеко от границы с Забайкальем [33, 35]. Изученные изоляты вируса бешенства из таежных районов азиатской части России севернее 60° с.ш. принадлежали, в основном, к группе «Arctic», что подтверждает их связь с арктическим очаговым регионом [11, 12, 24, 27]. К сожалению, по некоторым регионам данные по типированию вируса отсутствуют или недостаточны для однозначных выводов – лишь в единичных случаях секвенированы изоляты вируса от заболевших людей. Эта информация чрезвычайно важна для оценки пространственно-временной динамики эпизоотий и эпидемического потенциала очагов в разных частях нозоареала. Например, деление арктического очагового региона в пределах России на «европейскую» и «азиатскую» и более дробные части проведено с учетом зоогеографических данных [9, 10]. Генетический анализ изолятов вируса бешенства с севера Евразии, Аляски и Гренландии пока не дает оснований для такой дифференциации [11, 12, 36, 37]. Данные о циркуляции на Дальнем Востоке вирусов группы «Arctic-like», очевидно, следует принимать во внимание при выяснении причин более высокой заболеваемости людей в этом регионе.

Наиболее информативны результаты комплексного применения молекулярно-генетических методов, ГИС-технологий и компьютерного моделирования, позволяющие более точно оценивать скорость и направление движения фронта эпизоотий, связанных с конкретными вариантами вируса бешенства [38–40]. В Западной Сибири в условиях низкой экологической емкости степных биотопов скорость распространения «лисьего» бешенства значительно

выше, чем в Европе, и может превышать 100 км в год [41]. Аналогичные данные получены для степных и лесостепных районов Восточной Сибири [14].

Важным аспектом прогнозирования остается оценка возможности трансграничного заноса бешенства из Китая, Монголии и Казахстана. Сопредельные территории названных выше стран энзоотичны по бешенству [31–35, 42]. В Сибири и на Дальнем Востоке практически нет естественных барьеров для трансграничных миграций хищных млекопитающих. Эпидемиологические и молекулярно-генетические данные подтверждают заносное происхождение вспышек в Забайкалье, Республике Тыва и Амурской области, возникших после длительного отсутствия заболеваемости [7, 11, 23, 27]. Это определяет актуальность международного сотрудничества для организации профилактики бешенства в приграничных районах.

Прогноз пространственного распространения бешенства в Сибири и на Дальнем Востоке, подготовленный в начале 80-х годов XX в., в значительной мере оправдался. Заболеваемость животных регистрировалась, в основном, в пределах ранее обозначенных очаговых регионов. Обоснованность выделения очаговых регионов подтверждена результатами генотипирования изолятов вируса. Отмечено продвижение «степного» варианта вируса бешенства в северо-восточном направлении и в целом расширение нозоареала преимущественно на прогнозируемые участки территории. Однако характер эпидемиологических проявлений очагов не всегда соответствовал интенсивности эпизоотий и прогнозируемому риску. Заболевания людей за последние 35 лет не регистрировались в Восточной Сибири. Больше всего случаев заболевания людей отмечено на юге Дальнего Востока, где бешенство животных выявлялось значительно реже, чем на юге Западной Сибири. Современные подходы и задачи пространственного прогнозирования включают в себя переход от анализа в рамках административных границ к оценке пространственно-временной динамики и структуры очагов бешенства, более широкое использование генотипирования вируса и ГИС-технологий для повышения точности прогнозов и планирования мероприятий по борьбе с бешенством, включая барьерную оральную вакцинацию животных в приграничных районах.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ, проект 19-315-90004/19.

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

Посвящается памяти к.м.н. Владимира Петровича Савицкого – эпидемиолога лаборатории профилактики бешенства Омского НИИ природно-очаговых инфекций, инициатора подготовки анализируемого прогноза.

Список литературы

1. Попов Н.В., Куклев Е.В., Кутырев В.В. Актуальные вопросы геоинформационного обеспечения мониторинга и прогнозирования эпизоотической активности природных очагов чумы и других зоонозных инфекций на территории Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2006; 2:28–30.

2. Сидоров Г.Н., Сидорова Д.Г., Колычев Н.М., Полещук Е.М. К вопросу о прогнозировании эпизоотического процесса при бешенстве на территории России. *Ветеринарная патология.* 2007; 3:17–23.

3. Hanlon C.F. Rabies in terrestrial animals. In: Jackson A.C., editors. Rabies Scientific Basis of the Disease and its Management. Oxford: Academic Press; 2013. P. 179–214.

4. Бельчихина А.В., Караулов А.К. Ретроспективный анализ эпизоотической ситуации по бешенству животных на территории Российской Федерации. *Ветеринария сегодня.* 2016; 1:64–70.

5. Сидоров Г.Н., Полещук Е.М., Сидорова Д.Г. Изменение роли млекопитающих в заражении людей бешенством в России за исторически обозримый период в 16–21 веках. *Зоологический журнал*. 2019; 98(4):437–52. DOI: 10.1134/S0044513419040159.

6. Шабейкин А.А., Гулюкин А.М., Зайкова О.Н. Обзор эпизоотической ситуации по бешенству в Российской Федерации за период с 1991 по 2015 годы. *Ветеринария Кубани.* 2016; 4:4–6.

7. Shulpin M.I., Nazarov N.A., Chupin S.A., Korennoy F.I., Metlin A.E., Mischenko A.V. Rabies surveillance in the Russian Federation. *Rev. Sci. Tech.* 2018; 37(2):483–95. DOI: 10.20506/rst.37.2.2817.

8. Мальков Г.Б. Концепция о популяционно-биологических аспектах природной очаговости бешенства. В кн.: Природно-очаговые болезни человека (вопросы эпидемиологии и профилактики). Омск; 1981. С. 105–14.

9. Сидоров Г.Н., Савицкий В.П., Ботвинкин А.Д. Ландшафтное распределение хищных млекопитающих семейства собачьих (*Canidae*) как фактор формирования нозоареала бешенства на юго-востоке СССР. *Зоологический журнал*. 1983; 62(5):761–70.

10. Савицкий В.П., Ботвинкин А.Д. Эпидемиологическое районирование и долгосрочное прогнозирование заболеваемости бешенством по Восточной Сибири и Дальнему Востоку. В кн.: Современные методы изучения природно-очаговых инфекций. Л.; 1980. С. 41–52.

11. Deviatkin A.A., Lukashev N.L., Poleshchuk E.M., Dedkov V.G, Tkachev S.E., Sidorov G.N., Karganova G.G., Galkina I.V., Shchelkanov M.Yu., Shipulin G.A. The phylodynamics of the rabies virus in the Russian Federation. *PLoS One.* 2017; 12(2):e0171855. DOI: 10.1371/journal.pone.0171855.

12. Kuzmin I.V., Botvinkin A.D., McElhinney L.M., Smith J.S., Orciari L.A., Hughes G.J., Fooks A.R., Rupprecht C.E. Molecular epidemiology of terrestrial rabies in the former Soviet Union. *J. Wildl. Dis.* 2004; 40(4):17–631. DOI: 10.7589/0090-3558-40.4.617.

13. Конева И.В., Батуев А.Р., Лопаткин Д.А. Карта «Нозоэкосистемы Азиатской части России». *Известия Иркутского государственного университета*. *Серия: науки о земле.* 2011; 4(1):119–34.

14. Зарва И.Д., Ботвинкин А.Д., Горяев Д.В., Демчин П.М., Дмитриева Г.М., Зайкова Т.А., Луценко Г.В., Романова Т.Г., Русин М.В., Сорокина О.В., Сутурина Ю.Э., Шалгинова Е.Ю., Шматова Л.В. Анализ распространенности бешенства в островных лесостепях Восточной Сибири на основе ГИС-технологий. *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2019; 4(2):48–57. DOI: 10.23946/2500-0764-2019-4-2-48-57.

15. Яковчиц Н.В., Бондарюк А.Н., Адельшин Р.В., Носков А.К., Андаев Е.И., Ботвинкин А.Д. Вирус бешенства в Красноярском крае: две независимые филогруппы. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии.* 2019; 37:38–40.

16. Метлин А.Е., Рыбаков С.С., Михалишин В.В., Muller Th. Оральная вакцинация диких плотоядных животных против бешенства. *Ветеринария*. 2009; 8:18–25.

17. Сливко И.А., Сафонов Г.А., Хрипунов Е.М., Гогин А.Е., Жестерев В.И., Баньковский Д.О. Возможные причины неудачи оральной антирабической иммунизации диких плотоядных животных в Российской Федерации. *Ветеринария.* 2013; 10:27–31.

18. Freuling C.M., Hampson K., Selhorst T., Schröder R., Meslin F.X., Mettenleiter T.C., Müller T. The elimination of fox rabies from Europe: determinants of success and lessons for the future. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol Sci.* 2013; 368(1623):20120142. DOI: 10.1098/rstb.2012.0142.

19. Müller T.F., Freuling C.M. Rabies control in Europe: an overview of past, urgent and future strategies. *Rev. Sci. Tech.* 2018, 37(2):409–419. DOI: 10.20506/rst.37.2.2811.

20. Карпов В.С., Чернявский В.Ф., Каратаева Т.Д. Основные зооантропонозы в Якутии (Эпизоотология и эпидемиология). Якутск: РПО СЩ РАСХН; 1997. 154 с.

21. Нестерова Ю.В., Девятилова С.В., Хомичук Т.Ф., Семейкина Л.М. Бешенство – актуальная проблема Приморского края. *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. 2016; 3:112–5.

DOI: 10.18411/hmes.d-2016-124.

22. Янович В.А. Эпидемиологическая и эпизоотологическая ситуация по бешенству в Еврейской автономной области. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 1999; 4:119–120. PMID: 10852077.

23. Adelshin R.V., Melnikova O.V., Trushina Y.N., Botvinkin A.D., Borisova T.I., Andaev E.I., Verzhutsky D.B., Khangazhinov A.S., Balakhonov S.V. A new outbreak of fox rabies at the Russian-Mongolian border. *Virologica Sinica.* 2015; 30(4):313–5. DOI: 10.1007/s12250-015-3609-0.

24. Kuzmin I.V. An arctic fox rabies virus strain as a cause of human rabies in Russian Siberia. *Arch. Virol.* 1999; 144:627–9. DOI: 10.1007/s007050050531.

25. Бешенство в Российской Федерации. Информационно-аналитический бюллетень. Сост.: Полещук Е.М., Сидоров Г.Н., Березина Е.С. Омск: Полиграфический центр КАН; 2009. 65 с.

26. Бешенство в Российской Федерации. Информационно-аналитический бюллетень. Сост.: Полещук Е.М., Сидоров Г.Н., Сидорова Д.Г., Колычев Н.М. Омск: Полиграфический центр КАН; 2013. 49 с. [Электронный ресурс]. URL: http://oniipi.org/author/admin (дата обращения 12.03.2019).

27. Бешенство в Российской Федерации: информационно-аналитический бюллетень. Сост. Полещук Е.М., Сидоров Г.Н., Нашатырева Д.Н., Градобоева Е.А., Пакскина Н.Д., Попова И.В. Омск: Издательский центр КАН; 2019. 110 с. [Электронный ресурс]. URL: http://oniipi.org/author/admin (дата обращения 12.03.2019).

28. Профилактика бешенства в условиях отгонно-пастбищного животноводства (на примере Республики Тыва): Методические рекомендации. Сост.: Полещук Е.М., Сидоров Г.Н., Сарыглар Л.К. и др. Омск; 2016. 99 с. [Электронный ресурс]. URL: https://search.rsl.ru/ru/record/01008950007 (дата обращения 12.03.2019).

29. Rabies Bulletin Europe. [Электронный ресурс]. URL: https://rbe.fli.de/resource/journal (дата обращения 12.03.2019).

30. Giannakopoulos A., Valiakos G., Papaspyropoulos K., Dougas G., Korou L.M., Tasioudi K.E., Fthenakis G.C., Hutchings M.R., Kaimaras D., Tsokana C.N., Iliadou P., Spyrou V., Tzani M., Birtsas P., Kostoglou P., Sokos C., Doudounakis S., Yon L., Hannant D., Artois M., Tsiodras S., Hadjichristodoulou C., Billinis C. Rabies outbreak in Greece during 2012–2014: use of geographical information system for analysis, risk assessment and control. *Epidemiol. Infect.* 2016; 144(14):3068–79. DOI: 10.1017/S0950268816001527.

31. Boldbaatar B., Inoue S., Tuya N., Dulam P., Batchuluun D., Sugiura N., Okutani A., Kaku Y., Noguchi A., Kotaki A., Yamada A. Molecular epidemiology of rabies virus in Mongolia, 2005–2008. J*pn. J. Infect. Dis.* 2010; 63(5):358–63. PMID: 20859006.

32. Feng Y., Wang W., Guo J., Alatengheli, Li Y., Yang G., Su N., Zhang L., Xu W., Sheng Z., Ma L., Gui J., Dejide, Lin H., Tu C. Disease outbreaks caused by steppe-type rabies viruses in China. *Epidemiol. Infect.* 2015; 143(6):1287–91. DOI: 10.1017/S0950268814001952.

33. Yao H-W., Yang Y., Liu K., Li X-L., Zuo S-Q., Sun R-X., Fang L.Q., Cao W.C. The spatiotemporal expansion of human rabies and its probable explanation in mainland China, 2004–2013. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(2):e0003502. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003502.

34. Pant G.R., Lavenir R., Wong F.Y.K., Certoma A., Larrous F., Bhatta D.R., Bourhy H., Stevens V., Dacheux L. Recent emergence and spread of an Arctic-related phylogenetic lineage of rabies virus in Nepal. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 2013; 7(11):e2560. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002560.

35. Zhu H., Chen X., Shao X., Ba H., Wang F., Wang H., Yang Y., Sun N., Ren J., Cheng S., Wen Y. Characterization of a virulent dog-originated rabies virus affecting more than twenty fallow deer (Dama dama) in Inner Mongolia, China. *Infect. Genet. Evol.* 2015; 31:127–34. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.12.024.

36. Hanke D., Freuling C.M., Fischer S., Hueffer K., Hundertmark K., Nadin-Davis S., Marston D., Fooks A.R., Bøtner A., Mettenleiter T.C., Beer M., Rasmussen T.B., Müller T.F., Höper D. Spatio-temporal analysis of the genetic diversity of arctic rabies viruses and their reservoir hosts in Greenland. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016. 10(7):e0004779. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004779.

37. Huefferand K., Murphy M. Rabies in Alaska, from the past to an uncertain future. *Int. J. Circumpolar Health.* 2018; 77(1):1475185. DOI: 10.1080/22423982.2018.1475185.

38. Biek R., Henderson J.C., Waller L.A., Rupprecht C.E., Real L.A. A high-resolution genetic signature of demographic and spatial expansion in epizootic rabies virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007; 104(19):7993–8. DOI: 10.1073/pnas.0700741104.

39. Kuzmina N.A., Lemey P., Kuzmin I.V., Mayes B.C., Ellison J.A, Orciari L.A., Hightower D., Taylor S.T., Rupprecht C.E. The phylogeography and spatiotemporal spread of south-central skunk rabies virus. *PLoS ONE*. 2013; 8(12):e82348. DOI: 10.1371/journal.pone.0082348.

40. Ruan S. Modeling the transmission dynamics and control of rabies in China. *Math. Biosci.* 2017; 286:65–93. DOI: 10.1016/j.mbs.2017.02.005.

41. Тюлько Ж.С., Кузьмин И.В. Моделирование эпизоотии бешенства в популяциях лисиц при ограниченной экологической емкости биотопов. *Экология*. 2002; 5:351–7.

42. Sultanov A.A., Abdrakhmanov S.K., Abdybekova A.M., Karatayev B.S., Torgerson P.R. Rabies in Kazakhstan. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(8):e0004889. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004889.

References

1. Popov N.V., Kouklev E.V., Kutyrev V.V. [Relevant issues of geo-informational support to provide for monitoring and prognostication of epizootic activity in natural foci of plague and other zoonotic infections in the territory of the Russian Federation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2006; 2:28–30.

2. Sidorov G.N., Sidorova D.G., Kolychev N.M., Poleshchuk E.M. [On the question of predicting the epizootic process for rabies in Russia]. *Veterinarnaya Patologiya [Veterinary pathology]*. 2007; 3:17–23.

3. Hanlon C.F. Rabies in terrestrial animals. In: Jackson A.C., editors. Rabies Scientific Basis of the Disease and its Management. Oxford: Academic Press; 2013. P. 179–214.

4. Belchikhina A.V., Karaulov A.K. [A retrospective analysis of the epizootic situation on rabies in the territory of the Russian Federation]. *Veterinariya Segodnya [Veterinary Medicine Today]*. 2016; 1:64–70.

5. Sidorov G.N., Poleshchuk E.M., Sidorova D.G. [Changes in the role of mammals in human rabies infection in Russia for a historically graspable period of the 16th to 21st centuries] *Zoologicheskii Zhurnal [Zoological Journal]*. 2019; 98(4):437–52 DOI: 10.1134/S004451341904015 9

6. Shabejkin A. A., Gulyukin A. M., Zajkova O. N. [Overview of the epizootic situation on rabies for 2015 in the Russian Federation]. *Veterinariya Kubani [Veterinary of Kuban]*. 2016; (4):4–6.

7. Shulpin M.I., Nazarov N.A., Chupin S.A., Korennoy F.I., Metlin A.E., Mischenko A.V. Rabies surveillance in the Russian Federation. *Rev. Sci. Tech.* 2018; 37(2):483–95. DOI: 10.20506/rst.37.2.2817.

8. Mal'kov G.B. [The concept of population-biological aspects of the natural foci of rabies]. In: [Natural Focal Human Diseases (Epidemiology and Prevention)]. Omsk; 1981. P. 105–14.

9. Sidorov G.N., Savitsky V.P., Botvinkin A.D. [Landscape distribution of carnivorous canine mammals (*Canidae*) as a factor in the formation of rabies nosoareal in the southeast of the USSR]. *Zoologicheskii Zhurnal [Zoological Journal]*. 1983; 62 (5):761–70.

10. Savitsky V.P., Botvinkin A.D. [Epidemiological zoning and long-term prognosis of rabies incidence in Eastern Siberia and Far East]. In: [Modern Methods of Studying Natural-Focal Infections]. Leningrad; 1980. P. 41–52.

11. Deviatkin A.A., Lukashev N.L., Poleshchuk E.M., Dedkov V.G, Tkachev S.E., Sidorov G.N., Karganova G.G., Galkina I.V., Shchelkanov M.Yu., Shipulin G.A. The phylodynamics of the rabies virus in the Russian Federation. *PLoS One.* 2017; 12(2):e0171855. DOI: 10.1371/journal.pone.0171855.

12. Kuzmin I.V., Botvinkin A.D., McElhinney L.M., Smith J.S., Orciari L.A., Hughes G.J., Fooks A.R., Rupprecht C.E. Molecular epidemiology of terrestrial rabies in the former Soviet Union. *J. Wildl. Dis.* 2004; 40(4):17–631. DOI: 10.7589/0090-3558-40.4.617.

13. Koneva I.V., Batuev A.R., Lopatkin D.A. [The map «Nozoecosystems of the Asian Russia»]. *Izvestiya Irkutskogo Gosudarstvennogo Universiteta [News of Irkutsk State University]*. 2011; 4 (1):119–34.

14. Zarva I.D., Botvinkin A.D., Goryaev D.V., Demchin P.M., Dmitrieva G.M., Zaykova T.A., Lutsenko G.V., Romanova T.G., Rusin M.V., Sorokina O.V., Suturina Yu.E., Shalginova E.Yu., Shmatova L.V. [Geographic information system analysis of rabies spread in island forest-steppe of East Siberia]. *Fundamental'naya i Klinicheskaya Meditsina [Fundamental and Clinical Medicine]*. 2019; 4 (2):48–57. DOI: 10.23946/2500-0764-2019-4-2-48-57.

15. Yakovchits N.V., Bondaryuk A.N., Adel'shin R.V., Noskov A.K., Andaev E.I., Botvinkin A.D. Rabies virus in the Krasnoyarsk Territory: two independent phylogroups. *Dal'nevostochnyj Zhurnal Infektsionnoy Patologii [Far Eastern Journal of Infectious Pathology]*. 2019; (37):38–9.

16. Metlin A.E., Rybakov S.S., Mikhalishin V.V., Muller Th. [Oral vaccination of wild carnivores against rabies]. *Veterinariya [Veterinary Medicine]*. 2009; 8:18–25.

17. Slivko I.A., Safonov G.A., Khripunov E.M., Gogin A.E., Zhesterev V.I., Ban'kovsky D.O. [Probable causes of failure of oral anti-rabies immunization of wild carnivores in the Russian Federation]. *Veterinariya [Veterinary Medicine]*. 2013; 10:27–31.

18. Freuling C.M., Hampson K., Selhorst T., Schröder R., Meslin F.X., Mettenleiter T.C., Müller T. The elimination of fox rabies from Europe: determinants of success and lessons for the future. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol Sci.* 2013; 368(1623):20120142. DOI: 10.1098/rstb.2012.0142.

19. Müller T.F., Freuling C.M. Rabies control in Europe: an overview of past, urgent and future strategies. *Rev. Sci. Tech.* 2018, 37(2):409–419. DOI: 10.20506/rst.37.2.2811.

20. Karpov V.S., Chernyavsky V.F., Karataeva T.D. The Main Zooanthroponoses in Yakutia (Epizootology and epidemiology). Yakutsk; 1997. 154 p.

21. Nesterova Yu.V., Devyatilova S.V., Homichuk T.F., Semeykina L.M. Rabies as a relevant problem of the Primorsky Territory of Russia. *Zdorov'e. Meditsinskaya Ekologiya. Nauka [Health. Medical Ecology. Science]*. 2016; 3(66):112–5. DOI: 10.18411 / hmes.d-2016-124

22. Yanovich V.A. [The epidemiological and epizootiological situation on rabies in the Jewish Autonomous Region]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 1999; (4):119–20.

23. Adelshin R.V., Melnikova O.V., Trushina Y.N., Botvinkin A.D., Borisova T.I., Andaev E.I., Verzhutsky D.B., Khangazhinov A.S., Balakhonov S.V. A new outbreak of fox rabies at the Russian-Mongolian border. *Virologica Sinica.* 2015; 30(4):313–5. DOI: 10.1007/s12250-015-3609-0.

24. Kuzmin I.V. An arctic fox rabies virus strain as a cause of human rabies in Russian Siberia. *Arch. Virol.* 1999; 144:627–9. DOI: 10.1007/s007050050531.

25. Rabies in the Russian Federation. Information and Analytical Bulletin. Compiled by: Poleshchuk E.M., Sidorov G.N., Berezina E.S.. Omsk: KAN Publishing House; 2009. 65 p.

26. Rabies in the Russian Federation. Information and analytical bulletin. Compiled by: E.M.Poleshchuk, G.N.Sidorov, D.G.Sidorova, N.M.Kolychev. Omsk: KAN Publishing House, 2019. 49 p. (Cited 12 Mar 2019). [Internet]. Available from: http://oniipi.org/author/admin.

27. Rabies in the Russian Federation. Information and analytical bulletin. Compiled by: E.M. Poleshchuk, G.N.Sidorov, D.N.Nashatyreva, E.A.Gradoboeva, N.D.Pakskina, I.V.Popova. Omsk: KAN Publishing House, 2019. 110 p. (Cited 12 Mar 2019). [Internet]. Available from: http://oniipi.org/author/admin.

28. Prevention of rabies in the conditions of cattle-breeding (by the example of the Republic of Tuva): Methodological recommendations. Compiled by: E.M.Poleshchuk, G.N.Sidorov, L.K.Saryglar, et al. Omsk, 2016. 99 p. (Cited 12 Mar 2019). [Internet] Available from: https://search.rsl.ru/ru/record/01008950007.

29. Rabies Bulletin Europe. (Cited 12 Mar 2019). [Internet] Available from: https://rbe.fli.de/resource/journal.

30. Giannakopoulos A., Valiakos G., Papaspyropoulos K., Dougas G., Korou L.M., Tasioudi K.E., Fthenakis G.C., Hutchings M.R., Kaimaras D., Tsokana C.N., Iliadou P., Spyrou V., Tzani M., Birtsas P., Kostoglou P., Sokos C., Doudounakis S., Yon L., Hannant D., Artois M., Tsiodras S., Hadjichristodoulou C., Billinis C. Rabies outbreak in Greece during 2012–2014: use of geographical information system for analysis, risk assessment and control. *Epidemiol. Infect.* 2016; 144(14):3068–79. DOI: 10.1017/S0950268816001527.

31. Boldbaatar B., Inoue S., Tuya N., Dulam P., Batchuluun D., Sugiura N., Okutani A., Kaku Y., Noguchi A., Kotaki A., Yamada A. Molecular epidemiology of rabies virus in Mongolia, 2005–2008. J*pn. J. Infect. Dis.* 2010; 63(5):358–63. PMID: 20859006.

32. Feng Y., Wang W., Guo J., Alatengheli, Li Y., Yang G., Su N., Zhang L., Xu W., Sheng Z., Ma L., Gui J., Dejide, Lin H., Tu C. Disease outbreaks caused by steppe-type rabies viruses in China. *Epidemiol. Infect.* 2015; 143(6):1287–91. DOI: 10.1017/S0950268814001952.

33. Yao H-W., Yang Y., Liu K., Li X-L., Zuo S-Q., Sun R-X., Fang L.Q., Cao W.C. The spatiotemporal expansion of human rabies and its probable explanation in mainland China, 2004–2013. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(2):e0003502. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003502.

34. Pant G.R., Lavenir R., Wong F.Y.K., Certoma A., Larrous F., Bhatta D.R., Bourhy H., Stevens V., Dacheux L. Recent emergence and spread of an Arctic-related phylogenetic lineage of rabies virus in Nepal. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013; 7(11):e2560. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002560.

35. Zhu H., Chen X., Shao X., Ba H., Wang F., Wang H., Yang Y., Sun N., Ren J., Cheng S., Wen Y. Characterization of a virulent dog-originated rabies virus affecting more than twenty fallow deer (Dama dama) in Inner Mongolia, China. *Infect. Genet. Evol.* 2015; 31:127–34. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.12.024.

36. Hanke D., Freuling C.M., Fischer S., Hueffer K., Hundertmark K., Nadin-Davis S., Marston D., Fooks A.R., Bøtner A., Mettenleiter T.C., Beer M., Rasmussen T.B., Müller T.F., Höper D. Spatio-temporal analysis of the genetic diversity of arctic rabies viruses and their reservoir hosts in Greenland. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016. 10(7):e0004779. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004779.

37. Huefferand K., Murphy M. Rabies in Alaska, from the past to an uncertain future. *Int. J. Circumpolar Health.* 2018; 77(1):1475185. DOI: 10.1080/22423982.2018.1475185.

38. Biek R., Henderson J.C., Waller L.A., Rupprecht C.E., Real L.A. A high-resolution genetic signature of demographic and spatial expansion in epizootic rabies virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007; 104(19):7993–8. DOI: 10.1073/pnas.0700741104.

39. Kuzmina N.A., Lemey P., Kuzmin I.V., Mayes B.C., Ellison J.A, Orciari L.A., Hightower D., Taylor S.T., Rupprecht C.E. The phylogeography and spatiotemporal spread of south-central skunk rabies virus. *PLoS ONE.* 2013; 8(12):e82348. DOI: 10.1371/journal.pone.0082348.

40. Ruan S. Modeling the transmission dynamics and control of rabies in China. *Math. Biosci.* 2017; 286:65–93. DOI: 10.1016/j.mbs.2017.02.005.

41. Tyul'ko Zh.S., Kuzmin I.V. [Modeling of rabies epizootics in fox populations with limited ecological capacity of biotopes]. *Ekologiya [Ecology]*. 2002; (5): 351-357.

42. Sultanov A.A., Abdrakhmanov S.K., Abdybekova A.M., Karatayev B.S., Torgerson P.R. Rabies in Kazakhstan. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(8):e0004889. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004889.

Authors:

Botvinkin A.D., Zarva I.D. Irkutsk State Medical University. 1, Krasnogo Vosstaniya St., Irkutsk, 664003, Russian Federation. E-mail: botvinkin_ismu@mail.ru.

Sidorov G.N. Omsk Research Institute of Natural-Focal Infections; 7, Mira Avenue, Omsk, 644050, Russian Federation; e-mail: mail@oniipi.org. Omsk State Pedagogical University; 14, Tuhachevskogo Promenade, Omsk, 644099, Russian Federation; e-mail g.n.sidorov@mail.ru..

Poleshchuk E.M. Omsk Research Institute of Natural-Focal Infections. 7, Mira Avenue, Omsk, 644050, Russian Federation; e-mail: mail@oniipi.org.

Nashatyreva D.N., Rudakov N.V. Omsk Research Institute of Natural-Focal Infections; 7, Mira Avenue, Omsk, 644050, Russian Federation; e-mail: mail@oniipi.org. Omsk State Medical University; 9, Mira Avenue, Omsk, 644080, Russian Federation.

Yakovchits N.V., Andaev E.I., Balakhonov S.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Об авторах:

Ботвинкин А.Д., Зарва И.Д. Иркутский государственный медицинский университет. Российская Федерация. 664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, 1. E-mail: botvinkin_ismu@mail.ru.

Сидоров Г.Н. Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций; Российская Федерация, 644050, Омск, проспект Мира, 7. Омский государственный педагогический университет. Российская Федерация, 644099, Омск, Набережная Тухачевского, 14. E-mail g.n.sidorov@mail.ru.

Полецук Е.М. Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций. Российская Федерация, 644050, Омск, проспект Мира, 7. E-mail: mail@oniipi.org.

Нашатырева Д.Н., Рудаков Н.В. Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций; Российская Федерация, 644050, Омск, проспект Мира, 7; e-mail: mail@oniipi.org. Омский государственный медицинский университет; Российская Федерация, 644080, Омск, проспект Мира, 9.

Яковчиц Н.В., Андаев Е.И., Балахонов С.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-22-30

УДК 616.9:616-07

М.Ю. Карташов[1,2], Е.В. Чуб[1], Т.П. Микрюкова[1], Е.В. Найденова[3], В.А.Терновой[1]

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕТЛЕВОЙ ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИИ В ДИАГНОСТИКЕ ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ, ВЫЗВАННЫХ ВИРУСАМИ I ГРУППЫ ПАТОГЕННОСТИ

[1]ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово, Российская Федерация;
[2]Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Российская Федерация;
[3]ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Опасные вирусные инфекционные болезни представляют серьезную угрозу для жизни и здоровья людей, так как неконтролируемое их распространение приводит к развитию крупных вспышек и эпидемий. Быстрое и точное выявление возбудителя является важнейшей составляющей борьбы с инфекционными заболеваниями. Данный обзор посвящен петлевой изотермической амплификации (loop-mediated isothermal amplification, LAMP), являющейся одним из простых и надежных методов молекулярно-генетических исследований, отвечающих современным требованиям. Простота процедуры постановки анализа и учета полученных результатов, необходимая в условиях с минимальными возможностями лабораторной базы, позволяет рассматривать данный вид диагностических технологий как наиболее перспективный, позволяющий выявить генетические маркеры (ДНК или РНК) возбудителей опасных инфекционных болезней в максимально короткие сроки. **Цель** обзора состоит в обобщении и систематизации имеющихся на сегодняшний день данных о случаях применения LAMP для выявления РНК опасных инфекционных болезней, вызванных вирусами, относящимися к I группе патогенности (Эбола, Марбург, Ласса). В работе рассматриваются основные принципы реакции петлевой изотермической амплификации, компоненты, входящие в состав реакционной смеси и используемые для постановки анализа, а также способы детекции полученных результатов. При изучении имеющихся в литературных источниках сведений о достоинствах и недостатках LAMP показано, что во многих случаях изотермическая амплификация не уступает по чувствительности и специфичности основным молекулярно-генетическим методам диагностики, используемым в настоящее время. Рассмотрены также модификации, которые можно применять для ускоренной диагностики РНК-содержащих вирусов.

Ключевые слова: петлевая изотермическая амплификация, молекулярно-генетические методы исследований, вирус Эбола, вирус Марбург, вирус Ласса.

Корреспондирующий автор: Карташов Михаил Юрьевич, e-mail: vector@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Карташов М.Ю., Чуб Е.В., Микрюкова Т.П., Найденова Е.В., Терновой В.А. Перспективы применения петлевой изотермической амплификации в диагностике опасных инфекционных болезней, вызванных вирусами I группы патогенности. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:22–30. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-22-30

Поступила 29.10.19. *Отправлена на доработку* 13.11.19. *Принята к публ.* 18.04.20.

M.Yu. Kartashov[1,2], E.V. Chub[1], T.P. Mikryukova[1], E.V. Naidenova[3], V.A. Ternovoy[1]

Prospects For the Use of Loop Isothermal Amplification in the Diagnosis of Particularly Dangerous Infectious Diseases Caused by the Viruses of the Pathogenicity Group I

[1]State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;
[2]Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation;
[3]Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Abstract. Dangerous viral infectious diseases pose a serious threat to human life and health, as their uncontrolled spread leads to the development of major outbreaks and epidemics. Rapid and accurate detection of the pathogen is an essential component of the fight against infectious diseases. This review is devoted to loop-mediated isothermal amplification (LAMP), which is one of the simplest and most reliable methods of molecular-genetic research that meets modern requirements. The simplicity of the analysis and registration of the obtained results, which is necessary under conditions with minimal laboratory capacities, makes it possible to consider this type of diagnostic technology as the most promising, which allows us to identify genetic markers (DNA or RNA) of pathogens of dangerous infectious diseases in the shortest possible time. **Objective** of the review is to summarize and systematize the data available to date on the use of LAMP for detecting RNA of dangerous infectious diseases caused by the Ebola, Marburg and Lassa viruses. The paper discusses the basic principles of the loop isothermal amplification reaction, the components that make up the reaction mixture and are used for the analysis, as well as methods for detecting the results obtained. When studying the information available in the literature sources about the advantages and disadvantages of LAMP, it is shown that in many cases, isothermal amplification is not inferior in sensitivity and specificity to the main molecular-genetic diagnostic methods currently used. Modifications that can be used for accelerated diagnostics of RNA-containing viruses are also considered.

Key words: loop-mediated isothermal amplification, LAMP, molecular diagnostics, Ebola virus, Marburg virus, Lassa virus.

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

Corresponding author: Mihail Yu. Kartashov, e-mail: vector@vector.nsc.ru.
Citation: Kartashov M.Yu., Chub E.V., Mikryukova T.P., Naidenova E.V., Ternovoy V.A. Prospects For the Use of Loop Isothermal Amplification in the Diagnosis of Particularly Dangerous Infectious Diseases Caused by the Viruses of the Pathogenicity Group I. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:22–30. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-22-30
Received 29.10.19. *Revised* 13.11.19. *Accepted* 18.04.20.

В настоящее время для выявления РНК/ДНК возбудителей инфекционных болезней используют целый комплекс молекулярно-генетических методов. Однако наибольшее распространение для индикации и первоначальной идентификации патогенов получила полимеразная цепная реакция (ПЦР) в ее различных вариантах и модификациях. Суть ПЦР заключается в специфической амплификации исследуемых участков геномов возбудителей с помощью термостабильных полимераз с использованием программируемых амплификаторов (термоциклеров), обеспечивающих быструю циклическую смену температуры.

За последние 30 лет разработан ряд альтернативных способов амплификации нуклеиновых кислот в изотермических условиях. Наибольшее развитие и популярность приобрели методы, основанные на цепь-вытесняющей активности некоторых ДНК-полимераз: амплификация с вытеснением цепи (strand displacement amplification, SDA) [1], амплификация с множественным вытеснением (multiple displacement amplification, MDA) [2], полимеразная спиральная реакция (polymerase spiral reaction, PSR) [3], петлевая амплификация (hinge-initiated primer-depend amplification, HIP) [4] и др. Однако наибольшее практическое применение получила петлевая изотермическая амплификация (loop-mediated isothermal amplification, LAMP), которой и посвящен данный обзор.

Цель обзора состоит в рассмотрении основных принципов петлевой изотермической реакции, способов учета результатов, достоинств и ограничений ее применения, а также перспектив использования данного метода в молекулярной диагностике опасных вирусных инфекционных болезней.

Общая характеристика LAMP. Принципы метода разработаны коллективом японских исследователей под руководством Цугунори Нотоми (T. Notomi), которым удалось, используя большой фрагмент *Bst*-полимеразы, успешно амплифицировать фрагменты геномов фага M13 и вируса гепатита B при инкубации в течение 1 ч в условиях постоянной температуры (65 °C) [5]. Постановка реакции в данном случае предполагает одновременное использование как минимум двух пар праймеров: внешних (прямой «forward» F3 и обратный «backward» B3) и внутренних («forward inner primer» – FIP и «backward inner primer» – BIP). Для повышения чувствительности метода и улучшения кинетики протекающей реакции разработчиками в последующих работах введена еще одна пара «петлевых» праймеров – LF и LB («loop forward» и «loop backward» соответственно) [6].

Амплификация начинается с отжига всех специфических фрагментов на ДНК-матрице с последующей их элонгацией. При этом используемая ДНК-полимераза с цепь-вытесняющей активностью при взаимодействии с 5'-концом последующего праймера начинает его вытеснение вместе с вновь синтезированной цепью. В результате освобождается одноцепочечная ДНК, на которой гибридизован праймер FIP, и за счет комплементарности свободного фрагмента F1 с участком F1 матрицы формируется петля. Образование петли с участием праймеров BIP и B3 происходит и на 3'-конце одноцепочечного фрагмента. В результате формируется гантелеобразная структура («стволовая шпилька»), которая становится основой для дальнейшей амплификации, идущей как с 3'-конца шпильки, так и с гибридизовавшихся с ней праймеров (рисунок). Продуктом LAMP является как сама «стволовая шпилька», так и конкатемеры амплифицируемой последовательности. Показано, что в результате реакции менее чем за час может быть сгенерировано до 10^9 копий целевого фрагмента ДНК, что обусловливает высокую чувствительность метода. Поскольку при постановке петлевой изотермической реакции используется две или три пары праймеров (комплементарных шести или восьми регионам-мишеням искомой ДНК соответственно), данный анализ характеризуется высокой специфичностью.

Полимеразы, используемые в LAMP. Для проведения реакции петлевой изотермической амплификации необходимо применение термостабильных полимераз, способных синтезировать новую цепь ДНК, вытесняя при этом уже существующую цепь в 5'–3' направлении, что снимает потребность в нагревании смеси для термической денатурации дцДНК. В большинстве работ, посвященных данному вопросу, используется *Bst*-полимераза – ДНК-полимераза I мезофильной бактерии *Geobacillus stearothermophilus* (до 2001 г. бактерия именовалась *Bacillus stearothermophilus*, полимераза сохранила исторически сложившееся название), которая отличается большей процессивностью в сравнении с *Taq*-полимеразой. Температурный оптимум при использовании данного фермента составляет 60 °C. С практической точки зрения *Bst*-полимеразу выгодно отличает ее высокая устойчивость ко многим ингибиторам, присутствующим, например, в биологических образцах или культуральных средах [7, 8]. На сегодняшний день широкое применение нашли ее рекомбинантные аналоги. Так, Bst 2.0 ДНК-полимераза (NEB, Великобритания) отличается большей скоростью полимеризации, повышенной термостабильностью (оптимум активности при температуре 60–72 °C), способностью включать во вновь синтезируемую цепь dUTP, а также толерантностью к высокой концентрации солей (до 120 мМ одновалентных катионов). По аналогии с «горячим стартом» в ПЦР разработана Bst 2.0 WarmStart ДНК-полимераза

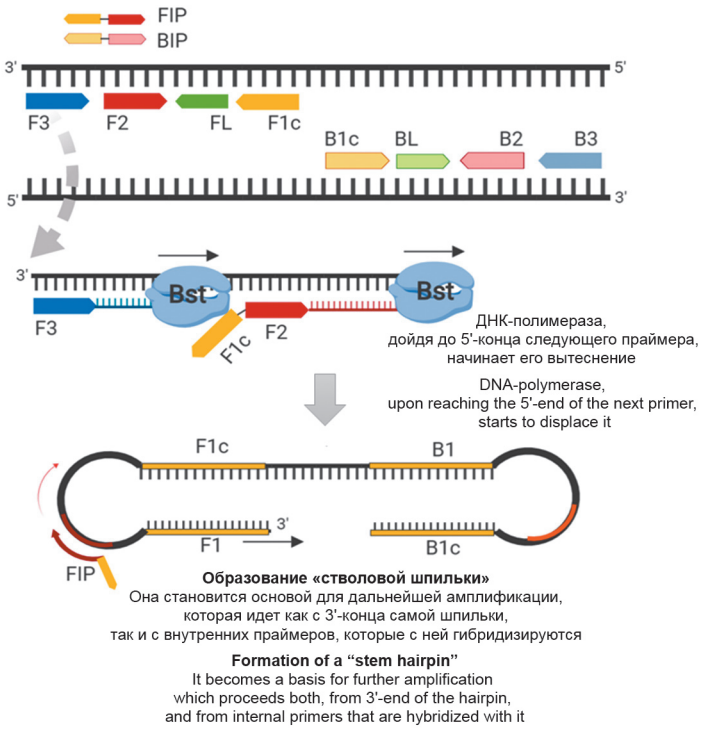


Схема постановки реакции петлевой изотермической амплификации (LAMP)

Algorithm of the loop isometric amplification (LAMP)

(NEB, Великобритания), которая обратимо связана с аптомерами, ингибирующими ее активность при температуре ниже 45 °С. Bst 3.0 полимераза (NEB, Великобритания), помимо полимеразной, обладает активностью обратной транскриптазы, а также показывает еще большую устойчивость к целому ряду ингибиторов.

Интерес вызывает OmniAmp полимераза, представляющая собой рекомбинантный аналог полимеразы фага 3173, выделенного из термальных источников Йеллоустонского национального парка [9]. OmniAmp полимераза способна успешно амплифицировать как ДНК-матрицы (*Bacillus atrophaeus*, *Staphylococcus aureus*, фаг M13), так и РНК-матрицы (вирусы Эбола, Западного Нила, Крымской-Конго геморрагической лихорадки) [10]. Также сконструирован рекомбинантный продуцент фермента – SD-полимераза (мутант *Taq*-полимеразы), обладающая цепь-вытесняющей способностью, но с более высокой термостабильностью по сравнению с *Bst*-полимеразой, что позволяет добавить этап первичной высокотемпературной денатурации ДНК, повышающий эффективность LAMP [11].

Детекция результатов LAMP. По аналогии с ПЦР учет накопления продуктов реакции может быть проведен по «конечной точке» или в режиме «реального времени». Наиболее простым и наименее предпочтительным является метод электрофореза в агарозном геле. Поскольку продуктом амплификации в LAMP является набор ампликонов возрастающей длины, то на электрофореграмме наблюдается «лесенка». Данный способ детекции усложняет и удлиняет анализ, а также значительно повышает риск контаминации продуктами амплификации. Удобными и быстрыми являются визуальные способы определения протекания реакции. Один из них – турбидиметрический метод, основанный на изменении оптической плотности реакционной смеси (повышение мутности раствора), которая определяется визуально или может быть измерена прибором. Это связано с тем, что параллельно с наработкой ампликонов высвобождаются пирофосфат-анионы, которые взаимодействуют с катионами магния, образуя осадок нерастворимого пирофосфата магния. Сопутствующее изменение концентрации катионов магния может быть визуализировано с использованием металл-чувствительных индикаторов: кальцеин (изменяет цвет от темно-желтого к желтому), малахитовый зеленый (от темно-синего к светло-синему), синий гидроксинафтол (от темно-синего к синему). Для детекции протекания реакции могут быть использованы электрохимические методы (например, технологии полупроводниковых pH-сенсоров), т.к. в ходе полимеризации новой цепи, помимо пирофосфата, высвобождаются и катионы водорода. Простым способом обнаружения наработки ампликонов является изменение окраски реакционной смеси, наблюдаемое невооруженным глазом, при добавлении специальных красителей.

Широкое применение нашли интеркалирующие красители SYBR Green I [12, 13], PicoGreen [14, 15], Eva Green [16], Goldview II [17, 18], SYTO [19, 20], пропидиум йодид [21]. Дешевым аналогом интеркалирующих красителей может являться алкалоид барберин, содержащийся в различных частях многих растений. Детекция флуоресценции, основанная на применении интеркалирующих красителей, осуществляется стандартными амплификаторами для проведения ПЦР в режиме реального времени, что позволяет перевести LAMP в формат количественно-

го анализа. Однако сами флуоресцентные красители могут выступать в качестве ингибиторов амплификации, следует тщательно подбирать их концентрацию [22, 23].

На сегодняшний день на рынке представлены турбидиметры, позволяющие мониторировать изменение мутности в режиме реального времени, проводя измерения каждые 6 сек (серия Loopamp Realtime Turbidimeter LA-200, LA-320, LA-500, EIKEN, Япония), и специально разработанные термостатируемые флуориметры Genie III (OPTIGENE, США).

Варианты проведения LAMP. *RT-LAMP* (петлевая изотермическая амплификация со стадией обратной транскрипции, RT-LAMP) – одностадийный метод, заключающийся в протекании в одной пробирке реакции обратной транскрипции и изотермической амплификации, что позволяет детектировать наличие РНК-матриц. Для проведения данного вида исследований к стандартной смеси может быть добавлена обратная транскриптаза, которая синтезирует кДНК по матрице РНК, а образовавшаяся кДНК амплифицируется ДНК-полимеразой [24, 25]. Использование недавно разработанных полимераз Bst 3.0 (NEB, Великобритания), совмещающих активности полимеразы и обратной транскриптазы, значительно упрощает проведение RT-LAMP. Данный метод применяют для индикации и идентификации РНК-содержащих вирусов. На сегодняшний день разработаны наборы праймеров для обнаружения вирусов денге 1–4 типов [26], Зика [27], Западного Нила [28], Чикунгунья [29], клещевого энцефалита [30], коронавируса SARS-CoV [31], коронавируса MERS [32], нового коронавируса COVID-19 [33] и многих других. Метод характеризуется достаточно высокой специфичностью и чувствительностью, не уступающими таковым полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР).

LAMP в формате теста на экспресс-полосках (lateral flow strip – LFS, lateral flow dipstick – LFD). Данный вариант LAMP является одним из самых быстрых, простых и портативных, напоминает тесты на иммунохроматографических полосках. Анализируемый образец (слюна, кровь, моча и другие биологические жидкости) наносится на один конец полоски (загрузочная площадка, buffer loading pad), содержащий все компоненты для протекания изотермической реакции. Также в данной области содержится меченый ДНК-зонд, распознающий только целевые специфические ампликоны. Образование специфичных комплексов антител с ампликонами вместе с меченым ДНК-зондом проявляется с помощью наночастиц золота и визуализируется в виде проявления полосы в определенном месте. Использование различных меток для ДНК-зондов и, соответственно, детектирующих их антител позволяет мультиплексировать данный вариант LAMP [34–36]. Использование экспресс-полосок нашло применение в диагностике вируса кори [37] и японского энцефалита [38].

Ограничения и недостатки LAMP. Наряду с видимыми достоинствами петлевой изотермической амплификации нельзя не упомянуть и о существующих ограничениях использования данного метода. Так как в одной реакции одновременно используются две или три пары праймеров, значительно усложняется их дизайн и оптимизация условий проведения амплификации. Также, по сравнению с ПЦР в режиме реального времени, LAMP гораздо сложнее мультиплексировать для одновременного обнаружения нескольких патогенов [39]. И одним из существенных недостатков является то, что метод неприменим для проведения дальнейших генно-инженерных манипуляций с наработанными ампликонами (например, клонирование в вектор, сиквенирование) [40].

Применение LAMP для выявления РНК возбудителей опасных вирусных инфекционных болезней.

Применение LAMP в молекулярной диагностике болезни, вызванной вирусом Эбола. Вирус Эбола относится к семейству *Filoviridae*, род *Ebolavirus*. К роду *Ebolavirus* относятся шесть видов: Заир (Zaire ebolavirus, ZEBOV), Рестон (Reston ebolavirus, RESTV), Судан (Sudan ebolavirus, SUDV), Тай Форест (Tai Forest ebolavirus, TAFV), Бундибуджио (Bundibugyo ebolavirus, BDBV) и Бомбали (Bombali ebolavirus, BOMV). Из всех видов только RESTV не опасен для человека (для недавно открытого BOMV подтвержденных данных, свидетельствующих о патогенности для человека, пока не описано) [41].

Геном вируса Эбола представлен несегментированной одноцепочечной молекулой РНК негативной полярности и состоит из семи генов, кодирующих девять белков, вирус обладает высокой степенью контагиозности и вирулентности.

Начиная с 1976 г., заболевание регистрировалось в сельских районах Центральной и Восточной Африки и характеризовалось как единичные вспышки. За время эпидемии БВВЭ в странах Западной Африки в 2014–2016 гг. заболело 28616 человек, 11310 из которых погибли. Отмечались случаи завоза инфекции за пределы Африканского континента.

Диагностика БВВЭ на основании только клинических данных крайне затруднена, т.к. характеризуется отсутствием специфичных симптомов на ранних этапах заболевания, что вызывает необходимость проведения дифференциальной диагностики с другими инфекционными болезнями, распространенными в странах Африки (малярия, тиф, лептоспироз, лихорадка Ласса и др.). Одним из главных факторов контроля за распространением возбудителя БВВЭ является точная и быстрая лабораторная диагностика.

Основным молекулярно-генетическим методом, позволяющим выявлять РНК вируса Эбола в биологических жидкостях пациентов на ранних стадиях заболевания, является ОТ-ПЦР [42].

RT-LAMP является одним из перспективных направлений для совершенствования методов лабораторной диагностики БВВЭ. В качестве мишеней

для дизайна праймеров в данном случае могут выступать 3'-нетранслируемая область [43, 44], ген нуклеопротеина NP [45], ген гликопротеина GP [46] и ген полимеразы L [47]. В таблице представлены последовательности праймеров, используемых в данном виде работы. Большинство тестов разработано для выявления ZEBOV, т.к. он наиболее патогенный для человека. Зарубежными авторами разработаны видоспецифичные праймеры, комплементарные NP гену, способные дифференцировать 5 видов (ZEBOV, SUDV, TAFV, BDBV, RESTV) [45, 48].

Метод RT-LAMP успешно применен для диагностики БВВЭ в Республике Гвинея в 2015 г. [44]. Выявление РНК возбудителя проводилось с использованием двух наборов праймеров (комплементарных trailer region и гену NP). Специфичность проверена на панели, содержащей близкородственные вирусы (Заир, Рестон, Судан, Тай Форест, Бундибуджио), а также вирусы других семейств (вирусы Ласса – семейство *Arenaviridae*, денге 1–4 типов, желтой лихорадки – семейство *Flaviviridae*, лихорадки долины Рифт – семейство *Phenuiviridae*). Апробация метода проведена на 100 образцах (44 сыворотки и 56 ротоглоточных мазков), полученных от больных, проходивших лечение в Национальном госпитале Донка в г. Конакри. При использовании праймеров, комплементарных генетической последовательности trailer region вируса Эбола, положительный результат получен в 100 % случаев, ген NP обнаруживался в 97,9 % исследуемых образцов, что подтверждает возможность использования RT-LAMP в качестве метода выявления РНК возбудителя БВВЭ.

Важным фактором использования RT-LAMP тестов является стабильность компонентов реакционной смеси при хранении и их устойчивость к перепадам температуры. Удобным является стабилизация компонентов путем лиофильного высушивания с добавлением D-трегалозы [47].

Применение LAMP в молекулярной диагностике болезни, вызванной вирусом Марбург. Болезнь, вызванная вирусом Марбург (БВВМ) – острое инфекционное заболевание, характеризующееся тяжелым геморрагическим синдромом, поражением печени, желудочно-кишечного тракта и центральной нервной системы. Вирус Марбург (MARV) относится к семейству *Filoviridae*, роду *Marburg virus* и включает в себя единственный вид *Lake Victoria Marburg virus*, который отчетливо разделяется на две генетические линии, имеющие уровень гомологии нуклеотидных последовательностей около 80 % [49]. Наиболее крупная вспышка БВВМ произошла в Анголе в 2004–2005 гг., когда зафиксировали 252 случая заболевания, уровень летальности составил 90 % [50].

Мишенью для разработки праймеров для проведения RT-LAMP является ген нуклеопротеина NP [50, 51] (таблица). Разработанный способ включает в себя два набора праймеров для индикации всех известных на сегодняшний день генетических линий MARV – Musoke и Ravn. Данный тест позволяет выявлять до 100 копий генома на реакцию в течение 40 мин. Учет результатов может быть проведен визуально (при окрашивании флуоресцентным красителем) или в режиме «реального времени» турбидиметрическим способом. Тест апробирован на 24 клинических образцах, полученных во время вспышки в Анголе 2004–2005 гг., из которых в 18 методом ОТ-ПЦР выявлена РНК вируса Марбург, а 6 являлись отрицательными. Методом RT-LAMP в 14 из 18 случаев получен положительный ответ (78 %), в остальных пробах результат был негативный.

Применение LAMP в молекулярной диагностике лихорадки Ласса. Геморрагическая лихорадка Ласса (ГЛЛ) – особо опасная инфекция, вызываемая вирусом Ласса (семейство *Arenaviridae*) и характеризующаяся наличием геморрагических проявлений, интоксикацией, поражением органов дыхания, почек, ЦНС и миокарда. Территория Западной Африки является эндемичной для данной инфекционной болезни. Во время вспышки в Нигерии в 2018 г. зафиксировано 423 случая заболевания с уровнем летальности от 30 до 70 % [52]. ГЛЛ является одной из наиболее частых импортируемых экзотических лихорадок [53], в связи с чем разработка быстрых и чувствительных методов для выявления РНК возбудителя является крайне актуальной. Вирусный геном представлен одноцепочечной молекулой РНК негативной полярности и состоит из двух сегментов: большого L (7,1 kb) и малого S (3,4 kb). На сегодняшний день в мире выявлено шесть геновариантов вируса Ласса [54].

При разработке праймеров для RT-LAMP мишенями могут служить гены NP [55] и GPC [56], располагающиеся на S-сегменте (таблица). Так, для выявления случаев ГЛЛ, зарегистрированных на территории Южной и Центральной Нигерии, разработано три набора праймеров для детекции вируса Ласса II генотипа, распространенного в данном регионе [56]. Наборы апробированы на коллекции из 73 образцов плазмы от больных лихорадкой Ласса. С их помощью доказана возможность применения метода LAMP для диагностики этой инфекции при возможной вспышке.

В результате проведенных зарубежными авторами исследований показано, что применение методов петлевой изотермической амплификации является перспективным направлением для разработки новых диагностических тестов для выявления РНК опасных вирусных инфекций. Простота и короткий срок постановки реакции, а также минимальные требования к приборному оснащению делают крайне удобным ее применение при проведении скрининговых исследований клинического материала при мониторинге, осуществляющемся в рамках эпидемиологического надзора.

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

Последовательности праймеров, используемые для выявления РНК вирусов, относящихся к I группе патогенности, методом RT-LAMP (по данным зарубежных авторов)

Primer sequences used for virus RNA detection, which fall under the pathogenicity group I, applying RT-LAMP (by the data from the foreign authors)

Название возбудителя Pathogen	Структура праймера Primer structure		Ген-мишень Target gene	Условия проведения анализа Terms of analysis
1	2		3	4
Вирус Эбола Ebola virus	F3	GACGGGAGTGAGTGTCTACC	GP	72 °C, 40 min
	B3	AGCTTGGGGCAGTATCAGAA		
	FIP	GGCACATGGTCCCGTTCCTGATTTTTTAGCGCCAGACGGGATTCG		
	BIP	TGCCTTCCACAAAGAGGGTGCTTTTTGCGAAAGTCGTTCCTCGGT		
	LF	GCACATACCGGCACC		
	LB	CTTCCTGTATGATCGACTTGCTTC		
Вирус Эбола, вид Zaire ebolavirus Ebola virus, species Zaire ebolavirus	F3	AATAACGAAAGGAGTCCCTA	3'-UTR	63 °C, 60 min
	B3	CTGACAGGATATTGATACAACA		
	FIP	GTCACACATGCTGCATTGTGTTTTCTATATTTAGCCTCTCTCCCT		
	BIP	GCCGCAATGAATTTAACGCAATTTTAATATGAGCCCAGACCTT		
Вирус Эбола, вид Zaire ebolavirus Ebola virus, species Zaire ebolavirus	F3	CAATAAACAACTATTTAAATAAC	3'-UTR	63 °C, 30 min
	B3	CTGGCAAGATATTGATACAACA		
	FIP	GTCACACATGCTGCATTGTGTTTTCTATATTTAGCCTCTCTCCCT		
	BIP	AACGCAACATAATAAACTCTGCATTTTATCAATAACAATATGAGCCCAG		
Вирус Эбола, вид Zaire ebolavirus Ebola virus, species Zaire ebolavirus	F3	TGAAGTCAAGAAGCGTGATGG	NP	63 °C, 30 min
	B3	AGTCCTTGCTCTGCATGTACT		
	FIP	CATGGCAGCAAGTGTTCTCTTTTTAGTGAAGCGCCTTGAGGAA		
	BIP	CAGTTTCTCTCCTTTGCAAGTCTTTTTGAACCTTCTCAAGGCAAGCC		
	LF	TGTTTTTTCCACTAGATACTGCTGG		
	LB	TCCTTCCGAAATTGGTAGTAGGA		
Вирус Эбола, вид Zaire ebolavirus Ebola virus, species Zaire ebolavirus	F3	TTATCCGACTCGCAATGT	L	64 °C, 30 min
	B3	ICTAAATGCAAGATTGTATTTCTCT		
	FIP	CCGTAACTACCATCATATTGCTAGGCAAACACTTTGTGAAGCTCTG		
	BIP	CGTGAICAAAAAGAAAGCTTATTGCAICTACTCCCTCTAACTGT		
	LF	GCTTTAGCAAGACCATCAGCIAA		
	LB	ATCAAGCATCATGGCACCAC		
Вирус Эбола, вид Zaire ebolavirus Ebola virus, species Zaire ebolavirus	F3	GGAGATTACAAACTTTTCTTGG	NP	63 °C, 30 min
	B3	GGAGAGAAACTGACCGG		
	FIP	CGCTTCACTCCATCACGCTTCTTTTGTGGCGCAGTCAAGTATTTGG		
	BIP	CCAGCAGTATCTAGTGGAAATTTTGCTTCAGTTGTCTCCTCTTC		
	LF	GACTTCAAAACGGAACCCGTGCCCT		
	LB	GAACACTTGCTGCCATG		
Вирус Эбола, вид Sudan ebolavirus Ebola virus, species Sudan ebolavirus	F3	GGAGATCATAGGCTCTTCCTC	NP	63 °C, 30 min
	B3	GGATAAAAACTGACCAGC		
	FIP	CGGTGCACATTCTCCTTTTCTCTTTTGTGATGCAGTTCAATACTTAG		
	BIP	CCCAATGTCACCGGTGGAAATTTTGCTTCTGTTGTCTCCTCTTC		
	LF	GACCTCAAACCTGAAACCATGGCC		
	LB	GAACATTGGCTGCAATG		
Вирус Эбола, вид Bundibugyo ebolavirus Ebola virus, species Bundibugyo ebolavirus	F3	GGGGATTATAAACAATTTTTGG	NP	63 °C, 30 min
	B3	TGAAAGAAATTGTCCAGC		
	FIP	CGCTTGACACCTTCCTTTTTCTTTTTGTAATGCGGTAAAATACCTTG		
	BIP	CCTGCTGCCTCGAGTGGAAATTTTGCTTCTGTTGTTTCCTCCTC		
	LF	CATCTCAAAACGGAATCCATGACC		
	LB	GAACATTGGCTGCAATGC		
Вирус Эбола, вид Tai Forest ebolavirus Ebola virus, species Tai Forest ebolavirus	F3	GGTGACTACAAGCAATTCTTGG	NP	63 °C, 30 min
	B3	AGAGAGGAACTGTCCGGC		
	FIP	CGCTTGACTCCTTCCTTTTTCCTTTTGCAATGCAGTCAAGTACCTTG		
	BIP	CCTGCTGCATCCAGTGGCAATTTTGCTTCTGTTGTCTCCTCTTC		
	LF	GACCTCAAAGCGAAAGCCATGACCC		
	LB	GAACACTGGCTGCAATG		
Вирус Эбола, вид Reston ebolavirus Ebola virus, species Reston ebolavirus	F3	GGTGACTATAAATTGTTCTTGGAG	NP	63 °C, 30 min
	B3	TGAGAGAAATTGCCCTGC		
	FIP	CGATTGACACCGTCCTTCTTCCTTTTGCAATGCTGTACAGTATTTGG		
	BIP	CCTGCTGCAACGAGTGGAAATTTTGCTTCTGTAGTCTCCTCTTC		
	LF	GAGCTCAAATTTGAATCCATGACCT		
	LB	CGTACGTTGGCCGCACT		

Продолжение таблицы

1	2	3	4	1
Вирус Марбург, линия Musoke Marburg virus, Musoke lineage	F3	TTCATCAAGGAGTAAATTTGGT	NP	63 °C, 60 min
	B3	GCCTGCTTGAAACTAGCA		
	FIP	GAAGTCCTGAGAATCTAGTTTGACCTTTTGACAGGTCATGATGCCTAT		
	BIP	TCATCTTGCAAAAAACTGATTCAGTTTTCTTCATTTTTTACTTTGGAGGT		
	LF	TACTGAATTACTRATGATACTGTC		
	LB	TGACACTACATCCTTTGGTGCGG		
Вирус Марбург, линия Ravn Marburg virus, Ravn lineage	F3	TCCATCAGGGAGTAAACTTGGT	NP	63 °C, 60 min
	B3	GCCTGTTTGAAGCTTGCA		
	FIP	GAAGCCCTGAGAATCTAGTTTGTCCTTTTGACAGGTCATGATGCCTAT		
	BIP	TCATCCTACAAAAAACTGATTCAGTTTTCTTCATTTTTTACTTTTGAGGT		
	LF	TACTGAATTACTRATGATACTGTC		
	LB	TGGCATTGCATCCACTTGTGCGG		
Вирус Ласса I генотип (Северо-Восточная Нигерия) Lassa virus, genotype I (North-Eastern Nigeria)	F3	CCTATTCTCAACTGATGACAC	NP	63 °C, 25 min
	B3	GATCTGTAACATCTATCCCATG		
	FIP	TTCAGGCCTGCCCTCAATATTTTTTTGTATGTTACAGTTGGACC		
	BIP	CCAGTGGAGATTGCTTTGTTTCTTTTTAGCATCCTGTTTGAATTGC		
	LF	CTATCCATGTTTTGCTACTTG		
	LB	TTAGAGAACCTACTGACCTT		
Вирус Ласса IV генотип (Сьерра-Леоне) Lassa virus, genotype IV (Sierra Leone)	F3	ATTCTCAGCTGATGACCCTC	NP	63 °C, 25 min
	B3	GTCTGTGACATCAATCCCATGT		
	FIP	TCCACTGGATCTTCAGGTCTTCCTTTTTAAGGATGCAATGCTGCAAC		
	BIP	GCCCTCTATCAACCAAGTTCAGGCTTTTGCATCCTGCTTGAACTGCT		
	LF	AATGTCCATCCAGGTCTTAGC		
	LB	TGCTACATACACTTCTTCCGTG		
Вирус Ласса II генотип (юг Нигерии) Lassa virus, genotype II (South of Nigeria)	F3	TGCTGTCACAGAGAACTAGA	GPC	63 °C, 30 min
	B3	ATGCTCATCTGTGCTTCTG		
	FIP	CAGTATCCACCGGGTGCTTCTTTTTCGGAGACTTCTTGGAACT		
	BIP	GCTGAATTGAAGTGCTTTGGGATTTTTATCACAGAATTCCTCATCGTG		
	LF	TTGCCCTCAGAGTCAGAGA		
	LB	CACAGCCATTGCAAAGTGTAA		
Вирус Ласса II генотип (юг Нигерии) Lassa virus, genotype II (South of Nigeria)	F3	TATTGTCACAGAGAACTAGA	GPC	63 °C, 30 min
	B3	ATACTCATCTGTGCCTCTG		
	FIP	CAGTACCCACCAGGTGTTCTTTTTTCGAAGACTTCTCGGAACC		
	BIP	GCAGAACTGAAGTGCTTTGGGATTTT TGTC		
	LF	TTGCCTTCAGAATCAGAAA		
	LB	CACAGCAGTCGCAAAGTGCAA		
Вирус Ласса II генотип (юг Нигерии) Lassa virus, genotype II (South of Nigeria)	F3	AGGACCAGGGACATTTACA	GPC	63 °C, 30 min
	B3	TCTGTCTTCAGCCTCCTTAT		
	FIP	CAATACCCACCCGGTGTTTCATTTTCGAAGACTTCTTGGGACTTT		
	BIP	GATGCTGATTGAGGCCGAGTTTTTTTGTT TCTCATTGCATTTCGC		
	LF	TCAGAATCAGAGAGAGTCCAAGT		
	LB	AAGTGCTTTGGGAACACAGC		

References / Список литературы

1. Walker G.T., Fraiser M.S., Schram J.L., Little M.C., Nadeau J.G., Malinowski D.P. Strand displacement amplification – an isothermal, *in vitro* DNA amplification technique. *Nucl. Acids Res*. 1992; 20(7):1691–6. DOI: 10.1093/nar/20.7.1691.

2. Dean F.B., Hosono S., Fang L., Wu X., Faruqi A.F., Bray-Ward P., Sun Z., Zong Q., Du Y., Du J., Driscoll M., Song W., Kingsmore S.F., Egholm M., Lasken R.S. Comprehensive human genome amplification using multiple displacement amplification. *Proc. Nat. Acad. Sci*. 2002; 99(8):5261–6. DOI: 10.1073/pnas.082089499.

3. Liu W., Dong D., Yang Z., Zou D., Chen Z., Yuan J., Huang L. Polymerase Spiral Reaction (PSR): A novel isothermal nucleic acid amplification method. *Sci. Rep*. 2015; 5(1):12723. DOI: 10.1038/srep12723.

4. Fischbach J., Frohme M., Glökler J. Hinge-initiated primer-dependent amplification of nucleic acids (HIP) – a new versatile isothermal amplification method. *Sci. Rep*. 2017; 7(1):7683. DOI: 10.1038/s41598-017-08067-x.

5. Notomi T., Okayama H., Masubuchi H., Yonekawa T., Watanabe K., Amino N., Hase T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucl. Acids Research*. 2000; 28(12):663. DOI: 10.1093/nar/28.12.e63.

6. Mori Y., Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. *J. Infect. Chemother*. 2009; 15(2):62–9. DOI: 10.1007/s10156-009-0669-9.

7. Kaneko H., Kawana T., Fukushima E., Suzutani T. Tolerance of loop-mediated isothermal amplification to a culture medium and biological substances. *J. Biochem. Biophys. Methods*. 2007; 70(3):499–501. DOI: 10.1016/j.jbbm.2006.08.008.

8. Francois P., Tangomo M., Hibbs J., Bonetti E.-J., Boehme C.C., Notomi T., Perkins M.D., Schrenzel J. Robustness of a loop-mediated isothermal amplification reaction for diagnostic applications. *FEMS Immunol. Med. Microbiol*. 2011; 62(1):41–8. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2011.00785.x.

9. Moser M.J., DiFrancesco R.A., Gowda K., Klingele A.J., Sugar D.R., Stocki S., Mead D.A., Schoenfeld T.W. Thermostable DNA polymerase from a viral metagenome is a potent RT-PCR enzyme. *PLoS ONE*. 2012; 7(6):e38371. DOI: 10.1371/journal.pone.0038371.

10. Chander Y., Koelbl J., Puckett J., Moser M.J., Klingele A.J., Liles M.R., Carrias A., Mead D.A., Schoenfeld T.W. A novel thermostable polymerase for RNA and DNA loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Front. Microbiol*. 2014; 5. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00395.

11. Ignatov K.B., Barsova E.V., Fradkov A.F., Blagodatskikh K.A., Kramarova T.V., Kramarov V.M. A strong strand displacement activity of thermostable DNA polymerase markedly improves the results of DNA amplification. *BioTechniques*. 2014; 57(2):81–7. DOI: 10.2144/000114198.

12. Lee S.H., Baek Y.H., Kim Y-H., Choi Y-K., Song M-S., Ahn J-Y. One-pot reverse transcriptional loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) for detecting MERS-CoV. *Front. Microbiol*. 2017; 7:2166. DOI: 10.3389/fmicb.2016.02166.

13. Monazah A., Zeinoddini M., Saeeidinia A.R. Evaluation of a rapid detection for Coxsackievirus B3 using one-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *J. Virol. Methods*. 2017; 246:27–33. DOI: 10.1016/j.jviromet.2017.04.006.

14. Curtis K.A., Rudolph D.L., Owen S.M. Rapid detection of HIV-1 by reverse-transcription, loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *J. Virol. Methods*. 2008; 151(2):264–70. DOI: 10.1016/j.jviromet.2008.04.011

15. Batra K., Kumar A., Kumar V., Nanda T., Maan N.S., Maan S. Development and evaluation of loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of Capripoxvirus. *Vet. World*. 2015; 8(11):1286–92. DOI: 10.14202/vetworld.2015.1286-1292.

16. Oscorbin I.P., Belousova E.A., Zakabunin A.I., Boyarskikh U.A., Filipenko M.L. Comparison of fluorescent intercalating dyes for quantitative loop-mediated isothermal amplification (qLAMP). *BioTechniques*. 2016; 61(1):20–5. DOI: 10.2144/000114432.

17. Shi W., Li K., Ji Y., Jiang Q., Shi M., Mi Z. Development and evaluation of reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of enterovirus 71. *BMC Infect. Dis*. 2011; 11(1):197. DOI: 10.1186/1471-2334-11-197.

18. Wu R., Liu X., Guo B., Chen F., Wang X. Development of double loop-mediated isothermal amplification to detect Listeria monocytogenes in food. *Curr. Microbiol*. 2014; 69(6):839–45. DOI: 10.1007/s00284-014-0661-1.

19. Watts M.R., James G., Sultana Y., Ginn A.N., Outhred A.C., Kong F., Outhred A.C., Iredell J.R., Chen S.C.-A., Lee R. A Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for Strongyloides stercoralis in stool that uses a visual detection method with SYTO-82 fluorescent dye. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 2014; 90(2):306–11. DOI: 10.4269/ajtmh.13-0583.

20. Mwendwa F., Mbae C.K., Kinyua J., Mulinge E., Mburugu G.N., Njiru Z.K. Stem loop-mediated isothermal amplification test: comparative analysis with classical LAMP and PCR in detection of Entamoeba histolytica in Kenya. *BMC Res Notes*. 2017; 10(1):142. DOI:10.1186/s13104-017-2466-3

21. Hill J., Beriwal S., Chandra I., ,, Paul V.K., Kapil A., Singh T., Wadowsky R.M., Singh V., Goyal A., Jahnukainen T., Johnson J.R., Tarr P.I., Vats A. Loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of common strains of *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46(8):2800–4. DOI:10.1128/JCM.00152-08.

22. Gudnason H., Dufva M., Bang D.D., Wolff A. Comparison of multiple DNA dyes for real-time PCR: effects of dye concentration and sequence composition on DNA amplification and melting temperature. *Nucleic Acids Research*. 2007; 35(19):e127. DOI: 10.1093/nar/gkm671.

23. Eischeid A.C. SYTO dyes and EvaGreen outperform SYBR Green in real-time PCR. *BMC Res. Notes*. 2011; 4(1):263. DOI: 10.1186/1756-0500-4-263.

24. Mori Y., Kanda H., Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): recent progress in research and development. *J. Infect. Chemother*. 2013; 19(3):404–411. DOI: 10.1007/s10156-013-0590-0.

25. Notomi T., Mori Y., Tomita N., Kanda H. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): principle, features, and future prospects. *J. Microbiol*. 2015; 53(1):1–5. DOI: 10.1007/s12275-015-4656-9.

26. Parida M., Horioke K., Ishida H., Dash P.K., Saxena P., Jana A.M., Islam M.A., Inoue S., Hosaka N., Morita K. Rapid detection and differentiation of Dengue virus serotypes by a real-time reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay. *J. Clin. Microbiol*. 2005; 43(6):2895–903. DOI: 10.1128/JCM.43.6.2895-2903.2005.

27. Tian B., Qiu Z., Ma J., Gómez de la Torre T.Z., Johansson C., Svedlindh P., Strömberg M. Attomolar Zika virus oligonucleotide detection based on loop-mediated isothermal amplification and AC susceptometry. *Biosens. Bioelectron*. 2016; 86:420–5. DOI: 10.1016/j.bios.2016.06.085.

28. Li S., Fang M., Zhou B., Ni H., Shen Q., Zhang H., Han Y., Yin J., Chang W., Xu G., Cao G. Simultaneous detection and differentiation of dengue virus serotypes 1–4, Japanese encephalitis virus, and West Nile virus by a combined reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification assay. *Virol. J*. 2011; 8:360. DOI: 10.1186/1743-422X-8-360.

29. Parida M.M., Santhosh S.R., Dash P.K., Tripathi N.K., Lakshmi V., Mamidi N., Shrivastva A., Gupta N., Saxena P., Babu J.P., Rao P.V.L., Morita K. Rapid and real-time detection of Chikungunya virus by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay. *J. Clin. Microbiol*. 2007; 45(2):351–7. DOI: 10.1128/JCM.01734-06.

30. Hayasaka D., Aoki K., Morita K. Development of simple and rapid assay to detect viral RNA of tick-borne encephalitis virus by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification. *Virol. J*. 2013; 10(1):68. DOI: 10.1186/1743-422X-10-68.

31. Hong T.C., Mai Q.L., Cuong D.V., Parida M., Minekawa H., Notomi T., Hasebe F., Morita K. Development and evaluation of a novel loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42(5):1956–61. DOI: 10.1128/jcm.42.5.1956-1961.2004.

32. Shirato K., Semba S., El-Kafrawy S.A., Hassan A.M., Tolah A.M., Takayama I., Kageyama T., Notomi T., Kamitani W., Matsuyama S., Azhar E.I. Development of fluorescent reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) using quenching probes for the detection of the Middle East respiratory syndrome coronavirus. *J. Virol. Methods.* 2018; 258:41–8. DOI: 10.1016/j.jviromet.2018.05.006.

33. Nguyen T., Bang D.D. and Wolff A. 2019 Novel Coronavirus Disease (COVID-19): Paving the road for rapid detection and point-of-care diagnostics. *Micromachines*. 2020; 11(3):306. DOI: 10.3390/mi11030306.

34. Park B.H., Oh S.J., Jung J.H., Choi G., Seo J.H., Kim D.H., Lee E.Y., Seo T.S. An integrated rotary microfluidic system with DNA extraction, loop-mediated isothermal amplification, and lateral flow strip based detection for point-of-care pathogen diagnostics. *Biosens. Bioelectron.* 2017; 91:334–40. DOI: 10.1016/j.bios.2016.11.063.

35. Nurul Najian A.B., Engku Nur Syafirah E.A.R., Ismail N., Mohamed M., Yean C.Y. Development of multiplex loop mediated isothermal amplification (m-LAMP) label-based gold nanoparticles lateral flow dipstick biosensor for detection of pathogenic Leptospira. *Anal. Chim. Acta.* 2016; 903:142–8. DOI: 10.1016/j.aca.2015.11.015.

36. Kongkasuriyachai D., Yongkiettrakul S., Kiatpathomchai W., Arunrut N. Loop-Mediated Isothermal Amplification and LFD Combination for Detection of Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax. In: Prickril B., Rasooly A., editors. Biosensors and Biodetection. New York, NY: Humana Press; 2017. Vol. 1572. P. 431–43. DOI: 10.1007/978-1-4939-6911-1_28.

37. Xu C., Feng Y., Chen Y., Gao J., Lu Y. Rapid detection of measles virus using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification coupled with a disposable lateral flow device. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2016; 85(2):168–73. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2016.02.023.

38. Deng J., Pei J., Gou H., Ye Z., Liu C., Chen J. Rapid and simple detection of Japanese encephalitis virus by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification combined with a lateral flow dipstick. *J. Virol. Methods.* 2015; 213:98–105. DOI: 10.1016/j.jviromet.2014.12.006.

39. Wong Y-P., Othman S., Lau Y-L., Radu S., Chee H.-Y. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a versatile technique for detection of micro-organisms. *J. Appl. Microbiol*. 2018; 124(3):626–43. DOI: 10.1111/jam.13647.

40. Sahoo P.R., Sethy K., Mohapatra S., Panda D. Loop mediated isothermal amplification: An innovative gene amplification technique for animal diseases. *Vet. World*. 2016; 9(5):465–9. DOI: 10.14202/vetworld.2016.465-469.

41. Goldstein T., Anthony S.J., Gbakima A., Bird B.H., Bangura J., Tremeau-Bravard A., Belaganahalli M.N., Wells H.L., Dhanota J.K., Liang E., Grodus M., Jangra R.K., De Jesus V.A., Lasso G., Smith B.R., Jambai A., Kamara B.O., Kamara S., Bangura W., Monagin C., Shapira S., Johnson C.K., Saylors K., Rubin E.M., Chandran K., Lipkin W.I., Mazet J.A.K. The discovery of Bombali virus adds further support for bats as hosts of ebolaviruses. *Nat. Microbiol.* 2018; 3(10):1084–9. DOI: 10.1038/s41564-018-0227-2.

42. Dedkov V.G., Magassouba N.F., Safonova M.V., Deviatkin A.A., Dolgova A.S., Pyankov O.V., Sergeev A.A., Utkin D.V., Odinokov G.N., Safronov V.A., Agafonov A.P., Maleev V.V., Shipulin G.A. Development and evaluation of a real-time RT-PCR assay for the detection of Ebola virus (Zaire) during an Ebola outbreak in Guinea in 2014–2015. *J. Virol. Methods.* 2016; 228:26–30. DOI: 10.1016/j.jviromet.2015.11.007.

43. Kurosaki Y., Takada A., Ebihara H., Grolla A., Kamo N., Feldmann H., Kawaoka Y., Yasuda J. Rapid and simple detection of Ebola virus by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification. *J. Virol. Methods*. 2007; 141(1):78–83. DOI: 10.1016/j.jviromet.2006.11.031.

44. Kurosaki Y., Magassouba N., Oloniniyi O.K., Cherif M.S., Sakabe S., Takada A., Hirayama K., Yasuda J. Development and evaluation of reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay coupled with a portable device for rapid diagnosis of Ebola Virus Disease in Guinea. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10(2):e0004472. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004472.

45. Oloniniyi O.K., Kurosaki Y., Miyamoto H., Takada A., Yasuda J. Rapid detection of all known ebolavirus species by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *J. Virol. Methods*. 2017; 246:8–14. DOI: 10.1016/j.jviromet.2017.03.011.

46. Benzine J.W., Brown K.M., Agans K.N., Godiska R., Mire

C.E., Gowda K., Converse B., Geisbert T.W., Mead D.A., Chander Y. Molecular diagnostic field test for point-of-care detection of Ebola virus directly from blood. *J. Infect. Dis*. 2016; 214(suppl 3):S234–S242. DOI: 10.1093/infdis/jiw330.

47. Carter C., Akrami K., Hall D., Smith D., Aronoff-Spencer E. Lyophilized visually readable loop-mediated isothermal reverse transcriptase nucleic acid amplification test for detection Ebola Zaire RNA. *J. Virol. Methods*. 2017; 244:32–8. DOI: 10.1016/j.jviromet.2017.02.013.

48. Towner J.S., Sealy T.K., Khristova M.L., Albariño C.G., Conlan S., Reeder S.A., Quan P.-L., Lipkin W.I., Downing R., Tappero J.W., Okware S., Lutwama J., Bakamutumaho B., Kayiwa J., Comer J.A., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Nichol S.T. Newly discovered Ebola virus associated with hemorrhagic fever outbreak in Uganda. *PLoS Pathog*. 2008; 4(11):e1000212. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000212.

49. Peterson A.T., Holder M.T. Phylogenetic assessment of filoviruses: how many lineages of Marburg virus? *Ecol. Evol*. 2012; 2(8):1826–33. DOI: 10.1002/ece3.297.

50. Towner J.S., Khristova M.L., Sealy T.K., Vincent M.J., Erickson B.R., Bawiec D.A., Hartman A.L., Comer J.A., Zaki S.R., Ströher U., Gomes da Silva F., del Castillo F., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Nichol S.T. Marburgvirus Genomics and association with a large hemorrhagic fever outbreak in Angola. *J. Virol*. 2006; 80(13):6497–516. DOI: 10.1128/JVI.00069-06.

51. Kurosaki Y., Grolla A., Fukuma A., Feldmann H., Yasuda J. Development and evaluation of a simple assay for marburg virus detection using a reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification method. *J. Clinical Microbiology*. 2010; 48(7):2330–6. DOI: 10.1128/JCM.01224-09.

52. Mazzola L.T., Kelly-Cirino C. Diagnostics for Lassa fever virus: a genetically diverse pathogen found in low-resource settings. *BMJ Glob Health*. 2019; 4(Suppl 2):e001116. DOI: 10.1136/bmjgh-2018-001116.

53. Macher A.M., Wolfe M.S. Historical Lassa fever reports and 30-year clinical update. *Emerg. Infect. Dis*. 2006; 12(5):835–7. DOI: 10.3201/eid1205.050052.

54. Bowen M.D., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Hustad H.L., Bausch D.G., Demby A.H., Bajani M.D., Peters C.J., Nichol S.T. Genetic diversity among Lassa virus strains. *J. Virol*. 2000; 74(15):6992–7004. DOI: 10.1128/JVI.74.15.6992-7004.2000.

55. Fukuma A., Kurosaki Y., Morikawa Y., Grolla A., Feldmann H., Yasuda J. Rapid detection of Lassa virus by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification: Detection of Lassa virus by RT-LAMP. *Microbiol. Immunol*. 2011; 55(1):44–50. DOI: 10.1111/j.1348-0421.2010.00286.x.

56. Pemba C.M., Kurosaki Y., Yoshikawa R., Oloniniyi O.K., Urata S., Sueyoshi M., Zadeh V.R., Nwafor I., Iroezindu M.O., Ajayi N.A., Chukwubike C.M., Chika-Igwenyi N.M., Ndu A.C., Nwidi D.U., Maehira Y., Unigwe U.S., Ojide C.K., Onwe E.O., Yasuda J. Development of an RT-LAMP assay for the detection of Lassa viruses in southeast and south-central Nigeria. *J. Virol. Methods*. 2019; 269:30–7. DOI: 10.1016/j.jviromet.2019.04.010.

Authors:

Kartashov M.Yu. State Scientific Centre of Virology and Biotechnology "Vector"; Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation; e-mail: vector@vector.nsc.ru. Novosibirsk State University; Novosibirsk, Russian Federation.

Chub E.V., Mikryukova T.P., Ternovoy V.A. State Scientific Centre of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

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

Об авторах:

Карташов М.Ю. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»; Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово; e-mail: vector@vector.nsc.ru. Новосибирский государственный университет; Новосибирск, Российская Федерация.

Чуб Е.В., Микрюкова Т.П., Терновой В.А. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-31-37

УДК 616.921.5(470)

В.Ю. Марченко[1], Н.И. Гончарова[1], Tran Thi Nhai[2], Trinh Khac Sau[2], Nguyen Ngoc Quyen[3], Е.В. Гаврилова[1], Р.А. Максютов[1], А.Б. Рыжиков[1]

ОБЗОР ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ВЫСОКОПАТОГЕННОМУ ВИРУСУ ГРИППА ПТИЦ В РОССИИ В 2019 г.

[1]ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Новосибирская область, Российская Федерация; [2]Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр, Ханой, Социалистическая Республика Вьетнам; [3]Региональное управление по охране здоровья животных № 3, Винь, Социалистическая Республика Вьетнам

В данной статье рассмотрена современная ситуация по высокопатогенному вирусу гриппа птиц в 2019 г. и сделан прогноз возможного дальнейшего распространения вирусов на территории России. В 2019 г. в мире отмечена циркуляция различных вариантов вируса, имеющих важное эпизоотологическое и эпидемиологическое значение. Зарегистрированы вспышки среди диких и домашних птиц, а также случаи заражения человека вирусами гриппа подтипов A/H5Nx, A/H7N9 и A/H9N2. В России в 2019 г. зарегистрировано только две вспышки, вызванные высокопатогенным вариантом вируса гриппа A/H5N8. Обе вспышки зафиксированы в первой и второй половине января на птицефабрике в Ростовской области. Помимо этого, в ходе мониторинга вируса гриппа птиц на территории Томской области в мае 2019 г. от дикой птицы выделен штамм вируса гриппа A/H14N7. В июне на территории Камчатского края выделен штамм подтипа A/H13N2, затем в августе 2019 г. вирус гриппа подтипа A/H13N6 выделен на территории Саратовской области. Выявлено, что некоторые штаммы вируса гриппа, выделяемые в России, имеют высокую степень идентичности со штаммами, циркулирующими в Юго-Восточной Азии. Это показано на примере филогенетического анализа вирусов гриппа A/H5Nx, выделенных ранее на территории Саратовской области и Социалистической Республики Вьетнам. Таким образом, в очередной раз доказано, что территория России играет важную географическую роль в глобальном распространении вируса гриппа птиц.

Ключевые слова: вирус гриппа птиц, мониторинг, вспышки, H5N8, H14N7, H13Nx, Россия.

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

Для цитирования: Марченко В.Ю., Гончарова Н.И., Tran Thi Nhai, Trinh Khac Sau, Nguyen Ngoc Quyen, Гаврилова Е.В., Максютов Р.А., Рыжиков А.Б. Обзор эпизоотологической ситуации по высокопатогенному вирусу гриппа птиц в России в 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:31–37. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-31-37

Поступила 03.02.20. *Отправлена на доработку* 20.02.20. *Принята к публ.* 11.02.20.

V.Yu. Marchenko[1], N.I. Goncharova[1], Tran Thi Nhai[2], Trinh Khac Sau[2], Nguyen Ngoc Quyen[3], E.V. Gavrilova[1], R.A. Maksyutov[1], A.B. Ryzhikov[1]

Overview of the Epizootiological Situation on Highly Pathogenic Avian Influenza Virus in Russia in 2019

[1]State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tsovo, Russian Federation;
[2]Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center, Hanoi, Socialist Republic of Vietnam;
[3]Regional Animal Health Office No 3, Vinh, Socialist Republic of Vietnam

Abstract. This review describes the current situation on highly pathogenic avian influenza virus in 2019 and predicts the possible further spread of avian influenza in Russia. In 2019 outbreaks were reported among wild birds and poultry, as well as human infections with influenza viruses of the subtypes H5Nx, H7N9 and H9N2 in several countries. In 2019, only two outbreaks of highly pathogenic avian influenza H5N8 in Russia occurred. Both outbreaks were recorded in January at poultry farm in the Rostov Region. In addition, in May 2019 avian influenza virus of H14N7 subtype was isolated from a wild bird during the avian influenza virus surveillance in Tomsk Region. In June 2019, a strain of H13N2 subtype was isolated in the territory of Kamchatka Region, then, in August 2019, an influenza virus of H13N6 subtype was isolated in the Saratov Region. It was revealed that some strains of avian influenza virus isolated in Russia have a high degree of identity with strains circulating in South-East Asia. This was shown by the phylogenetic analysis of A/H5Nx influenza viruses previously isolated in the Saratov Region and the Socialist Republic of Vietnam during the avian influenza virus surveillance. Thus, it was demonstrated again that the territory of Russia plays a key geographical role in the global spread of avian influenza virus.

Keywords: Avian influenza virus, surveillance, outbreaks, H5N8, H14N7, H13Nx, Russia.

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

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

Citation: Marchenko V.Yu., Goncharova N.I., Tran Thi Nhai, Trinh Khac Sau, Nguyen Ngoc Quyen, Gavrilova E.V., Maksyutov R.A., Ryzhikov A.B. Overview of the Epizootiological Situation on Highly Pathogenic Avian Influenza Virus in Russia in 2019. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:31–37. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-31-37

Received 03.02.20. *Revised* 20.02.20. *Accepted* 11.02.20.

Проблема распространения высокопатогенных вирусов гриппа не теряет своей актуальности. Вирусы гриппа А (ВГА), которые в настоящее время распространены повсеместно, представляют серьезную угрозу сельскому хозяйству и общественному здравоохранению. Вид *Influenza A virus* принадлежит к семейству сегментированных РНК-вирусов *Orthomyxoviridae*, которое в настоящее время включает семь различных родов, принятых Международным комитетом по таксономии вирусов. Данное семейство включает роды *Alphainfluenzavirus, Betainfluenzavirus, Deltainfluenzavirus, Gammainfluenzavirus, Isavirus, Thogotovirus* и *Quaranfilvirus* [1]. Вирусы гриппа А, которые принадлежат роду *Alphainfluenzavirus*, являются наиболее распространенными и опасными в своей таксономической группе благодаря способности инфицировать значительное количество различных видов птиц и млекопитающих.

Вирусы гриппа А имеют два основных механизма, обеспечивающих разнообразие в популяции вирусов, а именно высокий уровень мутаций и способность к реассортации сегментов генома [2, 3]. Оба этих механизма дают возможность вирусу быстро изменяться и адаптироваться, что способствует развитию инфекции у новых видов хозяев. При этом естественным хозяином и природным резервуаром всех субтипов вируса гриппа А являются дикие птицы, преимущественно водоплавающие или околоводные [4, 5]. В естественном организме-хозяине эволюция вируса протекает медленно, сохраняя на аминокислотном уровне высокую консервативность большинства внутренних генов [6]. Тем не менее поверхностные гликопротеины (HA и NA) гораздо более изменчивы и демонстрируют большее разнообразие этих генов. На сегодняшний день известно 18 субтипов гемагглютинина и 11 субтипов нейраминидазы и большинство известных комбинаций сохраняется в популяциях диких птиц, за исключением вирусов гриппа подтипов A/H17N10 и A/H18N11, выделенных от летучих мышей, которые до настоящего времени от других видов хозяев не выделялись [7, 8].

Как известно, естественным резервуаром ВГА в основном считаются водоплавающие птицы отрядов гусеобразные (*Anseriformes*) и ржанкообразные (*Charadriiformes*) [9, 10]. Заболевание у этих видов-хозяев характеризуется не только низкой патогенностью, но также может протекать бессимптомно [9, 11, 12]. Показано, что такое течение инфекции у перелетных птиц способствует распространению как высокопатогенных, так и низкопатогенных вариантов вируса гриппа на большие расстояния [10, 13, 14]. При этом распространение различных линий вирусов гриппа птиц (ВГП) отмечено по определенным миграционным маршрутам [15–17]. Тем не менее, даже если мигрирующие дикие птицы считаются основными переносчиками ВГП, ряд исследований указывает на то, что циркуляция ВГП частично поддерживается за счет торговли инфицированными домашними птицами [18–20]. Например, установлено, что распространение высокопатогенного вируса гриппа подтипа H5N1 на большие расстояния в 2004 г. вызвано перемещениями домашней птицы [20], а также то, что циркуляция некоторых вариантов вируса в Китае обусловлена деятельностью человека [21]. Очевидно, что распространение вируса птиц во всем мире является результатом синергии между торговлей инфицированными домашними птицами и миграций диких птиц по пролетным путям [18, 22].

Таким образом, очевидно, что в борьбе с данным инфекционным агентом необходим комплексный подход. В частности, важным является сбор и анализ информации о циркулирующих в настоящее время и зарегистрированных ранее вариантах вируса гриппа, выявленных как в популяциях диких птиц, так и штаммах, которые вызывали вспышки заболевания среди домашних птиц. Полученные данные позволят спрогнозировать эпидемиологическую и эпизоотологическую ситуацию, оценив возможные пути распространения высокопатогенных вариантов вируса гриппа.

В данной работе представлен анализ циркуляции наиболее важных в эпизоотологическом аспекте высокопатогенных вариантов вируса гриппа птиц в России и мире за 2019 г.

Ситуация по высокопатогенному гриппу в мире. В 2019 г. в мире зарегистрирована циркуляция нескольких эпизоотологически значимых вариантов вируса гриппа. Так, в ряде стран зафиксированы вспышки среди диких и домашних птиц, а также случаи инфицирования человека, вызванные различными вариантами вируса гриппа подтипа A/H5 линии A/goose/Guangdong/1/96. За прошлый год около 20 стран заявили о вспышках среди дикой и домашней птицы (таблица) [23]. Вирусы гриппа подтипа A/H5N1 клады 2.3.2.1a зарегистрированы среди дикой и домашней птицы в Бангладеш, Бутане, Индии и Непале. Также в марте 2019 г. в Непале зафиксирован летальный случай заражения человека вирусом гриппа A/H5N1 клады 2.3.2.1a [24], который стал первым зарегистрированным случаем инфицирования человека высокопатогенным вирусом гриппа в этой стране. 19 марта 2019 г. 21-летний житель Катманду попал в госпиталь с клиническими признаками заболевания, смерть наступила 29 марта.

Вирусы клады 2.3.2.1c, как и в предыдущий период 2018 г., зарегистрированы в Лаосе и Вьетнаме. Представители клады 2.3.2.1d выделены от птиц и из окружающей среды в Китае. Показано, что штаммы вышеперечисленных субклад антигенно близки предложенным ВОЗ вакцинным штаммам [23]. Более широкое разнообразие циркулирующих вариантов показано для представителей клады 2.3.4.4, среди которых наиболее распространенными являлись вирусы гриппа подтипов A/H5N6 и A/H5N8. Так, вирусы клады 2.3.4.4b зарегистрированы во время вспышек среди дикой и домашней птицы в Болгарии, Египте, Иране, Ираке, Израиле, Намибии, Нигерии,

ЮАР, а в январе 2019 г. в России (таблица) [25]. Следует отметить, что в феврале 2019 г. в Намибии продолжалась вспышка, вызванная вирусом гриппа A/H5N8, среди очковых пингвинов (*Spheniscus demersus*). Зарегистрировано более 350 случаев гибели птиц. Филогенетический анализ штаммов, вызвавших вспышку, показал, что вирусы схожи, но не идентичны штаммам вируса гриппа A/H5N8, которые циркулировали среди африканских пингвинов ранее с января по октябрь 2018 г. Появление этих вирусов в Намибии остается неясным, но авторы данной работы предполагают, что вирус мог быть занесен в популяцию пингвинов другими видами диких птиц из ЮАР, где в 2017 и 2018 гг. регистрировались вспышки, вызванные вирусом гриппа A/H5N8 клады 2.3.4.4.b [26]. Помимо этого, в июне 2019 г. в Нигерии впервые зарегистрировано выделение вируса гриппа A/H5N6. Анализ нуклеотидных последовательностей штамма выявил его высокую степень идентичности со штаммами A/H5N6 клады 2.3.4.4b, которые циркулировали среди диких птиц в Европе в 2016–2018 гг. [27].

Данные ВОЗ по циркуляции вируса гриппа H5 в 2019 г.

WHO data on avian influenza H5 circulation in 2019

Страна Country	Хозяин Host	Генетическая линия вируса H5 Genetic line of H5 virus
Бангладеш Bangladesh	с/х птица poultry	2.3.2.1a (H5N1)
Болгария Bolgaria	с/х птица poultry	2.3.4.4 (H5N8)
Бутан Bhutan	с/х птица poultry	2.3.2.1a (H5N1)
Вьетнам Vietnam	с/х птица poultry	2.3.2.1c (H5N1), 2.3.4.4g, 2.3.4.4h (H5N6)
Египет Egypt	с/х птица poultry	2.3.4.4b (H5N8)
Израиль Israel	с/х птица poultry	2.3.4.4b (H5N8)
Индия India	с/х птица poultry	2.3.2.1a (H5N1)
Иран Iran	с/х птица poultry	2.3.4.4b (H5N8)
Ирак Iraq	с/х птица poultry	2.3.4.4b (H5N8)
Камбоджа Cambodia	с/х птица poultry	2.3.4.4h (H5N6)
Китай China	человек human	2.3.4.4h (H5N6)
	с/х птица poultry	2.3.2.1d (H5N1), 2.3.4.4h (H5N6)
Лаос Laos	с/х птица poultry	2.3.2.1c (H5N1)
Намибия Namibia	дикая птица wild bird	2.3.4.4b (H5N8)
Непал Nepal	человек, с/х птица, дикая птица human, poultry, wild bird	2.3.2.1a (H5N1)
Нигерия Nigeria	с/х птица poultry	2.3.2.1b (H5N1)
Россия Russia	с/х птица poultry	2.3.4.4b (H5N8)
Тайвань Taiwan	с/х птица, дикая птица poultry, wild bird	2.3.4.4c (H5N2)

Циркуляция вирусов подтипа A/H5N2 клады 2.3.4.4c отмечена среди диких и домашних птиц на Тайване. Помимо этого, в 2019 г. на Тайване зарегистрирован первый случай выявления вируса гриппа подтипа A/H5N5, который вызвал вспышки на нескольких небольших фермах по выращиванию домашних уток и кур. В настоящее время нет информации о последовательностях геномов данных вирусов, поэтому принадлежность к определенной генетической группе установить пока невозможно [28].

Во Вьетнаме в 2019 г. вспышки среди сельскохозяйственной птицы в различных провинциях вызваны двумя субкладами – 2.3.4.4g и 2.3.4.4h. Вирус гриппа A/H5N6 клады 2.3.4.4h впервые зарегистрирован в Камбодже в апреле 2019 г. – штамм выделен от курицы на рынке живой птицы в юго-восточной провинции Такео. В Китае зарегистрированы вспышки вируса гриппа птиц A/H5N6 клады 2.3.4.4h среди домашней птицы, а также случай заражения человека. Стоит сказать, что все случаи заражения и гибели людей от вируса гриппа A/H5N6 к настоящему времени зарегистрированы только в Китае (25 случаев, из которых 15 имели летальный исход). Всемирной организацией здравоохранения в 17 странах зарегистрирован 861 случай заражения человека вирусами гриппа подтипа A/H5N1, из которых 455 имели летальный исход [24, 27, 29].

Помимо вирусов гриппа подтипа A/H5 в мире зарегистрированы случаи выявления других подтипов высокопатогенного вируса гриппа А. Так, в марте 2019 г. в Китае от обыкновенного павлина (*Pavo cristatus*) из зоопарка города Цзиньчжоу, провинция Ляонинь, выделен вирус гриппа A/H7N9. Надо сказать, что это был первый случай выделения вируса A/H7N9 от птиц с июня 2018 г. [27]. При этом в марте 2019 г. зарегистрирован один случай заражения человека вирусом гриппа A/H7N9 – инфицирован 82-летний мужчина, проживающий в провинции Ганьсу. По предварительным данным, заражение человека произошло в районе Внутренней Монголии на севере Китая. Данный случай был единственным зарегистрированным случаем заражения человека в 2019 г. [30]. Всего, с момента вспышки в марте 2013 г. вируса гриппа A/H7N9, в мире отмечено 1568 случаев заболевания человека, из которых как минимум 615 имели летальный исход, что составляет около 39 % [31]. Помимо этого, следует отметить появление в Китае в мае 2019 г. нового реассортанта вируса гриппа A/H7N2, который выделили от вакцинированной сельскохозяйственной птицы. Молекулярно-генетические исследования этого штамма показали, что он появился в результате реассортации вируса гриппа A/H7N9 по сегментам PB2, PB1, PA, HA, M и NS, а также вируса A/H9N2 по сегментам NP и NA. Также для этого штамма определен внутривенный индекс патогенности (IVPI), который составил 2.26, что указывает на его высокую степень патогенности для кур [32].

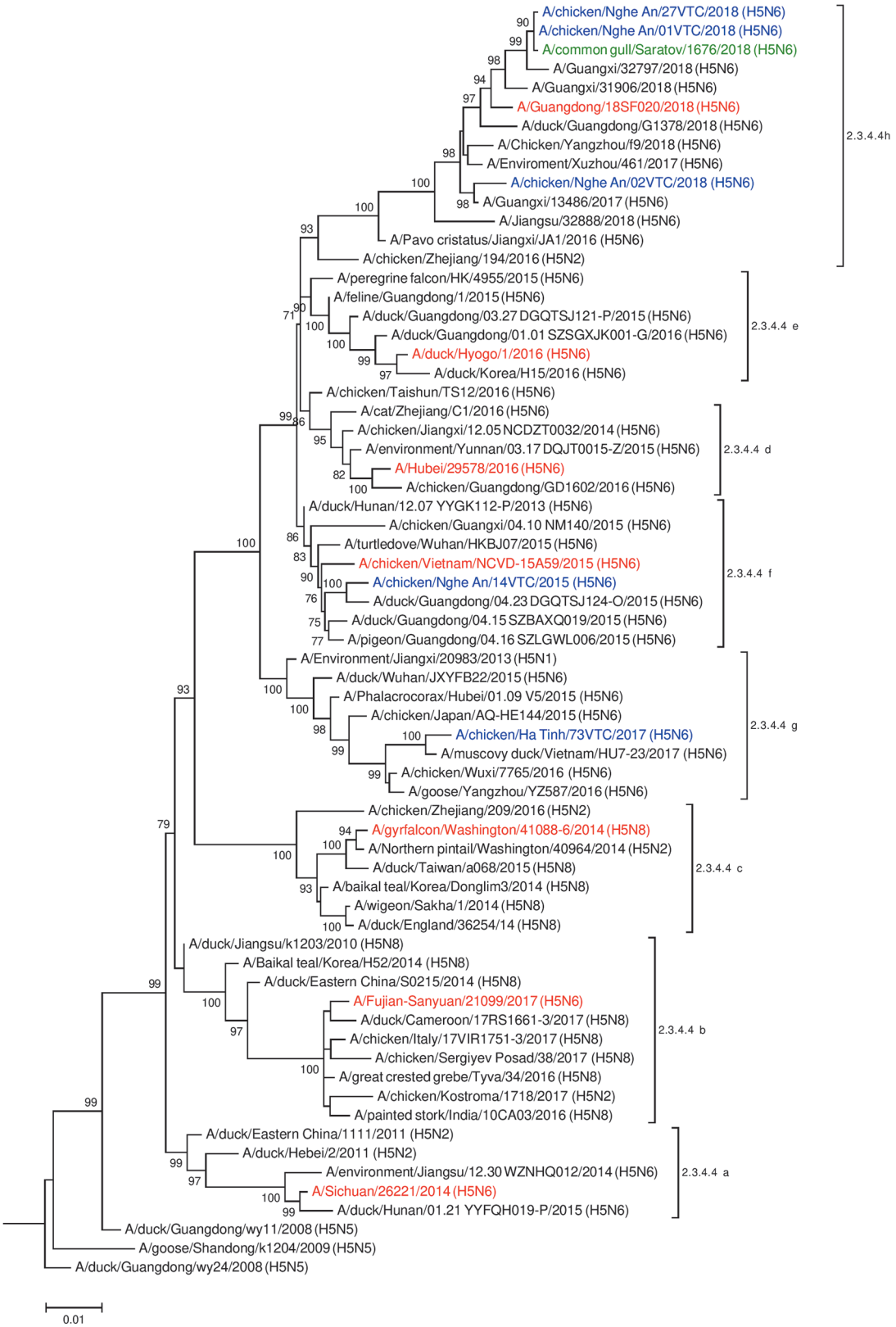
Что касается A/H9N2, то данный вирус широко распространен в странах Азии, Среднего Востока и Африки; на сегодняшний день в этих регионах сохраняется эндемичный статус по гриппу A/H9N2. Преобладающими генетическими линиями этого вируса считаются клады G1 и Y280/G9 [28]. При анализе штаммов вируса гриппа A/H9N2 клады Y280, выделенных от сельскохозяйственной птицы в Китае в 2017–2018 гг., выявлено, что внутренние гены этих штаммов имеют высокую степень идентичности со штаммами вируса A/H7N9, циркулировавшего в Китае. Исследованные штаммы имели множественные мутации в геноме, которые отвечают за связывание с человеческими рецепторами и адаптацию к млекопитающим [33]. В связи с этим вирусы гриппа A/H9N2 имеют важное эпидемиологическое значение. В 2019 г. в мире зарегистрировано шесть новых случаев заражения человека. Четыре случая зарегистрировано в Китае, по одному в Омане (в апреле) и Индии (в феврале). Оба эти случая были первыми зарегистрированными случаями инфицирования человека вирусом A/H9N2 в этих странах. Таким образом, на сегодняшний день известно о 60 лабораторно подтвержденных случаях заражения человека, из которых один имел летальный исход. В общей сложности за весь период наблюдений к концу 2019 г. инфицирование человека вирусами гриппа A/H9N2 зарегистрировано в шести странах: Китай (n=50), Египет (n=4), Бангладеш (n=3), Индия (n=1), Оман (n=1) и Пакистан (n=1) [28, 31].

Ситуация по высокопатогенному гриппу в России. В настоящее время в России действует комплексная система мониторинга высокопатогенного вируса гриппа птиц. Данная система мониторинга регламентируется Приказом Руководителя Роспотребнадзора от 30.09.2013 г. № 714 «Об организации мониторинга за циркуляцией вирусов гриппа птиц», а также Приказом от 04.08.2016 г. № 842 «Об организации опорных баз по мониторингу за вирусом гриппа с пандемическим потенциалом». На сегодняшний день в данной программе мониторинга участвуют 48 региональных учреждений Роспотребнадзора – Центры гигиены и эпидемиологии, деятельность которых регулируют три опорные базы, которыми являются Управления Роспотребнадзора по Хабаровскому краю, Новосибирской области и Краснодарскому краю. Региональные учреждения Роспотребнадзора организуют взаимодействие с местными лечебными учреждениями и ветеринарной службой, которые обеспечивают сбор образцов первичного материала от людей и животных и направляют его для дифференциальной диагностики в региональные ЦГиЭ. Все пробы, в которых обнаруживается РНК вируса гриппа А, направляются в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» для изоляции вируса гриппа, углубленного изучения и оценки его пандемического потенциала. В 2019 г. в рамках данной программы мониторинга вируса гриппа птиц совместно с региональными учреждениями Роспотребнадзора собрано и обследовано 3672 образца биологического материала от диких птиц, 4565 образцов от сельскохозяйственной птицы, а также 304 – от свиней.

В России в 2019 г. зарегистрировано только две вспышки, вызванные высокопатогенным вариантом вируса гриппа A/H5N8 [25]. Оба случая зафиксированы в первой и второй половине января на птицефабрике в Ростовской области. В результате погибло или уничтожено более 30 тыс. голов индейки. Циркуляции других субтипов высокопатогенного вируса гриппа, включая A/H7, на территории Российской Федерации не отмечено. Тем не менее в ходе мониторинга вируса гриппа птиц в нескольких регионах России выявлена циркуляция низкопатогенных вариантов вируса гриппа. Так, на территории Республики Татарстан ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан» в биоматериале от двух диких уток, собранном в ноябре 2019 г., методом ПЦР в реальном времени выявлен генетический материал вируса гриппа A/H9N2. К сожалению, выделить и исследовать вирус из проб не удалось и информация о его молекулярно-генетических и вирусологических характеристиках недоступна. Помимо этого, на территории Томской области в мае 2019 г. от дикой птицы выделен штамм вируса гриппа A/sandpiper/Tomsk/112/2019 (H14N7) (GISAID isolate ID: EPI_ISL_390458). В июне на территории Камчатского края от тихоокеанской чайки (*Larus schistisagus*) выделен штамм A/slaty-backed gull/Kamchatka/475/2019 (H13N2), затем в августе 2019 г. на территории Саратовской области выделен вирус гриппа подтипа A/H13. Штамм A/caspian gull/Saratov/860/2019 (H13N6) выделен от чайки хохотуньи (*Larus cachinnans*). Ранее показано, что штаммы вируса гриппа A/H13 могут быть перенесены из популяций диких птиц домашним курам, что может представлять серьезную угрозу сельскому хозяйству [34]. Следует отметить, что виды птиц, от которых выделены вирусы гриппа подтипа A/H13 являются мигрирующими, соответственно, могут распространять вирус на значительные расстояния.

Распространение различных вариантов вируса гриппа дикими птицами занимает особое место в эпидемиологии и эпизоотологии. Как уже говорилось ранее, миграции птиц, в основном, осуществляются по определенным маршрутам [15–17] и эти пути, зачастую, пересекают регионы, эндемичные по высокопатогенному вирусу гриппа. К таким регионам можно отнести некоторые страны Африки и Юго-Восточной Азии. При этом, отдельно надо выделить территорию Социалистической Республики Вьетнам.

С 2017 г. ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» совместно с Российско-Вьетнамским Тропическим научно-исследовательским и технологическим центром осуществляет мониторинг высокопатогенного вируса гриппа на территории Вьетнама. Выделение и изучение



Филогенетическое дерево гена HA штаммов вируса гриппа A(H5Nx). Штамм, выделенный в России в 2018 г., обозначен зеленым цветом. Штаммы, выделенные на территории Вьетнама, обозначены синим цветом. Кандидатные вакцинные штаммы, использованные для определения генетических групп/подгрупп, обозначены красным цветом. Филогенетическое дерево построено с помощью программного обеспечения MEGA версии 6.0 (www.megasoftware.net/) с использованием метода максимального правдоподобия и эволюционной модели Хасегава-Кишино-Яно (HKY85) с количеством бутстреп-репликаций 1000

Phylogenetic relationships of the HA gene of A (H5Nx) viruses. Strain isolated in Russia in 2018 is colored green. Strains isolated in the territory of Vietnam are indicated in blue. Candidate vaccine strains used to determine genetic groups/sub-groups are shown in red. The tree was constructed using MEGA 6.06 software (http://www.megasoftware.net/) using the Maximum Composite likelihood method with Hasegawa-Kishino-Yano, 85 model with 1000 bootstrap replicates

актуальных циркулирующих на данной территории вирусов гриппа птиц имеет важнейшее значение для Российской Федерации. Территория Вьетнама связана с территорией России одним из крупнейших миграционных маршрутов диких птиц (Восточно-Азиатско-Австралийский пролетный путь), по которому возможен занос вируса гриппа в различные регионы нашей страны [35]. Так, в конце 2018 г. на территории Саратовской области от сизой чайки (*Larus canus*) выделен вирус гриппа подтипа A/H5N6. Наши исследования показали, что штамм A/common gull/Saratov/1676/2018, скорее всего, занесен на территорию Российской Федерации из стран Юго-Восточной Азии. Филогенетический анализ гена HA данного штамма выявил его высокую степень идентичности со штаммами высокопатогенного вируса гриппа A/H5N6, выделенными в ходе мониторинга в провинции Нге Ан Социалистической Республики Вьетнам (рисунок).

Таким образом, вспышки высокопатогенного вируса гриппа птиц, которые регистрируются даже в отдаленных регионах мира, представляют реальную угрозу для сельского хозяйства и общественного здравоохранения России. В связи с этим при прогнозировании развития эпизоотологической ситуации необходимо учитывать каждый аспект циркуляции высокопатогенного вируса гриппа птиц.

Прогноз развития ситуации по высокопатогенному вирусу гриппа в России. При анализе полученных данных, становится очевидным, что в 2019 г. ситуация по высокопатогенному вирусу гриппа в России не была столь напряженной, как в предыдущие два года. Вспышка среди сельскохозяйственной птицы, вызванная вирусом гриппа A/H5N8 клады 2.3.4.4, которая зарегистрирована в январе 2019 г. в европейской части России, свидетельствовала о возможном сохранении вируса на данной территории и возникновении повторных вспышек в весенний или осенний период. Тем не менее за 2019 г. других вспышек высокопатогенного вируса гриппа птиц не зарегистрировано. Несмотря на это, если говорить о возможных прогнозах распространения высокопатогенных вирусов гриппа птиц, то данные о зарегистрированных вспышках высокопатогенного вируса гриппа в странах Африки и Юго-Восточной Азии в местах зимовки диких перелетных птиц свидетельствуют о возможном заносе различных вариантов вируса гриппа на территорию России. Так, в январе 2020 г. уже появилась информация о вспышках высокопатогенного вируса гриппа подтипа H5N8 на территории Польши, Германии, Чехии, Венгрии, Словакии и Румынии. Также зарегистрирована вспышка вируса гриппа A/H5 на территории Украины [36]. В связи с этим в весенний период 2020 г. можно ожидать заноса вируса A/H5N8 дикими птицами в регионы Южного федерального округа и другие регионы Центральной России. Помимо этого, с учетом циркуляции различных вариантов вирусов гриппа A/H5Nx, A/H7N9, A/H9N2 в странах Юго-Восточной Азии, возможен занос этих вариантов вируса на территорию Дальнего Востока и Восточной Сибири России.

Можно предположить, что дальнейшее развитие ситуации по высокопатогенному вирусу гриппа во многом будет зависеть от комплекса своевременно принятых соответствующими службами противоэпизоотических и противоэпидемических мер, которые должны быть направлены на недопущение дальнейшего распространения вируса и снижение риска инфицирования людей. На сегодняшний день на территории Российской Федерации не зафиксировано ни одного случая заболевания или гибели человека из-за высокопатогенного вируса гриппа птиц. Это позволяет сделать предположение о том, что в 2020 г. известные в настоящий момент варианты вируса гриппа птиц не окажут влияния на заболеваемость и при соблюдении противоэпизоотических правил в местах вспышек ожидать случаев заболевания человека не придется.

Финансирование. Исследование проводилось в рамках выполнения государственного задания ГЗ-4/16. Филогенетический анализ проведен в рамках выполнения Распоряжения Правительства Российской Федерации от 13.07.2019 г. № 1536-р.

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

References / Список литературы

1. Shaw M.L., Palese P. Orthomyxoviridae. In: Knipe D.M., Howley P.M., editors. Fields Virology. 6th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2013. P. 1151–85.

2. Manrubia S.C., Escarmis C., Domingo E., Lazaro E. High mutation rates, bottlenecks, and robustness of RNA viral quasispecies. *Gene.* 2005; 347:273–82.

3. Turner P.E. Searching for the advantages of virus sex. *Orig. Life Evol. Biosph.* 2003; 33:95–108. DOI: 10.1023/A:1023973015054.

4. Kawaoka Y., Chambers T.M., Sladen W.L., Webster R.G. Is the gene pool of influenza viruses in shorebirds and gulls different from that in wild ducks? *Virology*. 1988; 163(1):247–50.

5. Slemons R.D., Johnson D.C., Osborn J.S., Hayes F. Type-A influenza viruses isolated from wild free-flying ducks in California. *Avian Diseases.* 1974; 18(1):119–24. PMID: 4205344.

6. Suarez D.L. Evolution of avian influenza viruses. *Vet. Microbiol.* 2000; 74(1–2):15–27. DOI: 10.1016/s0378-1135-(00)00161-9.

7. Tong S., Li Y., Rivailler P., Conrardy C., Castillo D.A.A., Chen L.M., Recuenco S., Ellison J.A., Davis C.T., York I.A., Turmelle A.S., Moran D., Rogers S., Shi M., Tao Y., Weil M.R., Tang K., Rowe L.A., Sammons S., Xu X., Frace M., Lindblade K.A., Cox N.J., Anderson L.J., Rupprecht C.E., Donis R.O. A distinct lineage of influenza A virus from bats. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2012; 109(11):4269–74. DOI: 10.1073/pnas.1116200109.

8. Tong S., Zhu X., Li Y., Shi M., Zhang J., Bourgeois M., Yang H., Chen X., Recuenco S., Gomez J., Chen L.-M., Johnson A., Tao Y., Dreyfus C., Yu W., McBride R., Carney P.J., Gilbert A.T., Chang J., Guo Z., Davis C.T., Paulson J.C., Stevens J., Rupprecht C.E., Holmes E.C., Wilson I.A., Donis R.O. New World bats harbor diverse influenza A viruses. *PLoS Pathog*. 2013; 9:e1003657. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003657.

9. Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol. Rev.* 1992; 56(1):152–79. PMID: 1579108. PMCID: PMC372859.

10. Olsen B., Munster V.J., Wallensten A., Waldenström J., Osterhaus A.D.M.E., Fouchier R.A.M. Global patterns of influenza A virus in wild birds. *Science.* 2006; 312(5772):384–8. DOI: 10.1126/science.1122438.

11. Easterday B.C., Trainer D.O., Tůmová B., Pereira H.G. Evidence of infection with influenza viruses in migratory waterfowl. *Nature.* 1968; 219(5153):523–4. DOI: 10.1038/219523a0.

12. Kuiken T. Is low pathogenic avian influenza virus virulent for wild waterbirds? *Proc. Biol. Sci.* 2013; 280(1763):20130990.

DOI: 10.1098/rspb.2013.0990.

13. Jourdain E., Gunnarsson G., Wahlgren J., Latorre-Margalef N., Bröjer C., Sahlin S., Svensson L., Waldenström J., Lundkvist A., Olsen B. Influenza virus in a natural host, the mallard: experimental infection data. *PLoS ONE.* 2010; 5(1):e8935. DOI: 10.1371/journal.pone.0008935.

14. Runstadler J., Hill N., Hussein I.T.M., Puryear W., Keogh M. Connecting the study of wild influenza with the potential for pandemic disease. *Infect. Genet. Evol.* 2013; 17:162–87. DOI: 10.1016/j.meegid.2013.02.020.

15. Lam T.T., Ip H.S., Ghedin E., Wentworth D.E., Halpin R.A., Stockwell T.B., Spiro D.J., Dusek R.J., Bortner J.B., Hoskins J., Bales B.D., Yparraguirre D.R., Holmes E.C. Migratory flyway and geographical distance are barriers to the gene flow of influenza virus among North American birds. *Ecol. Lett.* 2012; 15(1):24–33. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2011.01703.x.

16. Bahl J., Vijaykrishna D., Holmes E.C., Smith G.J.D., Guan Y. Gene flow and competitive exclusion of avian influenza A virus in natural reservoir hosts. *Virology.* 2009; 390(2):289–97. DOI: 10.1016/j.virol.2009.05.002.

17. González-Reiche A.S., Morales-Betoulle M.E., Alvarez D., Betoulle J.L., Müller M.L., Sosa S.M., Perez D.R. Influenza A viruses from wild birds in Guatemala belong to the North American lineage. *PLoS ONE.* 2012; 7(3):e32873. DOI: 10.1371/journal.pone.0032873.

18. Bahl J., Pham T.T., Hill N.J., Hussein I.T.M., Ma E.J., Easterday B.C., Halpin R.A., Stockwell T.B., Wentworth D.E., Kayali G., Krauss S., Schultz-Cherry S., Webster R.G., Webby R.J., Swartz M.D., Smith G.J.D., Runstadler J.A. Ecosystem interactions underlie the spread of avian influenza A viruses with pandemic potential. *PLoS Pathog.* 2016; 12(5):e1005620. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005620.

19. Chen H., Smith G.J.D., Li K.S., Wang J., Fan X.H., Rayner J.M., Vijaykrishna D., Zhang J.X., Zhang L.J., Guo C.T., Cheung C.L., Xu K.M., Duan L., Huang K., Qin K., Leung Y.H.C., Wu W.L., Lu H.R., Chen Y., Xia N.S., Naipospos T.S.P., Yuen K.Y., Hassan S.S., Bahri S., Nguyen T.D., Webster R.G., Peiris J.S.M., Guan Y. Establishment of multiple sublineages of H5N1 influenza virus in Asia: implications for pandemic control. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006; 103(8):2845–50. DOI: 10.1073/pnas.0511120103.

20. Gauthier-Clerc M., Lebarbenchon C., Thomas F. Recent expansion of highly pathogenic avian influenza H5N1: a critical review. *Ibis.* 2007; 149(2):202–14. DOI: 10.1111/j.1474-919-X.2007.00699.x.

21. Lu L., Leigh Brown A.J., Lycett S.J. Quantifying predictors for the spatial diffusion of avian influenza virus in China. *BMC Evol. Biol.* 2017; 17(1):16. DOI: 10.1186/s12862-016-0845-3.

22. Kilpatrick A.M., Chmura A.A., Gibbons D.W., Fleischer R.C., Marra P.P., Daszak P. Predicting the global spread of H5N1 avian influenza. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006; 103(51):19368–73. DOI: 10.1073/pnas.0609227103.

23. World Health Organization (WHO). Antigenic and genetic characteristics of zoonotic influenza viruses and candidate vaccine viruses developed for potential use in human vaccines. (Cited 31 Jan 2020). [Internet]. Available from: https://www.who.int/influenza/vaccines/virus/201909_zoonotic_vaccinevirusupdate.pdf?ua=1.

24. World Health Organization (WHO). Influenza at the human-animal interface - Summary and assessment, 10 April to 10 May 2019. (Cited 31 Jan 2020). [Internet]. Available from: https://www.who.int/influenza/human_animal_interface/Influenza_Summary_IRA_HA_interface_10_05_2019.pdf.

25. World organization for animal health (OIE). Update on highly pathogenic avian influenza in animals (type H5 and H7), 2019. (Cited 31 Jan 2020). [Internet]. Available from: http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/update-on-avian-influenza/2019/.

26. Molini U., Aikukutu G., Roux J.P., Kemper J., Ntahonshikira C., Marruchella G., Khaiseb S., Cattoli G., Dundon W.G. Avian Influenza H5N8 Outbreak in African Penguins (*Spheniscus demersus*), Namibia, 2019. *J. Wildl. Dis.* 2020; 56(1):214–8. DOI: 10.7589/2019-03-067.

27. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control, European Reference Laboratory for Avian Influenza, Adlhoch C., Fusaro A., Kuiken T., Smietanka K., Staubach C., Guajardo M., Baldinelli F. Avian influenza overview August – November 2019. *EFSA Journal.* 2019; 17(12):e05988. DOI: 10.2903/j.efsa.2019.5988.

28. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control, European Reference Laboratory for Avian Influenza, Adlhoch C., Brouwer A., Kuiken T., Miteva A., Mulatti P., Smietanka K., Staubach C., Gogin A., Guajardo M., Baldinelli F. Avian influenza overview November 2018 – February 2019. *EFSA Journal.* 2019; 17(3):e5664. DOI: 10.2903/j.efsa.2019.5664.

29. World Health Organization (WHO). Cumulative number of confirmed human cases of avian influenza A(H5N1) reported to WHO. (Cited 31 Jan 2020). [Internet]. Available from: https://www.who.int/influenza/human_animal_interface/2020_01_20_tableH5N1.pdf?ua=1.

30. World Health Organization (WHO), 2019. Influenza at the human-animal interface - Summary and assessment, 13 February to 9 April 2019. (Cited 31 Jan 2020). [Internet]. Available from: https://www.who.int/influenza/human_animal_interface/Influenza_Summary_IRA_HA_interface_09_04_2019.pdf.

31. World Health Organization (WHO), 2019. Avian Influenza Weekly Update Number 713. WHO, Geneva. 3 pp. (Cited 31 Jan 2020). [Internet]. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/279855/AI-20191101.pdf?sequence=43&isAllowed=y.

32. Qiu Y., Sun R., Hou G., Yu X., Li Y., Li J., Zhang Q., Zou F., Liu H., Jiang W. Novel reassortant H7N2 originating from the H7N9 highly pathogenic avian influenza viruses in China, 2019. *J. Infect.* 2019; 79(5):462–70. DOI: 10.1016/j.jinf.2019.08.016.

33. Sun H., Lin J., Liu Z., Yu Y., Wu M., Li S., Liu Y., Feng Y., Wu Y., Li M., Jiao P., Luo K., Liao M. Genetic, Molecular, and Pathogenic Characterization of the H9N2 Avian Influenza Viruses Currently Circulating in South China. *Viruses.* 2019; 11(11):1040. DOI: 10.3390/v11111040.

34. Yu Z., Cheng K., Gao Y. Poultry Infection with Influenza Viruses of Wild Bird Origin, China, 2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(7):1375–7. DOI: 10.3201/eid2407.171220.

35. Lycett S.J., Duchatel F., Digard P. A brief history of bird flu. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2019; 374(1775):20180257. DOI: 10.1098/rstb.2018.0257.

36. World organization for animal health (OIE). Update on highly pathogenic avian influenza in animals (type H5 and H7), 2020. (Cited 31 Jan 2020). [Internet]. Available from: http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/update-on-avian-influenza/2020/.

Authors:

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

Tran Thi Nhai, Trinh Khac Sau. Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center. Nguyen Van Huyen, Nghia Do, Cau Giay, HaNoi, Vietnam. E-mail: tropcenterhanoi@mail.ru.

Nguyen Ngoc Quyen. Regional Animal Health Office No 3. 51 Nguyen Sinh Sac, Cua Nam, Vinh, Nghe An Vietnam. E-mail: hcthtyv3@gmail.com.

Об авторах:

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

Tran Thi Nhai, Trinh Khac Sau. Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр. Nguyen Van Huyen, Nghia Do, Cau Giay, Ханой, Социалистическая Республика Вьетнам. E-mail: tropcenterhanoi@mail.ru.

Nguyen Ngoc Quyen. Региональное управление по охране здоровья животных № 3. 51 Nguyen Sinh Sac, Cua Nam, Nghe An, Винь, Социалистическая Республика Вьетнам. E-mail: hcthtyv3@gmail.com.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-38-47

УДК 616.932:614.4(470)

Э.А. Москвитина[1], Е.Г. Янович[1], М.Л. Куриленко[1], В.Д. Кругликов[1], С.В. Титова[1], Д.А. Левченко[1], А.С. Водопьянов[1], А.А. Лопатин[2], С.М. Иванова[2], Б.М. Мишанькин[1], А.С. Кривенко[1], Г.Б. Анисимова[1], А.К. Носков[1]

ХОЛЕРА: МОНИТОРИНГ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКИ В МИРЕ И РОССИИ (2010–2019 гг.). ПРОГНОЗ НА 2020 г.

[1]ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация;
[2]ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация

Цель – мониторинг распространения холеры в мире, странах СНГ и Российской Федерации с оценкой рисков и чрезвычайных ситуаций, способствующих активизации эпидемического процесса. Несмотря на тенденцию к снижению в динамике заболеваемости холерой в мире, за период с 2010 по 2019 год эпидемии и крупные вспышки имели место в 96 странах мира. ВОЗ информировала о 2013 импортированных случаях холеры в страны Азии, Америки, в том числе Карибского бассейна, Европы и Австралии с Океанией. В 24 странах выявлены эндемичные по холере административные территории. По данным ВОЗ, снижение уровня заболеваемости холерой в Азии и Африке связано с проведением широкомасштабной вакцинации. При эпидемиологическом надзоре за холерой из поверхностных водоемов в 26 субъектах Российской Федерации изолировано 705 штаммов *V. cholerae* O1, O139 серогрупп, в том числе *V. cholerae* O1 *ctxA*$^+$*tcpA*$^+$ – 10, *V. cholerae* O1 *ctxA*$^-$*tcpA*$^+$ – 35, *V. cholerae* O1 *ctxA*$^-$*tcpA*$^-$ – 655 и *V. cholerae* O139 *ctxA*$^-$*tcpA*$^-$ – 5. Выявление штаммов с уникальными и ранее не встречающимися INDEL-генотипами свидетельствует об их заносном происхождении. Прогноз по холере в мире на 2020 г. с учетом установленной высокой степени активизации эпидемического процесса за счет социальных и природных рисков, обусловленных чрезвычайными ситуациями различного происхождения, наличия эндемичных очагов, завоза инфекции и других факторов риска, – неблагоприятный. Для России прогноз по холере определяется наличием внешних рисков, обусловленных продолжением седьмой пандемии, возможных завозов инфекции в субъекты страны, различные по типам эпидемических проявлений.

Ключевые слова: холера, эпидемия, завозы, эндемичные территории, *V. cholerae* O1, прогноз.

Корреспондирующий автор: Москвитина Эльза Афанасьевна, e-mail: Elza_epid@mail.ru.

Для цитирования: Москвитина Э.А., Янович Е.Г., Куриленко М.Л., Кругликов В.Д., Титова С.В., Левченко Д.А., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Мишанькин Б.М., Кривенко А.С., Анисимова Г.Б., Носков А.К. Холера: мониторинг эпидемиологической обстановки в мире и России (2010–2019 гг.). Прогноз на 2020 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:38–47. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-38-47

Поступила 14.02.20. *Отправлена на доработку* 03.03.20. *Принята к публ.* 27.05.20.

E.A. Moskvitina[1], E.G. Yanovich[1], M.L. Kurilenko[1], V.D. Kruglikov[1], S.V. Titova[1], D.A. Levchenko[1], A.S. Vodop'yanov[1], A.A. Lopatin[2], S.M. Ivanova[2], B.M. Mishan'kin[1], A.S. Krivenko[1], G.B. Anisimova[1], A.K. Noskov[1]

Cholera: Monitoring of Epidemiological Situation around the World and in Russia (2010–2019). Forecast for 2020

[1]Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation;
[2]Plague Control Center, Moscow, Russian Federation

Abstract. **Objective** of the study was to monitor the spread of cholera in the world, in the CIS countries and in Russia with an assessment of risks and emergencies that contribute to the activation of the epidemic process. Despite the downward trend in the global incidence rate of cholera during the period between 2010 and 2019, epidemics and major outbreaks occurred in 96 countries. WHO has reported 2013 imported cases of cholera to countries in Asia, the Americas, including the Caribbean, Europe, and Australia with Oceania; cholera-endemic administrative territories are identified in 24 countries. According to WHO, cholera burden reduction in Asia and Africa is associated with large-scale vaccination. During epidemiological surveillance of cholera, 705 strains of *V. cholerae* O1 and O139 serogroups were isolated from surface reservoirs in 26 constituent entities of the Russian Federation, including 10 strains of *V. cholerae* O1 *ctxA*$^+$*tcpA*$^+$, 35 strains of *V. cholerae* O1 *ctxA*$^-$*tcpA*$^+$, 655 strains of *V. cholerae* O1 *ctxA*$^-$*tcpA*$^-$, and five strains of *V. cholerae* O139 *ctxA*$^-$*tcpA*$^-$ Identification of strains with unique, previously unknown INDEL genotypes testifies to their imported nature. The forecast for cholera in the world for 2020, given the proven high degree of epidemic process activation at the expense of social and environmental risks caused by emergencies of different origin, the presence of endemic foci, infection import and other risk factors is unfavorable. For Russia, the forecast for cholera will be determined by the presence of external risks created by the ongoing 7-th pandemic, possible importation of infection to constituent entities of the Russian Federation that differ by the types of epidemic manifestations.

Key words: cholera, epidemic, importation, endemic areas, *V. cholerae* O1, forecast.

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

Corresponding author: Elza A. Moskvitina, e-mail: Elza_epid@mail.ru.

Citation: Moskvitina E.A., Yanovich E.G., Kurilenko M.L., Kruglikov V.D., Titova S.V., Levchenko D.A., Vodop'yanov A.S., Lopatin A.A., Ivanova S.M., Mishan'kin B.M., Krivenko A.S., Anisimova G.B., Noskov A.K. Cholera: Monitoring of Epidemiological Situation around the World and in Russia (2010–2019). Forecast for 2020. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:38–47. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-38-47

Received 14.02.20. *Revised* 03.03.20. *Accepted* 27.05.20.

Мониторинг эпидемиологической обстановки по холере в мире продолжает оставаться одной из приоритетных задач по реализации стратегии борьбы с инфекцией в соответствии с резолюцией 71-Q Всемирной Ассамблеи Здравоохранения (WHA71.4) [1], что связано с непрекращающимися эпидемиями и вспышками в странах Азии (Йемен), Африки (Демократическая Республика Конго, Зимбабве, Мозамбик, Нигерия и др.), а также в регионе Карибского бассейна (Доминиканская Республика). Актуальность проблемы определяется наличием действующих социальных и природных рисков, чрезвычайных ситуаций (ЧС) различного происхождения, способствующих активизации и продолжительности эпидемий с межконтинентальными, меж- и внутригосударственными заносами холеры в регионы, свободные от инфекции, в том числе в страны СНГ и Россию [2]. Вышеизложенное определяет необходимость мониторинга инфекции на глобальном и других территориальных уровнях.

Цель исследования – мониторинг распространения холеры в мире, странах СНГ и России с оценкой рисков и ЧС, способствующих активизации эпидемического процесса.

Мониторинг эпидемиологической обстановки по холере в мире, выявление возможных факторов риска, чрезвычайных ситуаций различного происхождения (2010–2019 гг.) проводили с использованием Weekly Epidemiological Record of WHO [3–12]; интернет-ресурсов (ProMED-mailpost, ECDC, UNICEF: Cholera outbreaks in Central and West Africa; PubMed и др.), а также данных Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Для определения уровней и тенденции в динамике заболеваемости, летальности, завозов холеры в мире, выявления эндемичных территорий в странах различных континентов применены сведения из проблемно-ориентированных баз данных «Холера Эль-Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в мире» и «Холера Эль-Тор. Мир. Административные территории». Анализ данных о выделении холерных вибрионов О1, О139 серогрупп из поверхностных водоемов в России базировался на донесениях руководителей Управлений Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации. Использованы паспорта на штаммы холерных вибрионов (2010–2019 гг.). Геоинформационная система (ГИС) «Эпидемиологический надзор за холерой» применена при актуализации точек отбора проб воды на холеру в соответствии с данными, полученными из Управлений Роспотребнадзора по субъектам (2019 г.).

INDEL-типирование холерных вибрионов О1 проводили по 9 локусам [13]. Кластерный анализ и построение дендрограммы проводили с использованием авторского программного обеспечения по методу UPGMA. Для построения дендрограммы использовали программу MEGA 5 [14]. Статистическая обработка результатов исследований проводилась с использованием методов, заложенных в программы проблемно-ориентированных баз данных, а также общепринятых статистических методов [15].

Мир. Седьмая пандемия холеры продолжается 59 лет. Всемирная организация здравоохранения отметила, что «...несмотря на такой длительный период, инициативы стран и коллективная глобальная работа привели к обнадеживающим результатам, которые могут иметь решающее значение для долгосрочной национальной и глобальной борьбы с холерой. Хотя истинное глобальное бремя болезни не полностью отражается в ежегодных докладах государств-членов ВОЗ об эпидемиологических показателях холеры, общее число случаев холеры в 2018 г. было на 60 % ниже, чем в 2017 г.» [11].

За период с 2010 по 2019 год в мире зарегистрировано 4359209 случаев холеры, что составило 41,0 % от общего числа за период пандемии. В структуре мировой заболеваемости наибольший удельный вес их приходился на страны Азии – 55,35 % (2413119 больных), на Африканском континенте доля больных холерой составила 24,95 % (1087427), в странах Америки, в том числе Карибского бассейна – 19,45 % (847903), в Австралии с Океанией – 0,24 % (10558), а Европе – 0,01 % (202).

С использованием проблемно-ориентированной базы данных в качестве инструмента для эпидемиологического анализа получена модель динамики заболеваемости холерой в мире, указывающая на тенденцию снижения с 2010 по 2019 год по полиномиальной линии тренда с прогнозом на один год, коэффициентом достоверности аппроксимации – 0,5357 (рис. 1). Следует отметить, что при этом за анализируемый период эпидемии и крупные вспышки имели место в 96 странах мира. ВОЗ информировала о 2013 импортированных случаях холеры в страны Азии, Америки, в том числе страны Карибского бассейна, Европы и Австралии с Океанией; в 24 странах различных континентов выявлено 78 административных территорий (на уровне регионов, штатов, департаментов и других), эндемичных по холере.

В 2019 г., по данным ВОЗ и других источников информации об эпидемиологической обстановке, зафиксировано 856648 случаев холеры (1812 летальных) в 25 странах мира и 293937 больных с подозрением на холеру (559 летальных). При сравнительном анализе помесячной заболеваемости холерой в 2018–2019 гг. установлены круглогодичные ее проявления на различных континентах с переходом с декабря 2019 г. на январь 2020 г. в странах Африки (Кения, Камерун) и Азии (Йемен). В январе 2020 г. о случаях с подозрением на холеру сообщили Сомали и Судан.

Летальность в мире варьировала от 0,21 % (2019 г.) до 2,38 % (2010 г.); в Азии – от 0,13 % (2019 г.) до 1,12 % (2011 г.); в Африке – от 1,30 % (2019 г.) до 2,95 % (2010 г.); в Америке – от 0,8 % (2012 г.) до 2,22 % (2010 г.), в 2019 г. – без летальных; в Европе – 6,67 % (2010 г.), в 2019 г. – без летальных; в Австралии с Океанией – от 0,13 % (2011 г.) до

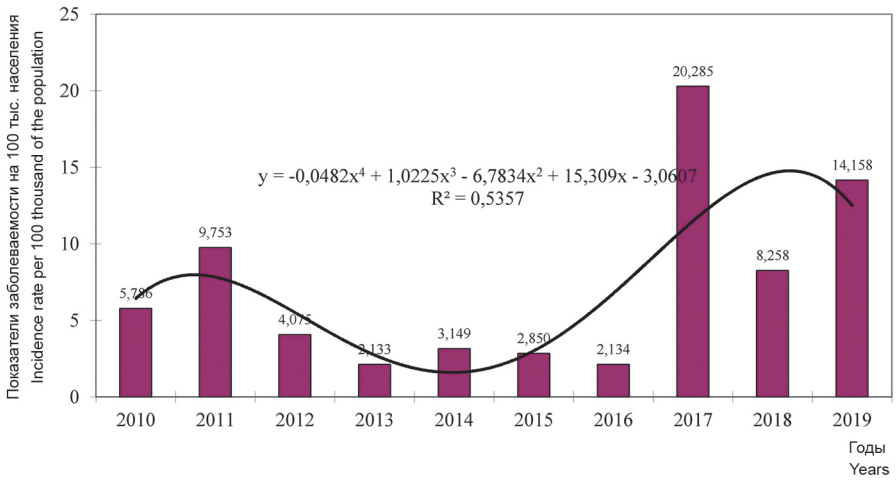


Рис. 1. Динамика заболеваемости холерой в мире с полиномиальной линией тренда 2010–2019 гг.

Fig. 1. The dynamics of cholera incidence around the world with polynomial trend line (2010–2019)

1,06 % (2010 г.), в 2019 г. – без летальных.

Эпидемии и вспышки на всех континентах вызваны высокопатогенными геновариантами *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, содержащими аллели гена B-субъединицы холерного токсина классического типа, с множественной устойчивостью к антибактериальным препаратам, что приводило к возникновению длительных вспышек с тяжелым клиническим течением заболевания [16–19]. Представляют интерес данные о выделении *V. cholerae* O1 classical, положительных на ген *ctxB-cl* в МАМА ПЦР, в Бангладеш, из прудов Мирпур Мазар и Абдуллахпур Бридж [20].

Азия. Выявлена тенденция к снижению в динамике заболеваемости холерой (2010–2019 гг.) по полиномиальной линии тренда с прогнозом на один год, коэффициентом достоверности аппроксимации – 0,6366. В 2019 г. в странах Юго-Западной Азии (Йемен) [12] зарегистрирован 794741 больной холерой и 469 больных в Южной Азии (Бангладеш, Индия, Непал), что составило 93,0 % от числа больных, зарегистрированных в мире. Число умерших – 1012 человек, летальность – 0,13 %. В 2017–2018 гг. на долю больных холерой в Йемене пришлось 99,6 % всех случаев, официально сообщенных ВОЗ из Азии [10, 11].

При оценке эпидемиологической обстановки в Йемене (2019 г.) и различных по характеру ЧС, с учетом их градации и экспертной оценки в баллах [21], установлено, что в стране сохранялся высокий риск активизации эпидемического процесса, чему способствовал продолжающийся военный конфликт [22], который привел к ЧС социального характера: разрушению инфраструктуры водоснабжения, водоотведения и препятствовал их восстановлению [23, 24], миграции населения [25] и отсутствию медицинских центров [23]. Около 10 млн человек страдали от голода в связи с возникшим на фоне войны и экономического спада гуманитарным кризисом. ООН описала ситуацию в стране как «одну из самых страшных гуманитарных катастроф современности» [26]. К усугублению ситуации также привели ЧС природного характера – ливни с последующими наводнениями, которые длились с июня по сентябрь включительно [22, 27]. К этому следует добавить, что в 2019 г. выявлено восемь эндемичных административных территорий в Йемене (Amran, Al Hudaydah, Al Dhale'e, Dhamar, Amanat Al Asimah, Ibb, Hajjah, Sana's), где холеру регистрировали в течение трех лет без заносов извне, что свидетельствует о наличии эпидемиологических рисков для страны и сопредельных государств на 2020 г.

В 2019 г. о холере поступила информация из Индии. В штатах Odisha, Punjab, Uttar Pradesh и Maharashtra зарегистрировано 215 больных холерой (4 летальных случая) и 665 больных с подозрением на холеру. Причиной активизации эпидемического процесса послужили ЧС природного и социального характера. Так, отмечено резкое возрастание числа случаев заболевания холерой после циклона Fani в округе Puri штата Odisha [28]. Причиной возникновения вспышки в штате Maharashtra стала контаминация питьевой воды через поврежденный трубопровод [29].

В сентябре 2019 г. зарегистрировано 88 больных холерой в Бангладеш в округе Cox's Bazar среди рохинджа – беженцев из Мьянмы [30], массовая миграция которых началась в 2017 г. на фоне вооруженных конфликтов. В результате около 1 млн беженцев размещено в лагерях на юго-востоке страны [31].

ВОЗ подчеркивает, что эпидемиологический учет искажается из-за отсутствия полной отчетности из стран Азии с высоким уровнем заболеваемости [11]. В частности, Бангладеш признала холеру в качестве одной из основных угроз общественному здравоохранению, сообщив о случаях заболевания в 2018 г. впервые с 1997 г. При этом делается ссылка на работу M. Ali *et al.* (2015) [32] о том, что «…в этих двух странах (Индия и Бангладеш) с общей численностью населения почти 1,5 млрд человек и высокой эндемичностью холеры истинное число случаев заболевания значительно выше…». В работе F.-X. Weill *et al.* [19] опубликованы эпидемиологические данные и анализ бактериальных геномов, указывающие на продолжающееся распространение холеры в этом регионе Азии и его значение в плане заносов по маршрутам торговли и передвижения людей к уязвимым

регионам Африки и Ближнего Востока.

Необходимо отметить, что ВОЗ зафиксировала сокращение числа случаев заболевания и смерти в Йемене в 2018 г. [11]. Наряду с мерами, направленными на мобилизацию усилий правительства и партнеров на улучшение водоснабжения, санитарии и гигиены, а также на обеспечение надлежащего медицинского обслуживания больных, впервые в стране проведена кампания по пероральной вакцинации (OCV) населения. В 2019 г. вакцинацией охвачены 1087093 человека в мухафазах Aman Al и Asmah, а также 400 тыс. человек в мухафазах Aden, Al Dhale'e и Taiz, в том числе почти 65 тыс. детей в возрасте до 5 лет [33, 34].

Африка. При оценке динамики заболеваемости холерой выявлена тенденция к снижению в 2019 г. относительно 2010 г. по полиномиальной линии тренда с коэффициентом достоверности аппроксимации 0,657. Число больных холерой в странах Африки в 2019 г. составило 61244 человека, в том числе 800 летальных; число случаев с подозрением на холеру – 11806 (134), летальность – 1,3 и 1,1 % соответственно. Наибольшее число случаев холеры зарегистрировано в странах Центральной Африки – 31480 (ДРК – 30304, Камерун – 1071 и др.); в странах Восточной Африки – 27813 (Зимбабве – 10421, Мозамбик – 7034, Кения – 5150, Сомали – 1324 и др.); Западной Африки – 1781 (Нигерия – 1651 и др.), Северной Африки – 346 (Судан – 346).

Чрезвычайные ситуации природного и социального характера способствовали активизации эпидемического процесса на континенте. Так, в марте 2019 г. на Мозамбик обрушился ураган Idai, а в мае – циклон Kennet. Они привели к разрушению инфраструктуры водоснабжения и водоотведения в провинции Sofala [35, 36] с контаминацией источников питьевого водоснабжения, и, как следствие, к дефициту доброкачественной питьевой воды [37], массовой внутренней миграции населения [38] и возникновению эпидемии холеры с регистрацией 7034 больных, из которых 8 – с летальным исходом. В Демократической Республике Конго продолжению эпидемии холеры способствовали вооруженные конфликты [39], неудовлетворительные санитарные условия в густонаселенных трущобах, недостаточно развитая инфраструктура водоснабжения и водоотведения [40], голод [39], а также сезон дождей [41]. В Кении дожди, последовавшие за длительным периодом засухи и голода, привели к внезапным наводнениям в 25 графствах, разрушению систем водоснабжения, способствовали внутригосударственной миграции населения и активизации эпидемического процесса [42].

В течение анализируемого периода отмечено формирование 46 эндемичных административных территорий в 16 странах Восточной (Зимбабве, Кения, Замбия, Сомали, Танзания, Уганда, Малави, Эфиопия), Западной (Нигерия, Гана, Нигер, Либерия), Центральной (Ангола, ДРК, Камерун) и Северной (Южный Судан) Африки, что подтверждает поступательное и последовательное распространение, характерное для холеры. В 2019 г. выявлено 20 эндемичных территорий в восьми странах Западной (Нигерия), Центральной (ДРК) и Восточной (Зимбабве, Кения, Замбия, Сомали, Танзания, Малави, Эфиопия) Африки.

Определенную и немаловажную роль в формировании эндемичных территорий, возникновении и прогнозировании вспышек холеры играют экологические условия водных объектов, благоприятные для накопления и сохранения возбудителя за счет различных параметров окружающей среды: планктона, концентрации хлорофилла в прибрежных экосистемах, водяного гиацинта, покрывающего всю кенийскую часть озера Виктория, возможного формирования холерными вибрионами биопленки [43–45]. В этом плане представляет интерес работа Luis E. Escobar *et al.* [46] по определению экологических переменных, ассоциируемых с присутствием *V. cholerae* в морской среде, разработке глобальной модели распространения *V. cholerae* в водах океана в рамках современного и будущего сценариев климата, использования модели экологической ниши.

К экологическим рискам, способствующим инициированию эпидемического процесса холеры в Африке, отнесен климатический феноменом Эль-Ниньо [47, 48]. С использованием высокоразрешающих методов картографирования S.M. Moore *et al.* [48] установили, что область географического распространения холеры на этом континенте резко менялась в годы температурных флуктуаций Эль-Ниньо, несущего наводнения, ураганы, и, как следствие, ЧС социального характера.

По данным ВОЗ [11], снижение заболеваемости холерой в Африке в 2018 г. по сравнению с 2017 г. можно объяснить несколькими факторами: завершением интенсивной вспышки в Сомали (более 75 тыс. случаев в 2017 г.), ежегодным снижением числа случаев в ДРК почти на 40 % и отсутствием случаев холеры в Южном Судане (16 тыс. случаев в 2017 г.). В 2018 г. в девяти странах континента (ДРК, Малави, Нигер, Нигерия, Сомали, Южный Судан, Уганда, Замбия и Зимбабве) проведена широкомасштабная вакцинация населения пероральной холерной вакциной (OCV). В 25 стран Африки 31 декабря 2018 г. поставлено более 58 млн доз OCV. Масштабная кампания по вакцинации, чтобы остановить эпидемию холеры, вызванную наводнениями после циклона Идай, проведена в 2019 г. в Мозамбике, провинции Sofala, в районах Beira, Busi, Dondo, Nhamatanda с охватом 98,7 % населения (814293 чел.) и провинции Cabo Delago, в районах Pembe, Mecufi и Metuge – 91,8 % населения (253851 чел.) [49, 50]. Кампании вакцинации проведены в Эфиопии, Замбии, Уганде, Сомали, Нигере, Камеруне, ДРК и Судане. При этом ВОЗ [51] сообщает, что из общего числа зарегистрированных больных холерой в Судане 97 % были не

привиты и только 3 % привиты.

Страны Карибского бассейна. *Гаити.* По данным Pan American Health Organization (PAHO/WHO), эпидемия холеры вызвала около 820 тыс. случаев заболеваний с 9792 летальными исходами. Последний подтвержденный случай заболевания холерой зарегистрирован в провинции Artibonite в течение последней недели января 2019 г. Благодаря напряженной работе правительства и населения Гаити в партнерстве с PAHO/WHO и другими организациями не зарегистрировано больше ни одного подтвержденного случая заболевания холерой. При мониторинге сведений о холере Министерства здравоохранения и народонаселения Республики Гаити установлено, что в 2019 г. в стране зарегистрирован 681 случай с подозрением на холеру, 3 – с летальным исходом [52, 53].

Доминиканская Республика. С 2010 по 2019 год в стране выявлено 33476 больных холерой, в 2019 г. – 13. Летальность варьировала от 0,85 % (2018 г.) до 3,28 % (2017 г.), в 2019 г. отсутствовала.

Центральная Америка. В Мексике в 2013 г. имела место вспышка со 187 больными холерой, в 2014 г. выявлено 14, в 2015, 2016 и 2018 гг. – по 1 больному. В 2019 г. информация о холере отсутствовала.

Южная Америка. Зарегистрировано 95 больных холерой, в том числе в Бразилии – 1 (2011 г.), Венесуэле – 49 и 4 (2011 и 2013 гг. соответственно), Парагвае – 5 (2009 г.), Чили – 1, 2 и 1 (2011, 2013 и 2014 гг. соответственно), Эквадоре – 1 (2016 г.). В 2018 г. в Чили зарегистрирована вспышка холеры (31 больной), обусловленная нетоксигенным штаммом *V. cholerae* O1. Из стран Южной Америки сведений о холере в 2019 г. не поступало.

Европа. Заносы холеры имели место в Великобританию (2010–2017 гг.), Францию (2011 г., 2014–2015 гг., 2018 г.), Испанию (2013, 2015, 2017 гг.), Данию (2016 г.), Нидерланды (2013, 2016 гг.), Германию (2010, 2011, 2013–2017 гг.), Швецию (2011, 2015, 2017 гг.), Украину (2011 г.), Италию (2013 г.), Норвегию (2015 г.), Швейцарию (2015 г.) и Чехию (2017 г.). Распространение болезни отмечено только в Украине, где имела место вспышка в 2011 г. с регистрацией 32 больных и 22 вибрионосителей [54]. Из стран Европы сведений о холере в 2019 г. не поступало.

Австралия с Океанией. Имели место крупные вспышки в Папуа-Новая Гвинея – 8997 (2010 г.) и 1535 (2011 г.), заносы в Австралию (2014 г., 2016–2017 гг.) и Новую Зеландию (2018 г.) без распространения возбудителя инфекции. Из стран Австралии с Океанией сведений о холере в 2019 г. не поступало.

Страны СНГ. За анализируемый период отмечены завозы холеры в Казахстан в 2017 и 2018 гг. [55, 56].

Российская Федерация. Эпидемиологическая обстановка по холере за анализируемый период (2010–2019 гг.) характеризовалась завозами инфекции в Москву российскими гражданами, возвратившимися из Индии (2010, 2012, 2014 гг.). Штаммы, выделенные от больных, были отнесены к высокопатогенным вариантам возбудителя холеры Эль Тор, характерным для эндемичных по этой инфекции стран Южной и Юго-Восточной Азии [57].

Из поверхностных водоемов в 26 субъектах РФ изолировано 705 штаммов *V. cholerae* O1, O139 серогрупп, в том числе *V. cholerae* O1 *ctxA*$^+$*tcpA*$^+$ – 10 штаммов (Республика Крым – 8, Ростовская область – 2), *V. cholerae* O1 *ctxA*$^-$*tcpA*$^+$ – 35 штаммов (Ростовская область, Республика Калмыкия, Алтайский край, Республика Коми и Хабаровский край), *V. cholerae* O1 *ctxA*$^-$*tcpA*$^-$ – 655 и *V. cholerae* O139 *ctxA*$^-$*tcpA*$^-$ – 5. В 2019 г. выделено 27 штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, из них 26 – *V. cholerae ctx*A$^-$*tcp*A$^-$ и один – *V. cholerae ctx*A$^-$*tcp*A$^+$ из воды поверхностных водоемов в семи субъектах РФ.

Установлено, что за период с 2010 по 2019 год удельный вес штаммов *V. cholerae* O1, выделенных из поверхностных водоемов в стационарных точках отбора проб, составил:

- в местах неорганизованного рекреационного водопользования – 43,4 % (Ростовская область: 2010–2011 гг., 2013–2014 гг.; 2016 г., 2019 г.; Республика Калмыкия: 2010–2019 гг.; Краснодарский край: 2015 г.; Приморский край: 2011 г., 2016–2017 гг.; Иркутская область: 2010–2011 гг., 2015 г., 2017–2019 гг.; Забайкальский край: 2013 г., 2015–2017 гг. и др. Всего – 15 субъектов РФ);

- в местах сброса сточных вод – 20,3 % (Ростовская область: 2010–2016 гг.; 2018 г.; Республика Крым: 2013–2014 гг.; Республика Калмыкия: 2010–2014 гг.; Приморский край: 2010 г., 2014 г., 2016 г.; Москва: 2011–2012 гг., 2014 г.; Республика Татарстан: 2010 г., 2016 г.; Иркутская область: 2010 г. 2013–2014 гг., 2017 г.; Забайкальский край: 2011–2012 гг., 2015 г., 2017 г., 2019 г.; Хабаровский край: 2013 г., 2016 г., 2018 г. и др. Всего – 14 субъектов РФ);

- в местах организованного рекреационного водопользования – 19,0 % (Республика Крым: 2010–2013 гг., 2016 г.; Севастополь: 2019 г.; Ставропольский край: 2016 г.; Республика Калмыкия: 2010 г., 2012 г., 2014–2018 гг.; Краснодарский край: 2013 г., 2015 г.; Липецкая область: 2011 г., 2019 г.; Челябинская область: 2012 г., 2015 г.; Калининградская область: 2014 г.; Республика Татарстан: 2012 г., 2014 г.; Забайкальский край: 2012–2015 гг.; Свердловская область: 2016–2017 гг.; Псковская область: 2018 г. и др. Всего – 17 субъектов РФ);

- в зонах санитарной охраны поверхностных водоемов, используемых в качестве источников централизованного питьевого водоснабжения – 1,3 % (Астраханская область: 2012 г.; Ростовская область: 2017 г.; Кировская область: 2012 г.; Республика Калмыкия: 2010 г., 2019 г.; Республика Коми: 2016 г.);

- в других точках, в том числе по санитарно-гигиеническим и эпидемиологическим показаниям – 16,0 % (Ростовская область: 2010 г.; Республика Крым: 2010 г.; Краснодарский край: 2015 г.;

Республика Калмыкия: 2011 г.; Приморский край: 2010 г.; Иркутская область: 2017 г.; Забайкальский край: 2010 г., 2016 г.; Хабаровский край: 2019 г.).

Приведенные данные указывают на наличие рисков реализации водного пути распространения возбудителя при заносе холеры. Приведенные данные свидетельствуют об эпидемиологических рисках распространения возбудителя холеры водным путем при завозе инфекции.

Данные о выделении холерных вибрионов О1 из поверхностных водоемов и других объектов окружающей среды на территориях, различных по типам эпидемических проявлений, приведены на рис. 2.

По результатам INDEL-типирования 237 штаммов *V. cholerae* O1, выделенных в 2014–2019 гг., установлено их распределение между 43 генотипов, составивших 9 кластеров (рис. 3). При этом отмечается выделение штаммов одних и тех же генотипов в течении нескольких лет на одной территории, что может свидетельствовать в пользу их персистенции. Так, установлено, что два нетоксигенных штамма *V. cholerae*, выделенных в августе 2019 г. из воды озера Кенон (Чита, Забайкальский край), имеют INDEL-генотип (A7), совпадающий с генотипом ранее выделенных штаммов в этом субъекте. При этом штаммы, принадлежащие к кластеру А, являются доминирующими для Забайкальского края и Иркутской области (рис. 3). По результатам INDEL-типирования выделенные в 2019 г. из водоемов Республики Калмыкия штаммы холерного вибриона О1 принадлежали к кластеру Н (INDEL-генотипы Н1 и Н2). Ранее штаммы этого генотипа выделяли в водоемах Элисты ежегодно, при этом они практически отсутствовали в других субъектах РФ, кроме Приморского края, где изолирован штамм *V. cholerae* INDEL-генотипа Н5 в 2014 г. (рис. 3).

Штамм *V. cholerae* O1 № 363, выделенный из морской воды в зоне организованного рекреационного водопользования в Севастополе, принадлежал к INDEL-генотипу G3, который ранее не встречался на территории Крымского полуострова, что указывает на его заносное происхождение. При этом штаммы кластера G встречались до 2019 г. только в водоемах Республики Калмыкия.

Необходимо отметить, что холерные вибрионы неО1/неО139 серогрупп широко известны как естественные обитатели открытых водоемов. Их роль в этиологии острых кишечных инфекций различной степени тяжести в России и мире приведена в обзоре Е.В. Монаховой и И.В. Архангельской [58]. При анализе результатов мониторинга за холерой в субъектах РФ установлено, что в 2019 г. из поверхностных водоемов *V. cholerae* nonO1/nonO139 изолированы:

- 745 штаммов в зонах санитарной охраны поверхностных водоемов, используемых для питьевого и хозяйственно-бытового централизованного водоснабжения, в 37 субъектах РФ: Астраханская область – 231 штамм, Ростовская область – 109, Ставропольский край – 78, Волгоградская область – 36, Республика Крым и Севастополь – 10, Республика Дагестан – 8 и др.;

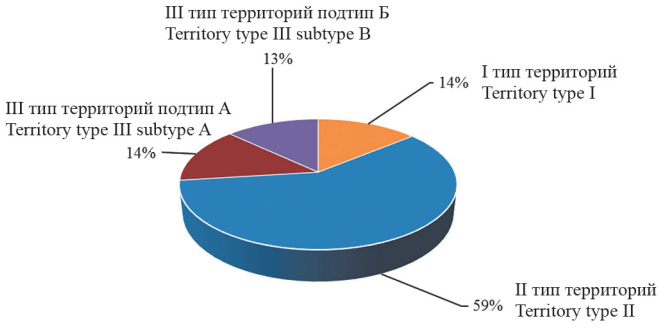


Рис. 2. Удельный вес холерных вибрионов О1 и О139 серогрупп, выделенных из поверхностных водоемов на территориях, различных по типам эпидемических проявлений холеры. Россия, 2010–2019 гг.

Fig. 2. The share of cholera vibrios of O1 and O139 serogroups, isolated from surface water bodies in the territories that differ by types of epidemic manifestations of cholera. Russia, 2010–2019

Субъект РФ RF constituent entity	Год Year	Генотипы Genotypes
Забайкальский край Trans-Baikal Territory	2014	A8
	2015	A7
	2016	A7
	2017	A7
	2019	A7
Иркутская область Irkutsk Region	2014	A8
	2015	A7
	2017	A7 B6 F5
	2018	A1
Калининградская область Kaliningrad Region	2014	A8
Кировская область Kirov Region	2018	A7
Краснодарский край Krasnodar Territory	2015	B6
Липецкая область Lipetsk Region	2019	F5
Приморский край Primorsky Territory	2014	A8 H5
	2016	F5
	2017	F5 F6
Псковская область Pskov Region	2014	A8
	2018	A7
Республика Бурятия Republic of Buryatia	2016	A7
	2017	F6
Республика Калмыкия Republic of Kalmykia	2014	B4 C2 C3 C4 C5 E1 F3 G2 G3 H3 H4 I1
	2015	A7 D2 F5 G3
	2016	A4 C1 C4 F2 F5 H2 H3
	2017	A3 A7 C4 D2 F2 F4 F5 G3 H2
	2018	A2 A5 A6 A7 B1 B3 C4 F1 G1 G4 G5 H1 H2
	2019	H1 H2
Республика Коми Republic of Komi	2016	D1
Республика Крым Republic of Crimea	2014	B7
	2016	B3
	2019	G3
Ростовская область Rostov Region	2014	C4 C5
	2015	D3 F7
	2016	C4 D3 F5
	2017	B5
	2018	D3
	2019	C4
Рязанская область Ryazan Region	2014	A9
Свердловская область Sverdlovsk Region	2016	B2 F5
	2017	F5
Республика Татарстан Republic of Tatarstan	2016	A7
Хабаровский край Khabarovsk Region	2016	D1
	2018	A7
	2019	D1
Челябинская область Chelyabinsk Region	2015	B6
	2016	C4

Рис. 3. Распределение INDEL-генотипов штаммов *V. cholerae* O1 по субъектам Российской Федерации, 2014–2019 гг.

Fig. 3. Distribution of INDEL-genotypes of *V. cholerae* O1 strains by the constituent entities of the Russian Federation (2014–2019)

- 1313 штаммов в местах организованного рекреационного водопользования в 46 субъектах РФ: Ростовская область – 277 штаммов, Волгоградская область – 150, Республика Дагестан – 11, Астраханская область – 42, Республика Крым и Севастополь – 47, Ставропольский край – 90, Приморский край – 34, Краснодарский край – 51, Москва – 24, Калининградская область – 92, Ленинградская область – 32 и др.;

- 1746 штаммов в местах неорганизованного рекреационного водопользования в 45 субъектах РФ: Ставропольский край – 311, Ростовская область – 89, Волгоградская область – 45, Республика Дагестан – 12, Астраханская область – 30, Республика Крым и Севастополь – 11, Приморский край – 82, Краснодарский край – 61, Республика Калмыкия – 19, Республика Татарстан – 75, Свердловская область – 91, Челябинская область – 136, Красноярский край – 149, Новосибирская область – 72, Республика Саха (Якутия) – 21, Забайкальский край – 64 и др.;

- 444 штамма в местах сброса хозяйственно-бытовых сточных вод в 16 субъектах РФ: Республика Крым и город федерального значения Севастополь – 75, Ростовская область – 80, Республика Дагестан – 5, Ставропольский край – 27, Москва – 61, Республика Татарстан – 41, Приморский край – 60, Хабаровский край – 31 и др.;

- 1289 штаммов в других точках отбора из поверхностных водоемов по санитарно-гигиеническим и эпидемиологическим показаниям в 35 субъектах РФ: Ростовская область – 131, Астраханская область – 440, Республика Крым и Севастополь – 133, Ставропольский край – 69, Республика Калмыкия – 95, Приморский край – 6, Калининградская область – 125, Санкт-Петербург – 21, Саратовская область – 14, Республика Саха (Якутия) – 14 и др.

Приведенные данные указывают на широкое распространение *V. cholerae* nonO1/nonO139 в поверхностных водоемах I и II категорий, используемых в качестве источников для централизованного питьевого водоснабжения и рекреационного водопользования соответственно.

При проведении эпидемиологических расследований с целью выявления источников и возможных причин контаминации холерными вибрионами O1 поверхностных водоемов с использованием разработанного алгоритма [59] установлено несоответствие воды поверхностных водоемов СанПиН 2.1.5.980-00 «Гигиенические требования к охране поверхностных вод» в стационарных точках отбора по микробиологическим показателям (общие колиформные бактерии, термотолерантные колиформные бактерии, колифаги) в Республике Калмыкия, Ростовской области, Хабаровском крае, Липецкой области, что свидетельствовало о фекальном происхождении загрязнений (МУК 4.2.1884-04 «Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов»). В ряде субъектов имел место сброс сточных вод (Липецкая область, Забайкальский край). Кроме того, выделению холерных вибрионов предшествовали ливни (Республика Калмыкия, Забайкальский край, Хабаровский край, Иркутская область). Анализ комплекса профилактических мероприятий, проводимых в субъектах в связи с выделением холерных вибрионов, показал, что они направлены на выяснение возможных причин контаминации нетоксигенными холерными вибрионами O1 поверхностных водоемов, используемых для централизованного питьевого водоснабжения и рекреационного водопользования, с рассмотрением вопросов на СПЭК, привлечением соответствующих служб и ведомств для устранения выявленных факторов и условий, способствующих контаминации поверхностных водоемов.

Необходимо отметить наличие внешних потенциальных эпидемиологических рисков, выявленных при определении степени потенциальной эпидемической опасности миграции населения, в том числе из стран, неблагополучных по холере, для 85 субъектов без/с пунктами пропуска через государственную границу Российской Федерации [60].

Эпидемиологическая ситуация по холере в мире оценивается как не стабильная. Несмотря на тенденцию к снижению заболеваемости, завозы в страны, неэндемичные по холере, страны, в которых произошли ЧС природного характера, а также в страны с резким снижением уровня жизни местного населения – остаются основными эпидемиологическими рисками в распространении болезни на глобальном, региональных и национальных уровнях, что определяет неблагоприятный прогноз по холере на 2020 г.

В Российской Федерации прогноз по холере обусловлен потенциальными рисками завоза болезни, связанными с посещением стран, неблагополучных по холере.

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

Список литературы

1. Cholera prevention and control. Seventy-first world health assembly, Agenda item 11.2. [Электронный ресурс]. URL: https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA71/A71_ACONF3Rev1-en.pdf (дата обращения 23.10.2018).

2. Москвитина Э.А., Янович Е.Г., Кругликов В.Д., Титова С.В., Куриленко М.Л., Пичурина Н.Л., Водопьянов А.С., Левченко Д.А., Иванова С.М., Водопьянов С.О., Олейников И.П. Прогноз по холере на 2019 г. на основании анализа эпидемиологической обстановки в мире, СНГ и России в 2009–2018 гг. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2019; 1:64–73. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-64-73.

3. WHO. Cholera, 2010. *Wkly Epidem. Rec.* 2011; 86(31): 325–340.

4. WHO. Cholera, 2011. *Wkly Epidem. Rec.* 2012; 87(31): 289–304.

5. WHO. Cholera, 2012. *Wkly Epidem. Rec.* 2013; 88(31): 321–336.

6. WHO. Cholera, 2013. *Wkly Epidem. Rec.* 2014; 89(31): 345–356.

7. WHO. Cholera, 2014. *Wkly Epidem. Rec.* 2015; 90(40): 517–544.

8.WHO. Cholera, 2015. *Wkly Epidem. Rec.* 2016; 91(38): 433–440.

9. WHO. Cholera, 2016. *Wkly Epidem. Rec.* 2017; 92(36): 521–536.

10. WHO. Cholera, 2017. *Wkly Epidem. Rec.* 2018; 93(38): 489–500.

11. WHO. Cholera, 2018. *Wkly Epidem. Rec.* 2019;

94(48):561–580. [Электронный ресурс]. URL: https://extranet.who.int/iris/restricted/bitstream/handle/10665/330003/WER9448-eng-fre.pdf?ua=1 (дата обращения 01.12.2019).

12. WHO EMRO Weekly Epidemiological Monitor. 2019; 12(52). [Электронный ресурс]. URL: http://applications.emro.who.int/docs/EPI/2019/22244220-2019-12-52.pdf?ua=1 (дата обращения 22.01.2020).

13. Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Олейников И.П., Мишанькин Б.Н. INDEL-типирование штаммов *Vibrio cholerae. Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2017; 22(4):195–200.

14. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance and Maximum Parsimony Methods. *Mol. Biol. Evol.* 2011; 28(10):2731–9. DOI: 10.1093/molbev/msr121.

15. Савилов Е.Д., Мамонтова Л.М., Астафьев В.А., Жданова С.Н. Применение статистических методов в эпидемиологическом анализе. М.: МЕДпресс-информ; 2004. 111 с.

16. Verma J., Bag S., Saha B., Kumar P., Ghosh T.S., Dayal M., Senapati T., Mehra S., Dey P., Desigamani A., Kumar D., Rana P., Kumar B., Maiti T.K., Sharma N.C., Bhadra R.K., Mutreja A., Nair G.B., Ramamurthy T., Das B. Genomic plasticity associated with antimicrobial resistance in *Vibrio cholerae. Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2019; 116(13):6226–31. DOI: 10.1073/pnas.1900141116.

17. Bundi M., Shah M.M., Odoyo E., Kathiiko C., Wandera E., Miring'u G., Guyo S., Langat D., Morita K., Ichinose Y. Characterization of Vibrio cholerae O1 isolates responsible for cholera outbreaks in Kenya between 1975 and 2017 *Microbiol. Immunol.* 2019; 63(9):350–8. DOI: 10.1111/1348-0421.12731.

18. Hounmanou Y.M.G., Leekitcharoenphon P., Kudirkiene E., Mdegela R.H., Hendriksen R.S., Olsen J.E., Dalsgaard A. Genomic insights into Vibrio cholerae O1 responsible for cholera epidemics in Tanzania between 1993 and 2017. *PLoS. Negl. Trop. Dis.* 13(12):e0007934. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007934.

19. Weill F-X., Domman D., Njamkepo E., Almesbahi A.A., Naji M., Nasher S.S., Rakesh A., Abdullah M. Assiri, Sharma N.C., Kariuki S., Pourshafie M.R., Rauzier J., Abubakar A., Carter J.Y., Wamala J.F., Seguin C., Bouchier C., Malliavin T., Bakhshi B, Abulmaali H.H.N., Kumar D., Njoroge S.M., Malik M.R., Kiiru J., Luquero F.J., Azman A.S., Ramamurthy T., Thomson N.R., Quilici1 M-L. Genomic insights into the 2016–2017 cholera epidemic in Yemen. *Nature.* 2019; 565:230–3. DOI: 10.1038/s41586-018-0818-3.

20. Kabir A., Khaleque M., Akhter H., Begum A. Seasonal Pattern of Pathogenic *V. cholerae* and *V. paraheamolyticus* in Surface Water of Dhaka, Bangladesh. *Mymensingh Med. J.* 2019; 28(4):872–80. PMID: 31599254.

21. Cholera, diarrhea & dysentery update (05): Asia (Yemen) WHO. Archive Number: 20190325.6386507. [Электронный ресурс]. URL: https://promedmail.org/promed-post/?id=6386507 (дата обращения 26.03.2019).

22. Cholera, diarrhea & dysentery update (02): Asia (Yemen). Archive Number: 20190307.6265918. [Электронный ресурс]. URL: https://promedmail.org/promed-post/?id=6265918 (дата обращения 11.03.2019).

23. Cholera, diarrhea & dysentery update (11): Asia (Yemen) WHO. Archive Number: 20190420.6432780. [Электронный ресурс]. URL: https://promedmail.org/promed-post/?id=6432780 (дата обращения 22.04.2019).

24. Yemen: Ongoing Fighting in Al Dhaela Province Triggers New Wave of Displacement. Report from International Committee of the Red Cross. International Committee of The Red Cross. [Электронный ресурс]. URL: https://www.icrc.org/en/document/yemen-ongoing-fighting-al-dhaela-province-triggers-new-wave-displacement (дата обращения 05.11.2019).

25. Yemen: 2019 Humanitarian Needs Overview. Report from UN Office for the Coordination of Humanitarian Affairs, UN Country Team in Yemen. [Электронный ресурс]. URL: https://reliefweb.int/report/yemen/yemen-2019-humanitarian-needs-overview-enar (дата обращения 14.02.2019).

26. Yemen: Flash Floods Flash Update No. 3 (As of 3 October 2019). Report from UN Office for the Coordination of Humanitarian Affairs. [Электронный ресурс]. URL: https://reliefweb.int/report/yemen/yemen-flash-floods-flash-update-no-3-3-october-2019-enar (дата обращения 10.08.2019).

27. Москвитина Э.А., Тюленева Е.Г., Кругликов В.Д., Титова С.В., Водопьянов А.С., Куриленко М.Л., Иванова С.М., Анисимова Г.Б., Водопьянов С.О., Олейников И.П. Холера: оценка эпидемиологической обстановки в мире и России в 2008–2017 гг. Прогноз на 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2018; 1:36–43. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-36-43.

28. Cholera, diarrhea & dysentery update (17): Africa. Asia. Archive Number: 20190613.6518570 [Электронный ресурс]. URL: https://promedmail.org/promed-post/?id=6518570 (дата обращения 13.06.2019).

29. Cholera – India (07): (Maharashtra) contaminated water supply, fatal. Archive Number: 20191113.6774475. [Электронный ресурс]. URL: https://promedmail.org/promed-post/?id=6774475 (дата обращения 13.11.2019).

30. Rohingya Refugee Crisis – WHO Bangladesh Bi-Weekly Situation Report #21, 24 October 2019. Report from World Health Organization, 24 October 2019. [Электронный ресурс]. URL: https://reliefweb.int/report/bangladesh/rohingya-refugee-crisis-who-bangladesh-bi-weekly-situation-report-21-24-october (дата обращения 15.11.2019).

31. Invisible – The Rohingyas: the crisis, the people and their health. World Health Organization, 2019. [Электронный ресурс]. URL: https://apps.who.int/iris/handle/10665/327083 (дата обращения 13.12.2019).

32. Ali M., Nelson A.R., Lopez A.L., Sack D.A. Updated global burden of cholera in endemic countries. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(6):e0003832. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003832.

33. Yemen, Health Cluster Bulletin, April 2019, reporting period 01.04.2019 to 30.04.2019. [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int/health-cluster/countries/yemen/Yemen-Health-Cluster-Bulletin-April-2019.pdf (дата обращения 03.05.2019).

34. Second round of oral cholera vaccine reaches nearly 400000 people in Aden, Taiz and Al Dhale'e in Yemen, Aug 2019. [Электронный ресурс]. URL: https://reliefweb.int/report/yemen/second-round-oral-cholera-vaccine-reaches-nearly-400000-people-aden-taiz-and-al-dhale-e (дата обращения 23.08.2019).

35. Cholera, diarrhea & dysentery update (06): Africa (Mozambique). Archive Number: 20190403/6402352. [Электронный ресурс]. URL: https://promedmail.org/promed-post/?id=6402352 (дата обращения 04.04.2019).

36. Cholera, diarrhea & dysentery update (08): Africa. Archive Number: 20190405.6406836. [Электронный ресурс]. URL: https://promedmail.org/promed-post/?id=6406836 (дата обращения 07.04.2019).

37. Cholera – Mozambique (02): (Cabo Delgado). Archive Number: 20190512.6465654. [Электронный ресурс]. URL: https://promedmail.org/promed-post/?id=6465654 (дата обращения 13.05.2019).

38. UNHCR Mozambique – Factsheet: Cyclone Idai, 31 October 2019. Report from UN High Commissioner for Refugees, 31 October 2019. [Электронный ресурс]. URL: https://reliefweb.int/report/mozambique/unhcr-mozambique-factsheet-cyclone-idai-31-october-2019 (дата обращения 31.10.2019).

39. Resources strained as thousands flee conflict in eastern Congo. UN High Commissioner for Refugees. [Электронный ресурс]. URL: https://www.unhcr.org/news/stories/2019/11/5dca62a34/resources-strained-thousands-flee-conflict-eastern-congo.html (дата обращения 12.11.2019).

40. Ebola, choléra et rougeole: Triple menace pour les communautés les plus pauvres de la République démocratique du Congo. World Health Organization. [Электронный ресурс]. URL: https://reliefweb.int/report/democratic-republic-congo/ebola-chol-ra-et-rougeole-triple-menace-pour-les-communaut-s-les (дата обращения 27.09.2019).

41. Cholera – République démocratique du Congo (03) Centre-Est. Archive Number: 20191015.6726707. [Электронный ресурс]. URL: https://promedmail.org/promed-post/?id=6726707 (дата обращения 16.10.2019).

42. Kenya Flash Update No. 2: Floods. 5 November 2019. UN Office for the Coordination of Humanitarian Affairs. [Электронный ресурс]. URL: https://reliefweb.int/report/kenya/kenya-flash-update-no-2-floods-5-november-2019 (дата обращения 07.11.2019).

43. Emch M., Feldacker C., Yunus M., Streatfield P.K., DinhThiem V., Canh D.G., Ali M. Local environmental predictors of cholera in Bangladesh and Vietnam. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2008; 78(5):823–32. DOI: 10.4269/ajtmh.2008.78.823.

44. Feikin D.R., Tabu C.W., Gichuki J. Does water hyacinth on East African lakes promote cholera outbreaks? *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2010; 83(2):370–3. DOI: 10.4269/ajtmh.2010.09-0645.

45. Jutla A.S., Akanda A.S., Islam S. Tracking cholera in coastal regions using satellite observations. *J. Am. Water Resoir. Assoc.* 2010; 46(4):651–62. DOI: 10.1111/j.1752-1688.2010.00448.x.

46. Escobar L., Ryan S.J., Stewart-Ibarra A.M., Finkelstein J.L., King C.A., Qiao H., Polhemus M.E. A global map of suitability for coastal *Vibrio cholerae* under current and future climate conditions. *Acta Trop.* 2015; 149:202–11. DOI: 10.1016/j.actatropica.2015.05.028.

47. Kovats R.S., Bouma M.J., Hajat S., Worrall E., Haines A. El Niño and health. *Lancet.* 2003; 362(9394):1481–9. DOI: 10.1016/S0140-6736(03)14695-8.

48. Moore S.M., Azman A.S., Zaitchik B.F., Mintz E.D., Brunkard J., Legros D., Hill A., McKay H., Luquero F.J., Olson D., Lessler J. El Niño and the shifting geography of cholera in Africa. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017; 114(17):4436–41. DOI: 10.1073/pnas.1617218114

49. Cholera, diarrhea & dysentery update (10): Africa. Archive number: 20190418.6429588. [Электронный ресурс]. URL: https://promedmail.org/promed-post/?id=6429588 (дата обращения 18.04.2019).

50. Cholera and AWD outbreaks in Eastern and Southern Africa. Regional update for 2019 – as of 3 June 2019. [Электронный

ресурс]. URL: https://reliefweb.int/report/mozambique/bulletin-cholera-and-awd-outbreaks-eastern-and-southern-africa-regional-update-3 (дата обращения 11.06.2019).

51. Outbreak update – Cholera in Sudan, 21 December 2019. World Health Organization. [Электронный ресурс]. URL: https://reliefweb.int/report/sudan/outbreak-update-cholera-sudan-21-december-2019 (дата обращения 26.12.2019).

52. Haiti reaches one-year free of Cholera. Pan American Health Organization. [Электронный ресурс]. URL: https://reliefweb.int/report/haiti/haiti-reaches-one-year-free-cholera (дата обращения 28.01.2020).

53. Rapport du Réseau National de Surveillance, 46ème semaine épidémiologique 2019 (du 10 au 16 Novembre 2019). Ministere Sante Publique et de La Population. [Электронный ресурс]. URL: https://mspp.gouv.ht/site/downloads/Rapport_Reseau_National_Surveillance_46eme_SE_2019-fnal.pdf (дата обращения 07.12.2019).

54. Беломеря Т.А., Дараган Г.Н., Денисенко В.И., Родына Р.А., Домашенко О.Н., Акимова Л.С., Гусаков Г.Н., Антонова Л.П., Моховик С.В. Организация противоэпидемических мероприятий по локализации очага холеры в Донецкой области. *Медицинский вестник Юга России.* 2014; 2:118–22. DOI: 10.21886/2219-8075-2014-2-118-122.

55. Сагиев З.А., Мусагалиева Р.С., Абдирасилова А.А., Аязбаев Т.З., Кульбаева М.М., Молдагасимова А.Б., Жунусова А.С., Утепова И.Б., Бегимбаева Э.Ж., Избанова У.А., Омашева Г.М., Турлиев З.С., Иманбекова Ж.Ж., Ниязбеков Н.Ш. О завозных случаях холеры в город Алматы в 2017 г., Казахстан. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2018; 3:83–7. 10.21055/0370-1069-2018-3-83-87.

56. Холера (завозные случаи) – Казахстан (Алматы). Архивный номер: 20180209.5618941. [Электронный ресурс]. URL: https://promedmail.org/promed-post/?id=5618941 (дата обращения 12.11.2019).

57. Смирнова Н.И., Горяев А.А., Заднова С.П., Краснов Я.М., Лозовский Ю.В., Кутырев В.В. Генетическая характеристика штаммов *Vibrio cholerae*, завезенных на территорию Российской Федерации в разные периоды 7 пандемии холеры. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2011; 3:3–10.

58. Монахова Е.В., Архангельская И.В. Холерные вибрионы неО1/неО139 серогрупп в этиологии острых кишечных инфекций: современная ситуация в России и в мире. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2016; 2:14–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-14-23.

59. Москвитина Э.А., Тюленева Е.Г., Самородова А.В., Кругликов, В.Д., Титова С.В., Иванова С.М., Ковалева Т.В., Анисимова Г.Б. Эпидемиологическая обстановка по холере в мире и России в 2007–2016 гг., прогноз на 2017 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2017; 1:13–20. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-1-13-20.

60. Тюленева Е.Г., Москвитина Э.А. Эпидемиологическая оценка миграции населения в возможности заноса холеры в субъекты Российской Федерации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2018; 3:3–10. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-3-3-10.

References

1. Cholera prevention and control. Seventy-first world health assembly, Agenda item 11.2. (Cited 23 Oct .2018). [Internet]. Available from: https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA71/A71_ACONF3Rev1-en.pdf.

2. Moskvitina E.A., Yanovich E.G., Kruglikov V.D., Titova S.V., Kurilenko M.L., Pichurina N.L., Vodop'yanov A.S., Levchenko D.A., Ivanova S.M., Vodop'yanov S.O., Oleynikov I.P. Cholera Forecast for the Year 2019 Based on Assessment of Epidemiological Situation Around the World, Across CIS and Russia in 2009–2018. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019;(1):64–73. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-64-73.

3. WHO. Cholera, 2010. *Wkly Epidem. Rec.* 2011; 86(31): 325–340.

4. WHO. Cholera, 2011. *Wkly Epidem. Rec.* 2012; 87(31): 289–304.

5. WHO. Cholera, 2012. *Wkly Epidem. Rec.* 2013; 88(31): 321–336.

6. WHO. Cholera, 2013. *Wkly Epidem. Rec.* 2014; 89(31): 345–356.

7. WHO. Cholera, 2014. *Wkly Epidem. Rec.* 2015; 90(40): 517–544.

8.WHO. Cholera, 2015. *Wkly Epidem. Rec.* 2016; 91(38): 433–440.

9. WHO. Cholera, 2016. *Wkly Epidem. Rec.* 2017; 92(36): 521–536.

10. WHO. Cholera, 2017. *Wkly Epidem. Rec.* 2018; 93(38): 489–500.

11. WHO. Cholera, 2018. *Wkly Epidem. Rec.* 2019; 94(48):561–580. (Cited 01 Dec 2019). [Internet]. Available from: https://extranet.who.int/iris/restricted/bitstream/handle/10665/330003/WER9448-eng-fre.pdf?ua=1.

12. WHO EMRO Weekly Epidemiological Monitor. 2019; 12(52). (Cited 22 Jan 2020). [Internet]. Available from: http://applications.emro.who.int/docs/EPI/2019/22244220-2019-12-52.pdf?ua=1.

13. Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Oleinikov I.P., Mishan'kin B.N. INDEL-typing of *Vibrio cholerae* strains. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2017; 22(4):195–200.

14. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance and Maximum Parsimony Methods. *Mol. Biol. Evol.* 2011; 28(10):2731–9. DOI: 10.1093/molbev/msr121.

15. Savilov E.D., Mamontova L.M., Astaf'ev V.A., Zhdanova S.N. [Application of Statistical Methods in Epidemiological Analysis]. M.: "MEDpress-inform"; 2004. 111 p

16. Verma J., Bag S., Saha B., Kumar P., Ghosh T.S., Dayal M., Senapati T., Mehra S., Dey P., Desigamani A., Kumar D., Rana P., Kumar B., Maiti T.K., Sharma N.C., Bhadra R.K., Mutreja A., Nair G.B., Ramamurthy T., Das B. Genomic plasticity associated with antimicrobial resistance in *Vibrio cholerae. Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2019; 116(13):6226–31. DOI: 10.1073/pnas.1900141116.

17. Bundi M., Shah M.M., Odoyo E., Kathiiko C., Wandera E., Miring'u G., Guyo S., Langat D., Morita K., Ichinose Y. Characterization of Vibrio cholerae O1 isolates responsible for cholera outbreaks in Kenya between 1975 and 2017 *Microbiol. Immunol.* 2019; 63(9):350–8. DOI: 10.1111/1348-0421.12731.

18. Hounmanou Y.M.G., Leekitcharoenphon P., Kudirkiene E., Mdegela R.H., Hendriksen R.S., Olsen J.E., Dalsgaard A. Genomic insights into Vibrio cholerae O1 responsible for cholera epidemics in Tanzania between 1993 and 2017. *PLoS. Negl. Trop. Dis.* 13(12):e0007934. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007934.

19. Weill F-X., Domman D., Njamkepo E., Almesbahi A.A., Naji M., Nasher S.S., Rakesh A., Abdullah M. Assiri, Sharma N.C., Kariuki S., Pourshafie M.R., Rauzier J., Abubakar A., Carter J.Y., Wamala J.F., Seguin C., Bouchier C., Malliavin T., Bakhshi B, Abulmaali H.H.N., Kumar D., Njoroge S.M., Malik M.R., Kiiru J., Luquero F.J., Azman A.S., Ramamurthy T., Thomson N.R., Quilici1 M-L. Genomic insights into the 2016–2017 cholera epidemic in Yemen. *Nature.* 2019; 565:230–3. DOI: 10.1038/s41586-018-0818-3.

20. Kabir A., Khaleque M., Akhter H., Begum A. Seasonal Pattern of Pathogenic *V. cholerae* and *V. paraheamolyticus* in Surface Water of Dhaka, Bangladesh. *Mymensingh Med. J.* 2019; 28(4):872–80. PMID: 31599254.

21. Cholera, diarrhea & dysentery update (05): Asia (Yemen) WHO. Archive Number: 20190325.6386507. (Cited 26 Mar 2019). [Internet]. Available from: https://promedmail.org/promed-post/?id=6386507.

22. Cholera, diarrhea & dysentery update (02): Asia (Yemen). Archive Number: 20190307.6265918. (Cited 11 Mar 2019). [Internet]. Available from: https://promedmail.org/promed-post/?id=6265918.

23. Cholera, diarrhea & dysentery update (11): Asia (Yemen) WHO. Archive Number: 20190420.6432780. (Cited 22 Apr 2019). [Internet]. Available from: https://promedmail.org/promed-post/?id=6432780.

24. Yemen: Ongoing Fighting in Al Dhaela Province Triggers New Wave of Displacement. Report from International Committee of the Red Cross. International Committee of The Red Cross. (Cited 05 Nov 2019). [Internet]. Available from: https://www.icrc.org/en/document/yemen-ongoing-fighting-al-dhaela-province-triggers-new-wave-displacement.

25. Yemen: 2019 Humanitarian Needs Overview. Report from UN Office for the Coordination of Humanitarian Affairs, UN Country Team in Yemen. (Cited 14 Feb 2019). [Internet]. Available from: https://reliefweb.int/report/yemen/yemen-2019-humanitarian-needs-overview-enar.

26. Yemen: Flash Floods Flash Update No. 3 (As of 3 October 2019). Report from UN Office for the Coordination of Humanitarian Affairs. (Cited 10 Aug 2019) [Internet]. Available from: https://reliefweb.int/report/yemen/yemen-flash-floods-flash-update-no-3-3-october-2019-enar.

27. Moskvitina E.A., Tyuleneva E.G., Kruglikov V.D., Titova S.V., Vodop'yanov A.S., Kurilenko M.L., Pakskina N.D., Ivanova S.M., Anisimova G.B., Vodop'yanov S.O., Oleynikov I.P. Cholera: assessment of epidemiological situation on cholera around the world and in Russia in 2008–2017. Forecast for 2018. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*.. 2018;(1):36-43. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-36-43.

28. Cholera, diarrhea & dysentery update (17): Africa. Asia. Archive Number: 20190613.6518570. (Cited 13 Jun 2019). [Internet]. Available from: https://promedmail.org/promed-post/?id=6518570.

29. Cholera – India (07): (Maharashtra) contaminated water supply, fatal. Archive Number: 20191113.6774475. (Cited 13 Nov 2019). [Internet]. Available from: https://promedmail.org/promed-

post/?id=6774475.

30. Rohingya Refugee Crisis – WHO Bangladesh Bi-Weekly Situation Report #21, 24 October 2019. Report from World Health Organization, 24 October 2019. (Cited 15 Nov 2019). [Internet]. Available from: https://reliefweb.int/report/bangladesh/rohingya-refugee-crisis-who-bangladesh-bi-weekly-situation-report-21-24-october.

31. Invisible – The Rohingyas: the crisis, the people and their health. World Health Organization, 2019. (Cited 13 Dec 2019). [Internet]. Available from: https://apps.who.int/iris/handle/10665/327083.

32. Ali M., Nelson A.R., Lopez A.L., Sack D.A. Updated global burden of cholera in endemic countries. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(6):e0003832. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003832.

33. Yemen, Health Cluster Bulletin, April 2019, reporting period 01.04.2019 to 30.04.2019. (Cited 03 May 2019). [Internet]. Available from: https://www.who.int/health-cluster/countries/yemen/Yemen-Health-Cluster-Bulletin-April-2019.pdf.

34. Second round of oral cholera vaccine reaches nearly 400000 people in Aden, Taiz and Al Dhale'e in Yemen, Aug 2019. (Cited 23 Aug 2019). [Internet]. Available from: https://reliefweb.int/report/yemen/second-round-oral-cholera-vaccine-reaches-nearly-400000-people-aden-taiz-and-al-dhale-e.

35. Cholera, diarrhea & dysentery update (06): Africa (Mozambique). Archive Number: 20190403/6402352. (Cited 04 Apr 2019). [Internet]. Available from: https://promedmail.org/promed-post/?id=6402352.

36. Cholera, diarrhea & dysentery update (08): Africa. Archive Number: 20190405.6406836. (Cited 07 Apr 2019). [Internet]. Available from: https://promedmail.org/promed-post/?id=6406836.

37. Cholera – Mozambique (02): (Cabo Delgado). Archive Number: 20190512.6465654. (Cited 13 May 2019). [Internet]. Available from: https://promedmail.org/promed-post/?id=6465654.

38. UNHCR Mozambique – Factsheet: Cyclone Idai, 31 October 2019. Report from UN High Commissioner for Refugees, 31 October 2019. (Cited 31 Oct 2019). [Internet]. Available from: https://reliefweb.int/report/mozambique/unhcr-mozambique-fact-sheet-cyclone-idai-31-october-2019.

39. Resources strained as thousands flee conflict in eastern Congo. UN High Commissioner for Refugees. (Cited 12 Nov 2019). [Internet]. Available from: https://www.unhcr.org/news/stories/2019/11/5dca62a34/resources-strained-thousands-flee-conflict-eastern-congo.html.

40. Ebola, choléra et rougeole: Triple menace pour les communautés les plus pauvres de la République démocratique du Congo. World Health Organization. (Cited 27 Sept 2019). [Internet]. Available from: https://reliefweb.int/report/democratic-republic-congo/ebola-chol-ra-et-rougeole-triple-menace-pour-les-communaut-s-les.

41. Cholera – République démocratique du Congo (03) Centre-Est. Archive Number: 20191015.6726707. (Cited 16 Oct 2019). [Internet]. Available from: https://promedmail.org/promed-post/?id=6726707.

42. Kenya Flash Update No. 2: Floods. 5 November 2019. UN Office for the Coordination of Humanitarian Affairs. (Cited 07 Nov 2019). [Internet]. Available from: https://reliefweb.int/report/kenya/kenya-flash-update-no-2-floods-5-november-2019.

43. Emch M., Feldacker C., Yunus M., Streatfield P.K., DinhThiem V., Canh D.G., Ali M. Local environmental predictors of cholera in Bangladesh and Vietnam. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2008; 78(5):823–32. DOI: 10.4269/ajtmh.2008.78.823.

44. Feikin D.R., Tabu C.W., Gichuki J. Does water hyacinth on East African lakes promote cholera outbreaks? *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2010; 83(2):370–3. DOI: 10.4269/ajtmh.2010.09-0645.

45. Jutla A.S., Akanda A.S., Islam S. Tracking cholera in coastal regions using satellite observations. *J. Am. Water Resoir. Assoc.* 2010; 46(4):651–62. DOI: 10.1111/j.1752-1688.2010.00448.x.

46. Escobar L., Ryan S.J., Stewart-Ibarra A.M., Finkelstein J.L., King C.A., Qiao H., Polhemus M.E. A global map of suitability for coastal *Vibrio cholerae* under current and future climate conditions. *Acta Trop.* 2015; 149:202–11. DOI: 10.1016/j.actatropica.2015.05.028.

47. Kovats R.S., Bouma M.J., Hajat S., Worrall E., Haines A. El Niño and health. *Lancet.* 2003; 362(9394):1481–9. DOI: 10.1016/S0140-6736(03)14695-8.

48. Moore S.M., Azman A.S., Zaitchik B.F., Mintz E.D., Brunkard J., Legros D., Hill A., McKay H., Luquero F.J., Olson D., Lessler J. El Niño and the shifting geography of cholera in Africa. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017; 114(17):4436–41. DOI: 10.1073/pnas.1617218114

49. Cholera, diarrhea & dysentery update (10): Africa. Archive number: 20190418.6429588. (Cited 18 Apr 2019). [Internet]. Available from: https://promedmail.org/promed-post/?id=6429588.

50. Cholera and AWD outbreaks in Eastern and Southern Africa. Regional update for 2019 – as of 3 June 2019. (Cited 11 Jun 2019). [Internet]. Available from: https://reliefweb.int/report/mozambique/bulletin-cholera-and-awd-outbreaks-eastern-and-southern-africa-regional-update-3.

51. Outbreak update – Cholera in Sudan, 21 December 2019. World Health Organization. (Cited 26 Dec 2019). [Internet]. Available from: https://reliefweb.int/report/sudan/outbreak-update-cholera-sudan-21-december-2019.

52. Haiti reaches one-year free of Cholera. Pan American Health Organization. (Cited 28 Jan 2020). [Internet]. Available from: https://reliefweb.int/report/haiti/haiti-reaches-one-year-free-cholera.

53. Rapport du Réseau National de Surveillance, 46ème semaine épidémiologique 2019 (du 10 au 16 Novembre 2019). Ministere Sante Publique et de La Population. (Cited 07 Dec 2019). [Internet]. Available from: https://mspp.gouv.ht/site/downloads/Rapport_Reseau_National_Surveillance_46eme_SE_2019-fnal.pdf.

54. Belomerya T.A., Daragan G.N., Denisenko V.I., Rodyna R.A., Domashenko O.N., Akimova L.S., Gusakov G.N., Antonova L.P., Mohovik S.V. Organization of epidemic control activities by localization of cholera in the Donetsk Region. *Meditsinsky Vestnik Uga Rossii [Medical Bulletin of the South of Russia]*. 2014; 2:118–22. DOI: 10.21886/2219-8075-2014-2-118-122.

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

56. Cholera (imported cases) – Kazakhstan (Almaty). Archive No : 20180209.5618941. (Cited 12 Nov 2019). [Internet]. Available from: https://promedmail.org/promed-post/?id=5618941.

57. Smirnova N.I., Goryaev A.A., Zadnova S.P., Krasnov Ya.M., Lozovsky Yu.V., Kutyrev V.V. Genetic characterization of *Vibrio cholerae* strains emerging in Russian Federation during 7th cholera pandemic. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology, and Immunobiology]*. 2011; 3:3–10.

58. Monakhova E.V., Arkhangel'skaya I.V. Cholera vibrios of nonO1/nono139 serogroups in etiology of acute intestinal infections: current situation in Russia and around the world. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; (2):14-23. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-14-23.

59. Moskvitina E.A., Tyuleneva E.G., Samorodova A.V., Kruglikov V.D., Titova S.V., Ivanova S.M., Kovaleva T.V., Anisimova G.B. Epidemiological situation on cholera across the globe and in the Russian Federation in 2007–2016. Forecast for 2017. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; (1):13–20. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-1-13-20.

60. Tyuleneva E.G., Moskvitina E.A. Epidemiological assessment of population migration in the possibility of cholera importation into Russian Federation constituents. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology, and Immunobiology]*. 2018; 3:3–10. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-3-3-10.

Authors:

Moskvitina E.A., Yanovich E.G., Kurilenko M.L., Kruglikov V.D., Titova S.V., Levchenko D.A., Vodop'yanov A.S., Mishan'kin B.M., Krivenko A.S., Anisimova G.B., 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.

Lopatin A.A., Ivanova S.M. Plague Control Center. 4, Musorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nln.ru.

Об авторах:

Москвитина Э.А., Янович Е.Г., Куриленко М.Л., Кругликов В.Д., Титова С.В., Левченко Д.А., Водопьянов А.С., Мишанькин Б.М., Кривенко А.С., Анисимова Г.Б., 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.

Лопатин А.А., Иванова С.М. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nln.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-48-56

УДК 616.98:579.841.93

Д.Г. Пономаренко[1], Д.В. Русанова[1], А.А. Хачатурова[1], О.Н. Скударева[2], О.В. Логвиненко[1], Е.Л. Ракитина[1], М.В. Костюченко[1], О.В. Семенко[1],О.В. Малецкая[1], А.Н. Куличенко[1]

АНАЛИЗ ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ И ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ В МИРЕ В 2019 г. И ПРОГНОЗ НА 2020 г. В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

[1]ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация;
[2]Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация

Представлены данные по заболеваемости бруцеллезом в ряде стран мира в 2019 г. Проведена оценка эпизоотической и эпидемической ситуации по бруцеллезу в Российской Федерации в 2019 г. Установлено увеличение количества заболевшего бруцеллезом крупного рогатого скота на 14 % и первичных неблагополучных пунктов по бруцеллезу мелкого рогатого скота на 52 %. Эпизоотии болезни крупного рогатого скота преимущественно регистрировались на территориях Северо-Кавказского (63,5 %), Южного (19,9 %) и Приволжского федеральных округов (7,4 %). Основное количество неблагополучных по бруцеллезу пунктов мелкого рогатого скота, больных овец и коз выявлено в двух федеральных округах – Северо-Кавказском (36,8 %) и Южном (26,3 %). Эпидемические проявления бруцеллеза на территории Российской Федерации тесно связаны с активностью эпизоотического процесса среди основных эпидемически значимых видов сельскохозяйственных животных. В 2019 г. в России зарегистрировано 397 случаев заболевания людей бруцеллезом (0,27 $^{0}/_{0000}$), в том числе 23 (0,08 $^{0}/_{0000}$) среди несовершеннолетних. Количество заболевших и значение показателя заболеваемости в 2019 г. сопоставимы со среднемноголетними данными за последние 10 лет. Наибольшее количество случаев заболевания людей, как и в прошлые годы, установлено в Северо-Кавказском (278 случаев, 70,4 % от общего количества) и Южном (59 случаев, 14,9 %) федеральных округах. Отмечается увеличение относительно многолетних значений заболеваемости людей бруцеллезом в Республике Дагестан, Воронежской, Пензенской областях и Республике Калмыкия. На территориях этих субъектов в 2019 г. отмечалась напряженная эпизоотическая обстановка по бруцеллезу среди крупного и мелкого рогатого скота. С учетом текущей эпизоото-эпидемической обстановки и многолетней динамики развития ситуации по бруцеллезу в Российской Федерации, в 2020 г. можно прогнозировать заболеваемость людей на уровне средних многолетних значений – 0,23–0,27 $^{0}/_{0000}$.

Ключевые слова: бруцеллез, заболеваемость, эпизоотический процесс, эпидемические проявления.

Корреспондирующий автор: Пономаренко Дмитрий Григорьевич, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Для цитирования: Пономаренко Д.Г., Русанова Д.В., Хачатурова А.А., Скударева О.Н., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Семенко О.В., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Анализ эпидемической и эпизоотической ситуации по бруцеллезу в мире в 2019 г. и прогноз на 2020 г. в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:48–56. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-48-56

Поступила 18.03.20. *Принята к публ.* 24.03.20.

D.G. Ponomarenko[1], D.V. Rusanova[1], A.A. Khachaturova[1], O.N. Skudareva[2], O.V. Logvinenko[1], E.L. Rakitina[1], M.V. Kostyuchenko[1], O.V. Semenko[1], O.V. Maletskaya[1], A.N. Kulichenko[1]

Analysis of the Epidemic and Epizootic Situation on Brucellosis around the World in 2019 and the Forecast for the Russian Federation for 2020

[1]Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation;
[2]Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation

The paper presents the data on brucellosis incidence in a number of countries around the world. An assessment of the epizootic and epidemic situation of brucellosis in the Russian Federation in 2019 is performed. In 2019, Russia maintains the presence of an unfavorable epizootic situation for brucellosis. An increase in the number of brucellosis infected cattle by 14 % and primary foci of small cattle infection by 52 % was established. Epizootics of bovine brucellosis were mainly recorded in the North Caucasus (63.5 %), Southern (19.9 %) and Volga federal districts (7.4 %). The main number of points unfavorable for brucellosis of small cattle, and sick sheep and goats were detected in two federal districts – North-Caucasian (36.8 %) and Southern (26.3 %). The epidemic manifestations of brucellosis in the Russian Federation are closely related to the activity of the epizootic process among the main epidemiologically significant species of farm animals. In 2019, Russia registered 397 human brucellosis cases (0.27 $^{0}/_{0000}$), including 23 (0.08 $^{0}/_{0000}$) among minors. The number of cases of brucellosis and the value of the incidence rate in 2019 are comparable with long-term average data over the past 10 years. The largest number of human brucellosis cases, as in previous years, was established in the North-Western Federal District (278 cases, 70.4 % of the total number of cases) and the Southern Federal District (59 cases, 14.9 %). There is an increase in the relative long-term incidence of brucellosis in the Republic of Dagestan, Voronezh, Penza Regions and the Republic of Kalmykia. In the territories of these subjects in 2019, a tense epizootic situation regarding brucellosis among cattle and small cattle was noted. Taking into account the current epizootic and epidemic situation and the long-term dynamics of brucellosis situation development in the Russian Federation, in 2020 it is possible to predict human brucellosis incidence at the level of 0.23–0.27 $^{0}/_{0000}$.

Key words: brucellosis, incidence, epizootic process, epidemic manifestations.

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

Corresponding author: Dmitry G. Ponomarenko, e-mail: stavnipchi@mail.ru.
Citation: Ponomarenko D.G., Rusanova D.V., Khachaturova A.A., Skudareva O.N., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Semenko O.V., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. Analysis of the Epidemic and Epizootic Situation on Brucellosis around the World in 2019 and the Forecast for the Russian Federation for 2020. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:48–56. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-48-56
Received 18.03.20. *Accepted* 24.03.20.

Бруцеллез на современном этапе рассматривается Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) как один из наиболее опасных и распространенных зоонозов в мире. Ежегодно более чем в 170 странах регистрируется свыше 500 тыс. случаев заболевания людей. По мнению ВОЗ, истинное количество заболевших ежегодно может оцениваться в 5–12,5 млн. случаев. В современных реалиях при глобальном распространении бруцеллеза среди животных не исключается возможность заболевания людей ни для одной из стран ввиду риска наличия источника инфекции на данной или граничащей с ней территории. Вместе с тем бруцеллез признан одной из самых распространенных в мире «лабораторно-приобретенных» инфекцией [1, 2].

В последние годы самый высокий уровень заболеваемости людей бруцеллезом в мире регистрируется в Сирии – более 1,5 тысяч случаев на 1 млн. человек. Наиболее высокая заболеваемость отмечается в Ираке (268,8), Саудовской Аравии (149,5), Иране (141,6) [1, 2]

Среди стран Европейского союза эпидемическое неблагополучие отмечается в Греции, где среднемноголетний показатель на 100 тыс. населения ($^0/_{0000}$) составляет 1,43, Португалии (0,48 $^0/_{0000}$), Италии (0,35 $^0/_{0000}$) [2, 3].

На Африканском континенте уже не первый год отмечается тенденция к миграции возбудителя бруцеллеза с севера от Средиземного моря на юг вглубь континента. Это особенно заметно по динамике регистрации эпизоотических очагов инфекции. Отмечается стойкое эпидемическое неблагополучие в Алжире, где за 6 месяцев 2019 г. в 25 муниципалитетах зарегистрировано 154 случая. Заболевания людей преимущественно связаны с потреблением сырого молока и непастеризованных молочных продуктов [4].

В США показатель заболеваемости населения бруцеллезом находится в пределах 0,02–0,09 $^0/_{0000}$. В 2019 г. в штате Пенсильвания, как и в предыдущие годы, выявлены 3 случая заболевания людей, которые в Центре по контролю и профилактике болезней США (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) связывают с употреблением непастеризованного молока от коров, иммунизированных живой вакциной на основе штамма *Brucella abortus* RB51 [5]. В штате Делавэр зарегистрирован случай бруцеллеза, вызванного *Brucella melitensis*. Причиной заболевания человека явилось употребление сырого молока и молочных продуктов, привезенных из Мексики [6].

По данным Министерства здравоохранения Мексики по состоянию на 1 марта 2019 г., в муниципалитете Вилья-Хуарес в штате Сан-Луис-Потоси зарегистрировано 4 случая острого бруцеллеза. В эпидемическом анамнезе всех заболевших отмечено употребление в пищу козьего сыра из непастеризованного молока [7].

Ежегодно в эпизоотически неблагополучных странах регистрируются случаи группового заболевания людей бруцеллезом. Так, в конце 2019 г. в Китае в г. Ланьчжоу зарегистрирована крупная групповая вспышка среди сотрудников и студентов Ветеринарного научно-исследовательского института Академии сельскохозяйственных наук КНР. Первые случаи выявлены 28–29 ноября у четырех студентов, находящихся на практике в ветеринарном институте. При обследовании 317 лиц, имевших контакт с животными (крупный рогатый скот, овцы и биопробные лабораторные животные) и возможными факторами передачи инфекции, выявлено 96 человек с положительными серологическими реакциями [8].

Групповая вспышка зарегистрирована в Турции в г. Муш (провинция Муш). Причиной заболевания 15 человек стало употребление сыра, полученного из молока больных коз. По данным отдела здравоохранения провинции, в 2019 г. в г. Муш подтверждено 119 случаев среди людей. Среднемноголетняя заболеваемость людей бруцеллезом в Турции составляет более 23 $^0/_{0000}$ [9].

В странах Центральной Азии напряженная эпидемическая ситуация складывается в Республике Кыргызстан, где среднемноголетняя заболеваемость более 20,0 $^0/_{0000}$. За период январь–октябрь 2019 г., по сравнению с аналогичным периодом прошлого года, в республике отмечался рост заболеваемости бруцеллезом на 7,2 %. Всего по состоянию на 10 октября 2019 г. зарегистрировано 768 случаев (11,9 $^0/_{0000}$), в 2018 г. – 702 случая (11,1 $^0/_{0000}$). Высокие показатели регистрируются в Нарынской (32,7 $^0/_{0000}$), Жалал-Абадской (23,9 $^0/_{0000}$) и Таласской (14,0 $^0/_{0000}$) областях. [10].

В 2019 г. напряженная эпидемическая ситуация наблюдалась в Казахстане. За период с января по апрель в республике отмечалось увеличение количества заболевших бруцеллезом на 12,7 %, среднемноголетние показатели заболеваемости составляют 17,0 $^0/_{0000}$ [11].

В Республике Армения многолетний показатель заболеваемости людей бруцеллезом за последние 5 лет составляет в среднем 10 $^0/_{0000}$. За период с января по ноябрь 2019 г. установлен 231 случай заболевания людей [12, 13].

Экспертная оценка эпизоотической и эпидемической ситуации в Российской Федерации (РФ) проведена на основе анализа официальных статистических данных Россельхознадзора и Роспотребнадзора о заболеваемости бруцеллезом сельскохозяйственных животных и людей, Федеральной службы го-

сударственной статистики и Департамента ветеринарии Минсельхоза России о количестве поголовья животных и объемах иммунизации скота против бруцеллеза, материалов и сообщений, представленных в специальной научной и периодической печати по вопросам бруцеллеза сельскохозяйственных животных и людей в Российской Федерации, данных эпидемиологического расследования случаев заболевания, предоставленных Референс-центру по мониторингу за бруцеллезом Управлениями Роспотребнадзора по субъектам РФ, а также сведений, обобщенных Федеральным центром гигиены и эпидемиологии по заболеваемости бруцеллезом, объемам вакцинации и ревакцинации подлежащих контингентов против бруцеллеза в разрезе субъектов РФ [14, 15].

Цель исследования – анализ эпидемической и эпизоотической ситуации по бруцеллезу в мире в 2019 г. и прогноз на 2020 г. в Российской Федерации.

По данным Федеральной службы государственной статистики, по состоянию на конец декабря 2019 г. численность поголовья КРС в хозяйствах всех категорий собственности составило 18122,3 тыс. голов, МРС (овцы, козы) – 22617,6 тыс. голов. На долю крестьянских (фермерских) хозяйств и хозяйств населения приходится 10018,5 тыс. голов КРС (55,3 % от общего количества поголовья КРС) и 19065,4 – МРС (84,3 %). Анализ динамики количества сельскохозяйственных животных за последние 20 лет указал на наличие выраженной тенденции к практически ежегодному увеличению поголовья МРС (овец и коз), в том числе в хозяйствах частного сектора, эпидемиологическая значимость которых в отношении бруцеллеза наиболее высока.

В Российской Федерации из-за эпизоотического неблагополучия по бруцеллезу и нарушений санитарно-гигиенических норм и правил при ведении животноводства бруцеллез остается широко распространенной инфекцией и одной из основных причин экономических потерь в животноводческой отрасли сельского хозяйства.

По данным Россельхознадзора, в 2019 г. на территории Российской Федерации совокупная эпизоотическая обстановка по бруцеллезу в популяции эпидемически значимых видов КРС и МРС остается неблагополучная, риск распространения среди животных характеризуется как «высокий». Бруцеллез в структуре основных инфекционных болезней КРС и МРС занимает лидирующие позиции, доля заболеваний среди основных инфекций КРС составляет 30,4 %, МРС – 35,2 %.

В период с 2010 по 2019 год в России зарегистрировано 4283 неблагополучных пункта (н.п.) по бруцеллезу КРС, в которых выявлено 95981 больное животное и 398 н.п. по бруцеллеу МРС, 15880 больных овец и коз (рис. 1).

Всего за 2019 г. установлено 38 н.п. по бруцеллезу МРС, в которых выделено 950 голов больных овец и коз. Больной бруцеллезом МРС регистрировали преимущественно в СКФО – 36,8 % от общего количества н.п. в России (14 н.п., 420 гол.) и ЮФО – 26,3 % (10 н.п., 122 гол.). На территории СКФО эпизоотические очаги бруцеллеза МРС зарегистрированы в Республике Дагестан (11 н.п., 370 гол.) и Ставропольском крае (3 н.п., 50 гол.). В ЮФО больных бруцеллезом коз и овец выявляли в Краснодарском крае (3 н.п., 47 гол.), Республике Калмыкия (5 н.п., 70 гол.), Ростовской (1 н.п., 4 гол.) и Астраханской (1 н.п., 1 гол.) областях.

Неблагополучные пункты по бруцеллезу МРС регистрировали в ПФО – 4 н.п., 158 голов (Пензенская – 2 н.п., 12 гол., Нижегородская – 1 н.п., 95 гол, и Саратовская области – 1 н.п., 51 гол.), ДФО – 4 н.п., 51 гол. (Хабаровский край – 3 н.п., 10 гол., Еврейская автономная область – 1 н.п., 41 гол.), ЦФО – 3 н.п., 44 гол. (Воронежская – 2 н.п., 22 гол., Ярославская – 1 н.п., 7 гол. и Московская области – 15 гол.), СФО – 1 н.п., 137 гол. (Кемеровская область – 1 н.п., 1 гол., Алтайский край – 1 гол.) и УФО – 1 н.п., 1 гол. (Свердловская область).

Среднее многолетнее значение показателя очаговой инцидентности (ОИ – среднее количество заболевших животных в одном неблагополучном пункте) за период 2010–2019 гг. по бруцеллезу КРС составило 39,1, МРС – 41,6. В 2019 г. показатель ОИ по бруцеллезу КРС составил 28, МРС – 41. В последнее десятилетие отмечается четко выраженная тенденция по снижению значения ОИ бруцеллеза КРС. Это, вероятно, связано с регистрацией эпизоотий преимущественно в хозяйствах индивидуального сектора (КФХ, ЛПХ и др.), количество поголовья в которых в пересчете на одно хозяйство, как правило, существенно ниже, чем в общественном секторе.

Обеспечение эпизоотического благополучия по бруцеллезу на территории Российской Федерации осуществляется за счет реализации на конкретной территории комплекса организационно-хозяйственных, зоогигиенических и ветеринарно-санитарных профилактических мер. Важнейшая роль в борьбе с бруцеллезом животных отводится специфической профилактике. Плановая вакцинация скота является одним из ключевых факторов контроля заболеваемости и снижения эпидемиологических рисков.

По данным Департамента ветеринарии Минсельхоза России, в период с 2013 по 2019 год вакцинировано против бруцеллеза 12486,34 тыс. гол. КРС и 33945,63 тыс. гол. МРС. В 2019 г. привито 1701,4 тыс. гол. КРС (в среднем 107,8 % от плана на 2019 г.) и 4521,02 – МРС (88,7 %). Анализ за последние 7 лет (2013–2019 гг.) динамики объемов иммунопрофилактики бруцеллеза среди эпидемиологически значимых видов КРС и МРС указывает на имеющуюся тенденцию к незначительному снижению количества вакцинированного поголовья скота.

Согласно плану иммунизации животных в Российской Федерации на 2020 г., вакцинации против бруцеллеза подлежит 1785,3 тыс. голов КРС и 5573,9 – МРС.

Эпидемическая обстановка по бруцеллезу в Российской Федерации за последние 10 лет ха-

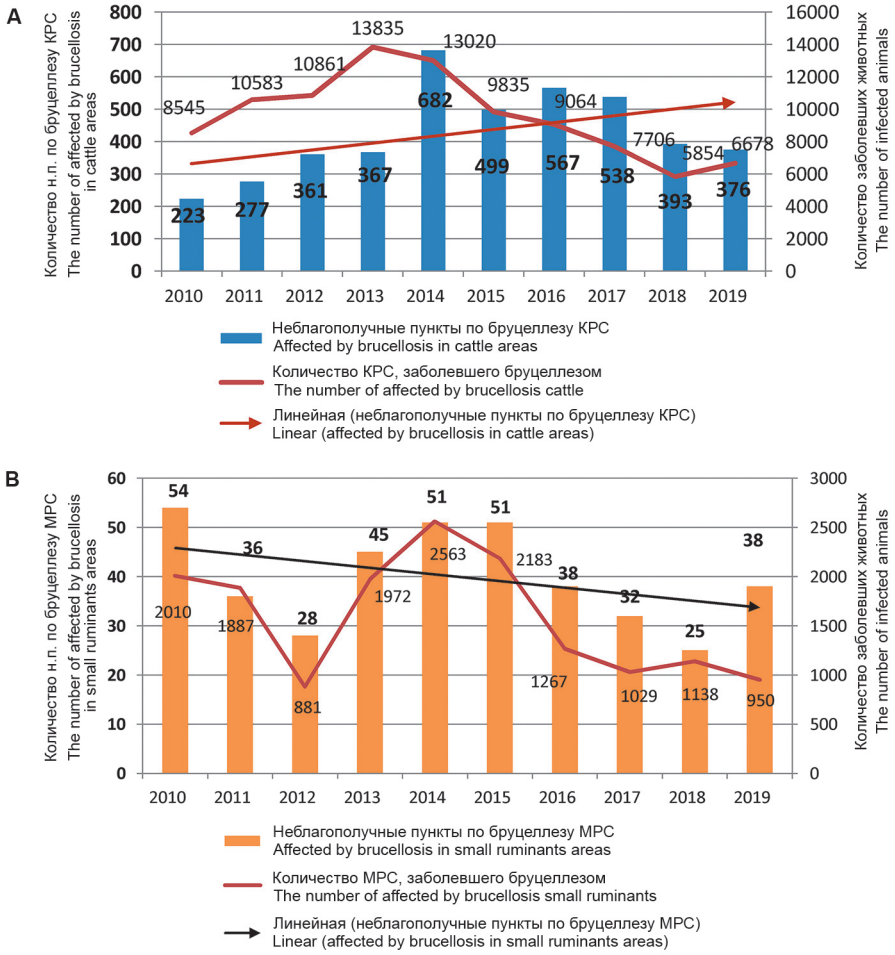


Рис. 1. Динамика регистрации количества заболевших бруцеллезом животных и первичных неблагополучных пунктов по бруцеллезу КРС (***A***) и МРС (***B***) в 2010–2019 гг.

Fig. 1. Dynamics of registration of brucellosis incidence among animals and primary disadvantaged as regards brucellosis in cattle (***A***) and ruminants (***B***) areas in 2010–2019

рактеризовалась как неблагополучная с тенденцией к снижению уровня заболеваемости. В период 2010–2019 гг. зарегистрировано 3820 случаев впервые выявленного бруцеллеза среди людей. Среднее многолетнее количество заболевших составляет 382 случая в год, в том числе среди детей до 17 лет – 31 случай. Среднемноголетний интенсивный показатель заболеваемости на 100 тыс. населения составил 0,26, среди детей до 17 лет – 0,11 $^{0}/_{0000}$ (рис. 3). Наибольшее количество случаев бруцеллеза выявлено на территории СКФО, ЮФО, ПФО и СФО [16] (рис. 2, 3).

В 2019 г. в Российской Федерации зарегистрировано 397 случаев заболевания людей бруцеллезом (0,27 $^{0}/_{0000}$), в том числе 23 (0,08 $^{0}/_{0000}$) – среди несовершеннолетних. Количество заболевших и значение интенсивного показателя заболеваемости на 100 тыс. населения в 2019 г. сопоставимо со среднемноголетними значениями за последние 10 лет. В сравнении со средней многолетней (2010–2019 гг.) заболеваемостью детей до 17 лет (0,11 $^{0}/_{0000}$, 31 сл.) можно отметить снижение в 2019 г. абсолютного количества заболевших несовершеннолетних детей на 25,8 % (8 сл.).

В 2019 г. впервые выявленный бруцеллез среди людей регистрировался в 33 субъектах России. Наибольшее количество случаев заболевания людей, как и в прошлые годы, установлено в СКФО (70,0 % от общего количества случаев) и ЮФО (15,1 %).

На территории СКФО наблюдается длительное эпизоотическое неблагополучие, что обусловливает ежегодные эпидемические проявления бруцеллеза. За период 2010–2019 гг. в округе установлено 2449 случаев заболевания людей. Среднее многолетнее количество подтвержденных случаев среди людей составляет 245 случаев (2,57 $^{0}/_{0000}$). В 2019 г. выявлено 278 заболевших бруцеллезом (2,84 $^{0}/_{0000}$), в том числе 20 случаев среди детей до 17 лет (0,76 $^{0}/_{0000}$). В сравнении со средней многолетней заболеваемостью людей бруцеллезом в округе, в прошлом году отмечается увеличение количества случаев бруцеллеза на 14 % (33 сл.).

Наиболее высокая заболеваемость людей бруцеллезом в округе регистрируется в Республике Дагестан, где за последние 10 лет установлено 1568 случаев бруцеллеза (в среднем 157 сл. в год, 5,38 $^{0}/_{0000}$). Эпидемическая ситуация в республике характеризуется как «стойкое неблагополучие». В 2019 г. в республике выявлено 202 случая (51,1 % от общероссийских показателей) бруцеллеза у людей (6,62 $^{0}/_{0000}$), что на 28,6 % (45 сл.) выше среднемноголетних значений. На протяжении последних десятилетий в республике ежегодно регистрируется самый высокий в стране уровень заболеваемости бруцеллезом детей до 17 лет. В 2019 г. подтверждено 18 случаев (2,03 $^{0}/_{0000}$) заболевания несовершеннолетних (78,3 % от общероссийских показателей), что сопоставимо со значениями средней многолетней заболеваемости в Республике

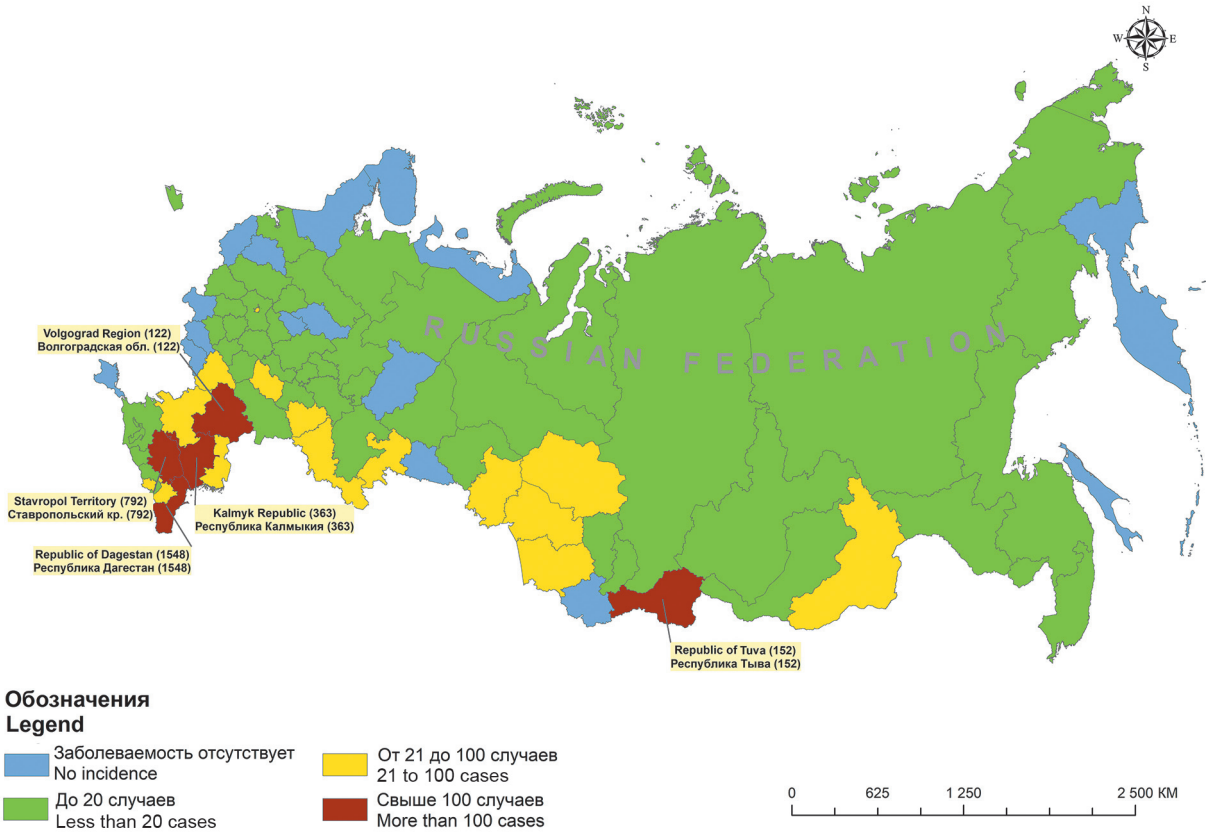


Рис. 2. Регистрация случаев бруцеллеза среди людей на территории Российской Федерации в период 2010–2019 гг.

Fig. 2. Registration of brucellosis cases in humans in the territory of the Russian Federation between 2010 and 2019

Дагестан (1,93 $^{0}/_{0000}$, 16 сл.). Высокая заболеваемость детей бруцеллезом в Дагестане связана с традиционно активным привлечением их к обслуживанию и кормлению животных.

В период с апреля по июнь в Дахадаевском районе республики в с. Трисанчи зарегистрирована групповая вспышка бруцеллеза. Заболело 11 человек, источником инфекции стал больной КРС из личного подсобного хозяйства. Инфицирование людей возбудителем произошло в результате непосредственного контакта с животными при обслуживании и кормлении.

Случаи заболевания людей бруцеллезом в Республике Дагестан регистрировались в течение всего календарного года, при этом можно выделить два периода с наибольшим количеством заболевших – апрель–август (105 сл., 52 %) и октябрь–декабрь (56 сл., 27,7 %). Весенне-летняя сезонность заболевания, наиболее вероятно, обусловлена тесными контактами людей с инфицированными животными в период окотной кампании, стрижки и проведения ветеринарных обработок перед летним сезоном. Выявление заболевших в период осень–зима можно связать с участием заболевших в работах по убою скота и первичной переработке сырья. По данным эпидемиологических расследований случаев бруцеллеза установлено, что среди заболевших преобладают лица в возрасте 18–60 лет (80,2 %, 162 сл.), мужского пола (71,8 %, 145 сл.). Доля жителей сельской местности среди больных составила 88,1 % (178 сл.), в том числе детей до 17 лет (14 сл.). Анализ структуры заболевших показал, что среди контингентов риска бруцеллез выявлен у 13 человек (6,43 %) профессионально связанных с животноводством (зооветспециалисты, чабаны, сакманщики, скотники и др.), 116 случаев (57,4 %) – индивидуальные владельцы животных. Из числа установленных источников инфекции КРС составил 58,5 % (72 сл.), МРС – 41,5 % (51 сл.). В 123 случаях (60,9 %) реализован контактный механизм передачи инфекции (прямой и/или бытовой путь инфицирования), 56 случаев (27,7 %) – фекально-оральный (пищевой путь). Бруцеллез в Республике Дагестан регистрировался на территории 40 административных субъектов. Наибольшее количество заболевших выявляли среди жителей Буйнакского (20 сл.), Акушинского (18 сл.), Дахадаевского (14 сл.), Хунзанского (12 сл.), Левашинского (9 сл.) районов и Махачкалы (11 сл.).

К одному из наиболее неблагополучных по бруцеллезу регионов России относят Ставропольский край, где в последние 10 лет заболеваемость людей не менее чем в десять раз превышала общероссийские значения. В период 2010–2019 гг. в крае установлено 792 случая (20,7 % от общего количества случаев в России) заболевания людей бруцеллезом (в среднем 79 сл. в год, 2,86 $^{0}/_{0000}$).

В 2019 г. в Ставропольском крае зарегистрировано 68 человек (2,43 $^{0}/_{0000}$) с впервые выявленным

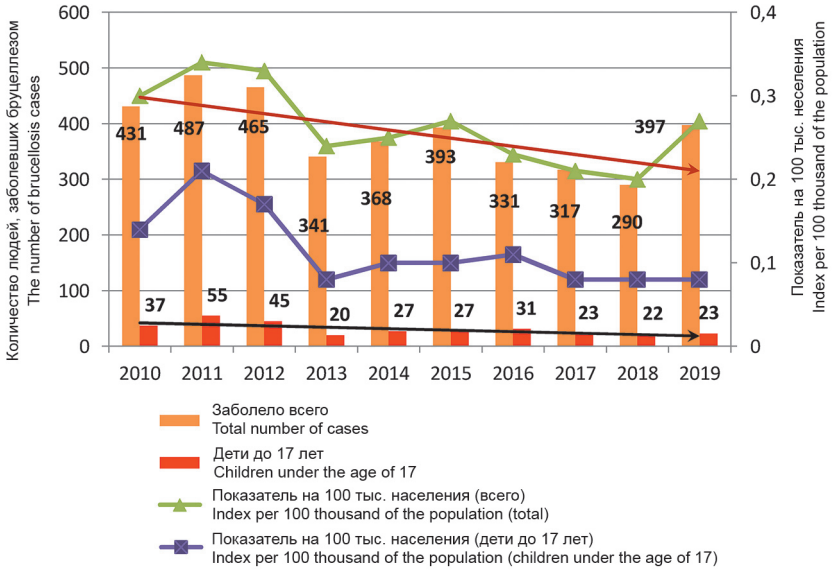


Рис. 3. Динамика регистрации заболеваемости и количества заболевших бруцеллезом людей в Российской Федерации в 2010–2019 гг.

Fig. 3. Dynamics of incidence and the number of human brucellosis cases in the Russian Federation in 2010–2019

бруцеллезом (17,1 % от общероссийских значений в 2019 г.). Заболевания людей регистрировались в январе, марте и в период с мая по декабрь. Наибольшее количество заболевших выявлено в июле–августе (27 случаев, 39,7 %).

Среди заболевших преобладали жители сельской местности (82,3 %, 56 сл.), доля лиц из группы профессионального риска (зооветспециалисты, чабаны, животноводы, работники МТФ и др.) составила 16,2 % (11 чел.), индивидуальных владельцев животных – 10,3 % (7 чел.). Из числа установленных факторов передачи инфекции 78,7 % (42 сл.) – продукты животноводства (молоко, кисломолочные продукты, мясо, мясные продукты), 22,2 % – сырье животного происхождения. Преобладал фекально-оральный механизм передачи (пищевой путь) возбудителя инфекции. Наибольшее количество заболевших бруцеллезом в Ставропольском крае зарегистрировано в Левокумском (13 сл.) и Нефтекумском (10 сл.) районах, граничащих с субъектами России, эпизоотически неблагополучными по бруцеллезу (республики Калмыкия и Дагестан).

Случаи заболевания людей бруцеллезом в СКФО отмечены также на территории Карачаево-Черкесской (3 сл., 0,64 $^{0}/_{0000}$), Северная Осетия-Алания (3 сл., 0,43 $^{0}/_{0000}$), Кабардино-Балкарской (1 сл., 0,12 $^{0}/_{0000}$), Чеченской (1 сл., 0,07 $^{0}/_{0000}$) республик. Небольшой уровень заболеваемости людей бруцеллезом на территории указанных субъектов СКФО на фоне достаточно длительного и выраженного эпизоотического неблагополучия, может быть обусловлен недостаточной выявляемостью заболевших людей, связанной с гиподиагностикой бруцеллеза и низкой обращаемостью сельского населения республик СКФО за медицинской помощью.

Эпидемическая ситуация по бруцеллезу на территории ЮФО продолжает оставаться достаточно напряженной. За период 2010–2019 гг. в округе зарегистрировано 566 случаев бруцеллеза (в среднем 57 сл. в год, 0,39 $^{0}/_{0000}$), что составляет 14,8 % от общего количества заболевших в Российской Федерации за последние 10 лет. В 2019 г. в ЮФО зарегистрировано 60 сл. (0,36 $^{0}/_{0000}$), что сопоставимо со средними многолетними значениями.

Основное количество (64,1 % за 2010–2019 гг.) заболевших в округе регистрируется среди жителей Республики Калмыкия, на территории которой отмечается стойкое эпизоотическое неблагополучие по бруцеллезу МРС и КРС. За последние 10 лет в республике установлено 363 случая впервые выявленного бруцеллеза у людей (в среднем 36 сл. в год, 12,83 $^{0}/_{0000}$).

В 2019 г. в Калмыкии выявлено 42 (14,82 $^{0}/_{0000}$) заболевших (10,6 % от общероссийских показателей), что выше среднемноголетних значений на 16,6 % (6 сл.). Заболевания людей регистрировались в январе и в период с апреля по декабрь, с наибольшим количеством зарегистрированных больных (54,7 %, 23 сл.) с июня по сентябрь.

В июле–августе в Малодербетовском районе Тундутовского СМО зарегистрирована групповая (7 чел.) вспышка бруцеллеза. Заболевание людей произошло на фоне невыявленной эпизоотии среди МРС в личном подсобном хозяйстве. Инфицирование людей возбудителем бруцеллеза произошло в результате контакта с больными животными при уходе за ними, родовспоможении, а также убое и первичной переработке сырья, полученного от больных бруцеллезом животных. Основными причинами эпизоотии и возникновения групповой вспышки бруцеллеза является несанкционированный ввод в стадо больных животных и последующее распространение инфекции.

Анализ результатов эпидемиологических расследований случаев заболевания людей бруцеллезом показал, что источником инфекции в республике чаще был МРС (76,6 % от всех установленных случаев). В 40,5 % случаев определен контактный механизм передачи возбудителя (превалирующие факторы передачи инфекции – естественные выделения больных животных). Наибольшее количе-

ство случаев регистрировалось в Лаганском (12 сл.), Малодербетовском (8 сл.) и Целинном (6 сл.) районах республики.

Вместе с тем случаи заболевания людей бруцеллезом в ЮФО отмечены в Волгоградской (9 сл., 0,36 $^{0}/_{0000}$), Ростовской (5 сл., 0,12 $^{0}/_{0000}$), Астраханской (3 сл., 0,29 $^{0}/_{0000}$) областях и Республике Крым (1 сл., 0,05 $^{0}/_{0000}$).

В ЦФО в 2019 г. зарегистрировано 18 сл. (0,05 $^{0}/_{0000}$) заболевания людей бруцеллезом, что выше среднемноголетних значений (в среднем 13 сл. в год, 0,03 $^{0}/_{0000}$) за последние 10 лет. Основное количество заболеваний в округе – 77,7 % (14 сл., 0,60 $^{0}/_{0000}$) выявлено на территории Воронежской области, где в январе–сентябре 2019 г. в хозяйствах индивидуального сектора выявлены эпизоотические очаги бруцеллеза. Заболевания людей регистрировались в населенных пунктах Новохоперского района (10 сл.) и Воронеже (4 сл.). Источником инфекции для людей в 71,4 % случаев являлся КРС, а в 28,5 % – МРС. В качестве основного механизма передачи инфекции определен фекально-оральный (пищевой путь, факторы передачи инфекции – продукты животноводства).

Кроме того, случаи впервые выявленного бруцеллеза в ЦФО регистрировали среди жителей Ярославской области (1 сл., 0,08 $^{0}/_{0000}$) и в Москве (3 сл., 0,02 $^{0}/_{0000}$).

В ПФО эпидемическая ситуация по бруцеллезу остается достаточно напряженной. В период 2010–2019 гг. в округе зарегистрировано 163 случая заболевания людей (в среднем 16 сл. в год, 0,07 $^{0}/_{0000}$). В 2019 г. зафиксировано 18 случаев (0,06 $^{0}/_{0000}$) впервые выявленного бруцеллеза, что сопоставимо со значениями показателя средней многолетней заболеваемости в округе.

В 2019 г. наибольшее количество заболевших (64,7 % от всех случаев бруцеллеза в ПФО) выявлено на территории Пензенской области – 11 человек (0,82 $^{0}/_{0000}$) с впервые выявленным бруцеллезом. Заболевания людей в области связаны с эпизоотическим неблагополучием территории по бруцеллезу КРС и МРС. За 9 месяцев 2019 г. в области установлено 7 н.п. (60 гол.) по бруцеллезу КРС и 2 н.п. (12 гол.) – МРС, все н.п. выявлены в индивидуальном секторе. По данным эпидемиологических расследований, в Пензенской области установлено три случая профессионального заболевания людей (ветеринарные врачи). Основным источником инфекции для людей являлся больной бруцеллезом КРС (81,8 %), ведущий механизм передачи инфекции – контактный, факторы передачи – естественные выделения больных животных.

Также заболевания людей бруцеллезом в ПФО регистрировали в Самарской области (3 сл., 0,09 $^{0}/_{0000}$), республиках Чувашия (2 сл., 0,16 $^{0}/_{0000}$) и Татарстан (1 сл., 0,03 $^{0}/_{0000}$), в Саратовской области (1 сл., 0,04 $^{0}/_{0000}$)

В последние годы в СФО отмечается улучшение эпидемической ситуации по бруцеллезу. Начиная с 2016 г. наблюдается снижение и стабилизация заболеваемости на уровне 0,07 $^{0}/_{0000}$. Многолетние значения за последние 10 лет составляют в среднем 41 случай в год, 0,21 $^{0}/_{0000}$. В 2019 г. в округе установлено 9 случаев (0,05 $^{0}/_{0000}$) впервые выявленного бруцеллеза, что существенно ниже среднемноголетних показателей. Бруцеллез у людей регистрировался в Республике Тыва (3 сл., 0,94 $^{0}/_{0000}$), Омской (2 сл., 0,1 $^{0}/_{0000}$), Томской (1 сл., 0,09 $^{0}/_{0000}$) областях и в Алтайском крае (2 сл., 0,08 $^{0}/_{0000}$).

В ДФО в 2019 г. выявлено девять случаев бруцеллеза среди людей (0,15 $^{0}/_{0000}$), из которых четыре – в Забайкальском крае (0,37 $^{0}/_{0000}$), два – в Еврейской автономной области (1,23 $^{0}/_{0000}$) и по одному случаю в Приморском (0,05 $^{0}/_{0000}$), Хабаровском (0,08 $^{0}/_{0000}$) краях и Амурской области (0,12 $^{0}/_{0000}$).

В УФО зарегистрировано четыре случая заболевания людей бруцеллезом – в Ханты-Мансийском автономном округе (2 сл., 0,12 $^{0}/_{0000}$), Свердловской (1 сл., 0,02 $^{0}/_{0000}$) и Челябинской (1 сл., 0,03 $^{0}/_{0000}$) областях.

На территории СЗФО установлен один случай бруцеллеза (0,01 $^{0}/_{0000}$) в Республике Коми (0,12 $^{0}/_{0000}$).

В 2019 г. план вакцинации людей против бруцеллеза в Российской Федерации выполнен на 103,55 %, ревакцинации – на 86,01 %. Иммунизация населения проведена в 30 субъектах Российской Федерации, всего привито 3983 человека, из которых 2293 ревакцинированы. Наибольшее количество людей привито в СКФО (1050 чел., 26,4 % от общего количества иммунизированных), ПФО (960 чел., 24,1 %), СФО (921 чел., 23,1 %) и ЮФО (572 чел., 14,7 %).

При наличии запланированных объемов не приступали к вакцинации в Чеченской Республике и в Республике Марий Эл, плановая ревакцинация не проведена в Волгоградской и Смоленской областях. Не выполнены планы по вакцинации в Волгоградской (64,8 %), Самарской (87,8 %), Новосибирской (95,3 %) областях, Ставропольском крае (90,3 %) и ревакцинации в Ставропольском крае (26,08 %), Самарской (74,38 %), Ростовской (80 %), Оренбургской (89,03 %), Саратовской (95,08 %), Воронежской (96,6 %), Омской (97,37 %), Новосибирской (98,57 %) областях, республиках Башкирия (39 %), Тыва (96,3 %) и Дагестан (97,2 %).

Некорректное планирование объемов иммунизации против бруцеллеза отмечается в Республике Тыва (153,6 %), Московской области (150 %). В Иркутской области план выполнен на 200 %, при этом, планировали вакцинировать двух человек, по факту привили четырех.

Вместе с тем при отсутствии планируемых на 2019 г. объемов иммунизации вакцинация по эпидемическим показаниям проведена в Татарстане, Ростовской, Томской областях и Красноярском крае.

В 2020 г. в Российской Федерации планируется иммунизировать против бруцеллеза 4222 человека, из которых 2535 ревакцинировать. Наибольшие

объемы иммунизации запланированы в СКФО (1214 чел., 28,7 % от общей численности контингента, подлежащего в 2020 г. плановой иммунизации), СФО (1011 чел., 23,9 %) ПФО (788 чел., 18,6 %) и ЮФО (615 чел., 14,6 %).

Таким образом, на протяжении последних лет эпизоото-эпидемическая ситуация по бруцеллезу в России характеризовалась как неблагополучная. Эпидемические проявления на территории Российской Федерации тесно связаны с активностью эпизоотического процесса среди основных эпидемически значимых видов сельскохозяйственных животных – МРС и, в большей степени, КРС, тренд заболеваемости которого восходящий. В 2019 г., по сравнению с аналогичным периодом 2018 г., в России отмечается сохранение неблагополучной эпизоотической ситуации по бруцеллезу. Установлено увеличение количества заболевшего КРС на 14 % и первичных н.п. по бруцеллезу МРС на 52 %. Эпизоотии среди КРС преимущественно регистрировались на территориях СКФО (63,5 %), ЮФО (19,9 %) и ПФО (7,4 %). Основное количество неблагополучных по бруцеллезу МРС пунктов и больных овец и коз выявлено в двух федеральных округах – СКФО (36,8 %) и ЮФО (26,3 %).

К основным причинам возникновения и распространения бруцеллезной инфекции среди сельскохозяйственных животных, как и в предыдущие годы, можно отнести сокрытие владельцами животных численности поголовья при планировании и проведении ветеринарных профилактических и противобруцеллезных мероприятий, уклонение от постановки на учет в административных муниципальных образованиях, несанкционированное приобретение и ввоз больных животных из неблагополучных по бруцеллезу регионов без проведения регламентированных профилактических мероприятий, отсутствие должного контроля со стороны органов исполнительной власти за перемещением и регистрацией поголовья скота, несвоевременная сдача (передержка) больных животных на убой, совместный выпас и использование общих мест водопоя животными из благополучных и неблагополучных по бруцеллезу хозяйств. Сложившаяся ситуация имеет системный характер, ее крайне сложно контролировать, что создает реальные условия к эпидемическому проявлению бруцеллезной инфекции и увеличению заболеваемости.

В 2019 г. наибольшее количество случаев заболевания людей бруцеллезом, как в прошлые годы, установлено в СКФО (278 сл., 70,0 % от общего количества случаев) и ЮФО (60 сл., 15,1 %). Отмечается увеличение относительно многолетних значений заболеваемости людей в Республике Дагестан, Воронежской, Пензенской областях и Республике Калмыкия. На территориях этих субъектов в 2019 г. отмечалась напряженная эпизоотическая обстановка по бруцеллезу среди КРС и МРС.

Одной из серьезных проблем, осложняющих эпидемическую ситуацию по бруцеллезу, являются групповые случаи заболевания. В 2019 г. групповые вспышки регистрировались в республиках Дагестан (11 сл., источник инфекции КРС) и Калмыкия (7 сл., источник инфекции МРС). Заболевания людей выявлены до установления эпизоотического неблагополучия хозяйств индивидуального сектора, в «скрытых» (невыявленных) эпизоотических очагах. Наличие на территориях субъектов России невыявленных эпизоотий и животных-бруцеллоносителей создает трудно контролируемую эпизоотическую ситуацию и существенно осложняет проведение профилактических и противобруцеллезных мероприятий.

Эпидемиологический прогноз на 2020 г. определяется рядом показателей, ключевой из которых – наличие на территории активного эпизоотического процесса среди основных эпидемически значимых видов КРС и МРС. Эпидемические риски в условиях недостаточно эффективного контроля за пресечением в муниципалитетах неорганизованной торговли молочными продуктами представляют хозяйства, специализирующиеся на производстве «кустарных» сыров, йогуртов, сливок и других продуктов из молока, не прошедшего термическую обработку. Остается высоким риск заболевания в первую очередь у индивидуальных владельцев эпидемически значимых видов сельскохозяйственных животных и профессионального контингента из групп риска.

В 2020 г. прогнозируется сохранение эпидемического неблагополучия по бруцеллезу в субъектах СКФО (прежде всего Республика Дагестан, Ставропольский край), ЮФО (Республика Калмыкия, Волгоградская, Ростовская и Астраханская области), ПФО (Пензенская, Самарская области), СФО (Республика Тыва, Забайкальский край, Омская область). Высока вероятность возникновения групповых вспышек в регионах, где постоянно регистрируются случаи несанкционированной уличной торговли («неорганизованная торговля») продукцией животноводства без ветеринарно-сопроводительной документации.

С учетом текущей эпизоото-эпидемической обстановки в Российской Федерации, в 2020 г. можно прогнозировать заболеваемость людей бруцеллезом на уровне средних многолетних значений – 0,23–0,27 на 100 тыс. населения.

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

Список литературы

1. Hull N.C., Schumaker B.A. Comparisons of brucellosis between human and veterinary medicine. *Infect. Ecol. Epidemiol*. 2018; 8(1):1500846. DOI: 10.1080/20008686.2018.1500846.

2. Cross A.R., Baldwin V.M., Roy S., Essex-Lopresti A.E., Prior J.L., Harmer N.J. Zoonoses under our noses. *Microbes Infect*. 2019; 21(1):10–9. DOI:10.1016/j.micinf.2018.06.001.

3. European Centre for Disease Prevention and Control. Disease data from ECDC Surveillance Atlas – brucellosis. [Электронный ресурс]. URL: https://ecdc.europa.eu/en/brucellosis/surveillance/atlas (дата обращения 05.02.2020).

4. Algerie 360: Tiaret: Plus de 150 cas de brucellose depuis janvier. [Электронный ресурс]. URL: https://www.algerie360.com/tiaret-plus-de-150-cas-de-brucellose-depuis-janvier/ (дата обращения 05.02.2020).

5. The Centers for Disease Control and Prevention. Risks from Unpasteurized Dairy Products. [Электронный ресурс]. URL: https://www.cdc.gov/brucellosis/exposure/drug-resistant-brucellosis-linked-raw-milk.html (дата обращения 03.02.2020).

6. Outbreak News Today: Raw milk: Brucellosis infection prompts health warning from Delaware officials. [Электронный ресурс]. URL: http://outbreaknewstoday.com/raw-milk-brucellosis-infection-prompts-health-warning-from-delaware-officials-61474/ (дата обращения 03.02.2020).

7. Outbreak News Today: Brucella outbreak in Villa Juárez, Mexico. [Электронный ресурс]. URL: http://outbreaknewstoday.com/brucella-outbreak-in-villa-juarez-mexico-28911/ (дата обращения 25.02.2020).

8. Sixth Tone. 96 Chinese Veterinary Researchers Infected With Brucellosis: The students and staff have not exhibited the flu-like symptoms characteristic of the bacterial disease, which humans can contract from coming into contact with infected animals. [Электронный ресурс]. URL: https://www.sixthtone.com/news/1004935/96-chinese-veterinary-researchers-infected-with-brucellosis (дата обращения 26.02.2020).

9. Timeturk. Muş merkeze bağlı Kırköy beldesinde yaşayan 15 kişi, iddialara göre yedikleri peynirden dolayı brucella hastalığına yakalandı. [Электронный ресурс]. URL: https://www.timeturk.com/mus-ta-15-kisi-brucella-hastaligina-yakalandi/haber-1150899 (дата обращения 26.02.2020).

10. Ежемесячный бюллетень СЭСиЗН за 2019 г. Департамент профилактики заболеваний и государственного санитарно-эпидемиологического надзора Министерства здравоохранения Кыргызской Республики. [Электронный ресурс]. URL: https://dgsen.kg/category/deyatelnost/upravlenie-profilaktiki-infekcionnY/ezhemesYachnYj-bjulleten-sjesizn (дата обращения 10.01.2020).

11. Эпидемиологическая ситуация по инфекционным и паразитарным заболеваниям в Республике Казахстан. Министерство здравоохранения Республики Казахстан. [Электронный ресурс]. URL: https://gov.egov.kz/memleket/entities/dsm/press/article/details/2767?lang=ru (дата обращения 10.01.2020).

12. Sargsyan L., Davtyan K., Hann K., Gasparyan S., Davidyants V., Shekoyan V., Poghosyan G., Petrosyan D. Acute and chronic brucellosis eleven-year audit from a tertiary hospital in Armenia. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2019; 13:042S-050S. DOI: 10.3855/jidc.10934.

13. ArmInfo. [Электронный ресурс]. URL: https://arminfo.info/full_news.php?id=48533&lang=2 (дата обращения 14.01.2020).

14. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации за январь–декабрь 2019 г. форма № 1: Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях за январь–декабрь 2019 федерального статистического наблюдения Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. [Электронный ресурс]. URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/activities/statistical-materials/statistic_detail.php?ID=11277&sphrase_id=1703598 (дата обращения 17.02.2020).

15. Эпизоотическая ситуация в РФ. Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору. [Электронный ресурс]. URL: https://www.fsvps.ru/fsvps/iac/rf/reports.html (дата обращения 10.03.2020).

16. Пономаренко Д.Г., Ежлова Е.Б., Русанова Д.В., Хачатурова А.А., Пакскина Н.Д., Бердникова Т.В., Манин Е.А., Семенко О.В., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Анализ эпизоотолого-эпидемиологической обстановки по бруцеллезу в Российской Федерации в 2018 г. и прогноз на 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2019; 2:14–21. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-14-21.

References

1. Hull N.C., Schumaker B.A. Comparisons of brucellosis between human and veterinary medicine. *Infect. Ecol. Epidemiol*. 2018; 8(1):1500846. DOI: 10.1080/20008686.2018.1500846.

2. Cross A.R., Baldwin V.M., Roy S., Essex-Lopresti A.E., Prior J.L., Harmer N.J. Zoonoses under our noses. *Microbes Infect*. 2019; 21(1):10–9. DOI:10.1016/j.micinf.2018.06.001.

3. European Centre for Disease Prevention and Control. Disease data from ECDC Surveillance Atlas – brucellosis. (Cited 05 Feb 2020). [Internet]. Available from: https://ecdc.europa.eu/en/brucellosis/surveillance/atlas.

4. Algerie 360: Tiaret: Plus de 150 cas de brucellose depuis janvier. (Cited 05 Feb 2020). [Internet]. Available from: https://www.algerie360.com/tiaret-plus-de-150-cas-de-brucellose-depuis-janvier/.

5. The Centers for Disease Control and Prevention. Risks from Unpasteurized Dairy Products. (Cited 03 Feb 2020). [Internet]. Available from: https://www.cdc.gov/brucellosis/exposure/drug-resistant-brucellosis-linked-raw-milk.html.

6. Outbreak News Today: Raw milk: Brucellosis infection prompts health warning from Delaware officials. (Cited 03 Feb 2020). [Internet]. Available from: http://outbreaknewstoday.com/raw-milk-brucellosis-infection-prompts-health-warning-from-delaware-officials-61474/.

7. Outbreak News Today: Brucella outbreak in Villa Juárez, Mexico. (Cited 25 Feb 2020). [Internet]. Available from: http://outbreaknewstoday.com/brucella-outbreak-in-villa-juarez-mexico-28911/.

8. Sixth Tone. 96 Chinese Veterinary Researchers Infected With Brucellosis: The students and staff have not exhibited the flu-like symptoms characteristic of the bacterial disease, which humans can contract from coming into contact with infected animals. (Cited 26 Feb 2020). [Internet]. Available from: https://www.sixthtone.com/news/1004935/96-chinese-veterinary-researchers-infected-with-brucellosis.

9. Timeturk. Muş merkeze bağlı Kırköy beldesinde yaşayan 15 kişi, iddialara göre yedikleri peynirden dolayı brucella hastalığına yakalandı. (Cited 26 Feb 2020). [Internet]. Available from: https://www.timeturk.com/mus-ta-15-kisi-brucella-hastaligina-yakalandi/haber-1150899.

10. Monthly Bulletin of Sanitary-Epidemiological Situation and Public Health over the year 2019. Department of Disease Prevention and State Sanitary-Epidemiological Surveillance of the Ministry of Health of Kyrgyz Republic. (Cited 10 Jan 2020). [Internet]. Available from: https://dgsen.kg/category/deyatelnost/upravlenie-profilaktiki-infekcionnY/ezhemesYachnYj-bjulleten-sjesizn.

11. Epidemiological Situation on Infectious and Parasitic Diseases in the Republic of Kazakhstan. Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan. (Cited 10 Jan 2020). [Internet]. Available from: https://gov.egov.kz/memleket/entities/dsm/press/article/details/2767?lang=ru.

12. Sargsyan L., Davtyan K., Hann K., Gasparyan S., Davidyants V., Shekoyan V., Poghosyan G., Petrosyan D. Acute and chronic brucellosis eleven-year audit from a tertiary hospital in Armenia. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2019; 13:042S-050S. DOI: 10.3855/jidc.10934.

13. ArmInfo. [Internet]. Available from: https://arminfo.info/full_news.php?id=48533&lang=2 (Cited 14 Jan 2020).

14. Infectious Incidence in the Russian Federation over the period of January-December, 2019 Form No1: The data on infectious and parasitic diseases over January-December, 2019 of the federal statistical survey of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare. (Cited 17 Feb 2020). [Internet]. Available from: https://www.rospotrebnadzor.ru/activities/statistical-materials/statistic_detail.php?ID=11277&sphrase_id=1703598.

15. Epizootic situation in RF. Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance. (Cited 10 Mar 2020). [Internet]. Available from: https://www.fsvps.ru/fsvps/iac/rf/reports.html.

16. Ponomarenko D.G., Ezhlova E.B., Rusanova D.V., Khachaturova A.A., Pakskina N.D., Berdnikova T.V., Manin E.A., Semenko O.V., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. Analysis of Epizootiological-Epidemiological Situation on Brucellosis in the Russian Federation in 2018 and Forecast for 2019. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019;(2):14–21. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-14-21.

Authors:

Ponomarenko D.G., Rusanova D.V., Khachaturova A.A., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Semenko O.V., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Skudareva O.N. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare. 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Pereulok, Moscow, 127994, Russian Federation.

Об авторах:

Пономаренко Д.Г., Русанова Д.В., Хачатурова А.А., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Семенко О.В., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-57-61

УДК 616.98:579.852.11

А.Г. Рязанова[1], О.Н. Скударева[2], Д.К. Герасименко[1], О.В. Семенова[1], Л.Ю. Аксенова[1], Е.И. Еременко[1], Н.П. Буравцева[1], Т.М. Головинская[1], Н.Г. Варфоломеева[1], Г.А. Печковский[1], Д.К. Чмеренко[1], А.Н. Куличенко[1]

АНАЛИЗ СИТУАЦИИ ПО СИБИРСКОЙ ЯЗВЕ В 2019 г., ПРОГНОЗ НА 2020 г.

[1]ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация;
[2]Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация

Представлены результаты анализа эпидемиологической и эпизоотологической обстановки по сибирской язве в Российской Федерации и в мире в 2019 г., приведен прогноз заболеваемости в России на 2020 г. В 2019 г. в Российской Федерации зарегистрировано пять случаев заболевания людей кожной формой сибирской язвы в двух субъектах Северо-Кавказского федерального округа – в Республике Дагестан (4) и Ставропольском крае (1), что на два случая больше по сравнению с 2018 г. Вспышки инфекции среди сельскохозяйственных животных и людей зафиксированы в странах ближнего зарубежья – Азербайджане, Армении, Белоруссии, Казахстане, Кыргызстане и Таджикистане. Наибольшие показатели заболеваемости диких и сельскохозяйственных животных выявлены в ряде государств Азии и Африки. Сибирская язва среди людей регистрировалась преимущественно в странах Африки, заражение происходило в основном алиментарным путем, реже – при контакте с тушами, мясом животных. Уровень заболеваемости животных и людей сибирской язвой в Российской Федерации в 2020 г. будет во многом определяться полнотой учета и охвата специфической иммунизацией сельскохозяйственных животных и групп лиц профессионального риска заражения и при их полноценной реализации не будет превышать единичных случаев.

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

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

Для цитирования: Рязанова А.Г., Скударева О.Н., Герасименко Д.К., Семенова О.В., Аксенова Л.Ю., Еременко Е.И., Буравцева Н.П., Головинская Т.М., Варфоломеева Н.Г., Печковский Г.А., Чмеренко Д.К., Куличенко А.Н. Анализ ситуации по сибирской язве в 2019 г., прогноз на 2020 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:57–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-57-61

Поступила 04.03.20. *Принята к публ.* 13.03.20.

A.G. Ryazanova[1], O.N. Skudareva[2], D.K. Gerasimenko[1], O.V. Semenova[1], L.Yu. Aksenova[1], E.I. Eremenko[1], N.P. Buravtseva[1], T.M. Golovinskaya[1], N.G. Varfolomeeva[1], G.A. Pechkovsky[1], D.K. Chmerenko[1], A.N. Kulichenko[1]

Analysis of the Situation on Anthrax in 2019, the Forecast for 2020

[1]Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation;
[2]Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation

Abstract. The results of the analysis of epidemiological and epizootiological situation on anthrax in the Russian Federation and in the world in 2019 are presented in the paper. The forecast of morbidity rates in the Russian Federation for 2020 is made. In 2019, five cases of cutaneous anthrax were registered in the Russian Federation in two regions of the North Caucasian Federal District – Republic of Dagestan (4) and Stavropol Territory (1), which is two cases plus as compared to 2018. Outbreaks of infection among livestock animals and humans were recorded in such neighboring countries as Azerbaijan, Armenia, Belarus, Kazakhstan, Kyrgyzstan and Tajikistan. The unfavorable epizootiological situation on anthrax was observed almost everywhere. The highest incidence rates among wild and livestock animals were found in a number of countries in Asia and Africa. Anthrax among people was registered mainly in African countries, infection occurred mainly by alimentary route, less often – through contact with carcasses, meat of animals. Anthrax morbidity rates among animals and humans in the Russian Federation in 2020 will be largely determined by the completeness of registration and coverage with specific immunization of livestock animals and groups of people under professional risk of infection and, if measures are fully implemented, incidence will not exceed single cases.

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

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

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

Citation: Ryazanova A.G., Skudareva O.N., Gerasimenko D.K., Semenova O.V., Aksenova L.Yu., Eremenko E.I., Buravtseva N.P., Golovinskaya T.M., Varfolomeeva N.G., Pechkovsky G.A., Chmerenko D.K., Kulichenko A.N. Analysis of the Situation on Anthrax in 2019, the Forecast for 2020. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:57–61. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-57-61

Received 04.03.20. *Accepted* 13.03.20.

Сибирская язва в Российской Федерации. В Российской Федерации в 2019 г. зарегистрировано пять случаев заболевания людей сибирской язвой в двух субъектах Северо-Кавказского федерального округа – в Республике Дагестан (4 случая) и Ставропольском крае (1 случай). Это на два случая больше по сравнению с 2018 г., когда сибирской язвой заболело три человека в двух субъектах России – в республиках Дагестан (1) и Тыва (2).

В октябре 2019 г. зафиксировано четыре случая

заболевания людей сибирской язвой в с. Новокули (Новолакский район, Республика Дагестан), которое является стационарно неблагополучным по сибирской язве пунктом с неоднократным проявлением активности в 50-е годы XX в. Инфицирование трех человек произошло в процессе вынужденного убоя не вакцинированного против сибирской язвы бычка без ветеринарного освидетельствования, одной заболевшей – при контакте с мясом в процессе кулинарной обработки.

Лабораторная диагностика сибирской язвы проводилась параллельно в ФКУЗ «Дагестанская противочумная станция» и ФКУЗ «Научно-исследовательский Ставропольский противочумный институт» (Референс-центр по мониторингу за возбудителем сибирской язвы). В процессе исследований выделено и идентифицировано семь типичных штаммов *Bacillus anthracis:* из клинического материала – 3, материала от крупного рогатого скота (КРС) – 2, почвы с места убоя КРС – 2.

Клинический диагноз «сибирская язва, кожная форма» заболевшим поставлен на основании эпидемиологического анамнеза (контакт с КРС, из материала, от которого выделен штамм *B. anthracis*), клинической картины кожной формы сибирской язвы, выделения культур *B. anthracis* из клинического материала у трех больных, обнаружения ДНК сибиреязвенного микроба в материале из кожного аффекта и специфических антител в сыворотке крови непрямым методом флуоресцирующих антител в диагностическом титре у одного заболевшего.

По результатам молекулярно-генетического типирования установлено, что выделенные штаммы относятся к основной генетической линии возбудителя сибирской язвы А, подгруппе «канонических» SNP A.Br.008/009. Данный canSNP-генотип встречается среди штаммов *B. anthracis*, изолированных ранее в процессе вспышек сибирской язвы на территории Республики Дагестан.

В декабре 2019 г. один случай кожной формы сибирской язвы зарегистрирован в подсобном хозяйстве вблизи с. Подлужное Изобильненского района Ставропольского края [1]. Заражение, вероятнее всего, произошло при контакте с мясом КРС во время кулинарной обработки. Село Подлужное является стационарно неблагополучным по сибирской язве пунктом, где в 1970 г. сибирской язвой заболело 17 голов мелкого рогатого скота (МРС) и один человек. Предыдущая вспышка сибирской язвы в Изобильненском районе, в которую были вовлечены четыре головы МРС и два человека, произошла в 2013 г.

В процессе лабораторных исследований, проведенных в Ставропольском противочумном институте, изолировано и идентифицировано три штамма *B. anthracis* – два из проб материала от КРС, один из смыва с объекта окружающей среды (разделочной поверхности стола).

Клинический диагноз больной поставлен на основании эпидемиологического анамнеза (контакт с сырьем КРС, из проб материала которого изолированы две культуры *B. anthracis*), клинической картины кожной формы сибирской язвы, а также обнаружения ДНК возбудителя сибирской язвы в клинических образцах (пробах материала из кожного аффекта).

Проведенный молекулярно-генетический анализ свидетельствует о принадлежности выделенных штаммов к основной линии А, ветви canSNP A.Br.008/009, филогенетический анализ показал крайне близкое родство изолятов со штаммами *B. anthracis*, ранее выделенными на территории Ставропольского края.

По данным Россельхознадзора, в I–III кварталах 2019 г. заболеваний сибирской язвой среди животных на территории России не выявлено [2].

В 2019 г. в Российской Федерации плановой вакцинацией и ревакцинацией против сибирской язвы охвачены 55588 человек (54475 взрослых, 1113 детей), что составило 93,43 % от плана. План вакцинации выполнен на 92,96 %: вакцинацией охвачено 10694 человека (10406 взрослых, 288 детей). План ревакцинации выполнен на 93,54 %, иммунизировано 44894 человека (44069 взрослых, 825 детей).

При наличии запланированных объемов вакцинации на 2019 г. иммунизация не проводилась в пяти субъектах Российской Федерации: в Республике Северная Осетия-Алания, Чеченской Республике, Республике Карелия, Калининградской области и Севастополе. Вакцинация не планировалась и не проводилась в семи субъектах: в Карачаево-Черкесской Республике, Мурманской и Сахалинской областях, Ханты-Мансийском и Чукотском автономных округах, Камчатском и Хабаровском краях. В девяти субъектах план вакцинации выполнен менее чем на 80 %.

Ревакцинация не планировалась и не проводилась в двенадцати субъектах: в Республике Северная Осетия-Алания, Чеченской Республике, Карачаево-Черкесской Республике, Республике Карелия, Архангельской, Калининградской, Мурманской и Сахалинской областях, Хабаровском крае, Еврейской автономной области, Чукотском автономном округе и Севастополе. План ревакцинации выполнен менее чем на 80 % в тринадцати субъектах.

В 2020 г. вакцинация против сибирской язвы не планируется в восьми субъектах: в Карачаево-Черкесской Республике, Смоленской, Мурманской, Новгородской и Сахалинской областях, Ханты-Мансийском и Чукотском автономных округах, Камчатском крае; ревакцинацию не планируют проводить в двенадцати субъектах: в Карачаево-Черкесской Республике, Республике Северная Осетия-Алания, Чеченской Республике, Республике Карелия, Архангельской, Калининградской, Мурманской и Сахалинской областях, Ханты-Мансийском и Чукотском автономных округах, Еврейской автономной области и Севастополе.

Согласно информации Департамента ветеринарии Минсельхоза России, в 2019 г. план по вакцина-

ции против сибирской язвы КРС выполнен на 102,5 % (иммунизацией охвачено 23744230 голов), МРС – на 102,6 % (23417464 гол.), свиней – на 103,8 % (1130953 гол.), лошадей – на 108,0 % (1214409 гол.), оленей – на 82,0 % (994838 гол.), верблюдов – на 102,7 % (5500 гол.). В 2020 г. планируется охватить вакцинацией 22428322 голов КРС, 21318266 МРС, 896327 свиней, 990331 лошадей, 1125231 оленей, 5211 верблюдов. Обращает внимание снижение планов вакцинации на 2020 г., по сравнению с планами на 2019 г. – КРС на 3,22 %, МРС на 6,63 %, свиней на 17,73 %, лошадей на 11,91 %, оленей на 7,29 %, верблюдов на 2,74 %.

Сибирская язва в странах ближнего зарубежья. В Армении в августе 2019 г. зарегистрировано две вспышки сибирской язвы. Первый очаг зафиксирован в с. Геховит Мартунинского района Гегаркуникской области в 130 км от Еревана, в котором сибирской язвой заболели восемь человек. Заражение произошло в процессе разделки мяса КРС. Вторая вспышка имела место в Армавирской области, где сибирской язвой заболели восемь жителей с. Геташен (65 км от Еревана) после разделки туши КРС. Диагноз лабораторно подтвержден методом ПЦР у пяти пациентов [3]. По данным Всемирной организации по охране здоровья животных (OIE), в 2019 г. в Армении зарегистрировано два эпизоотических очага. Ранее на территории Гегаркуникской области сибирская язва регистрировалась в 2006 г. (один очаг) и 2012 г. (три вспышки), в Армавирской области сибирская язва отмечалась в 1999, 2001, 2003 и 2012 гг. (по одной вспышке).

По данным Департамента профилактики заболеваний и госсанэпиднадзора Министерства здравоохранения Кыргызской Республики, в Кыргызстане зафиксировано две вспышки сибирской язвы: в Панфиловском районе Чуйской области (в июле, один случай заболевания), в Базар-Коргонском районе Джалал-Абадской области (в октябре, один заболевший). В Кыргызстане сибирская язва регистрируется практически ежегодно, в 2018 г. отмечены две крупные вспышки, заболело 26 человек [4].

В Азербайджане отмечены две вспышки сибирской язвы в Сабирабадском районе у лиц, связанных по роду деятельности с животноводством. В июле сибирская язва выявлена у двух односельчан, один из которых после непродолжительного лечения в медицинском центре г. Баку скончался в связи с генерализацией инфекции (первичный очаг – кожный аффект на пальце руки) ввиду несвоевременной госпитализации в крайне тяжелом состоянии. Как стало известно из эпиданамнеза, пациент занимался продажей и транспортировкой КРС и МРС [5]. В начале сентября сибирская язва диагностирована еще у двух жителей Сабирабадского района. Известно, что один из заболевших осуществлял продажу мяса. По информации OIE, в Азербайджане в 2019 г. зарегистрировано два эпизоотических очага.

В 2019 г. сибирская язва регистрировалась на территории двух областей Казахстана. В августе в с. Ольгинка Аршалынского района Акмолинской области подтверждены четыре случая заболевания людей сибирской язвой. Причиной заражения стала разделка туш КРС, не имеющих ветеринарного сертификата, в одном из частных подворий. В сентябре кожная форма сибирской язвы диагностирована у четырех жителей с. Шакпак Жамбылской области. Все заболевшие работали в одном крестьянском хозяйстве и принимали участие в убое скота [6–7]. По сведениям OIE, в Казахстане в 2019 г. зафиксировано два эпизоотических очага.

В Белоруссии (Брестская область, Столинский район, дер. Хотомель) в августе 2019 г. выявлен случай заболевания сибирской язвой одной лошади [8].

В Таджикистане в июне 2019 г. зарегистрировано два эпизоотических очага в двух областях: Согдийская область – 1 голова КРС, Горно-Бадахшанская автономная область – 1 голова КРС.

Сибирская язва в странах дальнего зарубежья. По данным OIE, в I полугодии 2019 г. неблагополучная эпизоотологическая ситуация по сибирской язве зарегистрирована в странах Африки: Буркина-Фасо (4 вспышки в 3 областях – 8 КРС), Гвинея (13 очагов в 6 районах – 31 КРС, 1 МРС), Гвинея-Бисау (5 вспышек на территории всей страны – 53 КРС), Зимбабве (4 очага в 3 регионах – 15 КРС), Кения (1 очаг – 134 бизона), Лесото (3 вспышки на 1 территории – 24 КРС), Марокко (1 вспышка – 1 КРС), Намибия (3 очага в 2 регионах), Нигер (62 вспышки в 5 регионах – 391 МРС, 10 КРС), Танзания (3 очага на 2 территориях – 6 КРС, 1 МРС, 1 свинья), Чад (1 очаг – 48 МРС), Эритрея (2 вспышки в 2 областях – 14 КРС, 8 лошадей); Азии: Афганистан (85 очагов в 22 регионах – 60 КРС, 775 МРС), Бутан (1 КРС), Иран (5 вспышек в 4 регионах – 33 МРС, 3 КРС), Монголия (5 очагов на 3 территориях – 4 КРС, 2 МРС), Непал (5 вспышек на территории всей страны – 15 МРС, 3 КРС, 1 бизон), Турция (32 очага в 23 районах – 152 КРС, 61 МРС); Южной Америки: Аргентина (8 вспышек на 3 территориях – 114 КРС), Парагвай (9 очагов в 6 областях – 16 КРС), Чили (1 очаг – 1 КРС), Эквадор (11 вспышек в 6 регионах – 17 КРС); Северной Америки: Гаити (3 вспышки на территории всей страны – 8 КРС); Европы: Албания (3 очага на территории всей страны – 3 КРС, 2 МРС); в Австралии (2 очага в 2 штатах – 304 МРС) [9].

Согласно сведениям информационно-аналитического центра Россельхознадзора, в течение года сибирская язва среди животных зафиксирована также в Ботсване (1 очаг), Венгрии (1), Италии (3), Македонии (1), Малави (1), Мьянме (1), Румынии (1 очаг, 2 КРС), Франции (1 вспышка, 2 КРС), Канаде (1 вспышка, 7 КРС). По данным ProMED-mail, эпизоотическое неблагополучие отмечено в Бангладеш (сотни голов КРС), Зимбабве (1 очаг, 5 КРС в ноябре), Индии (КРС), Кении (КРС), Мьянме (КРС), Намибии (68 МРС в октябре), Непале (44 КРС), Нигере (3 оча-

га в 3 регионах – 19 КРС, 3 МРС), Пакистане (десятки голов КРС).

Сообщалось о неблагополучной эпизоотологической ситуации по сибирской язве в США, когда в период с июня по август 2019 г. зарегистрированы многочисленные случаи заболевания сибирской язвой диких и сельскохозяйственных животных (антилопы, козы, лошади, олени, КРС) в двадцати хозяйствах пяти округов на юго-западе штата Техас, а также на юго-западе штата Южная Дакота (КРС) и на западе штата Северная Дакота (КРС). Специалисты прокомментировали, что в 2019 г. сложились благоприятные погодные условия для инфицирования животных, когда после влажной зимы последовало засушливое лето, и споры возбудителя сибирской язвы оказались на поверхности почвы. Не исключается роль и трансмиссивного пути передачи возбудителя инфекции посредством кровососущих насекомых, численность популяции которых летом 2019 г. была высока [10, 11].

Эпизоотии сибирской язвы среди диких животных регистрировались в Ботсване (более 100 слонов), Зимбабве (6 слонов, 3 буйвола, лев, импала), Индии (слоны, олень), Кении (145 буйволов, водяной козел), Малави (48 гиппопотамов), Намибии (39 гиппопотамов), Танзании (169 диких животных), Эфиопии (предположительно, 28 гиппопотамов).

Сибирская язва среди людей в 2019 г. регистрировалась преимущественно в странах Африки, заражение происходило в основном алиментарным путем, реже – при контакте с тушами/мясом животных.

В Анголе (провинция Уила, муниципалитет Матала) шесть человек скончались, еще двенадцать госпитализированы после употребления в пищу мяса животных, павших от сибирской язвы [12].

В Гвинее (префектура Кубья) пять человек заболели после употребления в пищу мяса от больной козы, один больной (ребенок), у которого диагностирована желудочно-кишечная форма инфекции, скончался [13].

В Зимбабве заболели одиннадцать человек после употребления в пищу мяса павшего КРС (провинция Западный Машоналенд – 8, провинция Восточный Машоналенд – 3). Согласно обобщенным данным Африканского бюро ВОЗ, в 2019 г. в целом в Зимбабве сибирской язвой заболели 108 человек (без указания клинических форм) с наибольшим количеством зарегистрированных случаев в районах Бухера (провинция Маникаленд) и Гокве (провинция Мидлендс) [14].

В Кении в Восточной провинции (г. Меру) 13 человек заболели после употребления мяса больного скота, еще около 200 человек, контактировавших с зараженным мясом, обращались за помощью в медицинские учреждения, однако дальнейшая информация о развитии ситуации отсутствует. Позже сообщалось о заболевании одиннадцати человек после употребления зараженного мяса с двумя летальными исходами. Три человека в Восточной провинции (г. Эмбу) заболели в результате употребления мяса КРС, ошибочно разрешенного к использованию местным ветеринаром. Двадцать два человека госпитализированы после употребления молока коровы с диагностированной сибирской язвой в г. Накуру. Свыше сорока человек в г. Кисуму заболели после употребления в пищу мяса и контакта с больным КРС, один больной скончался [15].

После приема в пищу мяса КРС, павшего от сибирской язвы (свыше 20 голов), и контакта с ним в столице Лесото, г. Масеру, госпитализировано порядка пятидесяти пяти человек с кожной и желудочно-кишечной формами сибирской язвы.

В Намибии зарегистрировано 115 случаев заражения людей сибирской язвой после контакта с тушами павших диких (гиппопотамы) и домашних (МРС) животных и употреблением их мяса в пищу в процессе эпизоотии.

В Танзании (г. Сонгве) четыре человека скончались, остальные 74 заболевших госпитализированы, а в районе Килиманджаро десять человек заболели (с тремя летальными исходами) после приема в пищу мяса павшего КРС.

В Уганде (г. Капчорва) зарегистрировано пять случаев заболевания с одним летальным исходом в результате употребления инфицированного мяса [16].

В Индии сибирская язва отмечалась на двух территориях. В штате Одиша зарегистрированы две вспышки (март, август) в результате употребления в пищу мяса павших животных, трое пациентов с желудочно-кишечной формой заболевания скончались. Кожная форма сибирской язвы диагностирована у двух человек в штате Андхра-Прадеш, заболевших после разделки мяса, купленного на местном рынке.

В Венгрии (округа Бач-Кишкун и Бекеш) зарегистрировано четыре случая заболевания кожной формой сибирской язвы после контакта с больным КРС [17].

Прогноз ситуации по сибирской язве в Российской Федерации на 2020 г. В 2019 г., несмотря на охват вакцинацией против сибирской язвы более 100 % КРС от планируемого, имели место случаи заболевания КРС в двух субъектах России, ставшие источником заражения людей. Сложившаяся ситуация свидетельствует о неполном учете сельскохозяйственных животных и, соответственно, о наличии непривитого скота, в том числе на неблагополучных по сибирской язве южных территориях.

Уровень заболеваемости животных и людей сибирской язвой в 2020 г. будет во многом определяться полнотой учета и охвата специфической иммунизацией сельскохозяйственных животных и групп лиц профессионального риска заражения. При условии полноценного выполнения этих первостепенных мероприятий заболеваемость сибирской язвой не будет превышать единичных случаев.

Не исключен завоз сырья и продукции животноводства из стран с неблагополучной эпизоотической ситуацией по сибирской язве, что может создать

риск осложнения эпизоотолого-эпидемиологической обстановки по данной инфекции в Российской Федерации.

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

Список литературы

1. О мерах профилактики сибирской язвы. Официальный сайт Управления Роспотребнадзора по Ставропольскому краю. [Электронный ресурс]. URL: http://26.rospotrebnadzor.ru/press-center/pr/6998/ (дата обращения 18.01.2020).
2. Эпизоотическая ситуация в Российской Федерации. 2019, 3 квартал. Официальный сайт Россельхознадзора. [Электронный ресурс]. URL: http://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/rf/2019/report_3_quater.pdf (дата обращения 23.01.2020).
3. Вспышка сибирской язвы в Гегаркуникской области Армении. Официальный сайт ТАСС. [Электронный ресурс]. URL: https://tass.ru/proisshestviya/6778468 (дата обращения 20.01.2020).
4. Обзор инфекционной и паразитарной заболеваемости за январь–декабрь 2019 г. в Кыргызской Республике. Официальный сайт Министерства здравоохранения Кыргызской Республики. [Электронный ресурс]. URL: https://dgsen.kg/category/deyatelnost/upravlenie-profilaktiki-infekcionnY/ezhemesYachnYj-bjulleten-sjesizn (дата обращения 23.01.2020).
5. Сибирская язва – Азербайджан (Сабирабадский район). [Электронный ресурс]. 1 августа 2019 г. URL: http://promedmail.promedmail.org/ru. Archive Number: 20190801.6600945 (дата обращения 16.01.2020).
6. Сибирская язва, 4 человека – Казахстан (Акмолинская область). [Электронный ресурс]. 20 августа 2019 г. URL: http://promedmail.promedmail.org/ru. Archive Number: 20190820.6632100 (дата обращения 14.01.2020).
7. Сибирская язва (4 случая) – Казахстан. [Электронный ресурс]. 16 сентября 2019 г. URL: http://promedmail.promedmail.org/ru. Archive Number: 20190916.6677552 (дата обращения 15.01.2020).
8. Сибирская язва (животные) – Беларусь (Брестская область). [Электронный ресурс]. 14 августа 2019 г. URL: http://promedmail.promedmail.org/ru. Archive Number: 20190814.6622687 (дата обращения 22.01.2020).
9. Anthrax. World Organisation for Animal Health (OIE). [Электронный ресурс]. URL: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statusdetail (дата обращения 21.01.2020).
10. Texas Anthrax Situational Update. Информационный портал Texas Animal Health Commission [Электронный ресурс]. URL: https://www.tahc.texas.gov/news/2019/2019-08-13_AnthraxUpdate.pdf (дата обращения 22.01.2020).
11. Progressive Farmer. Anthrax Case Confirmed. [Электронный ресурс]. URL: https://www.dtnpf.com/agriculture/web/ag/news/farm-life/article/2019/08/26/anthrax-found-livestock-nd-tx (дата обращения 25.01.2020).
12. Anthrax – Angola: (HL) bovine, human. [Электронный ресурс]. URL: http://promedmail.promedmail.org/ru. Archive Number: 20190711.6563393 (дата обращения 15.01.2020).
13. Anthrax. World Health Organization. [Электронный ресурс]. URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/324950/OEW21-2026052019.pdf (дата обращения 23.01.2020).
14. Anthrax. World Health Organization. [Электронный ресурс]. URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/330862/OEW06-0309022020.pdf (дата обращения 20.01.2020).
15. Anthrax – Kenya: (ME) livestock, human. [Электронный ресурс]. URL: http://promedmail.promedmail.org/ru. Archive Number: 20190103.6241419 (дата обращения 19.01.2020).
16. Anthrax – Uganda: (QP) cattle, human. [Электронный ресурс]. URL: http://promedmail.promedmail.org/ru. Archive Number: 20190503.6454247 (дата обращения 24.01.2020).
17. Anthrax – Hungary (02): (BK, BE) cattle, human. [Электронный ресурс]. URL: http://promedmail.promedmail.org/ru. Archive Number: 20190506.6457281 (дата обращения 20.01.2020).

References

1. On measures of prevention of anthrax. Official Web-Site of the Rospotrebnadzor Administration in the Stavropol Territory. (Cited 18 Jan 2020). [Internet]. Available from: http://26.rospotrebnadzor.ru/press-center/pr/6998.
2. Epizootic situation in the Russian Federation. 2019, 3-rd quarter. Official Web-Site of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance. (Cited 23 Jan 2020). [Internet]. Available from: http://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/rf/2019/report_3_quater.pdf.
3. The outbreak of anthrax in the Gegarkunik province of Armenia. Official Web-Site of TASS. (Cited 20 Jan 2020). [Internet]. Available from: https://tass.ru/proisshestviya/6778468.
4. Review of infectious and parasitic disease incidence over January-December 2019 in the Kyrgyz Republic. Official Web-Site of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic. (Cited 23 Jan 2020). [Internet]. Available from: https://dgsen.kg/category/deyatelnost/upravlenie-profilaktiki-infekcionnY/ezhemesYachnYj-bjulleten-sjesizn.
5. Anthrax – Azerbaijan (Sabirabad District). 01 Aug 2019. (Cited 16 Jan 2020). [Internet]. URL: http://promedmail.promedmail.org/ru. Archive Number: 20190801.6600945.
6. Anthrax, 4 people – Kazakhstan (Akmola Region). 20 Aug 2019. (Cited 14 Jan 2020). [Internet]. Available from: http://promedmail.promedmail.org/ru. Archive Number: 20190820.6632100.
7. Anthrax (4 cases) – Kazakhstan. 16 Sep 2019. (Cited 15 Jan 2020). [Internet]. Available from: http://promedmail.promedmail.org/ru. Archive Number: 20190916.6677552.
8. Anthrax (animals) – Belarus (Brest Region). 14 Aug 2019. (Cited 22 Jan 2020). [Internet]. Available from: http://promedmail.promedmail.org/ru. Archive Number: 20190814.6622687.
9. Anthrax. World Organization for Animal Health (OIE). (Cited 21 Jan 2020). [Internet]. Available from: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statusdetail.
T0. Texas Anthrax Situational Update. Texas Animal Health Commission. (Cited 22 Jan, 2020). [Internet]. Available from: https://www.tahc.texas.gov/news/2019/2019-08-13_AnthraxUpdate.pdf.
11. Progressive Farmer. Anthrax Case Confirmed. (Cited 25 Jan 2020). [Internet]. Available from: https://www.dtnpf.com/agriculture/web/ag/news/farm-life/article/2019/08/26/anthrax-found-livestock-nd-tx.
12. Anthrax – Angola: (HL) bovine, human. (Cited 15 Jan 2020). [Internet]. Available from: http://promedmail.promedmail.org/ru. Archive Number: 20190711.6563393.
13. Anthrax. World Health Organization. (Cited 23 Jan 2020). [Internet]. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/324950/OEW21-2026052019.pdf.
14. Anthrax. World Health Organization. (Cited 20 Jan 2020). [Internet]. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/330862/OEW06-0309022020.pdf.
15. Anthrax – Kenya: (ME) livestock, human. (Cited 19 Jan 2020). [Internet]. Available from: http://promedmail.promedmail.org/ru. Archive Number: 20190103.6241419.
16. Anthrax – Uganda: (QP) cattle, human. (Cited 24 Jan 2020) [Internet]. Available from: http://promedmail.promedmail.org/ru. Archive Number: 20190503.6454247.
17. Anthrax – Hungary (02): (BK, BE) cattle, human. (Cited 20 Jan 2020). [Internet]. Available from: http://promedmail.promedmail.org/ru. Archive Number: 20190506.6457281.

Authors:

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

Skudareva O.N. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare. 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Pereulok, Moscow, 127994, Russian Federation.

Об авторах:

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

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-62-70

УДК 616.98:578.8

Т.А. Савицкая[1], А.В. Иванова[5], Г.Ш. Исаева[1,3], И.Д. Решетникова[1,4], В.А. Трифонов[1,2], В.Б. Зиатдинов[1], И.В. Серова[1], В.А. Сафронов[5]

ОЦЕНКА ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ В МИРЕ И РОССИИ, ПРОГНОЗ НА 2020 г.

[1]ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии», Казань, Российская Федерация; [2]Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Казань, Российская Федерация; [3]ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Российская Федерация; [4]Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Российская Федерация; [5]ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Цель обзора – характеристика эпидемиологической ситуации по ГЛПС в мире, сравнительный анализ интенсивности и динамики эпидемического процесса ГЛПС в Российской Федерации в разрезе федеральных округов и прогноз на 2020 г. При анализе эпидемиологической ситуации использовались материалы официальных сайтов организаций здравоохранения США и Европы, ВОЗ, а также данные оперативного мониторинга, осуществляемого Референс-центром по мониторингу за ГЛПС ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии», на основании информации, представленной учреждениями Роспотребнадзора в субъектах Российской Федерации. В анализ вошли все данные по административным территориям России. Статистическая обработка проведена стандартными методами вариационной статистики с применением программы Excel. Эпидемиологическая ситуация по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в мире и Российской Федерации остается напряженной. На территории Российской Федерации эпидемически активные очаги ГЛПС расположены в европейской части страны, Западной Сибири и на Дальнем Востоке. Заболеваемость за период с 2010 по 2019 год регистрировалась в 8 федеральных округах, в 58 субъектах. Однако распределение заболеваемости населения по территории страны было не равномерным. В 97 % случаев заболеваемость регистрировалась на европейской части России. На территории Приволжского федерального округа заболеваемость ГЛПС составила 82,16 % от всей заболеваемости, зарегистрированной в целом по Российской Федерации. Высокая заболеваемость ГЛПС регистрируется и в Центральном федеральном округе. За последние 10 лет (2010–2019 гг.) отмечается рост заболеваемости ГЛПС в Центральном и Северо-Западном федеральных округах, снижение заболеваемости в Уральском и Дальневосточном федеральных округах. Существенное значение для распространения ГЛПС за последние десятилетия имеет меняющаяся степень антропогенного воздействия на природные очаги ГЛПС и изменение климатических условий в виде повышения приземной температуры воздуха. Представлен прогноз развития эпидемиологической ситуации по ГЛПС в Российской Федерации в 2020 г.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, эпидемиологическая ситуация, возбудители ГЛПС.

Корреспондирующий автор: Савицкая Татьяна Александровна, e-mail: tatasav777@mail.ru.

Для цитирования: Савицкая Т.А., Иванова А.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Трифонов В.А., Зиатдинов В.Б., Серова И.В., Сафронов В.А. Оценка эпидемиологической ситуации по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в мире и России, прогноз на 2020 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:62–70. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-62-70

Поступила 17.04.20. *Принята к публ.* 13.05.20.

T.A. Savitskaya[1], A.V. Ivanova[5], G.Sh. Isaeva[1,3], I.D. Reshetnikova[1,4], V.A. Trifonov[1,2], V.B. Ziatdinov[1], I.V. Serova[1], V.A. Safronov[5]

Assessment of Epidemiological Situation on Hemorhhagic Fever with Renal Syndrome around the World and in Russia, Forecast for 2020

[1]Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russian Federation; [2]Kazan State Medical Academy, Kazan, Russian Federation; [3]Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation; [4]Kazan (Privolzhsky) Federal University, Kazan, Russian Federation; [5]Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of the Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation

Abstract. **Objective** of the review is to characterize the nature of epidemiological situation on HFRS around the world and to conduct a comparative analysis of intensity and dynamics of the epidemiological process in the Russian Federation by Federal Districts, as well as make forecast for 2020. The analysis of the epidemiological situation is based on the materials of the official websites of healthcare organizations in the USA and Europe, WHO, the data from operational monitoring carried out by the reference center for HFRS monitoring "Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology", materials provided by the Rospotrebnadzor Institutions in the constituent entities of the Russian Federation. The analysis included all administrative territories of the Russian Federation. Statistical processing was carried out by standard methods of variation statistics applying Excel software. The epidemiological situation on hemorrhagic fever with renal syndrome around the world and in Russia remains tense. In the Russian Federation, epidemically active foci are located in the European part of the country, in Western Siberia and in the Far East. Infections over the period of 2010–2019 were registered in 8 federal districts of the Russian Federation, in 58 constituent entities. However, the incidence distribution across the territory of the country was differential. In 97 % of the cases, the incidence was recorded in the European part of Russia. In the Volga Federal District, HFRS incidence amounted to 82.16 % of the total

incidence recorded on the whole in Russia. High incidence rates are also recorded in the Central Federal District (CFD). Over the past 10 years (2010–2019), there has been an increase in the incidence of HFRS in the Central and North-West Federal Districts, and a decrease in the incidence in the Ural and Far Eastern Federal Districts. Varying degree of anthropogenic impact on the natural HFRS foci and climate change manifested in increased ambient air temperatures are of great importance for the spread of HFRS over the past decade. At the end of the review the forecast of the development of the epidemiological situation on HFRS in the Russian Federation for 2020 is presented.

Key words: hemorrhagic fever with renal syndrome, epidemiological situation, HFRS pathogens.

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

Corresponding author: Tatiana A. Savitskaya, e-mail: tatasav777@mail.ru.

Citation: Savitskaya T.A., Ivanova A.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Trifonov V.A., Ziatdinov V.B., Serova I.V., Safronov V.A. Assessment of Epidemiological Situation on Hemorhhagic Fever with Renal Syndrome around the World and in Russia, Forecast for 2020. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:62–70. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-62-70

Received 17.04.20. *Accepted* 13.05.20.

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) продолжает оставаться серьезной проблемой для здравоохранения, являясь наиболее распространенным природно-очаговым заболеванием вирусной этиологии [1].

Значительно отличающиеся друг от друга по иммунологическим и генетическим свойствам хантавирусы поддерживают свое существование в природе посредством разных видов животных, являющихся источниками заражения людей. К настоящему времени в различных регионах мира обнаружено 84 вида животных из 14 семейств млекопитающих, инфицированных хантавирусами [2].

У людей описаны две клинические формы болезни, вызваемые хантавирусами: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС), возбудителями которой являются вирусы *Puumala, Dobrava-Belgrade, Hantaan, Amur* и *Seoul,* и хантавирусный (кардио-) пульмональный синдром (ХПС), возбудителями которого являются вирусы *Sin Nombre, Black Creek Canal, Bayou, Andes, Laguna Negra.* На территории Американского региона регистрируется как ХПС, так и ГЛПС, в других регионах мира – только ГЛПС [3].

Цель обзора – характеристика эпидемической ситуации в мире и сравнительный анализ интенсивности и динамики эпидемиологического процесса ГЛПС в Российской Федерации в разрезе федеральных округов и прогноз заболеваемости населения на 2020 г.

При анализе эпидемиологической ситуации использовались материалы официальных сайтов организаций здравоохранения США и Европы, ВОЗ, а также данные оперативного мониторинга, осуществляемого Референс-центром по мониторингу за ГЛПС ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» на основании информации, представленной учреждениями Роспотребнадзора в субъектах Российской Федерации. В анализ вошли данные по всем административным территориям. Статистическая обработка проведена стандартными методами вариационной статистики с применением программы Excel.

Распространение хантавирусов носит повсеместный характер, факт их обнаружения отмечен практически во всем мире, кроме Антарктического континента. За последние десятилетия хантавирусные инфекции вошли в круг весьма актуальных и приоритетных проблем во всем мире, грозящих серьезным осложнением эпидемиологической ситуации.

Заболеваемость хантавирусной инфекцией на Американском континенте, в Европе и Азии. Официальная регистрация хантавирусной инфекции в Американском регионе ведется с 1993 г. В настоящее время в регионе основной клинической формой хантавирусной инфекции является ХПС [4], отличающийся поражением легочной ткани и более тяжелым течением заболевания [5]. Основные переносчики – грызуны подсемейства *Sigmodontinae* [6, 7]. Всего за период с 1993 по 2019 год в США зарегистрировано 804 заболевших ХПС, из них 264 случая закончились летальным исходом (показатель летальности 35 %). За последнее десятилетие (2010–2019 гг.) выявлено 252 заболевших в 34 штатах страны. С 2015 г. в США введена официальная регистрация ГЛПС, т.к. зарегистрированы случаи заболевания среди людей и стали выявляться грызуны, инфицированные возбудителями ГЛПС [8]. Всего с 2015 по 2019 год зарегистрировано 17 случаев заражения без летальных исходов [9].

В Европейском регионе регистрация заболеваемости ГЛПС ведется с 1963 г. Случаи заболевания ГЛПС регистрируются ежегодно, в основном в странах Северной и Центральной Европы, на Балканском полуострове и в Скандинавии [10]. На сегодняшний день в Европе циркулируют четыре основных патогенных для человека хантавируса: *Puumala* (основной серотип вируса, циркулирующий в странах Северной и Западной Европы), *Dobrava-Belgrade* (в странах Юго-Восточной Европы), *Hantaan* (в Восточной и Северной Европе) и *Seul* (распространен повсеместно). С 2010 по 2019 год зарегистрировано 31298 случаев заболевания ГЛПС в 29 странах региона. До 90 % заболевших приходится ежегодно на Германию, Финляндию и Швецию. В Европе циркулирует в основном вирус *Puumala*, носителем которого является рыжая полевка (*Myodes glareolus*). На Балканах и в странах Центральной Европы в меньшей степени встречается вирус *Dobrava-Belgrade*, носителями которого являются полевая и желтогорлая мыши (*Apodemus agrarius* и *Apodemus*

flavicollis) [11–13]. В европейских странах ГЛПС заболевают в основном мужчины в возрасте 25–64 года. Заболеваемость среди детей низкая – около 2 % от всех зарегистрированных случаев. Сезонные подъемы заболеваемости отмечаются в январе и июле–августе [14, 15].

В Западно-Тихоокеанском регионе болезнь широко распространена в Китае. Эндемична вся территория страны, за исключением тайваньского региона. Ежегодно на долю Китая приходится 50 % от всей заболеваемости ГЛПС в мире. В последние десятилетия, благодаря масштабной программе вакцинации населения, уровень заболеваемости снизился более чем в 3 раза. С 2010 по 2019 год ежегодное число случаев заболевания колебалось от 9000 до 25000. На территории страны распространены лесные очаги ГЛПС с циркуляцией вируса *Hantaan*, основным резервуаром в которых является восточно-азиатская мышь, и городские очаги ГЛПС с циркуляцией вируса *Seul* в популяции основного носителя – серой крысы. В регионе случаи заболевания ГЛПС также регистрируются в Республике Корея. В среднем ежегодно сообщается об 1–2 тыс. случаев заболевания [16, 17].

Ситуация по ГЛПС в Российской Федерации. На территории Российской Федерации эпидемически активные очаги ГЛПС расположены в европейской части страны, Западной Сибири и на Дальнем Востоке. На европейские очаги России в разные годы приходилось 80–95 % случаев заболевания ГЛПС от суммарного числа заболевших. Общее количество случаев заражения ГЛПС в сибирских и дальневосточных регионах составляет 1–5 % [18, 19].

На территории европейской части России ГЛПС вызывают вирусы *Puumala* и два подвида вируса *Dobrava-Belgrade* – вирусы Куркино (ДОБ-Аа) и Сочи (ДОБ-Ар). Природными резервуарами для вируса *Puumala* является рыжая полевка (*Myodes glareolus*), для *Dobrava-Belgrade* (Куркино) – западный подвид полевой мыши (*Apodemus agrarius agrarius*), для *Dobrava-Belgrade* (Сочи) – кавказская лесная мышь (*Apodemus ponticus*) [20, 21].

В Западной Сибири спорадические заболевания ГЛПС вызывают сибирские варианты вирусов *Puumala* и *Dobrava-Belgrade*. Природными резервуарами для сибирского варианта вируса *Puumala* являются рыжая (*Myodes glareolus*) и красно-серая (*Clethrionomys rufocanus*) полевки, для *Dobrava-Belgrade* сибирского варианта вируса – западный подвид полевой мыши (*Apodemus agrarius agrarius*). В дальневосточных регионах Российской Федерации ГЛПС вызывают вирусы *Hantaan, Amur* и *Seoul*. Природными резервуарами для вируса *Hantaan* является восточный подвид полевой мыши (*Apodemus agrarius mantchuricus*), для вирусов *Amur* – восточно-азиатская мышь (*Apodemus peninsulae*), для *Seoul* – серая крыса (*Rattus norvegicus*).

К основным факторам, влияющим на интенсивность эпидемического процесса ГЛПС за последние десятилетия, относятся меняющаяся степень антропогенного воздействия на природные очаги ГЛПС и изменение климата. Интенсивная хозяйственная деятельность человека способствовала антропогенной трансформации зональных и супераквальных ландшафтов, особенно в европейской части России. Произошло усиление плоскостной эрозии и процессов оврагообразования в результате интенсификации аграрного производства. Освоение лесопокрытых территорий лесозаготовителями, нефтедобывающей промышленностью, животноводством, а также для нужд рекреации и урбанизации в совокупности привело к значительному замещению исходно-коренных (хвойных и широколиственных) формаций вторичными мелколиственными, а также к фрагментации ранее монолитных лесных территорий, глобальному омоложению лесов и масштабной пастбищной дигрессии фитоценозов. Создались максимально благоприятные биотопы для воспроизводства мелких лесных млекопитающих в силу высокой кормности и ремизности приграничных стаций обитания [22, 23].

Важным фактором, влияющим на репродуктивную активность мелких млекопитающих, стало изменение климатических условий, которые выражаются в повышении среднегодовой температуры приземного слоя атмосферы. Эти климатические изменения увеличивают число лет с благоприятными условиями для зимовки мелких лесных млекопитающих и для их размножения в этот сезон года. Начиная с 70-х годов XX в., особенно в последние десятилетия, сравнительно частым явлением стало зимнее подснежное размножение грызунов [23].

В последнее десятилетие на территории Российской Федерации сохраняется чрезвычайно напряженная обстановка по заболеваемости природно-очаговыми вирусными болезнями, в структуре которых доля ГЛПС достигает практически 90 %.

С момента начала официальной регистрации заболевания в стране (1978 г.) по 2019 г. зарегистрировано 278996 случаев ГЛПС. По данным Роспотребнадзора, за десятилетний период на территории Российской Федерации зарегистрировано 76548 случаев заболевания ГЛПС среди населения страны. Эпидемиологический анализ заболеваемости за данный период показал, что 97,7 % всех случаев ГЛПС в России этиологически обусловлены вирусом *Puumala*, 1,5 % – *Hantaan, Amur* и *Seoul* и 0,8 % – *Dobrava-Belgrade* (Куркино и Сочи), что указывает на ведущую этиологическую роль вируса *Puumala* в структуре заболеваемости ГЛПС в России.

Динамика заболеваемости ГЛПС в Российской Федерации характеризовалась циклическими подъемами с тенденцией к росту (рис. 1).

Наибольшее количество заболевших ГЛПС регистрируется в Приволжском федеральном округе (ПФО). По данным Роспотребнадзора, именно на этот регион ежегодно приходится до 90 % от общей заболеваемости ГЛПС по стране.

Заболеваемость ГЛПС регистрируется на терри-

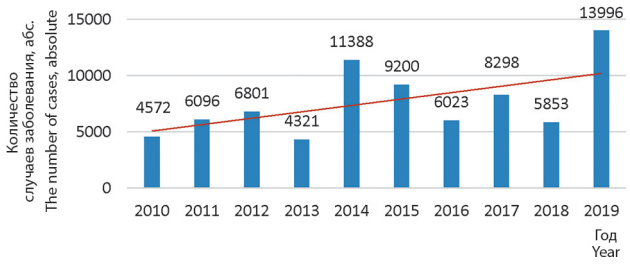


Рис. 1. Многолетняя динамика заболеваемости населения ГЛПС в Российской Федерации в 2010–2019 гг. (абс. числа)

Fig. 1. Long-term dynamics of HFRS incidence among the population in the Russian Federation over the period of 2010-2019 (absolute numbers)

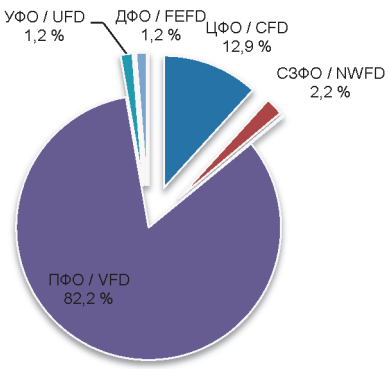


Рис. 2. Распределение заболеваемости ГЛПС по федеральным округам Российской Федерации в 2010–2019 гг.

Fig. 2. Distribution of HFRS cases by Federal Districts of the Russian Federation in 2010-2019

тории Российской Федерации в течение всего года. Максимальное количество заболевших регистрируется в сезоны наибольшей эпизоотической активности очагов разного типа. Как правило, сезонная динамика заболеваемости, связанная с хантавирусами *Puumala,* – летне-осенняя, *Amur* – весенне-летняя, *Seoul* – весенняя, а в очагах *Dobrava-Belgrade* и *Hantaan* – осенне-зимняя [19].

В структуре заболеваемости ГЛПС в очагах с циркуляцией вирусов *Puumala* и *Seoul* преобладает городское население, тогда как среди отличительных особенностей вирусов *Dobrava-Belgrade*, *Amur* и *Hantaan* отмечено большее вовлечение в эпидемический процесс жителей сельских районов. Дети до 14 лет и люди старше 60 лет в общей структуре заболеваемости составляют небольшой процент. В основном заболевают люди в возрасте от 20 до 50 лет.

Заражение человека в природных очагах с циркуляцией вирусов *Puumala* и *Amur* происходит в основном при работе на садово-огородных участках, при кратковременном посещении леса с различными целями (туризм, охота, рыбная ловля, сбор грибов и ягод), а также среди лиц, работа которых связана с длительным пребыванием на территории природного очага. В очагах с циркуляцией вирусов *Dobrava-Belgrade* и *Hantaan* заражение человека в основном происходит в бытовых условиях, как правило, среди сельских жителей. Случаи заболевания ГЛПС, обусловленные вирусом *Seoul*, регистрируются в условиях города и связаны с жизнедеятельностью серой крысы – основного носителя данной разновидности возбудителя ГЛПС.

Заболеваемость населения за анализируемый период (с 2010 по 2019 год) регистрировалась в 8 федеральных округах Российской Федерации, в 58 субъектах. Однако распределение заболеваемости по территории страны было не равномерным. В 97 % случаев заболеваемость регистрировалась на европейской части России. На территории Приволжского федерального округа заболеваемость ГЛПС составила 87,6 % от таковой в европейской части России и 82,2 % от всей заболеваемости, зарегистрированной в целом по Российской Федерации (рис. 2), что характеризует этот регион, как территорию с наибольшей эпидемической активностью природных очагов ГЛПС в стране [24, 25]. Отмечается циклический характер многолетней заболеваемости населения ГЛПС с тенденцией к росту.

Всего в ПФО за период 2010–2019 гг. зарегистрировано 69887 случаев заболевания ГЛПС, при этом в среднем ежегодно фиксировалось 6988 случаев заболевания. Средний интенсивный показатель заболеваемости по округу составлял 18,4 на 100 тыс. населения. Случаи заболевания ГЛПС отмечены во всех 14 субъектах округа, в 11 из которых интенсивный показатель заболеваемости был выше 10 на 100 тыс. населения. Наиболее высокие показатели заболеваемости ГЛПС постоянно регистрируют в Удмуртской Республике и Республике Башкортостан, где они превышали 50,0 на 100 тыс. населения [22, 26, 27]. К неблагополучным, за анализируемый период, административным территориям ПФО также отнесены республики Марий-Эл, Мордовия, Чувашия, Татарстан и Саратовская область.

Как правило, заражению ГЛПС подвергается наиболее трудоспособное население в возрасте от 20 до 50 лет, при этом мужчины заболевают ГЛПС гораздо чаще женщин. Лесной тип заражения превалировал в республиках Башкортостан, Марий-Эл и Чувашия, достигая в некоторых регионах до 60 %.

Высокая заболеваемость ГЛПС регистрируется и в Центральном федеральном округе (ЦФО). За последние 10 лет (2010–2019 гг.) доля ГЛПС в ЦФО в общей структуре заболеваемости по стране составляла 12,9 %. Среднее количество зарегистрированных больных в год – 987. Случаи заболевания отмечены во всех (18) субъектах федерального округа, однако наибольшее количество заболевших регистрировалось в Тульской, Рязанской, Ярославской и Костромской областях. По сравнению с предыдущим десятилетием (1999–2009 гг.), заболеваемость в округе выросла на 32 %. В природных очагах ГЛПС ЦФО на большинстве территорий циркулирует хантавирус *Puumala*, а в 3–5 % случаев заболевания ассоциируют с хантавирусом *Dobrava-Belgrade*.

За последние 10 лет доля заболеваемости ГЛПС

в Уральском федеральном округе (УФО) в общей структуре заболеваемости по стране составляла 1,2 %. Всего за анализируемый период в УФО зарегистрировано 958 случаев ГЛПС. По сравнению с предыдущим десятилетним периодом (1999–2008 гг.) заболеваемость в целом по округу снизилась в 1,2 раза. При этом подавляющее большинство всех зарегистрированных случаев ГЛПС в округе приходилось на Челябинскую область. Все случаи заражения ГЛПС ассоциированы с вирусом *Puumala*.

За анализируемый период (2010–2019 гг.) в Северо-Западном федеральном округе (СЗФО) зарегистрировано 1718 случаев заболевания, что составляет 2,24 % от общероссийской заболеваемости. На территории округа отмечена уверенная тенденция к росту заболеваемости. Большинство случаев заболевания отмечено в Вологодской области. Единственным в СЗФО субъектом, на территории которого больных ГЛПС не регистрировали, остается Ненецкий автономный округ. Все случаи заражения ГЛПС на территории СЗФО ассоциированы с вирусом *Puumala*.

В Дальневосточном федеральном округе (ДФО) за анализируемый период официально зарегистрировано 932 случая заболевания ГЛПС среди населения округа, что составляет 1,2 % от общероссийской заболеваемости за анализируемый период. По сравнению с предыдущим десятилетием (1999–2009 гг.) заболеваемость в целом по округу снизилась в 3 раза (с 4312 до 932 случаев). Случаи заражения людей обусловлены хантавирусами *Seoul, Hantaan* и *Amur.*

По данным Роспотребнадзора, за период с 2010 по 2019 год на территории Южного федерального округа (ЮФО) зарегистрировано 166 случаев ГЛПС, что составляет 0,2 % от общероссийской заболеваемости. Случаи заболевания людей выявлены в Волгоградской области и Краснодарском крае. Заражения обусловлены хантавирусами *Puumala* и *Dobrava-Belgrade* [21, 28].

В Сибирском федеральном округе (СФО) за последнее десятилетие отмечено резкое снижение заболеваемости ГЛПС, всего с 2010 по 2019 год на территории СФО зарегистрировано 2 случая заболевания среди населения. Согласно официальной статистики Роспотребнадзора, с 1990 по 1999 год на территории округа зарегистрировано 190 случаев ГЛПС, а за последующие 20 лет – всего 11 случаев заболевания.

В Северо-Кавказском федеральном округе (СКФО) в 2010–2019 гг. за анализируемый период отмечено 9 случаев заболевания.

Ситуация по ГЛПС в Российской Федерации в 2019 г. В 2019 г. в Российской Федерации зарегистрировано 13996 случаев заболевания ГЛПС (9,53 на 100 тыс. населения). Среди заболевших детей в возрасте до 17 лет включительно – 517 случаев (1,72 на 100 тыс. населения). Зарегистрировано 40 летальных исходов среди взрослых; летальность составила 0,28 %. В 2019 г. на территории Российской Федерации зарегистрирован рост уровня заболеваемости ГЛПС в 2,4 раза по сравнению с показателями 2018 г., в основном за счет роста заболеваемости ГЛПС в ПФО (в 2,5 раза) и ЦФО (в 3,2 раза). Так, рост заболеваемости в ПФО отмечен: в Саратовской области – в 22 раза, в Пермском крае – в 3 раза, в Нижегородской области – в 2,7 раза, в Пензенской области – в 2,5 раза. В ЦФО: в Ярославской области – в 3,3 раза, в Липецкой области – в 7,4 раза, во Владимирской области – в 4,5 раза, в Воронежской области заболеваемость ГЛПС возросла в 10 раз.

Большинство заболевших зарегистрировано в возрастной группе 30–59 лет (6,1 на 100 тыс. населения). Доля мужского населения в общей структуре заболеваемости по России составила 70,4 %.

По типам заражения населения в стране преобладали бытовой (35,9 %), лесной (30,6 %) и садово-дачный (24,6 %), в меньшей степени – сельскохозяйственный (3,7 %) и производственный (2,9 %). Доля тяжелых клинических форм ГЛПС по ЦФО, СЗФО и ПФО не превышала 7,0 %, в УФО она составила 9 %, в ДФО – 17,3 %, в ЮФО – 28,6 %. Клинические формы со средней степенью тяжести заболевания по федеральным округам находились в пределах от 69 до 93 %, а легкие формы – от 1,6 до 5,8 %. Лабораторное подтверждение диагнозов ГЛПС проводилось с помощью серологических методов ИФА и РНИФ, наиболее часто использовался метод ИФА – 59,8 %, методом РНИФ подтверждено 37,8 % случаев ГЛПС. В целом по Российской Федерации из 14027 случаев получили лабораторное подтверждение 13697 (97,6 %).

Характер распределения заболеваемости ГЛПС по территории Российской Федерации в 2019 г. был неоднороден. Статистическая обработка данных методом квантильного ранжирования интенсивных показателей заболеваемости ГЛПС в каждом субъекте с определением доверительных интервалов уровня заболеваемости в 2019 г. позволила выделить пять групп территорий, отличающихся по уровню заболеваемости ГЛПС: заболеваемость отсутствует (1), низкая (2), средняя (3), высокая (4) и очень высокая (5) (рис. 3).

К первой группе территорий, на которых заболеваемость населения отсутствовала, отнесены все субъекты Сибирского федерального округа, а также Ненецкий АО, Севастополь, республики Ингушетия, Северная Осетия, Бурятия и Саха (Якутия), Кабардино-Балкарская, Карачаево-Черкесская и Чеченская республики, а также Астраханская, Курганская, Сахалинская и Магаданская области, Камчатский край и Чукотский АО.

Ко второй группе, с низким уровнем заболеваемости, отнесены субъекты с диапазоном интенсивного показателя заболеваемости от 0,01 до 0,99 на 100 тыс. населения: в ЦФО – Московская область; в СЗФО – Архангельская, Калининградская, Ленинградская, Мурманская, Псковская области; в ЮФО – республики Адыгея, Калмыкия, Крым, Краснодарский край, Волгоградская и Ростовская области. В СКФО –

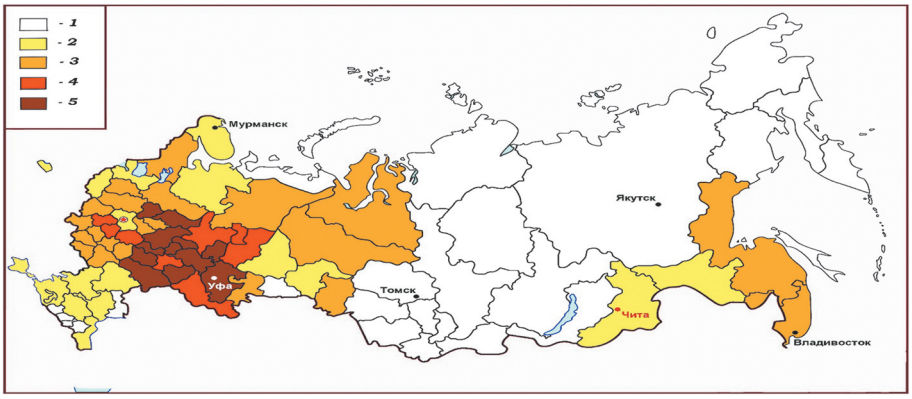


Рис. 3. Ранжирование территории Российской Федерации по уровню заболеваемости населения ГЛПС в 2019 г.:

1 – заболеваемость отсутствует, *2* – низкая, *3* – средняя, *4* – высокая, *5* – очень высокая

Fig. 3. Ranking of the territory of the Russian Federation by the level of HFRS incidence among the population in 2019:

1 – morbidity is absent, *2* – low, *3* – medium, *4* – high, *5* – very high

Республика Дагестан и Ставропольский край. В УФО – Свердловская, Тюменская, Амурская области и Забайкальский край.

К третьей группе, со средним уровнем заболеваемости, отнесены субъекты Российской Федерации, в которых показатель заболеваемости варьировал в диапазоне от 1,0 до 9,99 на 100 тыс. населения. Все субъекты ЦФО кроме Костромской, Московской, Рязанской и Ярославской областей. В СЗФО – республики Карелия и Коми, Санкт-Петербург, Вологодская и Новгородская области. В УФО – ХМАО, ЯНАО, Челябинская область. В ДФО – Приморский и Хабаровский края, а также Еврейская АО.

К четвертой группе территорий, с высоким уровнем заболеваемости, с диапазоном интенсивного показателя заболеваемости от 10,0 до 19,99 на 100 тыс. населения, отнесены субъекты ЦФО – Рязанская, Калужская, Тульская области и субъекты ПФО – Пермский край, Кировская, Оренбургская и Ульяновская области.

К территориям с очень высоким уровнем заболеваемости отнесены территории, на которых в 2019 г. зарегистрирован показатель заболеваемости выше 20 на 100 тыс. населения в ЦФО – Костромская и Ярославская области. В ПФО – республики Башкортостан, Марий-Эл, Мордовия, Татарстан, Удмуртия, Чувашия, Нижегородская, Пензенская, Самарская и Саратовская области.

Прогноз эпидемиологической ситуации по ГЛПС на 2020 г. На основании анализа эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по ГЛПС ожидается, что в 2020 г. наиболее неблагополучная обстановка сохранится на всей территории ПФО. Учитывая аномально теплую зиму, способствующую сохранению и росту популяции мышевидных грызунов, вероятно сохранится очень высокий риск заражения ГЛПС в большинстве субъектов округа. Во всех субъектах ЦФО прогнозируется сохранение неблагополучной ситуации, прежде всего в Костромской, Ярославской, Рязанской, Калужской и Тульской областях. В СЗФО наиболее напряженная эпидемиологическая обстановка сохранится на территории Архангельской, Вологодской, Новгородской областей, Республик Коми и Карелия, а также в Санкт-Петербурге. В ЮФО на 2020 г. можно прогнозировать сохранение относительного благополучия по заболеваемости ГЛПС. Спорадические случаи заболевания возможны на территориях Краснодарского края, Волгоградской области, Республики Адыгея. На территории СКФО обострения эпидемической обстановки не ожидается. В УФО сохранятся условия для возникновения спорадических случаев ГЛПС. Основные риски заражения ГЛПС связаны с вирусом *Puumala* в основном на территориях Челябинской и Свердловской областей, а также Ханты-Мансийского и Ямало-Ненецкого АО. На территории СФО обострения эпидемической обстановки по ГЛПС не ожидается. Однако в связи с увеличением доли положительных находок на ГЛПС, по сравнению с прошлым годом, не исключены спорадические случаи заболевания ГЛПС на территории СФО, прежде всего на территориях Омской области и Алтайского края. В ДФО сохранятся условия для возникновения случаев заболевания ГЛПС. Спорадические случаи заболевания вероятны на территориях Приморского и Хабаровского краев, а также Еврейской АО.

Прогностические риски заражения ГЛПС на территории Российской Федерации в 2020 г. представлены на рис. 4.

В 2020 г. к группе территорий с очень высоким прогностическим риском заражения ГЛПС отнесены 12 субъектов: Саратовская, Самарская, Пензенская и Нижегородская области, республики Чувашия, Удмуртия, Татарстан, Мордовия, Марий Эл и Башкортостан, а также Костромская и Ярославская области.

К группе территорий с высоким прогностическим риском заражения отнесены 6 субъектов: Рязанская, Тульская, Кировская, Оренбургская и Ульяновская области, а также Пермский край.

К группе территорий со средним прогностическим риском заражения отнесены 22 субъекта: Белгородская, Брянская, Владимирская, Воронежская, Ивановская, Калужская, Курская, Липецкая, Орловская, Смоленская, Тамбовская, Тверская, Вологодская, Новгородская и Челябинская области, республики Коми и Карелия, ХМАО, ЯНАО, Еврейская АО, а также Приморский и Хабаровский края.

К группе территорий с низким прогностическим риском заражения отнесены 18 субъектов: Московская, Архангельская, Калининградская, Ленинградская, Мурманская, Псковская, Волгоградская,

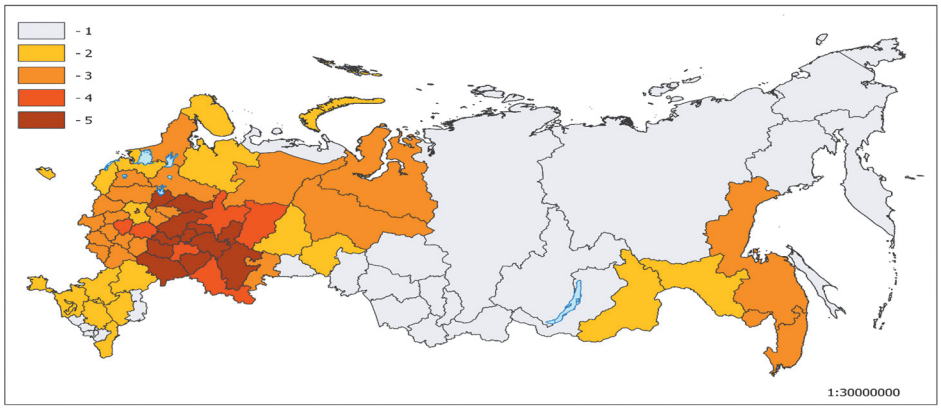


Рис. 4. Прогностические риски заражения ГЛПС на территории Российской Федерации в 2020 г.:

1 – заболеваемость отсутствует, *2* – низкая, *3* – средняя, *4* – высокая, *5* – очень высокая

Fig. 4. Predictive risks of HFRS infection in the territory of the Russian Federation in 2020:

1 – morbidity is absent, *2* – low, *3* – medium, *4* – high, *5* – very high

Ростовская, Свердловская, Тюменская и Амурская области, республики Адыгея, Калмыкия, Крым, Дагестан, а также Краснодарский, Ставропольский и Забайкальский края.

К группе территорий, на которых риск заражения ГЛПС отсутствует, отнесены территории 24 субъектов: республики Ингушетия, Алтай, Тыва, Хакасия, Чечня и Северная Осетия, Кабардино-Балкарская и Карачаево-Черкесская республики, Алтайский и Красноярский края, Курганская, Астраханская, Иркутская, Кемеровская, Новосибирская, Томская и Омская области, Республика Бурятия, Республика Саха (Якутия), Камчатский край, Магаданская и Сахалинская области, а также Ненецкий и Чукотский АО.

Таким образом, результаты эпидемиологического анализа заболеваемости ГЛПС, эпизоотологических данных и лабораторных исследований в отдельных федеральных округах Российской Федерации свидетельствуют о напряженной эпидемиологической ситуации по ГЛПС, сложившейся в 2019 г. (13996 случаев заболевания ГЛПС). По сравнению с 2018 г., заболеваемость ГЛПС в 2019 г. выросла в 2,4 раза. Наибольшая заболеваемость отмечалась в ПФО с интенсивным показателем, равным 38,29 на 100 тыс. населения и превышающим аналогичный показатель по стране в 4 раза. Показатели заболеваемости ГЛПС в Приволжском федеральном округе в целом отражают неблагополучие по данному заболеванию в Российской Федерации, т.к. в 2019 г. на долю ПФО приходилось 80,6 % от всех зарегистрированных случаев заболевания ГЛПС в стране.

На основании анализа эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по заболеваемости ГЛПС в 2020 г. следует ожидать сохранение неблагополучной обстановки по ГЛПС на всей территории ПФО, а также во всех субъектах ЦФО. В 2020 г. в ДФО и УФО сохранятся условия для возникновения спорадических случаев заражения ГЛПС. На территориях ЮФО, СКФО и СФО можно прогнозировать сохранение относительного благополучия по заболеваемости ГЛПС.

Для снижения уровня заболеваемости ГЛПС на территории Российской Федерации необходимо повысить эффективность эпидемиологического надзора в природных очагах и качество проводимых противоэпидемических и профилактических мероприятий, в том числе за счет дифференциации очаговых по ГЛПС территорий по уровню эпидемической опасности. На основании прогнозов необходимо обеспечить заблаговременное проведение профилактических мероприятий на участках прогностического обострения эпидемиологической обстановки. В целях своевременного выявления рисков заражения населения ГЛПС и принятия решений по локализации и ликвидации очагов рекомендуется вести оперативный анализ заболеваемости по территориям, возрастным и социально-профессиональным группам населения, своевременности, объему и контролю качества неспецифических профилактических и противоэпидемических мероприятий.

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

Список литературы

1. Бернштейн А.Д., Гавриловская И.Н., Апекина Н.С. Дзагурова Т.К., Ткаченко Е.А. Особенности природной очаговости хантавирусных зоонозов. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2010; 2:5–13.

2. Ткаченко Е.А., Бернштейн А.Д., Дзагурова Т.К., Морозов В.Г., Слонова Р.А., Иванов Л.И., Транквилевский Д.В., Крюгер Д. Актуальные проблемы геморрагической лихорадки с почечным синдромом. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2013; 1:51–8.

3. Беляев А.Л., Феодоритова Е.Л. Проблемы эпидемиологии и профилактики ГЛПС. *РЭТ-инфо*. 2008; 4:27–32.

4. Figueiredo L.T., Souza W.M., Ferres M., Enria D.A. Hantaviruses and cardiopulmonary syndrome in South America. *Virus Res.* 2014; 187:43–54. DOI: 10.1016/j.virusres.2014.01.015.

5. MacNeil A., Nichol S.T., Spiropoulou C.F. Hantavirus pulmonary syndrome. *Virus Res.* 2011; 162(1–2):138–47. DOI: 10.1016/j.virusres.2011.09.017.

6. Peters C.J., Khan A.S. Hantavirus pulmonary syndrome: the new American hemorrhagic fever. *Clin. Infect. Dis.* 2002; 34:1224–31. DOI: 10.1086/339864.

7. Roig I.L., Musher D.M., Tweardy D.J. Severe pulmonary involvement in a case attributed to domestically acquired Seoul hantavirus in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 2012; 54(1):91–4. DOI: 10.1093/cid/cir748.

8. Hong J., Xuyang Z., Limei W., Hong D., Pingzhong W., Xuefan B. Hantavirus infection: a global zoonotic challenge. *Virol. Sin.* 2017; 32(1):32–43. DOI: 10.1007/s12250-016-3899-x.

9. Chand S., Thapa S., Kon S., Johnson S.C., Poeschla E.M., Franco-Paredes C., Rodríguez-Morales A.J., Mattar S., Henao-Martínez A.F. Hantavirus infection with renal failure and proteinuria, Colorado, USA, 2019. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(2):383–5. DOI: 10.3201/eid2602.191349.

10. Heyman P., Ceianu C.S., Christova I., Tordo N., Beersma M., João Alves M., Lundkvist A., Hukic M., Papa A., Tenorio A., Zelená H., Essbauer S., Visontai I., Golovljova I., Connell J., Nicoletti L., Van Esbroeck M ., Gjeruldsen Dudman S., Aberle S.W., Avšič-Županc T., Korukluoglu G., Nowakowska A., Klempa B., Ulrich R.G., Bino S., Engler O., Opp M., Vaheri A. A five-year perspective

on the situation of haemorrhagic fever with renal syndrome and status of the hantavirus reservoirs in Europe, 2005–2010. *Euro Surveill.* 2011; 16(36):19961. DOI: 10.2807/ese.16.36.19961-en.

11. Avsic-Zupanc T., Xiao S.Y., Stojanovic R., Gligic A., van der Groen G., LeDuc J.W. Characterization of Dobrava virus: a Hantavirus from Slovenia, Yugoslavia. *J. Med. Virol*. 1992; 38(2):132–7. DOI: 10.1002/jmv.1890380211.

12. Papa A. Dobrava-Belgrade virus: phylogeny, epidemiology, disease. *Antiviral. Res.* 2012; 95(2):104–17. DOI: 10.1016/j.antiviral.2012.05.011.

13. Avsic Zupanc T, Korva M, Markotic A. HFRS and hantaviruses in the Balkans/South-East Europe. *Virus Res.* 2014; 187:27–33. DOI: 10.1016/j.virusres.2013.12.042.

14. Avšič-Županc T.. Saksida A., Korva, M. Hantavirus infections. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019; 21S:e6-e16. DOI: 10.1111/1469-0691.12291.

15. Klingström J., Heyman P., Escutenaire S., Sjölander K.B., De Jaegere F., Henttonen H., Lundkvist Å. Rodent host specificity of european hantaviruses: Evidence of Puumala virus interspecific spillover. *J. Med. Virol.* 2002; 68(4):581–8. DOI: 10.1002/jmv.10232.

16. Zou Y., Hu J., Wang Z.-X., Wang D.-M., Yu C., Zhou J.-Z., Fu Z.F., Zhang Y.-Z. Genetic characterization of hantaviruses isolated from Guizhou, China: Evidence for spillover and reassortment in nature. *J. Med. Virol.* 2008; 80(6):1033–41. DOI: 10.1002/jmv.21149.

17. Lee H.W., Lee R.W., Johnson K.M. Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. *J. Infect. Dis.* 1978; 137(3):298–308. DOI: 10.1093/infdis/137.3.298.

18. Савицкая Т.А., Трифонов В.А., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Пакскина Н.Д., Серова И.В., Иванова А.В., Сафронов В.А., Попов Н.В. Обзор современной эпидемиологической обстановки по заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в мире и прогноз заболеваемости на территории Российской Федерации в 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2019; 2:30–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-30-36.

19. Ткаченко Е.А., Бернштейн А.Д., Дзагурова Т.К., Коротина Н.А. Актуальные проблемы современного этапа изучения ГЛПС в России. *Дезинфекционное дело*. 2007; 4:26–32.

20. Тарасов М.А., Попов Н.В., Величко Л.Н., Кузнецова А.А., Яковлев С.А., Матросова А.Н., Слудский А.А., Толоконникова С.И., Князева Т.В., Караваева Т.Б., Григорьева Г.В., Удовиков А.И., Грухина Г.Н., Дмитриев А.П., Меркулов А.В., Григорьев Г.А., Забродин Н.А., Верещагин Н.Н., Казакова Л.В., Спиридонов А.М., Дылдин В.В., Петров Е.Ю., Минин Г.Д., Кочетов Е.Н., Гасилин В.В., Ямалтдинов Р.К. Ландшафтно-геоботанические и эколого-эпизоотологические особенности проявления активности очагов ГЛПС на территории Приволжского федерального округа. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2007; 1:43–6.

21. Ткаченко Е.А., Морозов В.Г., Дзагурова Т.К., Юничева Ю.В., Пиликова О.М., Завора Д.Л., Ишмухаметов А.А., Городин В.Н., Бахтина В.А., Загидуллин И.М., Соцкова С.Е. Этиологические и клинико-эпидемиологические особенности ГЛПС в Краснодарском крае. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2016; 21(1):22–30. DOI: 10.18821/1560-9529-2016-21-1.

22. Иванова А.В., Попов Н.В., Куклев Е.В., Адамов А.К., Щербакова С.А. Обзор эпидемиологической обстановки по геморрагической лихорадку с почечным синдромом (ГЛПС) на территории Российской Федерации за 1990–2015 гг. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2017; 2:16–21. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-2-16-21.

23. Бойко В.А., редактор. Природные очаги зооантропонозов трансформированных ландшафтов Республики Татарстан во второй половине XX века. Казань: Новое знание; 2001. 119 с.

24. Трифонов В.А., Гасилин В.В., Савицкая Т.А., Юсупова Р.С. Особенности заболеваемости ГЛПС в Республике Татарстан. *Дезинфекционное дело.* 2008; 1:46–9.

25. Мочалкин П.А., Мочалкин А.П., Степанов Е.Г., Фарвазова Л.А., Попов Н.В. Пространственные особенности заболеваемости ГЛПС на территории Республики Башкортостан в 2010–2015 годах. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2017; 16(4):81–6. DOI: 10.31631/2073-3046-2017-16-4-81-86.

26. Корнеев А.Г., Сергевнин В.И., Санков Д.И., Паньков А.С. Потенциальные факторы риска эпидемического процесса геморрагической лихорадки с почечным синдромом, вызванной вирусом Пуумала, среди населения лесостепной и степной зон. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2016; 1:32–5.

27. Трифонов В.А., Бойко В.А., Савицкая Т.А. Методологические подходы к мониторингу заболеваемости населения природно-очаговыми инфекциями в крупных городах Республики Татарстан. *Медицинский альманах*. 2017; 4:102–6.

28. Трифонов В.А., Давидюк Ю.Н., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Савицкая Т.А., Волостнова Е.С., Гайнуллин А.А., Сафиуллина Г.Ш., Бойко В.А., Шамсутдинов А.Ф., Кабве Э., Мартынова Е.В., Исмагилова Р.К., Хайбуллина С.Ф., Ризванов А.А., Морзунов С.П. Изучение инфицированности рыжей полёвки вирусом PUUMALA в природных очагах ГЛПС Татарстана. *Дневник казанской медицинской школы*. 2018; 4:36–9.

References

1. Bernstein A.D., Gavrilovskaya I.N., Apekina N.S., Dzagurova T.K., Tkachenko E.A. Features of natural foci of Hantavirus zoonoses. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2010; 2:5–13.

2. Tkachenko E.A., Bernstein A.D., Dzagurova T.K., Morozov V.G., Slonova R.A., Ivanov L.I., Trankvilevsky D.V., Kruger D. Current problems of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2013; 1:51–8.

3. Belyaev A.L., Feodoritova E.L. Problems of epidemiology and prophylaxis of HFRS. *Rat info*. 2008; 4:27–32.

4. Figueiredo L.T., Souza W.M., Ferres M., Enria D.A. Hantaviruses and cardiopulmonary syndrome in South America. *Virus Res.* 2014; 187:43–54. DOI: 10.1016/j.virusres.2014.01.015.

5. MacNeil A., Nichol S.T., Spiropoulou C.F. Hantavirus pulmonary syndrome. *Virus Res.* 2011; 162(1–2):138–47. DOI: 10.1016/j.virusres.2011.09.017.

6. Peters C.J., Khan A.S. Hantavirus pulmonary syndrome: the new American hemorrhagic fever. *Clin. Infect. Dis.* 2002; 34:1224–31. DOI: 10.1086/339864.

7. Roig I.L., Musher D.M., Tweardy D.J. Severe pulmonary involvement in a case attributed to domestically acquired Seoul hantavirus in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 2012; 54(1):91-4. DOI: 10.1093/cid/cir748.

8. Hong J., Xuyang Z., Limei W., Hong D., Pingzhong W., Xuefan B. Hantavirus infection: a global zoonotic challenge. *Virol. Sin.* 2017; 32(1):32–43. DOI: 10.1007/s12250-016-3899-x.

9. Chand S., Thapa S., Kon S., Johnson S.C., Poeschla E.M., Franco-Paredes C., Rodríguez-Morales A.J., Mattar S., Henao-Martínez A.F. Hantavirus infection with renal failure and proteinuria, Colorado, USA, 2019. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(2):383–5. DOI: 10.3201/eid2602.191349.

10. Heyman P., Ceianu C.S., Christova I., Tordo N., Beersma M., João Alves M., Lundkvist A., Hukic M., Papa A., Tenorio A., Zelená H., Essbauer S., Visontai I., Golovljova I., Connell J., Nicoletti L., Van Esbroeck M ., Gjeruldsen Dudman S., Aberle S.W., Avšič-Županc T., Korukluoglu G., Nowakowska A., Klempa B., Ulrich R.G., Bino S., Engler O., Opp M., Vaheri A. A five-year perspective on the situation of haemorrhagic fever with renal syndrome and status of the hantavirus reservoirs in Europe, 2005–2010. *Euro Surveill.* 2011; 16(36):19961. DOI: 10.2807/ese.16.36.19961-en.

11. Avsic-Zupanc T., Xiao S.Y., Stojanovic R., Gligic A., van der Groen G., LeDuc J.W. Characterization of Dobrava virus: a Hantavirus from Slovenia, Yugoslavia. *J. Med. Virol*. 1992; 38(2):132–7. DOI: 10.1002/jmv.1890380211.

12. Papa A. Dobrava-Belgrade virus: phylogeny, epidemiology, disease. *Antiviral. Res.* 2012; 95(2):104–17. DOI: 10.1016/j.antiviral.2012.05.011.

13. Avsic Zupanc T, Korva M, Markotic A. HFRS and hantaviruses in the Balkans/South-East Europe. *Virus Res.* 2014; 187:27–33. DOI: 10.1016/j.virusres.2013.12.042.

14. Avšič-Županc T.. Saksida A., Korva, M. Hantavirus infections. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019; 21S:e6-e16. DOI: 10.1111/1469-0691.12291.

15. Klingström J., Heyman P., Escutenaire S., Sjölander K.B., De Jaegere F., Henttonen H., Lundkvist Å. Rodent host specificity of european hantaviruses: Evidence of Puumala virus interspecific spillover. *J. Med. Virol.* 2002; 68(4):581–8. DOI: 10.1002/jmv.10232.

16. Zou Y., Hu J., Wang Z.-X., Wang D.-M., Yu C., Zhou J.-Z., Fu Z.F., Zhang Y.-Z. Genetic characterization of hantaviruses isolated from Guizhou, China: Evidence for spillover and reassortment in nature. *J. Med. Virol.* 2008; 80(6):1033–41. DOI: 10.1002/jmv.21149.

17. Lee H.W., Lee R.W., Johnson K.M. Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. *J. Infect. Dis.* 1978; 137(3):298–308. DOI: 10.1093/infdis/137.3.298.

18. Savitskaya T.A., Trifonov V.A., Isaeva G.S., Reshetnikova I.D., Pakskina N.D., Serova I.V., Ivanova A.V., Safronov V.A., Popov N.V. Review of the current epidemiological situation on the incidence of hemorrhagic fever with renal syndrome in the world and forecast of the incidence for the territory of the Russian Federation in 2019. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019;(2):30–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-30-36.

19. Tkachenko E.A., Bernstein A.D., Dzagurova T.K., Korotina N.A. Relevant problems of the modern stage of studying HFRS in Russia. *Dezinfektsionnoe Delo [Disinfection Affairs]*. 2007; 4:26–32.

20. Tarasov M.A., Popov N.V., Velichko L.N., Kuznetsova A.A., Yakovlev S.A., Matrosova A.N., Sludsky A.A., Tolokonnikova S.I., Knyazeva T.V., Karavaeva T.B., Grigorieva G.V., Udovikov A.I., Grukhina G.N., Dmitriev A.P., Merkulov A.V., Grigoriev G.A., Zabrodin N.A., Vereshchagin N.N., Kazakova L.V., Spiridonov A.M., Dyldin V.V., Petrov E.Yu., Minin G.D., Kochetov E.N., Gasilin V.V., Yamaltdinov R.K. Landscape-geobotanical and ecological-epizootiological features of the activity of HFRS foci in the territory of the Volga Federal District. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2007; 1:43–6.

21. Tkachenko E.A., Morozov V.G., Dzagurova T.K., Yunicheva Yu.V., Pilikova O.M., Zavora D.L., Ishmukhametov A.A., Gorodin V.N., Bakhtina V.A., Zagidullin I.M., Sotskova S.E. Etiological and clinical-epidemiological features of HFRS in the Krasnodar Territory. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2016; 21(1):22–30. DOI: 10.18821/1560-9529-2016-21-1.

22. Ivanova A.V., Popov N.V., Kuklev E.V., Adamov A.K., Shcherbakova S.A. Review of the epidemiological situation on hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in the Russian Federation in1990-2015. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2017; 2:16–21. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-2-16-21.

23. Boyko V.A., editor. Natural foci of zooanthroponoses in the transformed landscapes of the Republic of Tatarstan in the second half of the XX century. Kazan: Novoe Znanie; 2001. 119 p.

24. Trifonov V.A., Gasilin V.V., Savitskaya T.A., Yusupova R.S. Features of HFRS incidence in the Republic of Tatarstan. *Dezinfektsionnoe Delo [Disinfection Affairs]*. 2008; 1:46–9.

25. Mochalkin P.A., Mochalkin A.P., Stepanov E.G., Farvazova L.A., Popov N.V. Spatial features of the HFRS incidence in the territory of the Republic of Bashkortostan in 2010–2015. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2017; 16(4):81–6. DOI: 10.31631/2073-3046-2017-16-4-81-86.

26. Korneev A.G., Sergevnin V.I., Sankov D.I., Pan'kov A.S. Potential risk factors for the epidemic process of hemorrhagic fever with renal syndrome caused by Puumala virus among the population of forest-steppe and steppe zones. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni. Aktualnye Voprosy [Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items]*. 2016; 1:32–5.

27. Trifonov V.A., Boyko V.A., Savitskaya T.A. Methodological approaches to monitoring the incidence of natural focal infections in large cities of the Republic of Tatarstan. *Meditsinsky Al'manakh [Medical Almanac]*. 2017; 4:102–6.

28. Trifonov V.A., Davidyuk Yu.N., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Savitskaya T.A., Volostnova E.S., Gainullin A.A., Safiullina G.Sh., Boyko V.A., Shamsutdinov A.F., Kabve E., Martynova E.V., Ismagilova R.K., Khaybullina S.F., Rizvanov A.A., Morzunov S.P. Study of infection of the red vole with PUUMALA virus in natural foci of HFRS in Tatarstan. *Dnevnik Kazanskoi Meditsinskoi Shkoly [Kazan Medical School Diary]*. 2018; 4:36–9.

Authors:

Savitskaya T.A., Ziatdinov V.B., Serova I.V. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology. 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian Federation. E-mail: kniem@mail.ru.

Isaeva G.Sh. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian Federation; e-mail: kniem@mail.ru. Kazan State Medical University; Kazan, Russian Federation.

Reshetnikova I.D. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian Federation; e-mail: kniem@mail.ru. Kazan (Privolzhsky) Federal University; Kazan, Russian Federation.

Trifonov V.A. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian Federation; e-mail: kniem@mail.ru. Kazan State Medical Academy; Kazan, Russian Federation.

Ivanova A.V., Safronov V.A. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Савицкая Т.А., Зиатдинов В.Б., Серова И.В. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии. Российская Федерация, 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67. E-mail: kniem@mail.ru.

Исаева Г.Ш. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии; Российская Федерация, 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67; e-mail: kniem@mail.ru. Казанский государственный медицинский университет; Российская Федерация, Казань.

Решетникова И.Д. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии; Российская Федерация, 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67; e-mail: kniem@mail.ru. Казанский (Приволжский) федеральный университет; Российская Федерация, Казань.

Трифонов В.А. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии; Российская Федерация, 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67; e-mail: kniem@mail.ru. Казанская государственная медицинская академия; Российская Федерация, Казань.

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-71-77

УДК 616.98:579.842.23

А.Ю. Гончарова, С.А. Бугоркова, О.М. Кудрявцева, В.А. Кожевников, А.Л. Кравцов, Т.Н. Каштанова, Т.Н. Щуковская

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ВАКЦИННОГО ШТАММА *YERSINIA PESTIS* EV НИИЭГ В СОЧЕТАНИИ С ИММУНОМОДУЛЯТОРАМИ

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

Цель работы – провести сравнительную оценку иммуномодулирующего эффекта сочетанного применения вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ с препаратами «Полиоксидоний» и «Ингарон» на модели мышей линии BALB/c. **Материалы и методы.** Мышей линии BALB/c подкожно иммунизировали культурой *Yersinia pestis* EV НИИЭГ в дозе $2{,}5 \cdot 10^4$ м.к. (1 группа), в сочетании с ингароном в дозе 150 МЕ (2 группа) или с полиоксидонием в дозе 4 мкг (3 группа), 4 группа – интактные мыши. На 3, 7, 21 и 90-е сутки после иммунизации оценивали субпопуляционный состав лимфоцитов, продукцию медиаторов клеточного ответа (INF-ɣ и IL-10), титры специфических антител к капсульному антигену чумного микроба (F1), ядерный аппарат лимфоцитов, а также характер гистологических изменений в органах мышей. Характеристику иммуногенной (протективной) активности сочетанного применения *Y. pestis* EV НИИЭГ с иммуномодуляторами в отношении *Y. pestis* 231 в опытах на мышах линии BALB/c проводили на 21-е сутки после иммунизации, определяя количество павших животных и их среднюю продолжительность жизни. **Результаты и обсуждение.** Сочетанное введение экспериментальным животным вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ с полиоксидонием или ингароном позволило установить различия в реакции иммунной системы биомодели, обусловленные механизмом действия конкретного иммуномодулятора. Установлено, что как полиоксидоний, так и ингарон при сочетанном использовании с *Y. pestis* EV НИИЭГ усиливают у экспериментальных животных реакцию со стороны иммунокомпетентных клеток, способствуют активации гуморального ответа и продукции медиаторов клеточного ответа, не оказывают повреждающего действия на ткани макроорганизма. В то же время эффективность применения сочетанной вакцинации *Y. pestis* EV НИИЭГ с иммуномодуляторами в тесте заражения мышей подтверждена только для полиоксидония.

Ключевые слова: Yersinia pestis, вакцинный штамм чумного микроба, иммуномодуляторы, иммуногенность, протективность.

Корреспондирующий автор: Гончарова Анастасия Юрьевна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Гончарова А.Ю., Бугоркова С.А., Кудрявцева О.М., Кожевников В.А., Кравцов А.Л., Каштанова Т.Н., Щуковская Т.Н. Экспериментальная оценка эффективности применения вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ в сочетании с иммуномодуляторами. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:71–77. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-71-77

Поступила 14.04.19. *Отправлена на доработку* 15.06.19. *Принята к публ.* 21.11.19.

A.Yu. Goncharova, S.A. Bugorkova, O.M. Kudryavtseva, V.A. Kozhevnikov, A.L. Kravtsov, T.N. Kashtanova, T.N. Shchukovskaya

Experimental Evaluation of Application of the Vaccine Strain *Yersinia pestis* EV NIIEG in Combination with Immune-Modulators

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of the Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation

Abstract. **Objective** of the work was to conduct a comparative assessment of the immune-modulating effect of the combined use of *Yersinia pestis* EV NIIEG vaccine strain with Polyoxidonium and Ingaron preparations on a BALB/c mouse model. **Materials and methods.** Mice of the BALB/c line were immunized subcutaneously with *Yersinia pestis* EV NIIEG culture at a dose of $2.5\ 10^4$ m.c. (1st group), in combination with Ingaron at a dose of 150 IU (2nd group) or with Polyoxidonium at a dose of 4 μg (3rd group), the 4th group is intact mice. On days 3, 7, 21 and 90 after immunization, the subpopulation composition of lymphocytes, the production of mediators of the cellular response (INF-ɣ and IL-10), the titers of specific antibodies to the capsular antigen of plague microbe (F1), the nuclear apparatus of lymphocytes, and the nature of histological changes in the organs of mice were determined. Characterization of immunogenic (protective) activity of the combined use of *Y. pestis* EV NIIEG with immune-modulators against *Y. pestis* 231 in experiments on BALB/c mice was performed on the 21st day after immunization through determining the number of dead animals and their average life expectancy. **Results and discussion**. The combined administration of *Y. pestis* EV NIIEG vaccine strain with Polyoxidonium or Ingaron to experimental animals allowed us to establish differences in the response of the immune system of biomodels, due to the mechanism of action of a specific immune-modulator. It has been established that both Polyoxidonium and Ingaron combined with *Y. pestis* EV NIIEG enhance the response of immune-competent cells in experimental animals, contribute to the activation of the humoral response and the production of mediators of the cellular response, do not have a damaging effect on the tissue of the macroorganism. At the same time, the efficacy of using combined vaccination of *Y. pestis* EV NIIEG with immune-modulators in the inoculation test is confirmed for Polyoxidonium only.

Keywords: Yersinia pestis, vaccine strain of plague microbe, immune-modulators, immunogenicity, protectivity.

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

Corresponding author: Anastasiya Yu. Goncharova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Goncharova A.Yu., Bugorkova S.A., Kudryavtseva O.M., Kozhevnikov V.A., Kravtsov A.L., Kashtanova T.N., Shchukovskaya T.N. Experimental Evaluation of Application of the Vaccine Strain *Yersinia pestis* EV NIIEG in Combination with Immune-Modulators. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:71–77. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-71-77

Received 14.04.19. *Revised* 15.06.19. *Accepted* 21.11.19.

Одной из возможностей для повышения эффективности иммунопрофилактики чумы остается поиск средств, потенцирующих специфический иммунный ответ при применении вакцины чумной живой (ВЧЖ). Для этого предлагается включение в схемы иммунизации веществ, направленно стимулирующих то или иное звено иммунного ответа [1–3].

Современные иммуномодуляторы – вещества, обладающие различными механизмами стимуляции иммунного ответа, не вызывающие аллергических, токсических и иных побочных реакций, широко используются для форсификации иммунного ответа. Для сочетанного применения с ВЧЖ определенный интерес представляют такие препараты, как азоксимера бромид «Полиоксидоний» и интерферон-гамма «Ингарон», успешно применяемые с рядом других вакцин [4–6]. Синтетический полиэлектролит – полиоксидоний (ПО) – оказывает стимулирующее действие на неспецифическую резистентность организма, активирует все звенья фагоцитарного процесса, гуморальный и клеточный иммунный ответ [4]. Препараты, содержащие интерферон, например «Ингарон» (рекомбинантный человеческий интерферон-гамма), активируют макрофаги, нейтрофилы, естественные киллерные клетки и цитотоксические Т-лимфоциты и используются в схемах сочетанной профилактики гриппа [7], для повышения иммуногенности противоопухолевых вакцин [8]. Если положительный результат от моделирования сочетанного введения ПО с *Yersinia pestis* EV НИИЭГ описан ранее [9], то препараты интерферона в основном используют в схемах профилактики вирусных инфекций [10] и опыт их применения при вакцинации против чумы в литературе отсутствует. В то же время от целого ряда медиаторов клеточного ответа (цитокинов), таких как IFN-γ и TNF-α, значимо зависит защитный потенциал макроорганизма при противодействии чумному микробу [11–13].

Цель работы – провести сравнительную оценку иммуномодулирующего эффекта сочетанного применения вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ с препаратами «Полиоксидоний» и «Ингарон» на модели мышей линии BALB/c.

Материалы и методы

Штаммы. В работе использовали вакцинный штамм *Y. pestis* EV линии НИИЭГ и вирулентный штамм *Y. pestis* 231 (708) основного подвида, полученные из Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», Саратов.

Питательные среды. Культуры штаммов выращивали на агаре Хоттингера pH (7,2±0,1) (производство ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»). Из выросшей культуры по стандартному образцу мутности ОСО 42-28-59-85П 10 единиц, эквивалентному $1 \cdot 10^9$ м.к./мл готовили взвесь чумного микроба в стерильном 0,9 % растворе натрия хлорида pH 7,2. Методом серийных разведений конечную концентрацию клеток доводили до необходимой.

Иммуномодулирующие препараты. Полиоксидоний (НПО «ПетроваксФарм», Россия) и ингарон (НПП «Фармаклон», Россия).

Лабораторные животные. Эксперименты проводили на белых мышах линии BALB/c массой от (18,5±1,5) г. В работе использовали здоровых животных, полученных из питомника ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». Мышей выдерживали на стандартном рационе с достаточным количеством воды в течение 10 дней. Дальнейшие эксперименты на животных проводили в соответствии с Директивой № 2010/63/ ЕС Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г. «О защите животных, использующихся для научных целей».

Иммунизация. Животных (240 особей) подкожно иммунизировали двухсуточной агаровой культурой вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ (1-я группа), в сочетании с ингароном (2-я группа) или ПО (3-я группа) в дозах $2 \cdot 10^2$, $1 \cdot 10^3$, $5 \cdot 10^3$ и $2{,}5 \cdot 10^4$ м.к., указанные иммуномодуляторы вводили животным подкожно за 60 мин до иммунизации в дозе 150 МЕ и 4 мкг соответственно [6]. В качестве контроля (4-я группа) взяты интактные мыши. Эвтаназию мышей, иммунизированных *Y. pestis* EV НИИЭГ в дозе $2{,}5 \cdot 10^4$ м.к. (по 40 животных из каждой группы), проводили путем цервикальной дислокации на 3, 7, 21 и 90-е сутки иммуногенеза. Для исследования забирали кровь, селезенку, лимфатические узлы, кусочки внутренних органов. На 21-е сутки иммуногенеза оставшихся мышей (120 особей) подкожно заражали культурой вирулентного штамма основного подвида *Y. pestis* 231 в дозе 400 LD50 в объеме 0,2 мл. Наблюдения за зараженными животными вели в течение 20 сут. Гибель от чумы подтверждали наличием соответствующей патологоанатомической картины, высевов из органов и крови на агар Хоттингера pH (7,2±0,1) со стимулятором роста (0,024±0,001) % сульфитом натрия и (0,0045±0,0005) % генцианвиолетом, а также чумного микроба в мазках-отпечатках из органов павших животных, окрашенных по Граму. Величину ImD50 рассчитывали по методу Кербера в модификации И.П. Ашмарина по формуле:

$$\lg \mathrm{ImD50} = \lg \mathrm{DN} - \Delta\,(\Sigma\,\mathrm{Li} - 0{,}5),$$

где DN – максимальная величина дозы; N – общее число испытанных доз; Σ Li – сумма значений Li, найденных для всех испытанных доз; Δ – логарифм кратности испытанных разведений.

Иммунологические методы. Определение спонтанной и индуцированной продукции цитокинов (IFN-ɣ, IL-10) в крови мышей проводили с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА) с применением коммерческих тест-систем (BioScience, Австрия) на автоматическом иммуноферментном анализаторе «LAZURIT» (Dynex Technologies, США) при длине волны 450 нм. Для оценки продукции цитокинов венозную кровь с антикоагулянтом (гепарин, ОАО «Синтез», Россия) разводили в соотношении 1:4 средой RPMI 1640 (ПанЭко, Испания), содержащей 100 мкг/мл гентамицина (ФГУП им. Н.А. Семашко, Россия), затем делили на две равные части. В одну часть вносили 100 мкл Т-клеточного митогена конканавалина А (Sigma, США) в конечной концентрации 15 мкг/мл, в другую – 100 мкл физиологического раствора. Образцы инкубировали в течение 24 ч при 37 °С [14]. После инкубации клетки осаждали центрифугированием в стандартных условиях и отбирали супернатанты. Специфические антитела к капсульному антигену чумного микроба (F1) определяли в сыворотке крови экспериментальных животных на 3, 7, 21 и 90-е сутки после иммунизации методом ТИФА с использованием коммерческой тест-системы «ИФА-АТ-Ф1 YERSINIA PESTIS» (производитель ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», Россия). Динамику показателей клеточного иммунитета оценивали по изменению относительного содержания субпопуляций лимфоцитов в цельной крови и селезенке, несущих маркеры CD4+ (Т-хелперы) и CD8+ (цитотоксические Т-лимфоциты), применяя наборы моноклональных антител «RAT ANTI-MOUSE CD4: PE» и «RAT ANTI-MOUSE CD8: FITC» (BD BioSiences, США). Для лизиса эритроцитов в образцах применяли Lising Solution (BD FACS, USA). Фенотипирование клеток осуществляли на проточном цитофлуориметре с 2 источниками излучения и 9 каналами детекции.

Гистологическое исследование. Кусочки внутренних органов фиксировали в 10 % водном нейтральном растворе формалина (НеваРеагент, Россия). Дальнейшую обработку материала проводили по общепринятой стандартной методике, готовые полутонкие срезы окрашивали гематоксилином и эозином (Merck, США) [15]. Для выявления активности аффинных к серебру белков в области ядрышкового организатора (AgNOR) полутонкие срезы лимфоидных органов окрашивали по методу W.M. Howell и D.A. Black [16] с использованием готового набора реактивов фирмы BioVitrum. Микроскопическое исследование гистологических препаратов и их фотодокументирование выполняли с помощью микроскопа Olympus CX41 (Olympus, Япония) и цифровой камеры VZ-C31S (VideoZavr, Россия) в программе VideoZavr (версия 1.5).

Статистические методы. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием стандартного пакета программ Microsoft Office Excel 2010 и «Statistica 10.0» (StatSoft Inc.). Достоверность различий показателей в исследуемых группах оценивали по t-критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при уровне значимости $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

Поствакцинальный иммунитет характеризуют с использованием различных методических подходов, основанных на оценке процессов активации лимфоцитов, что может выражаться в субпопуляционных сдвигах клеток, в повышении или понижении ими продукции биологически активных регуляторов – цитокинов [17] и/или изменении процессов репликации в ядрах этих клеток [18, 19]. Ряд цитокинов являются биомаркерными для характеристики противочумного иммунного ответа и ассоциированы с Th1- (INF-ɣ, TNF-α) или Th2- (IL-4, IL-10) клетками иммунной системы [12]. Установлено усиление спонтанной и индуцированной продукции исследуемых цитокинов (INF-ɣ, IL-10) у мышей во всех опытных группах по сравнению с группой контроля, но динамика процесса активации клеток при этом имела свои особенности (табл. 1).

Если уровень спонтанной продукции INF-ɣ в различные сроки наблюдения у мышей в 1-й и 3-й группах не имел достоверного отличия, то у животных из 2-й группы до 7-х суток отмечали более высокую концентрацию указанного цитокина, но в последующий период происходило выравнивание показателей во всех опытных группах.

Аналогичная тенденция сохранялась и для показателей индуцированной продукции INF-ɣ, но если в 1-й и 3-й группах к 90-м суткам наблюдения уровень индуцированной продукции указанного цитокина был близок к показателям для мышей из группы контроля, то во 2-й группе продолжали регистрировать достоверное повышение индуцированной продукции INF-ɣ до 90-х суток.

Спонтанная продукция IL-10 была максимальной во все периоды наблюдения у мышей в 3-й группе. Если до 7-х суток достоверного отличия между показателями спонтанной продукции указанного цитокина у животных из 1-й и 2-й групп не наблюдали, то с 7-х и до 21-х суток концентрация IL-10 у мышей 2-й группы была близка к показателям у животных из 3-й группы. При этом у животных 3-й группы высокий уровень спонтанной продукции IL-10 сохранялся до 90-х суток и в 3 раза кратно превышал аналогичные значения показателя в группе контроля, а у мышей из 1-й и 2-й групп в этот период уже не регистрировали достоверного отличия по указанному показателю с группой контроля. Аналогичная тенденция была характерна и для индуцированной продукции IL-10. Причем в 3-й группе индуцирован-

Таблица 1 / Table 1

Субпопуляционная характеристика Т-лимфоцитов и медиаторов клеточного ответа (INF-γ, IL-10) у иммунизированных мышей линии BALB/c Me (Q1–Q3)

Subpopulation characteristics of T-lymphocytes and mediators of cellular response (INF-γ, IL-10) in immunized mice of BALB/c line Me (Q1–Q3)

Группа Group	Срок (сутки) Timeline (days)	INF- γ, пг/мл (pg/ml)		IL-10, пг/мл (pg/ml)		Т-хелперы (CD4+) T-helpers (CD4+)		Цитотоксические Т-лимфоциты (CD8+) Cytotoxic T-lymphocytes (CD8+)		ИРИ кровь/селезенка HII blood/spleen
		Sp	Ind	Sp	Ind	Кровь Blood	Селезенка Spleen	Кровь Blood	Селезенка Spleen	
1 n=40	3	57,1* (53,0–63,5)	80,6* (67,6–90,6)	32,2* (27,2–35,5)	36,9* (29,9–40,7)	34,9* (33,1–39,4)	22,0 (20,1–23,9)	9,3 (9–9,5)	7,5 (6,6–8,5)	3,7/2,9
	7	62,5* (59,5–71,0)	75,5* (69,2–79,3)	30,1* (24,9–33,1)	34,3* (29,1–40,7)	33,3* (32–34,3)	20,5 (19,4–22,7)	8,9 (7,9–9,6)	8,3 (7,0–9,2)	3,7/2,5
	21	54,6* (48,7–59,4)	63,2* (58,7–66,0)	17,7 (14,0–19,8)	22,9 (19,6–24,7)	38,4 (37,1–39,6)	22,0 (20–22,7)	9,9 (8,9–10,8)	8,0 (7,5–8,8)	3,9/2,7
	90	33,4 (29,9–34,7)	47,4 (45,7–48,3)	10,8 (10,0–11,1)	12,4 (10,6–13,2)	33,5* (31,3–35,0)	19,8 (16–21,5)	9,3 (9,1–10,0)	7,8 (6,9–8,6)	3,6/2,5
2 n=40	3	79,1* (71,6–94,7)	107,9* (99,3–117,4)	39,5* (30,8–60,4)	48,2* (33,9–62,4)	43,1 (39,0–50,0)	18,5 (18,0–18,7)	14,4* (13,1–14,5)	7,0 (6,6–7,9)	3,0/2,6
	7	88,2* (76,2–100,6)	102,1* (82,1–113,9)	50,33* (44,4–66,7)	75,5* (64,0–104,7)	42,1 (39,5–48,8)	17,8 (17,0–18,8)	14,5* (13,2–16,6)	6,7 (6,4–6,9)	2,9/2,6
	21	60,2* (42,2–68,7)	96,7* (70,5–107,0)	51,1* (44,4–63,1)	55,6* (48,9–74,0)	43,7 (43,1–44,8)	20,3 (18,4–22,3)	13,4* (12,9–14,3)	7,1 (6,1–7,6)	3,2/2,8
	90	52,1* (32,4–64,5)	60,3* (56,4–71,0)	17,7 (13,8–19,3)	22,3 (18,5–24,2)	40,4 (40,1–40,8)	18,4 (18,2–19)	11,3 (10,0–11,6)	8,7 (6,4–9,0)	3,5/2,1
3 n=40	3	58,1* (52,8–61,6)	71,7* (66,7–76,8)	64,5* (58,6–73,3)	89,4* (78,6–106,8)	33,8* (31,1–36,8)	21,5 (20,7–22,0)	7,7* (6,8–8,7)	7,9 (7,3–8,4)	4,4*/2,7
	7	64,1* (58,5–70,5)	67,7* (65,6–73,9)	69,1* (61,7–75,3)	74,2* (69,7–84,2)	33,6 (29,8–50,6)	22,7 (21,0–24,7)	7,9 * (7,0–8,5)	9,1 (7,9–0,2)	4,3*/2,5
	21	47,9* (46,4–49,6)	68,2* (65,3–69,8)	59,2* (48,9–62,8)	64,3* (51,5–70,4)	39,9 (37,0–42,9)	24,7* (22,6–25,2)	8,0* (7,1–9,0)	9,5 (7,7–10,0)	5,0*/2,4
	90	40,2 (39,4–41,7)	56,6 (54,2–59,9)	34,6* (32,3–37,2)	55,3* (51,2–58,9)	41,2 (39,8–44,0)	23,0 (21,0–25,1)	8,5 (8,1–9,3)	9,6 (7,9–9,9)	4,8*/2,6
4 n=40		28,2 (21,3–35,2)	42,6 (23,5–54,7)	11,2 (8,8–11,5)	15,4 (11,8–16,2)	42,0 (40,4–44,0)	18,3 (15,4–21,0)	10,9 (9,5–12,0)	7,3 (6,4–8,0)	3,8/2,5

Примечание: Sp – спонтанная продукция; Ind – индуцированная продукция.
*p < 0,05 по сравнению с 4 группой.

Note: Sp – spontaneous production; Ind – induced production.
*p < 0,05 as compared to group 4.

ная продукция указанного цитокина во все периоды наблюдения в среднем в 5,5–3,6 раза превышала аналогичный показатель у животных из группы контроля. Полученные нами *in vivo* результаты вполне согласуются с данными, зарегистрированными ранее при оценке *in vitro* спонтанной и индуцированной ПО продукции цитокинов клетками крови людей, вакцинированных против чумы [14]. Результат сравнительного анализа используемых схем иммунизации выявил преимущества препарата «Ингарон» по стимуляции спонтанной и индуцированной продукции INF-ɣ. В целом отмечали более выраженную активацию клеток, сопровождающуюся нарастанием продукции цитокинов, во 2-й и 3-й группах, что косвенно подтверждает факт стимуляции иммунного ответа при сочетанном введении *Y. pestis* EV НИИЭГ с иммуномодуляторами [17].

Другим показателем клеточной активации, а именно пролиферативной активности лимфоцитов на молекулярном уровне, может быть оценка процессов репликации в ядрах этих клеток на фоне вакцинации. При иммунизации мышей *Y. pestis* EV НИИЭГ и *Y. pestis* EV НИИЭГ в сочетании с иммуномодуляторами (ПО, ингарон) на 21-е сутки регистрировали относительное увеличение среднего диаметра лимфоцитов в лимфатических фолликулах лимфоидных органов. У всех животных опытных групп в селезенке и лимфатических узлах отмечали увеличение среднего показателя количества AgNOR-позитивных ядрышек в ядрах клеток соответственно в среднем в 1,3–1,7 раза выше, чем у интактных мышей, но достоверного отличия по этому показателю между опытными группами не выявлено.

Динамику клеточно-опосредованного иммунитета в крови и спленоцитах вакцинированных мышей оценивали по изменению соотношения субпопуляций клеток (CD4+, CD8+). Результаты иммунофенотипирования лимфоцитов при введении *Y. pestis* EV НИИЭГ в сочетании с иммуномодуляторами и без них представлены в табл. 1.

Изменение количества лимфоцитов с фенотипом CD4+ и CD8+ в крови и селезенке у животных опыт-

ных групп имело свои особенности. Если у мышей из 1-й и 3-й групп количество CD4+ клеток в крови снижалось по отношению к показателям в группе контроля, то в селезенке клеток с таким фенотипом в этих группах было несколько выше, чем у интактных мышей. В то же время увеличение в крови мышей 2-й группы количества CD4+ во все сроки наблюдения проходило на фоне снижения их числа в селезенке. Увеличение количества клеток с фенотипом CD8+ в крови мышей из 2-й группы протекало без изменения их числа в селезенке. Начиная с 7-х суток после иммунизации, некоторое уменьшение, по отношению к показателям у мышей из группы контроля, количества CD8+ клеток в крови животных 1-й и 3-й групп приводило к относительной активации клеток с фенотипом CD8+ в селезенке. Выявленное перераспределение субпопуляционного состава клеток в крови и селезенке иммунизированных мышей в динамике иммуногенеза отражает характер и направленность иммунных реакций. В то же время во всех опытных группах не отмечали существенного изменения иммунорегуляторного индекса (CD4+/CD8+) для клеток селезенки и напротив – регистрировали увеличение этого показателя для клеток крови у мышей из 3-й группы.

Для сравнения выраженности гуморального ответа на введение только вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ и в сочетании с иммуномодуляторами у мышей оценивали на 21-е сутки после иммунизации продукцию антител к капсульному антигену (F1) чумного микроба. Во всех полученных сыворотках от иммунизированных животных выявляли антитела к F1, уровень которых превышал титры соответствующих антител у биомоделей из группы контроля. Титры антител к F1 в сыворотке крови биомодели были в 2,4 раза ($p \leq 0,01$) выше у животных 3-й группы (1:320–1:640), по сравнению с мышами из 1-й группы (1:80–1:160). Значимых отличий показателей продукции антител к F1 чумного микроба у животных 1-й и 2-й групп не отмечали.

Сочетанное применение *Y. pestis* EV НИИЭГ с ПО к окончанию эффекторной фазы иммунного ответа (21-е сутки) характеризовали не только высокая продукция специфических антител к F1, но и более выраженная активация спонтанной и индуцированной продукции IL-10, а также увеличение доли популяции CD4+лимфоцитов в селезенке при высоком иммунорегуляторном индексе (ИРИ) для клеток крови. Полученные результаты согласуются с данными других исследователей относительно влияния ПО на эффективность эффекторной фазы иммунного ответа [10]. В то же время сочетанное применение *Y. pestis* EV НИИЭГ с ингароном, напротив, сопровождали выраженная продукции INF-ɣ и субпопуляционная активация лимфоцитов крови преимущественно за счет CD8+ клеток.

При гистологическом исследовании не обнаружено признаков повреждающего действия на клетки и ткани животных сочетанного введения вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ с иммуномодуляторами и не выявлено значимых отличий в изменении функциональной морфологии иммунокомпетентных органов мышей разных опытных групп.

Зарегистрировав иммуномодулирующий эффект от сочетанного применения *Y. pestis* EV НИИЭГ с ПО и ингароном, на следующем этапе оценили иммуногенную (протективную) активность используемых схем вакцинации мышей по изменению интегрального показателя ImD50 (median immunizing dose), то есть той дозы вакцины, которая обеспечивала бы развитие защитного иммунитета к инфекции у половины опытных животных. При моделировании чумной инфекции на иммунизированных животных установлено, что средняя иммунизирующая доза (ImD50) у мышей в 3-й группе была в 3 раза ($p<0,05$) ниже, чем в 1-й группе (табл. 2). В то же время у животных из 2-й группы регистрировали увеличение ImD50 в 13 раз ($p<0,01$) по сравнению с мышами из 1-й группы. Если усиление протективного эффекта сочетанной вакцинации *Y. pestis* EV НИИЭГ с ПО в полной мере совпадает с представленными литературными данными [9, 10], то результат, полученный при сочетанном применении *Y. pestis* EV НИИЭГ и ингарона, возможно, обусловлен как прямым, так и опосредованным воздействием интерферона на живые клетки вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ. Интерферон-гамма стимулирует активность макрофагов и натуральных киллеров, тем самым препятствуя размножению и приживлению микробных клеток в органах и тканях биомодели в период нестерильной фазы становления противочумного иммунитета. Тем не менее выявленный стимулирующий потенциал ингарона на клетки иммунной системы при сочетанном введении с *Y. pestis* EV НИИЭГ позволяет планировать исследования по дальнейшему совершенствованию схем применения этого препарата с ЖЧВ, в частности, как препарата для экстренной профилактики чумы у лиц, ранее привитых живой вакциной, а также с целью пролонгации эффективного специфического противочумного иммунитета.

Таким образом, при сочетанном введении экспериментальным животным вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ с ПО или ингароном регистрировали усиление реакции со стороны иммунокомпетентных клеток, активацию гуморального ответа и продукции медиаторов клеточного ответа, отсутствие повреждающего действия на ткани макроорганизма, но эффективность применения сочетанной вакцинации *Y. pestis* EV НИИЭГ с иммуномодуляторами в тесте заражения мышей подтверждена только для ПО.

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

Благодарим за оказанную техническую поддержку в экспериментах по заражению экспериментальных животных А.Ф. Курылину

Таблица 2 / Table 2

Иммуногенная (протективная) активность сочетанного применения *Y. pestis* EV НИИЭГ с иммуномодуляторами в отношении *Y. pestis* 231 в опытах на мышах линии BALB/c

Immunogenic (protective) activity of *Y. pestis* EV NIIEG application in combination with immune-modulators in relation to *Y. pestis* 231 in BALB/c mice experiments

Схема иммунизации Immunization schedule	Заражение *Y. pestis* 231 в дозе Challenging with *Y. pestis* 231 strain in a doze of	Число животных (павшие/иммунизированные) The number of animals (dead/immunized)	Средняя продолжительность жизни павших животных (сутки) Average lifespan of animals that died (days)	ImD50 КОЕ/CFU
Y. pestis EV NIIEG ($2{,}0\cdot10^2$ КОЕ/CFU)	400 LD50 (3500 КОЕ/CFU)	7/9	4,7±0,2	1541 КОЕ/CFU
Y. pestis EV NIIEG ($1{,}0\cdot10^3$ КОЕ/CFU)	-"-	5/9	4,6±0,2	
Y. pestis EV NIIEG ($5{,}0\cdot10^3$ КОЕ/CFU)	-"-	3/9	5,1±0,4	
Y. pestis EV NIIEG ($2{,}5\cdot10^4$ КОЕ/CFU)	-"-	1/10	5,0±0,4	
Y. pestis EV NIIEG ($2{,}0\cdot10^2$ КОЕ/CFU + Ingaron)	-"-	10/10	4,9±0,4	20137 КОЕ/CFU
Y. pestis EV NIIEG ($1{,}0\cdot10^3$ КОЕ + Ingaron)	-"-	9/10	4,5±0,3	
Y. pestis EV NIIEG ($5{,}0\cdot10^3$ КОЕ + Ingaron)	-"-	8/10	5,0±0,43	
Y. pestis EV NIIEG ($2{,}5\cdot10^4$ КОЕ + Ingaron)	-"-	6/9	5,5±0,4	
Y. pestis EV NIIEG ($2{,}0\cdot10^2$ КОЕ + Polyoxidonium	-"-	4/10	7,6±2,2	520 КОЕ/CFU
Y. pestis EV NIIEG ($1{,}0\cdot10^3$ КОЕ + Polyoxidonium)	-"-	2/10	11,2±2,6	
Y. pestis EV NIIEG ($5{,}0\cdot10^3$ КОЕ + Polyoxidonium)	-"-	0/10	-	
Y. pestis EV NIIEG ($2{,}5\cdot10^4$ КОЕ + Polyoxidonium)	-"-	0/10	-	
Физиологический раствор Physiological solution	400 LD50	10/10	3,7±0,5	-
Физиологический раствор Physiological solution	10 LD50	10/10	4,6±0,7	-

Список литературы

1. Костинова М.П., Соловьева И.Л., редакторы. Иммуномодуляторы и вакцинация. М.: 4Мпресс; 2013. 272 с.
2. Пономарева Т.С., Дерябин П.Н., Тугамбаев Т.И., Мельникова Н.Н., Адамбеков Д.А. Иммуномодуляция, как способ повышения иммуногенности живой чумной вакцины. *Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева*. 2015; 3:95–7.
3. Богачева Н.В., Охапкина В.Ю., Пяткова Н.В., Федотов А.К., Кучеренко А.С. Экспериментальное изучение влияния иммуномодуляторов на эффективность применения вакцины бруцеллезной живой сухой. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016; 15(2):84–92. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-2-84-92.
4. Пинегин Б.В., Некрасов А.В., Хаитов Р.М. Иммуномодулятор полиоксидоний: механизмы действия и аспекты клинического применения. *Цитокины и воспаление.* 2004; 3(3):41–7.
5. Караулов А.В., Евсегнеева И.В. Современные подходы к вакцинопрофилактике гриппа. *Вакцинация*. 2011; 1:43–52.
6. Кравцов А.Л., Клюева С.Н., Бугоркова С.А. Влияние иммуномодуляторов на реактивность клеток иммунной системы при моделировании противотуляремийного вакцинного процесса. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2016; 15(3):94–101. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-3-94-101.
7. Киселев О.И.. Стукова М.А., Намгаладзе А.Д., Головачева Е.Г., Ерофеева М.К. Способ профилактики гриппа путем сочетанного применения интерферона гамма и инактивированной противогрипозной вакцины. Патент РФ № 2546540, опубл. 10.04.2015 г. Бюл. № 10.
8. Манина И.В., Михайлова И.Н., Козлов А.М., Барышников А.Ю. Способ повышения иммуногенности цельноклеточных противоопухолевых вакцин. Патент РФ № 2458120, опубл. 10.08.2012 г. Бюл. № 22.
9. Пономарева Т.С., Дерябин П.Н., Каральник Б.В., Тугамбаев Т.И., Атшабар Б.Б., Денисова Т.Г., Закарян С.Б., Мельникова Н.Н. Влияние полиоксидония на иммуногенную и протективную активность живой чумной вакцины. *Иммунология*. 2014; 35(5):286–90.
10. Верлан Н.В. Использование интерферонов: иммунологические и клинические аспекты. *Цитокины и воспаление.* 2016; 15(1):12–21.
11. Amedei A., Niccolai E., Marino L., D'Elios M.M. Role of immune response in *Yersinia pestis* infection. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2011; 5(9):628–39. DOI: 10.3855/jidc.1999.
12. Williamson E.D. The role of immune correlates and surrogate markers in the development of vaccines and immunotherapies for plague. *Adv. Prev. Med.* 2012; 2012:365980. DOI: 10.1155/2012/365980.
13. Zhang X., Qi Z., Du Z., Bi Y., Zhang Q., Tan Y., Yang H., Xin Y., Yang R., Wang X. A live attenuated strain of *Yersinia pestis* ΔyscB provides protection against bubonic and pneumonic plagues in mouse model. *Vaccine*. 2013; 31(22):2539–42. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.03.054.
14. Клюева С.Н., Щуковская Т.Н. Влияние адъювантов нового поколения i*n vitro* на продукцию цитокинов клетками крови вакцинированных против чумы лиц. *Российский иммунологический журнал.* 2015; 9(2):201–208.
15. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. Основы гистологической техники. СПб.: ООО «Издательство СпецЛит»; 2010. 95 с.
16. Howell W.M., Black D.A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*. 1980; 36:1014–5. DOI: 10.1007/BF01953855.
17. Хаитов Р.М. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2006. 255 с.
18. Crocker J., Nar P. Nucleolar organizer regions in lymphomas. *J. Pathol.* 1987; 151:111–8. DOI: 10.1002/path.1711510203.
19. Бугоркова С.А., Щуковская Т.Н., Курылина А.Ф. Ядрышковый аппарат лимфоцитов как индикатор функциональной активности лимфоидных органов при доклинической оценке вакцин. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2015; 2:75–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-2-75-78.

References

1. Kostinova M.P., Solov'eva I.L., editors. Immunomodulators and Vaccination. M.: 4Mpress; 2013. 272p.
2. Ponomareva T.S., Deryabin P.N., Tugambaev T.I., Mel'nikova N.N., Adambekov D.A. Immunomodulation as a way to increase the immunogenicity of live plague vaccine. *Vestnik KGMA im. I.K. Akhunbaeva [Bulletin of the KSMA named after I.K. Akhunbaeva]*. 2015; 3:95–7.
3. Bogacheva N.V., Okhapkina V.Yu., Pyatkova N.V., Fedotov A.K., Kucherenko A.S. Experimental study of the effect of immunomodulators on the efficacy of a live dry brucella vaccine application. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2016; 15(2):84–92. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-2-84-92.
4. Pinegin B.V., Nekrasov A.V., Khaitov R.M. Polyoxidonium

immunomodulator: mechanisms of action and aspects of clinical use. *Tsitokiny i Vospalenie [Cytokines and Inflammation]*. 2004; 3:41–7.

5. Karaulov A.V., Evsegneeva I.V. Modern approaches to vaccine prevention of influenza. *Vaktsinatsiya [Vaccination]*. 2011; 1(1):43–52.

6. Kravtsov A.L., Klyueva S.N., Bugorkova S.A. The effect of immunomodulators on the reactivity of immune system cells in the simulation of anti-tularemia vaccine process. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 22016; 15(3):94–101. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-3-94-101.

7. Kiselev O.I., Stukova M.A., Namgaladze A.D., Golovacheva E.G., Erofeeva M.K. A method of preventing influenza by the combined use of interferon gamma and inactivated influenza vaccine. RF patent No 2546540. Publ. 04/10/2015 Bul No. 10.

8. Manina I.V., Mikhailova I.N., Kozlov A.M., Baryshnikov A.Yu. A method for increasing the immunogenicity of whole cell cancer vaccines. The patent of the Russian Federation № 2458120. Publ. 08/10/2012. Bul №22.

9. Ponomareva, T.S., Deryabin, P.N., Karal'nik, B.V., Tugambaev T.I., Atshabar B.B., Denisova T.G., Zakaryan S.B., Mel'nikova N.N. The effect of polyoxidonium on the immunogenic and protective activity of live plague vaccine. *Immunologiya [Immunology]*. 2014; 35(5):286–90.

10. Verlan N. V. Interferon usage: immunological and clinical aspects. *Tsitokiny i Vospalenie [Cytokines and Inflammation]*. 2016; 15(1):12–21.

11. Amedei A., Niccolai E., Marino L., D'Elios M.M. Role of immune response in *Yersinia pestis* infection. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2011; 5(9):628–39. DOI: 10.3855/jidc.1999.

12. Williamson E.D. The role of immune correlates and surrogate markers in the development of vaccines and immunotherapies for plague. *Adv. Prev. Med.* 2012; 2012:365980. DOI: 10.1155/2012/365980.

13. Zhang X., Qi Z., Du Z., Bi Y., Zhang Q., Tan Y., Yang H., Xin Y., Yang R., Wang X. A live attenuated strain of *Yersinia pestis* ΔyscB provides protection against bubonic and pneumonic plagues in mouse model. *Vaccine*. 2013; 31(22):2539–42. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.03.054.

14. Klyueva S.N., Shchukovskaya T.N. The influence of new-generation adjuvants *in vitro* on the production of cytokines by blood cells of the vaccinated against plague individuals. *Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal [Russian Immunological Journal]*. 2015; 9(2):201–208.

15. Korzhevsky D.E., Gilyarov A.V. Fundamentals of histological technology. St. Petersburg: Publishing House SpetsLit LLC; 2010. 95 p.

16. Howell W.M., Black D.A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*. 1980; 36:1014–5. DOI: 10.1007/BF01953855.

17. Khaitov R.M. Immunology. M.: GEOTAR-Media; 2006. 255 p.

18. Crocker J., Nar P. Nucleolar organizer regions in lymphomas. *J. Pathol.* 1987; 151:111–8. DOI: 10.1002/path.1711510203.

19. Bugorkova S.A., Shchukovskaya T.N., Kurylina A.F. The nucleoli apparatus of lymphocytes as an indicator of the functional activity of lymphoid organs in the preclinical evaluation of vaccines. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2015; 2:75–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-2-75-78.

Authors:

Goncharova A.Yu., Bugorkova S.A., Kudryavtseva O.M., Kozhevnikov V.A., Kravtsov A.L., Kashtanova T.N., Shchukovskaya T.N. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Гончарова А.Ю., Бугоркова С.А., Кудрявцева О.М., Кожевников В.А., Кравцов А.Л., Каштанова Т.Н., Щуковская Т.Н. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-78-85

УДК 616.98:578.8(470.44)

А.В. Иванова[1], В.А. Сафронов[1], Н.В. Попов[1], О.И. Кожанова[2], Н.И. Матвеева[2], У.А. Кресова[3], Е.А. Чумачкова[1], М.В. Поспелов[1], Г.Н. Архипова[2], И.Н. Вяткин[2], С.А. Щербакова[1], В.В. Кутырев[1]

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВСПЫШКИ ГЛПС В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ 2019 г.

[1]ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; [2]Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Саратовской области, Саратов, Российская Федерация; [3]ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области», Саратов, Российская Федерация

Цель исследования – выявить эпидемиологические особенности вспышки ГЛПС на территории Саратовской области в 2019 г. и установить ведущие факторы, повлиявшие на интенсивность эпидемического процесса. **Материалы и методы.** В статье использованы данные о 2702 случаях заболевания ГЛПС, зарегистрированных на территории Саратовской области в 2019 г., полученные из Управления Роспотребнадзора по Саратовской области и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области». Основным методом исследования стал эпидемиологический с использованием современных информационных технологий. **Результаты и обсуждение.** Ретроспективный анализ эпидемических проявлений ГЛПС в Саратовской области показал, что вспышка ГЛПС 2019 г. стала самой масштабной за весь период регистрации болезни как по числу больных (2702 случая заболевания), так и по длительности течения. Характерными особенностями вспышки следует считать раннее начало роста заболеваемости (май) и приуроченность большинства случаев заражения к территории природного парка «Кумысная поляна» (75 %). Проведено эпидемиологическое районирование Саратовской области, позволившее выделить четыре типа территорий, отличающихся по уровню риска заражения ГЛПС (очень высокий, высокий, средний и низкий), а также установить наиболее опасные в плане заражения ГЛПС территории Саратова. Основными факторами, повлиявшими на резкий рост заболеваемости ГЛПС, послужили высокая численность инфицированных грызунов в весенний период 2019 г., обусловленная относительно мягкой и чрезвычайно снежной зимой 2018–2019 гг.; сокращение лесотехнических работ, направленных на перевод очаговой территории в лесопарковое состояние. Изменение характера эксплуатации 9 % территории природного парка «Кумысная поляна», повлекло за собой увеличение частоты контактов населения с природно-очаговыми комплексами. Массовое посещение населением природного очага в ранневесенний период на фоне низкой настороженности о рисках заражения ГЛПС обусловило взрывной рост заболеваемости ГЛПС.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, эпидемиологический анализ, факторы риска, территория риска.

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

Для цитирования: Иванова А.В., Сафронов В.А., Попов Н.В., Кожанова О.И., Матвеева Н.И., Кресова У.А., Чумачкова Е.А., Поспелов М.В., Архипова Г.Н., Вяткин И.Н., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Эпидемиологические особенности вспышки ГЛПС в Саратовской области 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:78–85. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-78-85

Поступила 27.04.20. *Принята к публ.* 17.05.20.

A.V. Ivanova[1], V.A. Safronov[1], N.V. Popov[1], O.I. Kozhanova[2], N.I. Matveeva[2], U.A. Kresova[3], E.A. Chumachkova[1], M.V. Pospelov[1], G.N. Arkhipova[2], I.N. Vyatkin[2], S.A. Shcherbakova[1], V.V. Kutyrev[1]

Epidemiological Features of HFRS (Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome) Outbreak in the Saratov Region in 2019

[1]Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation; [2]Rospotrebnadzor Administration in the Saratov Region, Saratov, Russian Federation; [3]Center of Hygiene and Epidemiology in the Saratov Region, Saratov, Russian Federation

Abstract. **Objective** of the study was to identify epidemiological peculiarities of HFRS outbreak in the territory of the Saratov Region in 2019 and to determine the key factors contributing to the intensity of epidemic process. **Materials and methods.** Analyzed are the data on 2702 cases of HFRS registered in the territory of the Saratov Region in 2019, obtained from the Rospotrebnadzor Administration in the Saratov Region and Center of Hygiene and Epidemiology in the Saratov Region. The basic method of investigation was epidemiological one with application of advanced information technologies. **Results and discussion.** Retrospective analysis of epidemic HFRS manifestations in the Saratov Region showed that HFRS outbreak of 2019 was the largest over the period of disease reporting, both by the number of cases (2702) and by the duration. Early onset of increase in the incidence (may) and allocation of the majority of cases to the territory of the natural park "Kumysnaya Polyana"(75 %) should be considered as characteristic features of the outbreak. We have conducted epidemiological zoning of the Saratov Region allowing for dividing the Region into four types of territories which differ by the level of risk of HFRS exposure (very high, high, medium, and low), as well as distinguishing the most hazardous in terms of HFRS infection territories of Saratov. The key factors affecting the surge in HFRS cases were high numbers of infected rodents during spring months of 2019 due to mild and extremely snowy winter of 2018–2019; reduction in forest engineering works aimed at turning the focal territory into aesthetic forestry. The change

in the character of exploitation of 9 % of the natural park "Kumysnaya Polyana" resulted in the increase of population contacts with natural-focal complexes. Mass visits to natural focus during early spring period against the background of low alertness to risks of HFRS infection led to explosive growth of HFRS incidence.

Key words: hemorrhagic fever with renal syndrome, epidemiological analysis, risk factors, risk territory.

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

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

Citation: Ivanova A.V., Safronov V.A., Popov N.V., Kozhanova O.I., Matveeva N.I., Kresova U.A., Chumachkova E.A., Pospelov M.V., Arkhipova G.N., Vyatkin I.N., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Epidemiological Features of HFRS (Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome) Outbreak in the Saratov Region in 2019. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:78–85. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-78-85

Received 27.04.20. *Accepted* 17.05.20.

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) остается наиболее актуальной внутренней угрозой санитарно-эпидемиологическому благополучию населения Российской Федерации, занимая лидирующие позиции в общей структуре природно-очаговой заболеваемости в стране.

В 2019 г. на территории России зарегистрировано 13996 случаев заболевания ГЛПС (9,55 на 100 тыс. населения), что в 2,4 раза превышает показатели 2018 г. Рост заболеваемости ГЛПС по стране обусловлен увеличением числа случаев ГЛПС в 2,5 раза во всех субъектах Приволжского федерального округа (ПФО). Крайне высокие показатели заболеваемости сохраняются в субъектах ПФО в течение всего периода регистрации инфекции. Причем, наряду со стабильно напряженной эпидемиологической обстановкой по ГЛПС, в отдельные годы происходят резкие подъемы заболеваемости (в частности, в 1997 г. в Республике Башкортостан зарегистрировано 9403 случая ГЛПС, в 2009 г. – 3257; в Республике Удмуртия в 2015 г. – 1748 случаев заболевания) [1].

Саратовская область входит в состав ПФО и, как и все субъекты в округе, является эндемичной по ГЛПС. Вместе с тем заболеваемость ГЛПС в Саратовской области до 2019 г. оставалась низкой, а в общей структуре заболеваемости ГЛПС в ПФО доля Саратовской области не превышала 3,5 % (за последние 10 лет). Крупные вспышки ГЛПС отмечались в Саратовской области крайне редко [2]. Несмотря на это, наиболее выраженный рост числа больных ГЛПС в 2019 г. отмечен именно на территории Саратовской области, где показатели заболеваемости ГЛПС выросли в 22,4 раза, а доля в общей структуре заболеваемости ГЛПС в ПФО составила 32 %.

Цель исследования – выявить эпидемиологические особенности вспышки ГЛПС на территории Саратовской области в 2019 г. и установить ведущие факторы, повлиявшие на интенсивность эпидемического процесса.

Для реализации цели необходимо провести ретроспективный анализ эпидемических проявлений ГЛПС, сравнительный анализ наиболее крупных вспышек и районирование территории Саратовской области и Саратова, также требуется выявить и количественно охарактеризовать факторы, повлиявшие на интенсивность проявления эпидемического процесса ГЛПС.

Материалы и методы

Управлением Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Саратовской области и Центром гигиены и эпидемиологии в Саратовской области для выполнения работы предоставлена персонифицированная информация о 2702 случаях ГЛПС, зарегистрированных на территории Саратовской области в 2019 г. Все данные получены из экстренных извещений об инфекционном заболевании по форме № 058/у. В качестве дополнительных информационных источников в изучении пространственной составляющей эпидемиологического риска использована электронная карта Саратовской области в масштабе 1:250000, полученная с сервера OpenStreetMap.

Основным методом исследования стал эпидемиологический с использованием современных информационных технологий. В качестве программного обеспечения использовались аналитическая платформа Deductor Professional и геоинформационная система ArcGIS 10.1 в составе лицензии Spatial Analyst.

С целью наиболее точного представления о территории риска специалистами ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» проанализированы сведения о предполагаемых местах заражения каждого заболевшего ГЛПС на территории Саратова и Саратовской области и определены географические координаты всех точек, соответствующих каждому зарегистрированному случаю заболевания (геокодирование), на основании места предполагаемого заражения. При условии предполагаемого заражения по месту жительства определение географических координат проводилось на основании фактического адреса проживания, указанного в учетных документах. При отсутствии информации о предполагаемых местах заражения случаи заболевания не учитывались в работе. В результате 96 % случаев заболевания ГЛПС нанесены на карту Саратовской области с точной пространственной привязкой к месту заражения.

При построении карт плотности мест заражений ГЛПС использован метод вычисления величины плотности на единицу площади точечных объектов с использованием кернфункции для построения поверхности из сглаженных конусов для каждой точки. Размер ячейки определялся как более короткий размер экстента выходных объектов в выходной пространственной привязке, деленный на 2500 (0,002). Радиус поиска, в пределах которого вычислена плот-

ность, выбран исходя из размерности линейных единиц проекции пространственной привязки выходных данных (0,01).

Результаты и обсуждение

За весь период регистрации ГЛПС в Саратовской области (с 1964 по 2018 год) выявлено 8194 случая заболевания ГЛПС, из них 32 с летальным исходом. Среднемноголетний показатель заболеваемости составлял 4,4 на 100 тыс. населения. Отмечались единичные годы подъема заболеваемости в Саратовской области на фоне общего роста числа больных ГЛПС в ПФО и Российской Федерации в целом. Крупные вспышки ГЛПС отмечались в Саратовской области в 1986 г. (2349 случаев заболевания), 1992 г. (349), 1999 г. (618), 2014 г. (1125). Случаи заражения ГЛПС, как правило, регистрировались в лесных и лесостепных ландшафтных зонах области, а в годы резких подъемов заболеваемости сильно возрастала доля случаев заражения на территории зеленой зоны Саратова – природного парка «Кумысная поляна» [2].

В годы с неосложненной эпидемиологической обстановкой по ГЛПС для Саратовской области характерна осенне-зимняя сезонность заболеваемости (рис. 1). Заражение ГЛПС, как правило, связывают с работой в садах и огородах, уборкой в частных домах и дачах (46 %), в меньшей степени заражение происходило при кратковременном посещении леса (21 %). В структуре заболеваемости преобладали лица мужского пола в возрасте от 20 до 60 лет [3–5].

На территории области отмечается циркуляция вируса *Puumala,* а основными носителями вируса и источниками заражения людей являются рыжая полевка (*Myodes glareolus*), желтогорлая мышь (*Sylvaemus flavicollis*), малая лесная мышь (*Sylvaemus uralensis*), полевая мышь (*Apodemus agrarius*), а также домовая мышь (*Mus musculus*) в природно-антропоургических очагах [6–7].

Наибольшее эпидемиологическое значение в

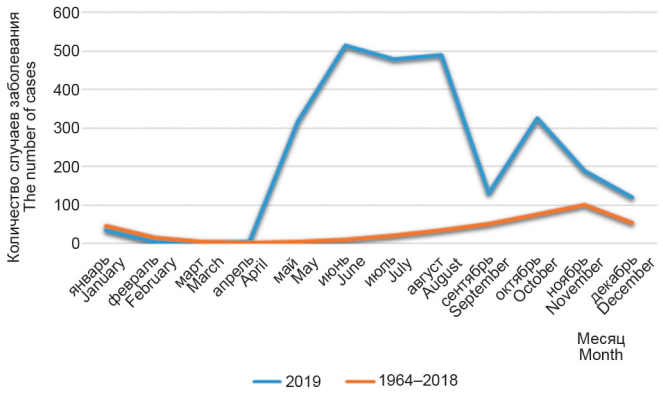


Рис. 1. Сезонная динамика заболеваемости ГЛПС в годы неосложненной эпидемиологической обстановки (средние показатели за период 1964–2018 гг.) и в 2019 г.

Fig. 1. Seasonal dynamics of HFRS morbidity during the years characterized by favorable epidemiological situation (average values over the period of 1964–2018) and in 2019

распространении ГЛПС на данной территории отводится рыжей полевке, численность и индекс доминирования которой используется в качестве основного прогностического индикатора ухудшения эпидемиологической обстановки по ГЛПС. Местами естественного распространения рыжей полевки считаются широколиственные, мелколиственные и смешанные леса [8–10]. Общая площадь лесов Саратовской области составляет 7,5 % территории области, а основные ландшафтные зоны представлены лесостепной, степной и зоной полупустыни. В связи с этим эпидемический потенциал территории области по риску заражения ГЛПС неоднороден.

Наиболее активная очаговая по ГЛПС территория Саратовской области располагается в зоне лесостепи, в границах девяти административных территорий, заболеваемость в которых превышает среднюю по области в 2 и более раза (9,68 на 100 тыс. населения). Большинство случаев заболевания ГЛПС регистрируется в Саратовском, Аткарском, Татищевском, Петровском, Лысогорском и Калининском районах области, а также в Саратове. В других районах показатель средней многолетней заболеваемости на 100 тыс. населения колеблется от 0,15 до 3,45. Самый низкий показатель наблюдается в зоне полупустыни, где за весь изучаемый период регистрировались единичные случаи заболевания.

В 2019 г. на территории Саратовской области отмечена не типичная, крайне напряженная эпидемиологическая обстановка по ГЛПС. Всего по Саратовской области зарегистрировано 2702 случая заболевания ГЛПС. Показатель заболеваемости составил 110,20 на 100 тыс. населения, при среднемноголетнем уровне в 4,4 на 100 тыс. населения. При этом подавляющее большинство случаев заболевания зарегистрировано среди жителей Саратова и Саратовского района, что составило 75 % от общего числа заболевших по области (2084 случаев заболевания). Рост заболеваемости отмечен с начала мая 2019 г., что крайне нехарактерно для данной территории (в многолетней динамике сентябрь–ноябрь), а максимальное количество заболевших зарегистрировано с июня по август. В последующие месяцы отмечалось снижение заболеваемости с показателями, многократно превышающими среднемноголетние значения (рис. 1).

Максимальное число заболевших зарегистрировано в возрастной группе 20–49 лет среди лиц мужского пола. По степени клинической тяжести превалировали среднетяжелые формы течения болезни. По типам заражения среди жителей Саратова и Саратовского района в 2019 г. преобладал лесной (36,35 %) и садово-огородный (32,0 %) тип, а среди жителей других районов области большинство заражений произошло бытовым путем (52,4 %), что согласуется с данными, полученными после предыдущих вспышек [2].

С целью пространственного анализа территории риска заражения ГЛПС Саратова и Саратовской

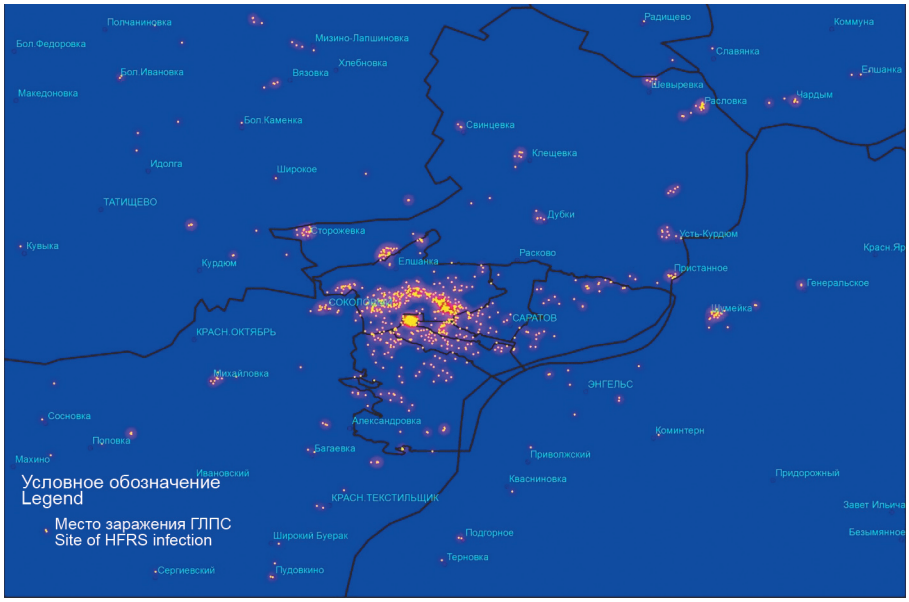


Рис. 2. Карта плотности мест заражения ГЛПС в Саратовской области в 2019 г.

Fig. 2. Density map of the sites of HFRS infection in the Saratov Region in 2019

области построены карты плотности мест предполагаемого заражения ГЛПС, где места с наибольшим скоплением случаев заражения отображались как наиболее яркие участки и характеризовали территорию как территорию с высокой вероятностью вовлечения жителей в эпидемический процесс ГЛПС (рис. 2) [11–13].

По Саратовской области случаи заражения ГЛПС распределились крайне неравномерно. Большинство из них были сосредоточены в западной части области, где в основном и сконцентрированы лесные массивы, однако единичные находки регистрировались и в зонах полупустынь, что не характерно для территории Саратовской области. Случаи заражения ГЛПС отмечены в 30 (из 38) районах области.

С целью определения наиболее опасных в плане заражения ГЛПС территорий проведено эпидемиологическое районирование Саратовской области с учетом доли случаев заражения в каждом районе.

Статистическая обработка данных с определением доверительных интервалов доли от общего числа заболевших позволила выделить четыре группы территорий, отличающихся по уровню риска заражения ГЛПС, а именно: очень высокий, высокий, средний и низкий уровень (рис. 3).

К первому типу с очень высоким уровнем риска заражения ГЛПС отнесены территории Саратова и Саратовского района, где в 2019 г. доля случаев заражения ГЛПС достигала 75 % от всех случаев заражения в области.

К территориям с высоким риском заражения отнесены Татищевский, Аткарский, Вольский, Энгельсский, Петровский, Воскресенский, Новобурасский, Самойловский районы, где доля от общего числа заражений варьировалась от 1 до 4,5 %.

К территориям со средним риском заражения отнесены территории, где доля от общего числа заражений варьировалась от 0,5 до 0,9 % – Базарно-Карабулакский, Балаковский, Красноармейский, Лысогорский, Марксовский, Ртищевский районы области.

Территории, на которых случаев заболевания ГЛПС в 2019 г. не зарегистрировано или доля заражений была менее 0,5 % от общего числа зарегистрированных случаев заражения, отнесены к территориям с низким уровнем заражения ГЛПС.

Установлено, что заражение в 83 % случаев среди жителей Саратова и Саратовского района связано с пребыванием на территории природного парка (ПП) «Кумысная поляна» или в его окрестностях.

Природный парк «Кумысная поляна» представляет собой типичный условно-естественный лесной

Рис. 3. Эпидемиологическое районирование территории Саратовской области по риску заражения ГЛПС

Fig. 3. Epidemiological zoning of the Saratov Region by the risk of HFRS infection

ландшафт с высокой степенью антропогенной трансформации, общей площадью 4500 га, расположенный в черте города. На территории парка располагается 13 оздоровительных учреждений, в том числе 12 детских. Кроме того, природный парк активно используется жителями города для отдыха и проведения различных массовых мероприятий. Со всех сторон парк окружен жилыми массивами частной и городской застройки, замыкая естественный природный очаг ГЛПС в кольцо. С учетом того, что территория парка не приведена в лесопарковое состояние, риск заражения на данной территории многократно увеличивается за счет высокой частоты контакта населения с источниками инфекции в благоприятных для грызунов условиях обитания.

При построении карт плотности в масштабе природного парка выявлено, что не вся территория парка равнозначна по риску заражения ГЛПС. Четко визуализировались несколько наиболее активных кластеров (очагов заражения): центральная часть парка – «Большая Кумысная поляна», примыкающие к природному парку с севера и востока жилые массивы частной и городской застройки и отдельные небольшие кластеры заражения, расположенные в Саратовском районе (рис. 4).

В результате проведенной работы удалось установить территории риска, которые в первую очередь нуждались в усилении проводимых мероприятий по неспецифической профилактике ГЛПС как на территории города, так и районов области.

К особенностям вспышки ГЛПС в Саратовской области 2019 г. относятся сезонная – нетипично раннее начало подъема заболеваемости в мае 2019 г., в многолетней динамике сентябрь–ноябрь, и территориальная – заражение 75 % заболевших жителей Саратова при посещении зеленой зоны города, тогда как для периода неосложненной эпидемиологической обстановки по ГЛПС в Саратовской области в основном характерна регистрация заболеваемости среди жителей области или городского населения, по разным причинам выезжающих в районы области.

Рассматривая вопрос особенностей вспышки ГЛПС 2019 г., следует отметить, что подобные крупные вспышки ГЛПС в области регистрируются не часто, однако они имели место в 1986, 1992, 1999 и 2014 гг. Ретроспективный анализ предыдущих вспышек показал, что раннее начало подъема заболеваемости регистрировали и в отдельные годы крупных вспышек (в частности в 1986 и 1992 гг.), когда начало роста заболеваемости отмечалось в мае и июне соответственно. Установлено, что в годы резкого подъема заболеваемости количество случаев заражения на территории ПП «Кумысная поляна» резко возрастает. Так, в 1986 г. – 45 % случаев инфицирования связаны с пребыванием населения в зеленой зоне Саратова; 57,7 % в 1992 г.; 55,4 % в 1999 г. (таблица), что, по-видимому, объясняется более тесным контактом населения с очаговой по ГЛПС территорией.

При анализе причин резкого обострения эпидемиологической ситуации в весенний период 2019 г. на первый план выходят высокие показатели численности и инфицированности рыжей полевки [14–15].

В зимне-весенний период 2019 г. общие показатели численности грызунов возросли до 32,1 % попадания в орудия лова, т.е. в 1,7 раза, при индексах доминирования рыжей полевки в 30,2 % (превышение среднемноголетних в 1,1 раза) и инфицированности в 27,9 %. Локально отмечались очаговые увеличения численности грызунов до 50–70 % попадания в орудия лова. Эпизоотологический мониторинг территории Кумысной поляны в феврале 2019 г. показал высокую инфицированность рыжих полевок – 57,1 % при индексе ее доминирования 55,6–83,3 %; показатель численности – 15 % попадания в орудия лова. К апрелю численность грызунов достигла уже 57,0 % попадания в орудия лова (весной 2018 г. – 10 % по-

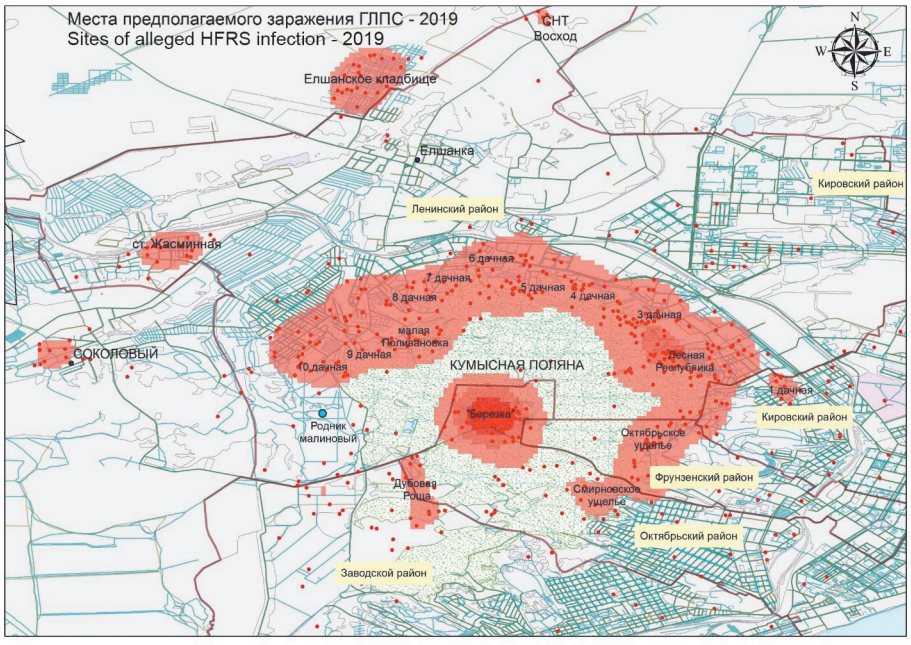


Рис. 4. Карта плотности мест заражения ГЛПС на территории природного парка «Кумысная поляна»

Fig. 4. Density map of the sites of HFRS infection in the territory of the natural park “Kumysnaya Polyana”

Сравнительный анализ наиболее крупных вспышек ГЛПС в Саратовской области

Comparative analysis of the largest HFRS outbreaks in the Saratov Region

Годы максимального подъема заболеваемости Years of the maximum incidence surge	Число случаев / Показатель заболеваемости на 100 тыс. населения Number of cases / Morbidity rates per 100 thousand of the population	Начало роста заболеваемости Onset of incidence surge	Периоды максимальной заболеваемости Periods of peak incidence	Доминирующий тип заражения Dominant type of infection	Доля случаев в ПП «Кумысная поляна», % Share of cases across the natural park “Kumysnaya Polyana”
1986	2349/89,3	Май May	Август–сентябрь August–September	Лесной, бытовой Forest, household	45
1992	349/12,9	Июнь June	Август–сентябрь August–September	Лесной Forest	57,7
1999	618/22,7	Сентябрь September	Октябрь–ноябрь October–November	Лесной Forest	52
2019	2702/110,20	Май May	Июнь–август June–August	Лесной, бытовой Forest, household	75

падания в орудия лова); индекс доминирования рыжей полевки – 58,8 %; инфицированность рыжей полевки – 18,6 %. Интенсивность размножения рыжей полевки в весенний период составляла 404 эмбриона на 100 половозрелых самок, что было значительно выше многолетнего уровня.

Высокие показатели численности и инфицированности грызунов во многом объясняются относительно мягкой и многоснежной зимой 2018–2019 гг., хорошей кормовой базой, малодоступностью грызунов для хищников вследствие высокого снежного покрова, а также затяжной весной без паводка.

При проведении анализа сведений о высоте снежного покрова с 1966 по 2019 год нами выявлено, что его уровень в сезон 2018–2019 гг. превышал среднемноголетние пиковые значения в 2,1 раза. Это, по-видимому, явилось ключевым фактором формирования благоприятной среды для активного подснежного размножения, обусловившего высокую численность грызунов в весенний период 2019 г. Высокий уровень снежного покрова отмечен и в зимний период 1985–1986 гг., когда начало крупной вспышки заболеваемости ГЛПС по области также зарегистрировано весной.

Многоснежная зима 2018–2019 гг. и обильная для мелких млекопитающих кормовая база в лесных биотопах обусловили хорошую выживаемость грызунов в зимний период, интенсивное подснежное размножение и высокую численность ранней весной. Абиотические факторы были благоприятны для сохранения хантавируса во внешней среде. Частые контакты между грызунами в подснежных коммуникациях создали оптимальные условия для его распространения, что и привело к заражению возбудителем ГЛПС грызунов на больших территориях в лесных биотопах и, как следствие, к заражению значительного количества людей.

Кроме выделенных причин роста заболеваемости ГЛПС на территории Саратовской области необходимо отметить усиление антропогенной трансформации ландшафтов природных очагов этой инфекции (рост площадей, занятых садовоогородными кооперативами, коттеджной застройкой, лечебно-оздоровительными учреждениями и др.) в последние десятилетия [16–18]. В частности, проанализировав антропогенную нагрузку на территорию ПП «Кумысная поляна», мы установили, что площадь застройки за период с 1979 по 2019 год увеличилась на 400 га, что составляет 9 % общей площади очаговой территории (рис. 5). Изменение характера эксплуатации очаговых территорий неизбежно приводит к росту контактов населения с природно-очаговыми комплексами и, соответственно, к увеличению их потенциальной эпидемиологической опасности.

В 2008 г. Распоряжением Правительства Саратовской области № 993-Пр от 14.08.2008 г. территории Кумысной поляны присвоен статус природного парка регионального значения, что привело к сокращению лесотехнических работ, направленных на перевод этой очаговой территории в лесопарковое состояние, в соответствии с действующими нормативно-методическими документами. Вследствие недооцененного уровня эпидемической опасности природного очага ГЛПС, расположенного на территории ПП «Кумысная поляна», в весенне-летний период здесь ежегодно усиливаются миграции городского населения, что способствует поддержанию ежегодной спорадической и вспышечной заболеваемости ГЛПС.

Таким образом, ретроспективный анализ эпидемических проявлений ГЛПС в Саратовской области показал, что вспышка ГЛПС 2019 г. стала самой масштабной за весь период регистрации болезни, как по числу больных (2702 случаев заболевания), так и по длительности течения.

Характерными особенностями вспышки ГЛПС 2019 г. следует считать раннее начало роста заболеваемости (май) и приуроченность большинства случаев заражения к территории ПП «Кумысная поляна» (75 %). Сравнительный анализ наиболее крупных вспышек ГЛПС в Саратовской области показал, что, несмотря на ряд отличительных особенностей своей реализации, вспышка ГЛПС 2019 г. в целом имеет характерные эпидемиологические признаки для данной

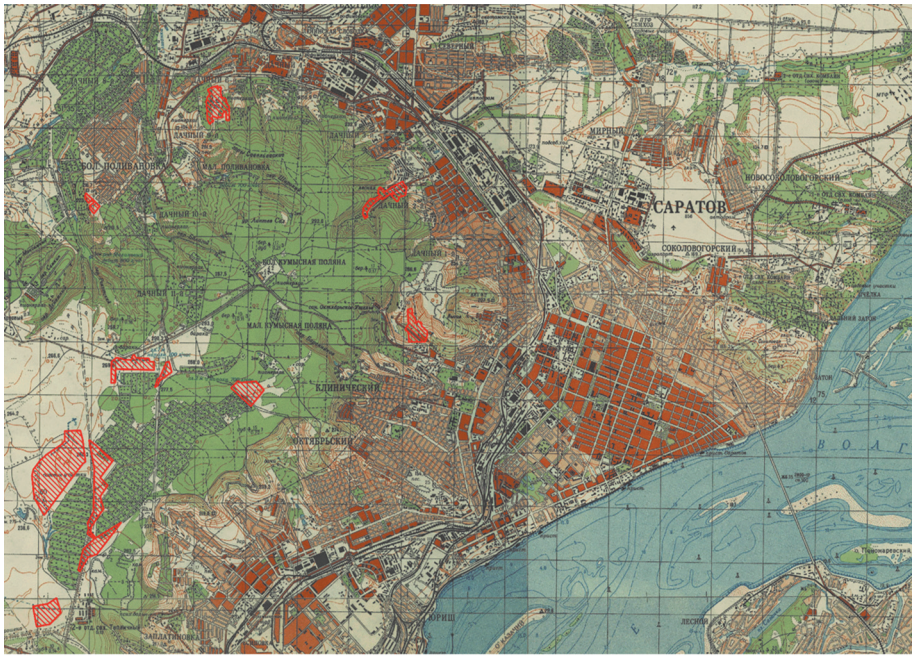


Рис. 5. Антропогенная нагрузка на территорию природного парка «Кумысная поляна» с 1979 по 2019 год

Fig. 5. Anthropogenic burden on the territory of the natural park "Kumysnaya Polyana" between 1979 and 2019

территории в годы резкого подъема заболеваемости.

Эпидемиологическое районирование Саратовской области позволило выделить четыре типа территорий, отличающихся по уровню риска заражения ГЛПС (очень высокий, высокий, средний и низкий), а также установить наиболее опасные в плане заражения ГЛПС территории Саратова, которые в первую очередь нуждались в усилении проводимых мероприятий по неспецифической профилактике ГЛПС.

Основными факторами, повлиявшими на резкий рост заболеваемости ГЛПС, послужили высокая численность инфицированных грызунов в весенний период 2019 г., обусловленная относительно мягкой и чрезвычайно снежной зимой 2018–2019 гг.; сокращение лесотехнических работ, направленных на перевод очаговой территории в лесопарковое состояние, способствовавшее формированию благоприятных условий для размножения грызунов; изменение характера эксплуатации 9 % территории ПП «Кумысная поляна», повлекшее за собой увеличение частоты контактов населения с природно-очаговыми комплексами; массовое посещение населением природного очага в ранневесенний период на фоне низкого уровня настороженности о рисках заражения ГЛПС.

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

Список литературы

1. Ткаченко Е.А., Дзагурова Т.К., Бернштейн А.Д., Коротина Н.А., Окулова Н.М., Мутных Е.С., Иванов А.П., Ишухаметов А.А., Юничева Ю.В., Пиликова О.М., Морозов В.Г., Транквилевский Д.В., Городин В.Н., Бахтина В.А., Соцкова С.Е. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (история, проблемы и перспективы изучения). *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2016; 15(3):23–34. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-3-23-34.

2. Рябова А.В., Тарасов М.А., Захаров К.С., Попов Н.В. Сравнительный анализ очагов ГЛПС Саратовской области. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2015; 20(4):22–5.

3. Иванова А.В., Куклев Е.В., Попов Н.В. Современная стратегия повышения биологической безопасности территорий Приволжского федерального округа, энзоотичных по геморрагической лихорадке с почечным синдромом. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2016; 1:102–7.

4. Василенко Н.Ф., Малецкая О.В., Манин Е.А., Прислегина Д.А., Шапошникова Л.И., Волынкина А.С., Лисицкая Я.В., Варфоломеева Н.Г., Куличенко А.Н. Мониторинг природно-очаговых инфекций на юге европейской части России в 2016 году. *Здоровье населения и среда обитания*. 2018; 1:30–2. DOI: 10.35627/2219-5238/2018-298-1-30-32.

5. Ткаченко Е.А., Бернштейн А.Д., Дзагурова Т.К., Морозов В.Г., Слонова Р.А., Иванова Л.И., Транквилевский Д.В., Крюгер Д. Актуальные проблемы геморрагической лихорадки с почечным синдромом. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2013; 1:51–8.

6. Тарасов М.А. Эколого-эпизоотологический мониторинг в очагах опасных зоонозных болезней. Саратов: Амирит; 2016. 355 с.

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

8. Рябов С.В., Нечаев С.А., Шутова М.И., Мочалкин П.А., Мочалкин А.П. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом – пути заражения и меры защиты. *Дезинфекционное дело*. 2011; 4:52–7.

9. Ткаченко Е.А., Дзагурова Т.К., Бернштейн А.Д, Окулова Н.М., Коротина Н.А., Транквилевский Д.В., Морозов В.Г. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом в России – проблема 21 века. *Вестник Российской академии естественных наук.* 2012; 1:48–54.

10. Носков А.К., Шаракшанов М.Б., Никитин А.Я. Хорологическая структура природно-очаговых инфекций в азиатской части Российской Федерации. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2017; 16(2):63–9. DOI: 10.31631/2073-3046-2017-16-2-63-69.

11. Иванова А.В., Сафронов В.А., Степанов Е.Г., Мочалкин П.А, Попов Н.В. Выявление территорий высокого риска заражения ГЛПС в Республике Башкортостан с применением ГИС-технологий. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 2:40–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-40-44.

12. Сафронов В.А., Раздорский А.С., Скаленко С.Ю., Лопатин А.А., Ковтунов А.И., Пискунова Н.В., Кологоров А.И., Куклев Е.В., Топорков В.П. Географическая информационная система для эпидемиологического надзора за природно-очаговыми инфекционными болезнями в сочетанных очагах на территории астраханской области. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2010; 3:35–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-3(105)-35-38.

13. Мочалкин П.А., Мочалкин А.П., Степанов Е.Г., Фарвазова Л.А., Попов Н.В. Оценка потенциальной эпидемической опасности сопряженных очагов ГЛПС в г. Уфе. *РЭТ-инфо.* 2014; 1:11–5.

14. Reusken C., Neyman P. Factor driving hantavirus emergence in Europe. *Curr. Opin. Virol.* 2013; 3(1):92–9. DOI: 10.1016/j.coviro.2013.01.002.

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

16. Clement J., Maes P., Van Ranst M. Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the New, and Hantavirus Pulmonary Syndrome in the Old World: Paradi(se)gm lost or regained? *Virus Re*s. 2014; 187:55–8. DOI: 10.1016/j.virusres.2013.12.036.

17. Еникеева З.М., Агзамова Р.Ф. Исходы острого повреждения почек при геморрагической лихорадке с почечным синдромом. *Фундаментальные исследования*. 2013; 2–1:56–60.

18. Мухаметдинова Г.А., Фазлыева Р.М., Мустафина В.Х., Дзагурова Т.К. Клинико-эпидемиологическая характеристика геморрагической лихорадки с почечным синдромом в эндемичном регионе. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2011; 1:41–4.

References

1. Tkachenko E.A., Dzagurova J.K., Bernshtein A.D., Korotina N.A., Okulova N.M., Mutnikh E.S., Ivanov A.P., Ishmukhametov A.A., Yunicheva Y.V., Pilikova O.M., Morozov V.G., Trankvilevskiy D.V., Gorodin V.N., Bakhtina V.A., Sotskova S.E. Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome (History, problems and Research Perspectives). *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2016;15(3):23–4. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-3-23-34.

2. Ryabova A.V., Tarasov M.A., Zakharov K.S., Popov N.V. Comparative analysis of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) foci in the Saratov Region. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2015; 20(4):22–5.

3. Ivanova A.V., Kuklev E.V., Popov N.V. Modern strategy for improving biological safety of HFRS enzootic areas of the Privolzhsky Federal District. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]*. 2016; 1:102–7.

4. Vasilenko N.F., Maletskaya O.V., Manin E.A., Prislegina D.A., Shaposhnikova L.I., Volynkina A.S., Lisitskaya Ya.V., Varfolomeyeva N.G., Kulichenko A.N. Monitoring of natural focal infections in the southern European part of Russia in 2016. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2018; 1:30–2. DOI: 10.35627/2219-5238/2018-298-1-30-32.

5. Tkachenko E.A., Bernshtein A.D., Dzagurova T.K., Morozov V.G., Slonova R.A., Ivanov L.I., Trankvilevsky D.V., Kryuger D. Actual problems of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Zhurnal Mikrobiologii, Èpidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2013; 1:51–8.

6. Tarasov M.A. Ecological-Epizootiological Monitoring in the Foci of Dangerous Zoonotic Diseases. Saratov: "Amirit"; 2016. 355 p.

7. Trankvilevskiy D.V. About infection of small mammals with pathogens of zoonozes in the Russian Federation. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2016; 10:53–6.

8. Ryabov S.V., Nechaev S.A., Shutova M.I., Mochalkin P.A., Mochalkin A.P. Hemorrhagic fever with renal syndrome - ways of infection and protection measures. *Dezinfektsionnoe Delo [Disinfection Affairs]*. 2011; 4:52–7.

9. Tkachenko E.A., Dzagurova T.K., Bernshtein A.D., Okulova N.M., Korotina N.A., Trankvilevsky D.V., Morozov V.G. Hemorrhagic fever with renal syndrome in Russia – challenge of the 21st century. *Vestnik Rossiiskoy Akademii Estestvennykh Nauk [Bulletin of the Russian Academy of Natural Sciences]*. 2012; 1:48–54.

10. Noskov A.K., Sharakshanov M.B., Nikitin A.Y. Chorological Structure of natural focal infections in the Asian part of the Russian Federation. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2017; 16(2):63–9. DOI: 10.31631/2073-3046-2017-16-2-63-69.

11. Ivanova A.V., Safronov V.A., Stepanov E.G., Mochalkin P.A., Popov N.V. Detection of territories of high risk HFRS exposure in the Republic of Bashkortostan, applying GIS-technologies. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 2:40–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-40-44.

12. Safronov V.A., Razdorskiy A.S., Skalenko S.Yu., Lopatin A.A., Kovtunov A.I., Piskunova N.V., Kologorov A.I., Kouklev E.V., Toporkov V.P. Geographical information system for epidemiological surveillance of natural focal infectious diseases in combined foci in the territory of the Astrakhan Region. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2010; 3:35–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-3(105)-35-38.

13. Mochalkin P.A., Mochalkin A.P., Stepanov E.G., Farvazova L.A., Popov N.V. Assessment of potential epidemic hazard of combined HFRS foci in Ufa City. *RET-info.* 2014; 1:11–5.

14. Reusken C., Neyman P. Factor driving hantavirus emergence in Europe. *Curr. Opin. Virol.* 2013; 3(1):92–9. DOI: 10.1016/j.coviro.2013.01.002.

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

16. Clement J., Maes P., Van Ranst M. Hemorrhagic fever with renal syndrome in the new, and hantavirus pulmonary syndrome in the Old World: paradi(se)gm lost or regained? *Virus Re*s. 2014; 187:55–8. DOI: 10.1016/j.virusres.2013.12.036.

17. Enikeeva Z.M., Agzamova R.F. Ootcomes of acute renal injury in hemorrhagic fever with renal syndrome. *Fundamental'nye Issledovaniya [Fundamental Research]*. 2013; 2–1:56–60.

18. Mukhetdinova G.A., Fazlyeva R.M., Mustafina V. Kh., Dzagurova T.K.The clinical and epidemiological characteristics of hemorrhagic fever with renal syndrome in an endemic region. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2011; 1:41–4.

Authors:

Ivanova A.V., Safronov V.A., Popov N.V., Chumachkova E.A., Pospelov M.V., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Kozhanova O.I., Matveeva N.I., Arkhipova G.N., Vyatkin I.N. Rospotrebnadzor Administration in the Saratov Region. 7, Volskaya St., 410005, Saratov, Russian Federation. E-mail: sarrpn@san.ru.

Kresova U.A. Center of Hygiene and Epidemiology in the Saratov Region. 69, Bolshaya Gornaya St., Saratov, 410031, Russian Federation. E-mail: fguz@gigiena-saratov.ru.

Об авторах:

Иванова А.В., Сафронов В.А., Попов Н.В., Чумачкова Е.А., Поспелов М.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Кожанова О.И., Матвеева Н.И., Архипова Г.Н., Вяткин И.Н. Управление Роспотребнадзора по Саратовской области. Российская Федерация, 410028, Саратов, ул. Вольская, д. 7. E-mail: sarrpn@san.ru.

Кресова У.А. Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области. Российская Федерация, 410031, Саратов, ул. Большая Горная, д. 69. E-mail: fbuz@gigiena-saratov.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-86-90

УДК 616.98:579.842.23

Е.А. Красильникова, Р.З. Шайхутдинова, Т.Э. Светоч, М.Е. Платонов, Т.И. Комбарова, С.А. Иванов, С.В. Дентовская, А.П. Анисимов

ВИРУЛЕНТНОСТЬ HtpG$^+$ И HtpG$^-$ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS* ДЛЯ МЫШЕЙ И МОРСКИХ СВИНОК

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

HtpG (высокотемпературный белок G – high-temperature protein G) – бактериальный гомолог высококонсервативного молекулярного шаперона Hsp90 эукариот, играющего важную роль в защите от стресса у многих бактерий. Роль продукта гена *htpG*, кодирующего синтез высокотемпературного белка G прокариот, в патогенезе бактериальных инфекций до настоящего времени остается не ясной. **Цель** работы – изучить функциональную важность HtpG в патогенезе чумы. **Материалы и методы.** Аминокислотную последовательность HtpG анализировали с использованием программы BLAST. С помощью сайт-направленного мутагенеза гена *htpG* (YPO3119) получили изогенные наборы на основе аттенуированного и вирулентных штаммов *Yersinia pestis*. Свойства полученных мутантов оценивали с использованием микробиологических и биологических методик. **Результаты и обсуждение.** Проведенный биоинформационный анализ показал высокую консервативность белка HtpG внутри вида *Y. pestis* (100 % идентичности), а также 99 % идентичности с белком *Y. pseudotuberculosis* и 96 % идентичности с белком *Y. enterocolitica.* Штамм *Y. pestis* с делецией *htpG* проявлял чувствительность к температурному и оксидативному стрессу, обладая фенотипом, общим для *htpG* мутантов других бактериальных видов. Однако мутант не был чувствителен к осмотическому стрессу и комплементу сыворотки крови человека. Утрата чумным микробом способности к синтезу HtpG не оказывала влияния на вирулентность и средние сроки жизни мышей и морских свинок при подкожном способе заражения, что свидетельствует о неперспективности его использования в качестве молекулярной мишени для терапии и/или вакцинопрофилактики чумы.

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, Hsp90, HtpG, вирулентность.

Корреспондирующий автор: Красильникова Екатерина Александровна, e-mail: ek.al.krasilnikova@gmail.com.

Для цитирования: Красильникова Е.А., Шайхутдинова Р.З., Светоч Т.Э., Платонов М.Е., Комбарова Т.И., Иванов С.А., Дентовская С.В., Анисимов А.П. Вирулентность HtpG$^+$ и HtpG$^-$ штаммов *Yersinia pestis* для мышей и морских свинок. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:86–90. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-86-90

Поступила 05.03.20. *Принята к публ.* 20.03.20.

E.A. Krasil'nikova, R.Z. Shaikhutdinova, T.E. Svetoch, M.E. Platonov, T.I. Kombarova, S.A. Ivanov, S.V. Dentovskaya, A.P. Anisimov

Virulence of HtpG$^+$ and HtpG$^-$ Strains of *Yersinia pestis* for Mice and Guinea Pigs

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russian Federation

Abstract. HtpG (high-temperature protein G) is a bacterial homologue of the highly conserved molecular chaperone Hsp90 of eukaryotes, which plays an important role in protection against stress in many bacterial species. The role of the *htpG* gene encoding the synthesis of high-temperature prokaryotic G protein in the pathogenesis of bacterial infections is still unclear. **The aim of this work** is to study the functional importance of HtpG in the pathogenesis of plague. **Materials and methods.** Isogenic *Yersinia pestis* sets based on attenuated and virulent strains differing in the presence of the functional *htpG* gene (YPO3119) were generated with the help of site-directed mutagenesis. The HtpG amino acid sequence was analyzed using the BLAST program. The properties of the resulting mutant strains were evaluated using microbiological and biological methods. **Results and discussion.** The bioinformatics analysis showed high conservativeness of the HtpG protein within the *Y. pestis* species (100% identity), as well as 99 % identity with the *Y. pseudotuberculosis* protein and 96 % identity – *Y. enterocolitica* protein. *Y. pestis htpG* knock-out mutants showed increase of susceptibility to temperature and oxidative stress like mutants of the other bacterial species. However, the mutant was not sensitive to osmotic stress and human serum complement. The loss of the ability to synthesize HtpG by plague microbe did not affect the virulence and average life duration of mice and guinea pigs challenged subcutaneously. It means that *htpG* gene is not a good molecular target for the treatment and/or immunoprophylaxis of plague.

Key words: *Yersinia pestis*, Hsp90, HtpG, virulence.

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

Corresponding author: Ekaterina A. Krasil'nikova, e-mail: ek.al.krasilnikova@gmail.com.

Citation: Krasil'nikova E.A., Shaikhutdinova R.Z., Svetoch T.E., Platonov M.E., Kombarova T.I., Ivanov S.A., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. Virulence of HtpG$^+$ and HtpG$^-$ strains of *Yersinia pestis* for mice and Guinea Pigs. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:86–90. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-86-90

Received 05.03.20. *Accepted* 20.03.20.

Krasil'nikova E.A., ORCID: http://orcid.org/0000-0001-5472-8724
Shaikhutdinova R.Z., ORCID: http://orcid.org/0000-0002-6985-6822
Svetoch T.E., ORCID: http://orcid.org/0000-0002-3540-1176
Platonov M.E., ORCID: http://orcid.org/0000-0003-3946-1755
Kombarova T.I., ORCID: http://orcid.org/0000-0003-1959-1739
Ivanov S.A., ORCID: http://orcid.org/0000-0003-1180-2618
Dentovskaya S.V., ORCID: http://orcid.org/0000-0002-1996-8949
Anisimov A.P., ORCID: http://orcid.org/0000-0002-5499-7999

Hsp90 (heat shock protein 90 – hsp90) – молекулярный шаперон, необходимый для поддержания, активации, стабилизации или созревания белков, его экспрессия усиливается при повышении температуры или других стрессирующих клетку условиях окружающей среды. Hsp90 обладает АТФ-азной активностью и вовлечен в различные клеточные процессы, в том числе фолдинг белков, передачу сигналов и пролиферацию клеток [1]. Установлено, что *htpG* прокариот кодирует гомолог белка теплового шока 90 эукариот [2]. Выявлено, что гены, кодирующие белки теплового шока, индуцируются на поздних стадиях течения инфекционного процесса, что отражает роль кодируемых продуктов в защите бактерий от стрессовых факторов и защитных механизмов, а именно оксидативного стресса, кислого pH, дефензинов или бактерицидной активности сыворотки [3], устойчивость к которым необходима патогенному микроорганизму для выживания в организме хозяина. Hsp90 эукариот – белок, необходимый для жизнеспособности клеток [4], а также играющий множество функций в фолдинге белков наряду с растущим числом кошаперонов [1]. С другой стороны, у бактерий утрата HtpG может не оказывать губительного влияния на клетку. $HtpG^-$ фенотип может варьироваться от небольших дефектов в росте культуры при повышенной температуре и/или устойчивости к холодовому шоку до чувствительности к оксидативному стрессу [5–7]. Установлено, что HtpG необходим для продукции ряда факторов патогенности *Escherichia coli* [8], персистенции *Salmonella typhimurium* в кишечнике свиней [9], а также играет важную роль в патогенезе инфекций, вызываемых *Francisella tularensis* [10], *Leptospira interrogans* [11] и *Edwardsiella tarda* [6].

Цель работы – изучить функциональную важность HtpG в патогенезе чумы.

Материалы и методы

Бактериальные штаммы. Использованные в работе штаммы *Y. pestis* представлены в табл. 1. Бактерии выращивали на питательной среде на основе сердечно-мозговой вытяжки (BHI), pH 7,2 или pH 5,8. BHI агар с 5 % сахарозы использовали для селекции двойных рекомбинантов *Y. pestis*, полученных с помощью гибридных плазмид на основе суицидного вектора pCVD442 [12]. В случае необходимости в питательные среды добавляли антибиотики: ампициллин – 100 мкг/мл, канамицин – 40 мкг/мл, хлорамфеникол – 10 мкг/мл, полимиксин B – 100 мкг/мл.

Биоинформационный анализ HtpG. Аминокислотную последовательность HtpG анализировали с использованием программы BLAST на сайте NCBI. Молекулярную массу белка и теоретическую изоэлектрическую точку (pI) определили, используя блок EditSeq программного обеспечения DNASTAR (Madison, WI, USA).

Мутагенез. Нокаутные мутанты получали с помощью технологии одноэтапной инактивации хромосомных генов [13] или плазмид на основе суицидного вектора pCVD442 [12]. Верификацию замены генов проводили с помощью полимеразой цепной реакции.

Динамику роста штаммов оценивали при выращивании в трех повторах в 200 мкл жидкой питательной среды (бульон Хоттингера с добавлением 1 % гемолизированной крови) в 96-луночных планшетах Costar (Corning Incorporated USA) в термостатируемом планшетном фотометре Multisckan FC (Thermo Scientific, USA). Для определения чувствительности штаммов к высокому содержанию соли в жидкую питательную среду добавляли хлорид натрия до 4 %. Посевная доза составляла 10^7 КОЕ/мл. Бактериальные суспензии культивировали в течение 24 ч при температурах 28 и 37 °C. Оптическую плотность суспензии определяли при длине волны 620 нм.

Выживание в присутствии H_2O_2 и «кислого» pH. Перекись водорода серийно разводили в минимальной среде (M9) до концентрации 200 mM, 40,0 mM, 8,0 mM и 1,6 mM. Для определения чувствительности к pH готовили среду M9 с pH 3,5 и pH 7,0 в качестве контроля. В среду добавляли 10^7 КОЕ/мл исследуемого штамма и исходного штамма, бактериальные суспензии инкубировали

Таблица 1 / Table 1

Вирулентность экспериментальных штаммов *Y. pestis* при подкожном заражении беспородных мышей

Virulence of *Y. pestis* experimental strains in subcutaneously infected outbred mice

Штаммы *Y. pestis* *Y. pestis* strains	Характеристика Description	LD_{50}, КОЕ* LD_{50}, CFU*	Средние сроки жизни, сут Mean time to death, days
231	$Fra^+Ymt^+Lcr^+HtpG^+Pla^+Pgm^+$ **	**1** (1÷2)	**5,4** ± 0,5
231Δ*htpG*	$Fra^+Ymt^+Lcr^+HtpG^-Pla^+Pgm^+$	5 (1 ÷ 18)	**4,4** ± 1,0
И-3189	$Fra^+Ymt^+Lcr^+$ $HtpG^+Pla^+Pgm^+$	**2** (1 ÷ 5)	**4,7** ± 0,9
И-3189Δ*htpG*	$Fra^+Ymt^+Lcr^+HtpG^-Pla^+Pgm^+$	5 (1 ÷ 18)	**5,7** ± 1,9

* 95 % доверительный интервал представлен в круглых скобках.

** способность к продукции: Fra – капсульного антигена, Ymt – мышиного токсина, Lcr – Yop белков и V антигена, HtpG, Pla – активатора плазминогена; Pgm – сочетанная способность к сорбции гемина и чувствительность к пестицину.

* 95 % confidence interval is shown in parentheses.

** ability to produce: capsular antigen Fra, Yersinia mouse toxin Ymt, LCR – Yop proteins and LcrV, HtpG, plasminogen activator Pla; Pgm – combined ability to gemin sorption and sensitivity to Pst.

при температуре 28 °С 10 мин в присутствии H_2O_2, а также 30 и 60 мин – при разных значениях pH. Выживание оценивали путем высевов разведений культур на чашки с агаром Хоттингера с 1 % гемолизированной кровью.

Оценку вирулентности проводили на 6–8-недельных самках нелинейных мышей породы Swiss Webster и морских свинках (275±25) г. Все протоколы экспериментов с животными одобрены Комитетом по биоэтике ГНЦ ПМБ, все работы проводили в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными». Мышей заражали подкожно десятикратными разведениями 28-градусных двухсуточных культур *Y. pestis* в изотоническом растворе NaCl в объеме 0,1 мл на пять животных. По шесть морских свинок заражали подкожно разведениями 10^2 и 10^6 КОЕ 28-градусных двухсуточных культур *Y. pestis* в изотоническом растворе NaCl в объеме 0,5 мл на животное. Наблюдение за зараженными животными проводили в течение 21 сут. Погибших животных вскрывали и подвергали бактериологическому исследованию. Вычисление величин LD_{50} проводили по методу Kärber в модификации И.П. Ашмарина и А.А. Воробьева.

Определение чувствительности штаммов к бактерицидному действию комплемента проводили путем сравнительной оценки воздействия нормальной человеческой сыворотки и сыворотки с инактивированным путем нагревания комплементом (тНЧС) на бактериальную взвесь исследуемых штаммов с концентрацией 10^7 КОЕ/мл по методу M.G. Barnes *et al.* [14].

Статистический анализ. Данные представляли как среднее значение ± стандартное отклонение. Для статистического анализа использовали Graph Pad Prism 5 (Graph Pad Software, La Jolla, CA), выполняя однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. Различия считали достоверными, если $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Биоинформационный анализ htpG. Открытая рамка считывания *htpG* (YPO3119 у *Y. pestis* CO92) длиной 1869 п.о. кодирует белок HtpG, состоящий из 622 аминокислотных остатков. HtpG *Y. pestis* предположительно имеет молекулярную массу 70,8 кДа и pI = 5,03. Внутри вида *Y. pestis* белок высоко консервативен – BLASTp показал 100 % гомологию у штаммов различных биоваров чумного микроба. Гомология с белком HtpG энтеропатогенных иерсиний составила 99 % для *Y. pseudotuberculosis* (WP_106464413.1) и 96 % для *Y. enterocolitica* (WP_072089333.1). Кроме того, BLASTp анализ HtpG выявил, что белок обладает значительным подобием с остальными HtpG и Hsp90 белками. Предположительно, АТФ-азный домен локализован на N-конце белка, где присутствуют 14 консервативных остатков, необходимых для связывания АТФ (E34, N38, D41, L78, D80, G82, G84, M85, G124, V125, G126, F127, V139, T141), в том числе два G-X-G мотива (82GIG84 и 124GVG126) [6, 15]. Кроме того, HtpG *Y. pestis* структурно гомологичен С-концевому региону белков семейства HtpG (остатки 186–622).

Эффект делеции htpG на рост мутантного штамма, устойчивость к оксидативному и осмотическому стрессу. Проведенный сайт-направленный мутагенез гена *htpG* в вакцинном штамме EV НИИЭГ, а также в вирулентных штаммах *Y. pestis* subsp. *pestis* 231 и *Y. pestis* bv. Ulegeica И-3189 позволил получить мутанты EV*ΔhtpG*, 231*ΔhtpG*, И-3189*ΔhtpG*.

HtpG – высококонсервативный молекулярный шаперон, обнаруживаемый у всех бактерий и участвующий в фолдинге белков в условиях стресса [16]. Утрата белка может оказывать различные эффекты на бактериальные клетки, в том числе приводить к дефектам роста при высоких температурах и повышению чувствительности к оксидативному стрессу [6, 7, 17]. Для определения потенциальной функции HtpG в ходе повышения температуры культивирования, оксидативного и осмотического стресса определили рост и выживание мутантных штаммов в данных условиях. Согласно полученным результатам при температуре культивирования 28 °С профиль роста исходного и мутантного штаммов совпадали. Повышение температуры выращивания до 37 °С приводило к запаздыванию скорости роста мутантного штамма в позднюю логарифмическую и стационарную фазы по сравнению с исходным (рис. 1, А).

Осмотический стресс является одним из условий, к которым бактерии должны адаптироваться в ходе инфекционного процесса. Установлено, что

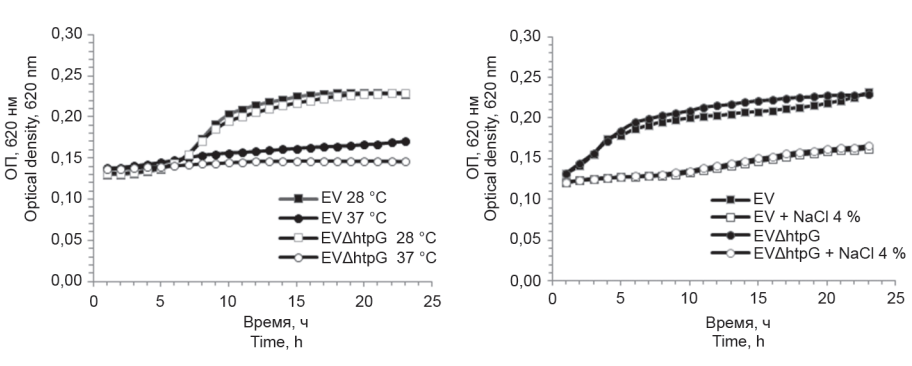


Рис. 1. Рост штамма «дикого» типа и мутанта EVΔ*htpG in vitro*:

A – при температурах 28 и 37 °С*;* ***B*** – в условиях нормальной (0,5 % NaCl) и повышенной (4 % NaCl) осмолярности

Fig. 1. Growth of the "wild" type strain and EVΔ*htpG* mutant *in vitro*:

A – cultivation at 28 °C and 37 °C*;* ***B*** – cultivation under normal (0.5 % NaCl) and increased (4 % NaCl) osmolarity conditions

Таблица 2 / Table 2

Чувствительность экспериментальных штаммов к перекиси водорода и pH

Sensitivity of experimental strains to hydrogen peroxide and pH

Штамм Strain	Число живых бактерий (lg КОЕ/мл) после 1 ч инкубации в H_2O_2 The number of living bacteria (lg CFU/ml) after 1 h of incubation in H_2O_2				Число живых бактерий (lg КОЕ/мл) после инкубации при pH The number of living bacteria (lg CFU/ml) after incubation at pH		
	40 mM	8 mM	1,6 mM	0 mM	7	3,5 (30 мин) (30 min)	3,5 (60 мин) (60 min)
EV	7,573	7,827	7,840	7,955	7,955	7,733	7,470
EVΔ*htpG*	6,746	7,662	7,681	7,816	7,816	7,595	7,294

экспрессия молекулярных шаперонов, отвечающих за синтез белков теплового шока, растет при осмотическом шоке [17].

Исходный и мутантный штаммы выращивали в условиях нормальной (0,5 % NaCl) и повышенной осмолярности (4 % NaCl). Различий в скорости роста при 4 % NaCl в среде культивирования не наблюдали, что говорит об отсутствии чувствительности мутантного штамма к осмотическому стрессу (рис. 1, Б).

При анализе выживания в присутствии H_2O_2 (40 mM) установили снижение жизнеспособности мутантного штамма EVΔ*htpG* (86,3 %) по сравнению с исходным штаммом EV (95,2 %) ($p<0,001$). Число бактерий исходного и мутантного штаммов, переживших инкубацию в среде при pH 3,5, не отличалось (табл. 2).

Устойчивость к сыворотке. Система комплемента является одним из ключевых факторов врожденного иммунитета хозяина. Ранее мы показали, что штаммы *Y. pestis* subsp. *pestis* устойчивы к действию комплемента [18]. Согласно полученным результатам клетки исходного штамма *Y. pestis* 231, выращенные при температуре 25 °C, переживали действие комплемента 80 % нормальной человеческой сыворотки (НЧС). Инкубация в течение 1 ч в 80 % НЧС штамма 231 с делетированным геном *htpG* также не приводила к достоверному снижению числа жизнеспособных микробных клеток (lg 6,24±0,56 КОЕ) по сравнению с инкубацией в тНЧС (lg 6,5±0,15 КОЕ).

Эффект делеции на вирулентность для мышей и морских свинок при подкожном заражении. Сравнительная оценка вирулентности исследуемых штаммов *Y. pestis* для беспородных мышей при подкожном способе заражения не выявила достоверных различий в величинах LD_{50} штаммов «дикого» типа, а также всех сконструированных нами $HtpG^-$ вариантов (табл. 1). Средние сроки жизни мышей, погибших в результате заражения штаммами 231 и И-3189 или их изогенными производными, достоверно не отличались (рис. 2, табл. 1).

Выживаемость морских свинок после подкожного введения 10^2 КОЕ тестируемых культур чумного микроба составила 66 % для исходного штамма *Y. pestis* 231 против 50 % у его делеционного мутанта и 33 % для исходного штамма *Y. pestis* И-3189 против 50 % у его делеционного мутанта. При введении 10^6 КОЕ всех исходных и мутантных штаммов не выжила ни одна морская свинка.

Взаимосвязь между HtpG и патогенностью бактерий остается в большей степени не охарактеризованной. У прокариот гомологи HtpG идентифицировали у большого числа бактериальных видов и, в противоположность белку Hsp90 эукариот, делеция *htpG* не всегда ассоциирована с летальностью [19, 20]. У *E. coli* и *Actinobacillus actinomycetemcomitans* делеция *htpG* ведет к появлению дефектов роста при повышенных, но не при низких температурах [21, 22], при этом у цианобактерий мутация в гене *htpG* ведет к снижению устойчивости к изменению температуры культивирования [7, 23, 24]. В нашем исследовании мы обнаружили, что, по сравнению со штаммом «дикого» типа, мутант проявлял незначительное снижение скорости роста в позднюю логарифмическую и стационарную фазу, а его способность переживать и расти в присутствии 40 мМ H_2O_2 была снижена, подтверждая, что у чумного микроба HtpG вовлечен в преодоление стрессовых состояний, вызванных воздействием активных форм кислорода и высокой температуры. При этом Δ*htpG*-мутант чумного микроба был также устойчив к действию комплемента нормальной человеческой сыворотки, как и исходный штамм. Ясно, что столь незначительное снижение устойчивости чумного микроба к условиям стресса не могло существенно отразиться

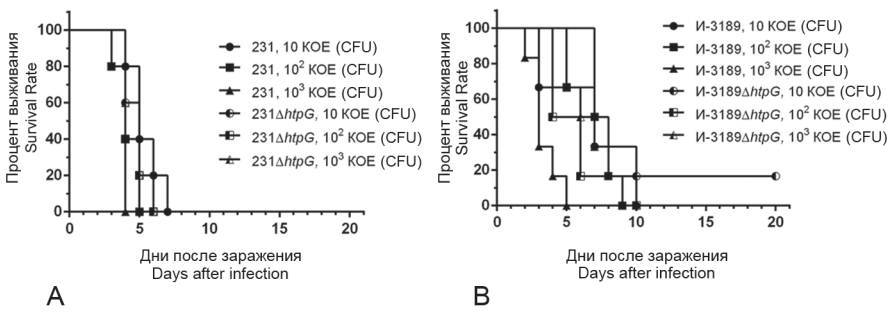


Рис. 2. Выживаемость беспородных мышей после подкожного заражения экспериментальными штаммами:

A *– Y. pestis* 231 и 231Δ*htpG*; ***B*** *– Y. pestis* И-3189 и И-3189Δ*htpG*

Fig. 2. Survival rate of outbred mice following subcutaneous injection of experimental strains:

A *– Y. pestis* 231 and 231Δ*htpG*; ***B*** *– Y. pestis* И-3189 and И-3189Δ*htpG*

на вирулентности делеционных мутантов. В отличие от Δ*htpG*-мутантов *Salmonella typhimurium* [9], *L. interrogans* [11] и *E. tarda* [6] делеция гена *htpG* не ведет к аттенуации штаммов чумного микроба при подкожном введении беспородным мышам и морским свинкам.

Таким образом, утрата способности продуцировать HtpG не влияет на вирулентность Δ*htpG* мутантов *Y. pestis* для мышей и морских свинок, что свидетельствует об отсутствии перспективности его использования в качестве молекулярной мишени для терапии и/или вакцинопрофилактики чумы.

Работа выполнена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2016–2020 гг.: «Проблемно-ориентированные научные исследования в области эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными болезнями».

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

References / Список литературы

1. Wandinger S.K., Richter K., Buchner J. The Hsp90 chaperone machinery. *J. Biol. Chem.* 2008; 283:18473–7. DOI: 10.1074/jbc.R800007200.

2. Bardwell, J.C., Craig, E.A. Eukaryotic Mr 83,000 heat shock protein has a homologue in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1987; 84(15):5177–88. DOI: 10.1073/pnas.84.15.5177.

3. Guisbert E., Yura T., Rhodius V.A., Gross C.A. Convergence of molecular, modeling, and systems approaches for an understanding of the *Escherichia coli* heat shock response. *Microbiol Mol. Biol. Rev. MMBR.* 2008; 72(3):545–54. DOI: 10.1128/MMBR.00007-08.

4. Frydman J. Folding of newly translated proteins *in vivo*: the role of molecular chaperones. *Annu. Rev. Biochem*. 2001; 70:603–48. DOI: 10.1146/annurev.biochem.70.1.603.

5. Choi S., Jang K., Yun H.-J., Kang D.-H. Identification of the *Vibrio vulnificus htpG* gene and its influence on cold shock recovery. *J. Microbiol.* 2012; 50:707–11. DOI: 10.1007/s12275-012-2294-z.

6. Dang W., Hu Y.-H., Sun L. HtpG is involved in the pathogenesis of *Edwardsiella tarda*. *Vet. Microbiol.* 2011; 152(3–4):394–400. DOI: 10.1016/j.vetmic.2011.05.030.

7. Tanaka N, Nakamoto H. HtpG is essential for the thermal stress management in cyanobacteria. *FEBS Lett.* 1999; 458(2):117–23. DOI: 10.1016/s0014-5793(99)01134-5.

8. Garcie C., Tronnet S., Garénaux A., McCarthy A.J., Brachmann A.O., Pénary M., Houle S., Nougayrède J.P., Piel J., Taylor P.W., Dozois C.M., Genevaux P., Oswald E., Martin P. The bacterial stress-responsive Hsp90 chaperone (HtpG) is required for the production of the genotoxin colibactin and the siderophore yersiniabactin in *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.* 2016; 214(6):916–24. DOI: 10.1093/infdis/jiw294.

9. Verbrugghe E., Van Parys A., Leyman B., Boyen F., Haesebrouck F., Pasmans F. HtpG contributes to *Salmonella typhimurium* intestinal persistence in pigs. *Vet. Res*. 2015; 46(1):118. DOI: 10.1186/s13567-015-0261-5.

10. Weiss D.S., Brotcke A., Henry T., Margolis J.J., Chan K., Monack D.M. *In vivo* negative selection screen identifies genes required for *Francisella virulence*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007; 104(14):6037–42. DOI: 10.1073/pnas.0609675104.

11. King A.M., Bartpho T., Sermswan R.W., Bulach D.M., Eshghi A., Picardeau M., Adler B., Murray G.L. Leptospiral outer membrane protein LipL41 is not essential for acute leptospirosis, but requires a small chaperone, Lep, for stable expression. *Infect. Immun.* 2013; 81(8):2768–76. DOI: 10.1128/IAI.00531-13.

12. Donnenberg M.S., Kaper J.B. Construction of an *eae* deletion mutant of enteropathogenic *Escherichia coli* by using a positive-selection suicide vector. *Infect. Immun.* 1991; 59:4310–17. PMID: 1937792. PMCID: PMC259042

13. Datsenko K.A., Wanner B.L. One-step inactivation of chromosomal genes in *Escherichia coli* K-12 using PCR products. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2000; 97(12):6640–5. DOI: 10.1073/pnas.120163297.

14. Barnes M.G., Weiss A.A. BrkA protein of *Bordetella pertussis* inhibits the classical pathway of complement after C1 deposition. *Infect. Immun*. 2001; 69(5):3067–72. DOI: 10.1128/IAI.69.5.3067-3072.2001.

15. Prodromou C., Roe S.M., O'brien R., Ladbury J.E., Piper P.W., Pearl L.H. Identification and structural characterization of the ATP/ADP-binding site in the Hsp90 Molecular chaperone. *Cell*. 1997; 90(1):65–75. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)80314-1.

16. Pearl L.H., Prodromou C. Structure and mechanism of the Hsp90 molecular chaperone machinery. *Annu. Rev. Biochem.* 2006; 75:271–94. DOI: 10.1146/annurev.biochem.75.103004.142738.

17. Hecker M., Schumann W., Völker U. Heat-shock and general stress response in *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol.* 1996; 19(3):417–28. DOI: 10.1046/j.1365-2958.1996.396932.x.

18. Anisimov A.P., Dentovskaya S.V., Titareva G.M., Bakhteeva I.V., Shaikhutdinova R.Z., Balakhonov S.V., Lindner B, Kocharova N.A., Senchenkova S.N., Holst O., Pier G.B., Knirel Y.A. Intraspecies and temperature-dependent variations in susceptibility of *Yersinia pestis* to the bactericidal action of serum and to polymyxin B. *Infect. Immun.* 2005; 73(11):7324–31. DOI: 10.1128/IAI.73.11.7324-7331.2005.

19. Bardwell J.C., Craig E.A. Ancient heat shock gene is dispensable. *J. Bacteriol.* 1988; 170(7):2977–83. DOI: 10.1128/jb.170.7.2977-2983.1988.

20. Schulz A., Schwab S., Homuth G., Versteeg S., Schumann W. The *htpG* gene of *Bacillus subtilis* belongs to class III heat shock genes and is under negative control. *J. Bacteriol.* 1997; 179(10):3103–9 DOI: 10.1128/jb.179.10.3103-3109.1997.

21. Thomas J.G., Baneyx F. Roles of the *Escherichia coli* small heat shock proteins IbpA and IbpB in thermal stress management: comparison with ClpA, ClpB, and HtpG *in vivo*. *J. Bacteriol.* 1998; 180(19):5165–72. DOI: 10.1128/JB.180.19.5165-5172.1998.

22. Winston J.L., Toth S.I., Roe B.A., Dyer D.W. Cloning and characterization of the *Actinobacillus actinomycetemcomitans* gene encoding a heat-shock protein 90 homologue. *Gene.* 1996; 179(2):199–204. DOI: 10.1016/s0378-1119(96)00317-4.

23. Fang F., Barnum S.R. The heat shock gene, *htpG*, and thermotolerance in the cyanobacterium, *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Curr. Microbiol.* 2003; 47:341–6. DOI: 10.1007/s00284-002-4015-z.

24. Hossain M.M., Nakamoto H. Role for the cyanobacterial HtpG in protection from oxidative stress. *Curr. Microbiol.* 2003; 46:70–6. DOI: 10.1007/s00284-002-3831-5.

Authors:

Krasil'nikova E.A., Shaikhutdinova R.Z., Svetoch T.E., Platonov M.E., Kombarova T.I., Ivanov S.A., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology. Obolensk, Moscow Region, 142279, Russian Federation. E-mail: info@obolensk.org.

Об авторах:

Красильникова Е.А., Шайхутдинова Р.З., Светоч Т.Э., Платонов М.Е., Комбарова Т.И., Иванов С.А., Дентовская С.В., Анисимов А.П. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. Российская Федерация, 142279, Московская обл., п. Оболенск. E-mail: info@obolensk.org.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-91-97

УДК 616.98:579.841.95

Е.А. Нарышкина[1], Я.М. Краснов[1], Ж.В. Альхова[1], Д.В. Баданин[1], А.В. Осин[1], О.Ю. Ляшова[1], Л.В. Саяпина[2], В.П. Бондарев[2], В.А. Меркулов[2], Ю.В. Олефир[2], В.В. Кутырев[1]

ПОЛНОГЕНОМНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВАКЦИННОГО ШТАММА *FRANCISELLA TULARENSIS* 15 НИИЭГ

[1]ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; [2]ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения России, Москва, Российская Федерация

Целью исследования стало проведение полногеномного секвенирования вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ, а также определение на основании полученных результатов его филогенетических связей и особенностей генетической организации. **Материалы и методы.** Полногеномное секвенирование штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ осуществляли на платформах Ion PGM (Ion Torrent, США) и MinIon (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Выравнивание полученных прочтений на полный геном штамма *F. tularensis* subsp. *holarctica* LVS (CP009694, США, 2015 г.) осуществляли с помощью программного пакета DNASTAR Lasergene 15.3. Гибридную сборку ридов в контиги осуществляли с помощью программы Unicycler v. 0.4.4, используя данные, полученные по технологии полупроводникового секвенирования (Ion PGM) и секвенирования через нанопоры (MinIon). Филогенетический анализ выполняли на основе данных о найденных единичных нуклеотидных заменах (SNPs), находящихся в коровой части генома *F. tularensis*. Для построения дендрограммы по полученным данным общей SNP-матрицы использовали алгоритм Maximum parsimony. **Результаты и обсуждение.** Подтверждено близкое родство штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ с вакцинным штаммом *F. tularensis* LVS, который используется в странах Западной Европы и Северной Америки. При поиске общих единичных мутаций, характерных для вакцинных штаммов *F. tularensis* 15 НИИЭГ и LVS, найдены 5 уникальных SNPs, отличающих их от других 228 штаммов *F. tularensis*, используемых при сравнении. Геномный анализ вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ относительно вирулентных штаммов выявил в его структуре две протяженные делеции размером 526 п.н. (гены *pilA* и *pilE*) и 1480 п.н. (гены, кодирующие липопротеин). Аналогичные делеции присутствуют и в геноме вакцинного штамма *F. tularensis* LVS.

Ключевые слова: полногеномное секвенирование, филогенетический анализ, *Francisella tularensis*, вакцинный штамм.

Корреспондирующий автор: Нарышкина Екатерина Александровна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: 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; 2:91–97. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-91-97

Поступила 02.07.19. *Отправлена на доработку* 02.09.19. *Принята к публ.* 30.10.19.

E.A. Naryshkina[1], Ya.M. Krasnov[1], Zh.V. Alhova[1], D.V. Badanin[1], A.V. Osin[1], O.Yu. Lyashova[1], L.V. Sayapina[2], V.P. Bondarev[2], V.A. Merkulov[2], Yu.V. Olefir[2], V.V. Kutyrev[1]

Whole-Genome Sequencing and Phylogenetic Analysis of *Francisella tularensis* Vaccine Strain 15 NIIEG

[1]Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation; [2]Scientific Center on Expertise of Medical Application Products, Moscow, Russian Federation

Abstract. **Objective** of the study was to conduct whole-genome sequencing of the vaccine strain *Francisella tularensis* 15 NIIEG and determine, based on the results, its phylogenetic relationships and the genetic organization features. **Materials and methods.** Whole-genome sequencing of *F. tularensis* 15 NIIEG strain was performed on Ion PGM (Ion Torrent, USA) and MinIon (Oxford Nanopore Technologies, UK) platforms. Alignment of readings obtained to the whole-genome of *F. tularensis* subsp. *holarctica* LVS (CP009694, USA, 2015) was performed using the software package DNASTAR Lasergene 15.3. Hybrid assembly of reads into contigs was performed by means of Unicycler v. 0.4.4, using data obtained by semiconductor sequencing technology (Ion PGM) and nanopore sequencing (MinIon). Phylogenetic analysis was performed on the basis of single nucleotide polymorphism (SNPs) data located in the core part of *F. tularensis* genome. Maximum parsimony algorithm was used to construct a dendrogram using the obtained data of common SNP-matrix. **Results and discussion.** The close relations of *F. tularensis* 15 NIIEG strain with *F. tularensis* LVS vaccine strain used in the countries of Western Europe and North America was confirmed. Searching for common single mutations characteristic of *F. tularensis* 15 vaccine strains of NIIEG and LVS, permitted to find 5 unique SNPs that distinguish them from all other 228 *F. tularensis* strains used in the comparison. Comparative genomic analysis of *F. tularensis* 15 NIIEG vaccine strain and virulent strains revealed in its structure two extensive 526 bp deletions (genes *pilA* and pilE) and 1480 bp (genes encoding lipoprotein). Similar deletions are also present in the genome of the *F. tularensis* LVS vaccine strain.

Keywords: whole-genome sequencing, phylogenetic analysis, *Francisella tularensis*, vaccine strain.

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

Corresponding author: Ekaterina A. Naryshkina, e-mail: rusrapi@microbe.ru.
Citation: 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 NIIEG. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:91–97. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-91-97
Received 02.07.19. *Revised* 02.09.19. *Accepted* 30.10.19.

Туляремия – зоонозная природно-очаговая инфекция, представляющая серьезную опасность для населения из-за высокой восприимчивости к ней людей [1, 2]. В России эффективную защиту против туляремии, вызванной штаммами голарктического подвида, обеспечивает применение туляремийной вакцины на основе живых микробных клеток вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ, которая вызывает формирование напряженного специфического иммунитета [3].

Впервые аттенуированный штамм *F. tularensis* subsp. *holarctica* 15 получен Н.А. Гайским в 1945 г. В настоящее время туляремийная вакцина, изготавливающаяся из штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, остается единственной живой вакциной, которая широко используется для вакцинопрофилактики туляремии как на территории России, так и стран СНГ [4].

В США в 1956 г. на основе переданных из СССР культур *F. tularensis* 15 и 155 создан вакцинный штамм *F. tularensis* LVS (Live Vaccine Strain) [5]. Вместе с тем за рубежом туляремийная вакцина LVS не производится из-за несоответствия требованиям безопасности, предъявляемым к вакцинам в этих странах. В связи с этим штамм *F. tularensis* LVS используется в странах Западной Европы и Северной Америки только в экспериментальных целях [6, 7]. Однако, несмотря на отсутствие возможности использования туляремийной вакцины LVS в США и Европе, ранее продемонстрированы ее основные качества, такие как безопасность и эффективность [8, 9].

В 2006 г. полногеномная нуклеотидная последовательность ДНК штамма *F. tularensis* LVS представлена в базе данных NCBI GenBank. Генетическая характеристика вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ до настоящего времени оставалась малоизученной. В связи с этим актуальным является получение данных о геноме вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, его сравнение с зарубежным штаммом *F. tularensis* LVS, а также установление филогенетического родства с другими штаммами туляремийного микроба из базы данных NCBI GenBank.

Целью исследования стало проведение полногеномного секвенирования вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ и определение на основании полученных результатов его филогенетических связей и особенностей генетической организации.

Материалы и методы

Исследуемый штамм *F. tularensis* subsp. *holarctica* 15 НИИЭГ (дата лиофилизации 14.10.2011 г., пробирка А) получен из Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». Культивирование осуществляли на чашках Петри с FT-агаром (ФБУН ГНЦ ПМБ), посевы инкубировали в течение 36–48 ч при температуре (37±1) °С. Выделение геномной ДНК проводили с помощью набора ChargeSwitch® gDNA Mini Kit Invitrogen (Life Technologies, США). Полногеномное секвенирование штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ осуществляли на платформе Ion PGM (Ion Torrent, США) с использованием наборов для пробоподготовки и секвенирования ДНК, рекомендованных производителем оборудования. Дополнительно геном исследуемого штамма секвенировали на платформе MinIon (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) с целью получения единичных прочтений (ридов) длиной 3000 п.н. и более. Выравнивание полученных прочтений на полный геном штамма *F. tularensis* subsp. *holarctica* LVS (CP009694, США, 2015) осуществляли с помощью программного пакета DNASTAR Lasergene 15.3. Гибридную сборку ридов в контиги осуществляли с помощью программы Unicycler v. 0.4.4, используя совместно данные, полученные по технологии полупроводникового секвенирования (Ion PGM) и секвенирования через нанопоры (MinIon).

Филогенетический анализ выполняли на основе данных о найденных единичных нуклеотидных заменах (SNPs), находящихся в коровой части генома *F. tularensis*. Для этого получали общую SNP-матрицу с помощью программы Wombac 2.1 (https://github.com/Victorian-Bioinformatics-Consortium/wombac/archive/v2.1.tar.gz) на основе попарного сравнения с геномом референса нуклеотидных последовательностей 229 геномов *F. tularensis* из базы данных NCBI GenBank. В качестве референс-генома использовали штамм *F. tularensis* ssp. *tularensis* SCHU S4 (CP010446). Для построения дендрограммы по полученным данным общей SNP-матрицы использовали алгоритм Maximum parsimony.

Результаты и обсуждение

Геном штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ собран в 28 контигов, средняя глубина покрытия – 135X, общая длина собранного генома составила 1826738 п.н. Нуклеотидная последовательность штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ депонирована в базе данных NCBI GenBank под номером LVYJ03000001.

Для проведения филогенетического анализа из базы данных NCBI GenBank взяты все доступные 229 геномов *F. tularensis.* В итоге в анализируемой группе, состоящей из 230 геномов *F. tularensis*, всего выявлено 31294 коровых SNPs. На основании филогенетического анализа по определению SNPs все исследованные геномы возбудителя туляремии кластеризовались в четыре группы в соответствии с подвидовой принадлежностью (рис. 1, А):

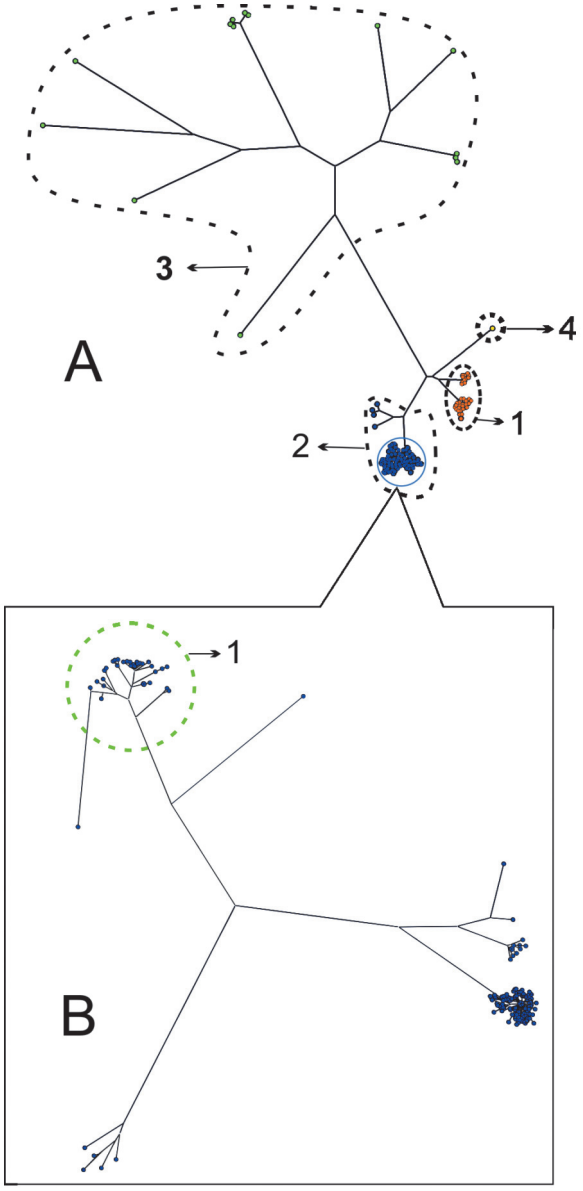


Рис. 1. ***A*** – дендрограмма, построенная с использованием алгоритма Maximum parsimony по данным матрицы коровых SNPs, полученной при сравнительном анализе 230 геномов штаммов *F. tularensis*. ***B*** – увеличенное изображение ветви кластера 2 (рис. ***A***). Геном штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ входит в состав группы, обозначенной цифрой 1 (рис. ***B***)

Fig. 1. ***A*** – a dendrogram constructed using Maximum parsimony algorithm according to the matrix of core SNPs obtained by comparative analysis of 230 genomes of *F. tularensis* strains. ***B*** shows an enlarged image of the branch of cluster 2 (fig. ***A***). The genome of the strain *F. tularensis* 15 NIIEG is part of the group indicated by the number 1 (fig. ***B***)

кластер 1 – *F. tularensis* ssp. *tularensis*, кластер 2 – *F. tularensis* ssp. *holarctica*, кластер 3 – *F. tularensis* ssp. *novicida*, кластер 4 – *F. tularensis* ssp. *mediasiatica*. Кластер 2 содержал 172 штамма *F. tularensis* подвида *holarctica* и был представлен двумя подкластерами. Исследуемый штамм *F. tularensis* 15 НИИЭГ вошел в состав наиболее многочисленного подкластера (обведен кругом на рис. 1, А), состоящего из 168 штаммов *F. tularensis*. При детальном рассмотрении этого подкластера установлено, что он делится еще на три основные группы, в одной из которых и представлен изучаемый штамм туляремийного микроба (группа штаммов, обведенная кругом на рис. 1, В). В итоге установлено, что максимально близко, с отличием в 2 коровых SNPs, к исследуемому штамму расположены два варианта штамма *F. tularensis* LVS (CP009694 и AM233362, NCBI GenBank) (рис. 2).

Следующим по филогенетической близости к штамму *F. tularensis* 15 НИИЭГ оказался штамм *F. tularensis* ssp. *holarctica* MAX (LVKZ01000001, Россия, выделен в 1928 г. от больного человека) с отличием от исследуемого штамма на 15 коровых SNPs. Далее следует группа из трех штаммов *F. tularensis* ssp. *holarctica*, выделенных в 2011 г. в Норвегии от больных людей, – NO17 (JPMR01000001), NO18 (JPMS01000001) и NO7 (JPML01000001), отличающихся от штамма 15 НИИЭГ на 23, 23 и 24 коровых SNPs соответственно. Наиболее удаленным по филогенетическому родству от штамма 15 НИИЭГ из рассматриваемой группы (рис. 2, группа штаммов обведена пунктиром) является штамм 503 (LVKX01000001, Россия, выделен в 1939 г. от клеща рода *Dermacentor*), отличающийся от него на 29 коровых SNPs.

Сравнительную оценку структуры генома штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ проводили методом картирования ридов секвенированного генома штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ на геном штамма *F. tularensis* LVS (CP009694), покрытие последнего составило 100 %, всего выявлено шесть единичных мутаций (SNPs): две несинонимичные, одна нонсенс-мутация, одна единичная делеция, одна синонимич-

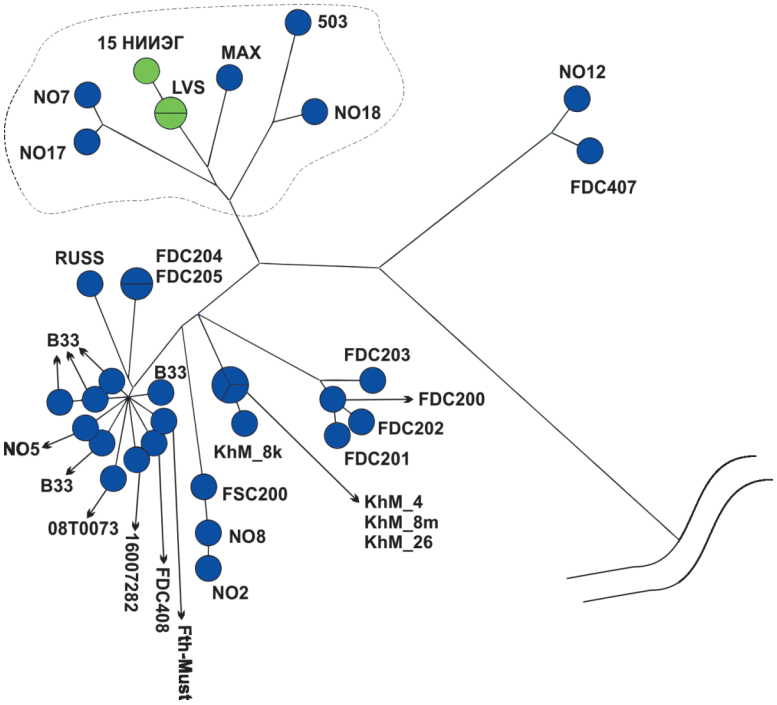


Рис. 2. Детальное изображение филогенетического родства между геномами, входящими в группу, обведенную кругом на рис. 1, В

Fig. 2. A detailed picture of phylogenetic relations between the genomes in the group circled in fig. 1, B

ная замена и одна единичная замена в межгенной области. Других инсерций и делеций не обнаружено (табл. 1). Риды, которые не картировались на геном штамма *F. tularensis* LVS, собраны в три небольшие контига, последовательность каждого была полностью идентична фрагментам котигов, полученных при гибридной сборке генома штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ. Таким образом, как в структуре генома штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, так и в структуре генома штамма *F. tularensis* LVS не обнаружено областей, которые были бы уникальными при их сравнительном анализе.

При поиске общих единичных мутаций, характерных для вакцинных штаммов *F. tularensis* 15 НИИЭГ и LVS, нами обнаружены 5 уникальных SNPs, отличающих их от всех других 228 штаммов *F. tularensis*, используемых при сравнении (табл. 2).

Особенно стоит отметить мутацию в гене *purL*, кодирующем фосфорибозил-формилглицинамидин синтазу, которая участвует в метаболизме пуринов. Нарушение биосинтеза пуриновых соединений оказывает негативное влияние на выживаемость бактерий в макрофагах [10, 11]. Единичная мутация обнаружена и в гене, кодирующем 2-кето-4-пентеноат гидратазу; предполагается, что данный ферментативный белок участвует в катаболизме ароматических соединений. В условиях голода ароматические соединения могут служить альтернативным источником углерода, а потеря способности катаболизма этих соединений может ограничивать рост бактерий в организме хозяина [12]. Также, возможно, существенное значение имеет мутация в гене, кодирующем ацилтрансферазу биосинтеза липида А в структуре липополисахарида. Существуют данные, что

Таблица 1 / Table 1

Отличия в структуре генома штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ относительно штамма *F. tularensis* LVS (CP009694)

Differences in the *F. tularensis* 15 NIIEG genome structure as compared with *F. tularensis* LVS (CP009694) strain

Позиция в штамме LVS Position in strain LVS	Тип основания в штамме LVS Type of base in strain LVS	Тип основания в штамме 15 НИИЭГ Type of base in 15 NIIEG strain	Тип мутации Type of mutation	Вероятность мутации (SNP), % Mutation probability (SNP), %	Наименование гена и кодируемого продукта (по штамму LVS) The name of the gene and the encoded product (by LVS strain)
1169122	C	-	Сдвиг рамки считывания Reading frame shift	100	*AW21_1333* – гипотетический белок *AW21_1333* – hypothetical protein
1314900	C	A	Несинонимичная замена Non-synonymous replacement	73	*AW21_1477* – формил-трансфераза *AW21_1477* – formyl transferase
1326993	C	T	Нонсенс-мутация Nonsense mutation	64	*AW21_1487* - *trxA* – тиоредоксин *AW21_1487* - *trxA* – thioredoxin
1518663	G	T	Несинонимичная замена Non-synonymous replacement	100	*AW21_1697* – аминоацид-пермеаза *AW21_1697* – aminoacid permease
1835981	A	G	Синонимичная замена Synonymous replacement	45	*AW21_2083* – гипотетический белок *AW21_2083* – hypothetical protein
178404	C	T	-	100	-

Таблица 2 / Table 2

Уникальные SNPs для вакцинных штаммов *F. tularensis* 15 НИИЭГ и LVS

Unique SNPs for *F. tularensis* 15 NIIEG and LVS vaccine strains

Тип основания в референтном штамме (OR96-0246) The type of base in the reference strain (OR96-0246)	Тип основания в штаммах 15 НИИЭГ и LVS The type of base in the strains NIIEG and LVS	Положение в гене Position in gene	Обозначение гена в референтном штамме (OR96-0246) The designation of the gene in the reference strain (OR96-0246)	Продукт Product
C	T	3113 bp	*AAX59_01085 | purL*	Фосфорибозил-формилглицинамидин синтаза Phosphoribosyl-formylglycinamidin synthase
G	A	697 bp	*AAX59_02630*	Неохарактеризованный секреторный белок Uncharacterized secretory protein
C	T	226 bp	*AAX59_03990 | fmt*	Метионил-тРНК формилтрансфераза Methionyl tRNA formyl transferase
G	T	246 bp	*AAX59_05100*	2-кето-4-пентеноат гидратаза 2-keto-4-pentenoat hydrase
T	G	491 bp	*AAX59_09600*	Ацилтрансфераза биосинтеза липида А Lipid A biosynthesis acyltransferase

лабораторные штаммы *F. tularensis* с измененной структурой ЛПС отличаются от природных изолятов *F. tularensis* по способности размножаться в макрофагах и в органах экспериментальных животных [1]. Найденные единичные мутации, характерные только для вакцинных штаммов *F. tularensis* 15 НИИЭГ и LVS, могут способствовать повышению степени аттенуации данных штаммов.

Помимо единичных нуклеотидных замен геномный анализ вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ выявил в его структуре две протяженные делеции размером 526 п.н. (затрагивает части генов, кодирующих пили IV типа – *pilA* и *pilE*) и 1480 п.н. (затрагивает части генов, кодирующих липопротеин). Данные делетированные фрагменты соответствуют областям дифференциации (RD – от англ. region of difference) RD19 (содержит гены *pilA* и *pilE*) и RD18 (содержит гены, кодирующие липопротеин) [13].

Подобные делеции описаны ранее в геноме вакцинного штамма LVS [14, 15]. По мнению большинства авторов, они оказывают влияние на повышение степени аттенуации вакцинного штамма [12, 14, 16–19].

Для подтверждения уникальности данных делеций для вакцинных штаммов 15 НИИЭГ и LVS нами проведен сравнительный анализ всех геномов штаммов *F. tularensis* ssp. *holarctica* (рис. 1, А, кластер 2). В результате сравнительного анализа геномов представленных штаммов выяснено, что делеция 1480 п.н. в генах, кодирующих липопротеин, характерна только для штаммов *F. tularensis* 15 НИИЭГ и *F. tularensis* LVS. Неожиданной находкой стало обнаружение делеции 526 п.н. в штамме *F. tularensis* MAX, изолированном от больного человека. Эта делеция оказалась идентичной выявленной ранее в вакцинных штаммах. Возможно, данная мутация не является определяющей для существенной аттенуации *F. tularensis* ssp. *holarctica*. Вероятно, окончательное решение о значимости этой делеции может быть получено после получения генно-инженерного штамма с направленной аналогичной мутацией и изучения его вирулентности. Ранее K. Svensson *et al.* [13] методом ПЦР-анализа выявлены штаммы с делецией в генах, кодирующих липопротеин (область дифференциации RD18): авирулентный вариант SCHU (FSC 043, выделен от человека, штат Огайо, США, 1941 г.), SVA T7 (FSC 074, выделен от зайца, Швеция, 1974 г.), SVA T7K (FSC 069, получен путем пассажа SVA T7), LVS (FSC 155, живой вакцинный штамм, Россия), штамм 015 (FSC 338, вакцинный штамм, Россия). Также авторами выявлены штаммы с делецией в генах *pilA* и *pilE* (область дифференциации RD19): FAM SR (FSC 014, неизвестное происхождение, 1960 г.), CCUG 33391 (FSC 158, выделен от человека, Норвегия), LVS (FSC 155, живой вакцинный штамм, Россия), штамм 015 (FSC 338, вакцинный штамм, Россия). Авторы предполагают, что обнаруженные делеции могут являться результатом многократных пассажей штаммов *F. tularensis*. K. Svensson *et al.* [13] допускают, что делеции в генах, кодирующих липопротеин и/или пили IV типа, играют роль в аттенуации штаммов, поскольку обнаружены в вакцинных штаммах 015 (FSC338), LVS (FSC 155) и в авирулентном варианте SCHU (FSC043) [13].

Таким образом, полученные результаты секвенирования генома вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ и проведение его филогенетического анализа относительно всех геномов *F. tularensis*, представленных в базе данных NCBI GenBank на момент исследования, позволили установить наиболее близкородственные к нему штаммы (LVS, MAX, NO18, NO17, NO7 и 503). Оценка идентичности структуры генома штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ относительно генома *F. tularensis* LVS (CP009694), методом картировании ридов, показала 100 % покрытие последнего, всего выявлено шесть единичных мутаций, инсерций и значительных делеций не обнаружено. На основании полученных данных можно сделать заключение о том, что по филогенетическому родству и структурной организации геном исследуемого

штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ максимально близок к геному штамма *F. tularensis* LVS. Кроме того, выявлены уникальные SNPs и делеции, отличающие оба вакцинных штамма от всех остальных штаммов, представленных в базе данных NCBI GenBank.

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

Список литературы

1. Павлов В.М., Дятлов И.А. Молекулярно-генетические исследования бактерий рода *Francisella* и их прикладное значение. М.: ООО «ТиРу»; 2012. 267 с.
2. Мещерякова И.С., Добровольский А.А., Демидова Т.Н., Кормилицына М.И., Михайлова Т.В. Трансмиссивная эпидемическая вспышка туляремии в г. Ханты-Мансийске в 2013 году. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2014; 5:14–20.
3. Мокриевич А.Н., Вахрамеева Г.М., Титарева Г.М., Бахтеева И.В., Миронова Р.И., Комбарова Т.И., Кравченко Т.Б., Дятлов И.А., Павлов В.М. Получение штамма туляремийного микроба без одной копии гена *iglC* и без гена *recA*. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2015; 31(4):33–9.
4. Избанова У.А., Куница Т.Н., Лухнова Л.Ю. Достижения в области специфической профилактики туляремии. *Medicine (Almaty)*. 2016; 10:49–59.
5. Sandström G. The Tularaemia Vaccine. *J. Chem. Tech. Biotechnol*. 1994; 59(4):315–20. DOI: 10.1002/jctb.280590402.
6. Ellis J., Oyston. P.C., Green M., Titball R.W. Tularemia. *Clinical. Microbiol. Rev*. 2002; 15(4):631–46. DOI: 10.1128/CMR.15.4.631–646.2002.
7. Reed D.S., Smith L.P., Cole K.S., Santiago A.E., Mann B.J., Barry E.M. Live attenuated mutants of *Francisella tularensis* protect rabbits against aerosol challenge with a virulent type A strain. *Infect. Immun*. 2014; 82(5):2098–105. DOI: 10.1128/IAI.01498-14.
8. Jia Q., Horwitz M.A. Live Attenuated Tularemia Vaccines for Protection Against Respiratory Challenge With Virulent *F. tularensis* subsp. *tularensis*. *Front. Cell. Infect. Microbiol*. 2018; 8:154. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00154.
9. Titball R.W., Oyston P.C.F. A vaccine for tularaemia. *Expert. Opin. Biol. Ther*. 2003; 3(4):645–53. DOI: 10.1517/14712598.3.4.645.
10. Kadzhaev K., Zingmark C., Golovliov I., Bolanowski M., Shen H., Conlan W., Sjöstedt A. Identification of Genes Contributing to the Virulence of *Francisella tularensis* SCHU S4 in a Mouse Intradermal Infection Model. *PLoS ONE*. 2009; 4(5):e5463. DOI: 10.1371/journal.pone.0005463.
11. Sammons-Jackson W.L., McClelland K., Manch-Citron J.N., Metzger D.W., Bakshi C.S., Garcia E., Rasley A., Anderson B.E. Generation and Characterization of an Attenuated Mutant in a Response Regulator Gene of *Francisella tularensis* Live Vaccine Strain (LVS). *DNA Cell Biol*. 2008; 27(7):387–403. DOI: 10.1089/dna.2007.0687.
12. Rohmer L., Brittnacher M., Svensson K., Buckley D., Haugen E., Zhou Y., Chang J., Levy R., Hayden H., Forsman M., Olson M., Johansson A., Kaul R., Miller SI. Potential source of *Francisella tularensis* live vaccine strain attenuation determined by genome comparison. *Infect. Immun*. 2006; 74(12):6895–906. DOI: 10.1128/IAI.01006-06.
13. Svensson K., Larsson P., Johansson D., Byström M., Forsman M., Johansson A. Evolution of Subspecies of *Francisella tularensis*. *J. Bacteriol*. 2005; 187(11):3903–8. DOI: 10.1128/JB.187.11.3903–3908.2005.
14. Forslund A.L., Kuoppa K., Svensson K., Salomonsson E., Johansson A., Byström M., Oyston P.C., Michell S.L., Titball R.W., Noppa L., Frithz-Lindsten E., Forsman M., Forsberg A. Direct repeat-mediated deletion of a type IV pilin gene results in major virulence attenuation of *Francisella tularensis*. *Mol. Microbiol*. 2006; 59(6):1818–30. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2006.05061.x.
15. Salomonsson E., Forsberg A., Roos N., Holz C., Maier B., Koomey M., Winther-Larsen H.C. Functional analyses of pilin-like proteins from *Francisella tularensis*: complementation of type IV pilus phenotypes in *Neisseria gonorrhoeae*. *Microbiology*. 2009; 155(Pt 8):2546–59. DOI: 10.1099/mic.0.028183-0.
16. Кормилицына М.И., Мещерякова И.С., Михайлова Т.В. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Francisella tularensis*, различающихся по таксономической принадлежности и вирулентности. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2013; 3:22–5.
17. Forsberg A., Guina T. Type II secretion and type IV pili of *Francisella*. *Ann. NY Acad. Sci*. 2007; 1105:187–201. DOI: 10.1196/annals.1409.016.
18. Jaing C.J., McLoughlin K.S., Thissen J.B., Zemla A., Gardner S.N., Vergez L.M., Bourguet F., Mabery S., Fofanov V.Y., Koshinsky H., Jackson P.J. Identification of Genome-Wide Mutations in Ciprofloxacin-Resistant *F. tularensis* LVS Using Whole Genome Tiling Arrays and Next Generation Sequencing. *PLoS ONE*. 2016; 11(9):e0163458. DOI: 10.1371/journal.pone.0163458.
19. Qin A., Scott D.W., Thompson J.A., Mann B.J. Identification of an essential *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* virulence factor. *Infect. Immun*. 2009; 77(1):152–61. DOI: 10.1128/IAI.01113-08.

References

1. Pavlov V.M., Dyatlov I.A. Molecular Genetic Studies of Bacteria of the Genus Francisella and Their Applied Value. M.: LLC "TiRu"; 2012.267 p.
2. Meshcheryakova I.S., Dobrovolsky A.A., Demidova T.N., Kormilitsyna M.I., Mikhailova T.V. Transmissible epidemic outbreak of tularemia in Khanty-Mansiysk in 2013. *Epidemiologia I Vaktsynoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2014; 5:14–20.
3. Mokrievich A.N., Vakhrameeva G.M., Titareva G.M., Bakhteeva I.V., Mironova R.I., Kombarova T.I., Kravchenko T.B., Dyatlov I.A., Pavlov V.M. Obtaining a strain of tularemia microbe without one copy of the iglC gene and without recA gene. *Molekularnaya Genetika, Mikrobiologia i Virusologia [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2015; 31 (4):33–3.
4. Izbanova U.A., Kunitsa T.N., Lukhnova L.Yu. Achievements in the field of specific prevention of tularemia. Medicine (Almaty). 2016; 10:49–59.
5. Sandström G. The Tularaemia Vaccine. *J. Chem. Tech. Biotechnol*. 1994; 59(4):315–20. DOI: 10.1002/jctb.280590402.
6. Ellis J., Oyston. P.C., Green M., Titball R.W. Tularemia. *Clinical. Microbiol. Rev*. 2002; 15(4):631–46. DOI: 10.1128/CMR.15.4.631–646.2002.
7. Reed D.S., Smith L.P., Cole K.S., Santiago A.E., Mann B.J., Barry E.M. Live attenuated mutants of *Francisella tularensis* protect rabbits against aerosol challenge with a virulent type A strain. *Infect. Immun*. 2014; 82(5):2098–105. DOI: 10.1128/IAI.01498-14.
8. Jia Q., Horwitz M.A. Live Attenuated Tularemia Vaccines for Protection Against Respiratory Challenge With Virulent *F. tularensis* subsp. *tularensis*. *Front. Cell. Infect. Microbiol*. 2018; 8:154. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00154.
9. Titball R.W., Oyston P.C.F. A vaccine for tularaemia. *Expert. Opin. Biol. Ther*. 2003; 3(4):645–53. DOI: 10.1517/14712598.3.4.645.
10. Kadzhaev K., Zingmark C., Golovliov I., Bolanowski M., Shen H., Conlan W., Sjöstedt A. Identification of Genes Contributing to the Virulence of *Francisella tularensis* SCHU S4 in a Mouse Intradermal Infection Model. *PLoS ONE*. 2009; 4(5):e5463. DOI: 10.1371/journal.pone.0005463.
11. Sammons-Jackson W.L., McClelland K., Manch-Citron J.N., Metzger D.W., Bakshi C.S., Garcia E., Rasley A., Anderson B.E. Generation and Characterization of an Attenuated Mutant in a Response Regulator Gene of *Francisella tularensis* Live Vaccine Strain (LVS). *DNA Cell Biol*. 2008; 27(7):387–403. DOI: 10.1089/dna.2007.0687.
12. Rohmer L., Brittnacher M., Svensson K., Buckley D., Haugen E., Zhou Y., Chang J., Levy R., Hayden H., Forsman M., Olson M., Johansson A., Kaul R., Miller SI. Potential source of *Francisella tularensis* live vaccine strain attenuation determined by genome comparison. *Infect. Immun*. 2006; 74(12):6895–906. DOI: 10.1128/IAI.01006-06.
13. Svensson K., Larsson P., Johansson D., Byström M., Forsman M., Johansson A. Evolution of Subspecies of *Francisella tularensis*. *J. Bacteriol*. 2005; 187(11):3903–8. DOI: 10.1128/JB.187.11.3903–3908.2005.
14. Forslund A.L., Kuoppa K., Svensson K., Salomonsson E., Johansson A., Byström M., Oyston P.C., Michell S.L., Titball R.W., Noppa L., Frithz-Lindsten E., Forsman M., Forsberg A. Direct repeat-mediated deletion of a type IV pilin gene results in major virulence attenuation of *Francisella tularensis*. *Mol. Microbiol*. 2006; 59(6):1818–30. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2006.05061.x.
15. Salomonsson E., Forsberg A., Roos N., Holz C., Maier B., Koomey M., Winther-Larsen H.C. Functional analyses of pilin-like proteins from *Francisella tularensis*: complementation of type IV pilus phenotypes in *Neisseria gonorrhoeae*. *Microbiology*. 2009; 155(Pt 8):2546–59. DOI: 10.1099/mic.0.028183-0.
16. Kormilitsyna M.I., Meshcheryakova I.S., Mikhailova T.V. Molecular genetic characteristics of strains of *Francisella tularensis*, differing in taxonomic affiliation and virulence. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologia I Virusologia [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2013; 3:22–5.
17. Forsberg A., Guina T. Type II secretion and type IV pili of *Francisella*. *Ann. NY Acad. Sci*. 2007; 1105:187–201. DOI: 10.1196/annals.1409.016.
18. Jaing C.J., McLoughlin K.S., Thissen J.B., Zemla A., Gardner S.N., Vergez L.M., Bourguet F., Mabery S., Fofanov V.Y.,

Koshinsky H., Jackson P.J. Identification of Genome-Wide Mutations in Ciprofloxacin-Resistant *F. tularensis* LVS Using Whole Genome Tiling Arrays and Next Generation Sequencing. *PLoS ONE*. 2016; 11(9):e0163458. DOI: 10.1371/journal.pone.0163458.

19. Qin A., Scott D.W., Thompson J.A., Mann B.J. Identification of an essential *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* virulence factor. *Infect. Immun*. 2009; 77(1):152–61. DOI: 10.1128/IAI.01113-08.

Authors:

Naryshkina E.A., Krasnov Ya.M., Alhova Zh.V., Badanin D.V., Osin A.V., Lyashova O.Yu., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Sayapina L.V., Bondarev V.P., Merkulov V.A., Olefir Yu.V. Scientific Center on Expertise of Medical Application Products. 8, Petrovsky Bulvar, Moscow, 127051, Russian Federation.

Об авторах:

Нарышкина Е.А., Краснов Я.М., Альхова Ж.В., Баданин Д.В., Осин А.В., Ляшова О.Ю., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Саяпина Л.В., Бондарев В.П., Меркулов В.А., Олефир Ю.В. Научный центр экспертизы средств медицинского применения. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-98-107

УДК 616.98:579.842.23(597)

К.А. Никифоров[1], Л.М. Куклева[1], Ж.В. Альхова[1], Е.Г. Оглодин[1], М.А. Макашова[1], Е.А. Нарышкина[1], Н.П. Гусева[1], Г.А. Ерошенко[1], Dang Hong Chien[2], Lyong Thi Mo[3], Vo Viet Kyong[2], В.В. Кутырев[1]

ФИЛОГЕНИЯ И ИСТОРИКО-ГЕОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS* ИЗ ВЬЕТНАМА

[1]ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; [2]Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр, Ханой, Вьетнам; [3]Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр (Южное отделение), Хо Ши Мин, Вьетнам

Цель работы – выявление молекулярно-генетических особенностей, полногеномное секвенирование и филогенетический анализ штаммов *Yersinia pestis*, выделенных во Вьетнаме в период 1962–1989 гг. **Материалы и методы.** Проведено изучение свойств 50 штаммов *Y. pestis*, полногеномное секвенирование 18 и фрагментное секвенирование 32 штаммов из Вьетнама. Филогенетический анализ выполнен по данным полногеномного SNP-анализа на основе 1391 выявленного SNP. Полногеномный SNP-анализ и поиск маркерных SNPs выполняли с помощью программы Wombac 2.0. Построение филогенетического дерева проводили с использованием алгоритма Maximum Likelihood. **Результаты и обсуждение.** Определено наличие нескольких филогенетических ветвей и популяций *Y. pestis*, соответствующих географическому и историческому распространению штаммов. Основная часть штаммов из Вьетнама относится к ветви, обозначенной нами 1.ORI2v. Два штамма составляют отдельную ветвь вместе со штаммом из Индии линии 1.ORI2, еще один штамм 55-801 Saigon располагается обособленно среди штаммов линии 1.ORI1. На основании полученных данных и литературных источников можно предположить, что проникновение чумы во Вьетнам происходило несколько раз: в город Нячанг в 1898 г. морским путем, в северные провинции страны – в 1908 г. Вторая волна распространения штаммов *Y. pestis* по территории Вьетнама началась с 60-х годов XX в. с появлением штаммов из природного очага чумы в провинции Юньнань в Китае.

Ключевые слова: чума, популяционная структура, филогения, восточный биовар, Вьетнам.

Корреспондирующий автор: Никифоров Константин Алексеевич, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Никифоров К.А., Куклева Л.М., Альхова Ж.В., Оглодин Е.Г., Макашова М.А., Нарышкина Е.А., Гусева Н.П., Ерошенко Г.А., Dang Hong Chien, Lyong Thi Mo, Vo Viet Kyong, Кутырев В.В. Филогения и историко-географический анализ штаммов *Yersinia pestis* из Вьетнама. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:98–107. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-98-107

Поступила 29.01.20. *Принята к публ.* 27.02.20.

K.A. Nikiforov[1], L.M. Kukleva[1], Zh.V. Al'khova[1], E.G. Oglodin[1], M.A. Makashova[1], E.A. Naryshkina[1], N.P. Guseva[1], G.A. Eroshenko[1], Dang Hong Chien[2], Lyong Thi Mo[3], Vo Viet Kyong[2], V.V. Kutyrev[1]

Phylogeny and Historical-Geographical Analysis of *Yersinia pestis* Strains from Vietnam

[1]Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation; [2]Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center, Hanoi, Vietnam; [3]Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center (Southern Branch), Ho Chi Minh, Vietnam

Abstract. **Objective** of the work was to identify molecular-genetic peculiarities, to conduct whole genome sequencing and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* strains isolated in Vietnam between 1962 and 1989. **Materials and methods**. We have studied the properties of 50 *Y. pestis* strains, carried out whole genome sequencing of 18 and fragment sequencing of 32 strains from Vietnam. Phylogenetic analysis was performed on the basis of whole genome SNP-analysis by 1391 identified SNPs. Whole genome SNP-analysis and search for marker SNPs were conducted applying Wombac 2.0 software package. Phylogenetic diagram construction was done using Maximum Likelihood algorithm. **Results and discussion.** Several phylogenetic branches and *Y. pestis* populations coinciding with geographical and historical dissemination of the strains have been distinguished. The major part of the strains from Vietnam falls under the branch designated by us as 1.ORI2v. Two strains form a separate branch together with the strain from India belonging to 1.ORI2 line, one more strain, 55-801 Saigon, is set among the strains of 1.ORI1 line. Based on the data obtained and evidence from the literature sources it can be assumed that introduction of plague into Vietnam occurred through several waves: Nha Trang city in 1898, by sea; north provinces of the country – 1908. The second wave of *Y. pestis* dissemination across the territory of Vietnam began in 1960s with the emergence of the strains from the natural plague focus in Yunnan province, China.

Key words: plague, population structure, phylogeny, oriental biovar, Vietnam.

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

Corresponding author: Konstantin A. Nikiforov, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Nikiforov K.A., Kukleva L.M., Al'khova Zh.V., Oglodin E.G., Makashova M.A., Naryshkina E.A., Guseva N.P., Eroshenko G.A., Dang Hong Chien, Lyong Thi Mo, Vo Viet Kyong, Kutyrev V.V. Phylogeny and Historical-Geographical Analysis of *Yersinia pestis* Strains from Vietnam. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:98–107. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-98-107

Received 29.01.20. *Accepted* 27.02.20.

Бактерия *Yersinia pestis* – возбудитель особо опасной инфекционной зоонозной болезни – чумы. Штаммы основного подвида возбудителя *Y. pestis* subspecies *pestis* делят на три биовара – античный,

средневековый и восточный. Эти штаммы высоко вирулентны и имеют высокую эпидемическую значимость. Последняя, третья, пандемия чумы началась в провинции Юньнань в Китае в 1855 г. и была вызвана восточным биоваром (генетическое обозначение 1.ORI) *Y. pestis*. В дальнейшем пандемия распространилась на территории нескольких континентов с возникновением трех ветвей эволюции восточного биовара: 1.ORI1, 1.ORI2 и 1.ORI3 [1, 2]. Штаммы 1.ORI1 укоренились в США. Штаммы 1.ORI2 получили распространение в Европе, Южной Америке, Африке и Юго-Восточной Азии. Третья линия – 1.ORI3, закрепилась на о. Мадагаскар [3]. В настоящее время штаммы восточного биовара циркулируют преимущественно на Мадагаскаре, в Северной Америке и Юго-Восточной Азии. В частности, вспышка легочной чумы на о. Мадагаскар в 2017 г., где зарегистрировано около 2417 случаев, 209 смертей (летальность 8,6 %), вызвана штаммами восточного биовара (https://www.afro.who.int/health-topics/plague/plague-outbreak-situation-reports).

Впервые во Вьетнам чума проникла, по-видимому, морским путем с синантропными крысами с территории Китая. Первоначально болезнь поразила прибрежный г. Нячанг в 1898 г., а затем начала захватывать прибрежные территории и распространилась вглубь страны [4, 5]. К 1943 г. чума достигла плато Тай Нгуен в центре Вьетнама [6], а затем поразила крупные города, в частности Хошимин, Далат, Камрань и Фантхьет. Вспышки чумы во Вьетнаме регистрировали с некоторыми перерывами с 1898 по 2002 год [4]. Сформировавшиеся очаги были антропогенными, действовали в населенных пунктах. Территории, используемые для сельского хозяйства рядом с населенными пунктами, стали местом, где был возможен перенос возбудителя блохами из популяции синантропных крыс диким млекопитающим [7]. Основная часть случаев заражения чумой произошла в южном Вьетнаме. В северных провинциях заболеваемость чумой отмечали лишь с 1908 по 1922 год, с изначальным обнаружением чумы в г. Ханой в 1908 г. [8]. К особенностям чумы во Вьетнаме следует отнести то, что болезнь проявлялась в виде кратковременных вспышек и спорадических случаев, подавляющее большинство которых относилось к бубонной форме чумы. Последние случаи зарегистрированы во Вьетнаме в 1997–2002 гг. За это время произошло 472 случая заражения человека чумой. После 2003 г. заражений чумой не зарегистрировано.

Сведения о штаммах *Y. pestis*, выделенных во Вьетнаме, ограничены. Известно, что они относятся к восточному биовару, филогенетической ветви 1.ORI. Отличительным признаком восточного биовара является наличие делеции размером 93 п.н. в гене *glpD*, вследствие чего штаммы не способны ферментировать глицерин [9]. Однако в литературе встречается информация о выделении на территории Вьетнама штаммов, ферментирующих глицерин [4, 10].

Молекулярно-генетические особенности штаммов *Y. pestis* из Вьетнама остаются недостаточно исследованными. Показано, что они имеют типичный набор плазмид, но у некоторых изолятов обнаружены дополнительные криптические плазмиды [11, 12]. A. Guiyole *et al.* в 1994 г. установили существование двух разных риботипов у штаммов из Вьетнама [13]. И.Ю. Сучков и соавт. в 2003 г. методом мультилокусного анализа вариабельности числа тандемных повторов выявили среди них 16 MLVA генотипов [14].

Ранее нами показано, что штаммы *Y. pestis*, полученные на территории Вьетнама, относятся к отдельному кластеру, входящему в филогенетическую ветвь 1.ORI2. Этот кластер мы обозначили как 1.ORI2v [15]. Штаммы, образующие этот кластер, выделены в разных частях страны: на восточном побережье (города Камрань и Нячанг), в расположенной рядом с ним провинции Донгнай, в г. Хошимин и провинции Лонган, а также на плато Тай Нгуен. Установлено, что эти штаммы родственны штаммам 1.ORI2 из китайской провинции Юньнань, что согласуется с литературными сведениями о заносе чумы во Вьетнам морским путем из этой провинции Китая [3]. Один штамм – *Y. pestis* КМ761, выделенный в провинции Донгнай в 1971 г., вошел в другой кластер линии 1.ORI2 вместе со штаммом *Y. pestis* India 195 (Индия, 1898 г.), что предполагает занос штамма КМ761 во Вьетнам морским путем из Индии. Кластер, образованный двумя штаммами *Y. pestis* КМ761 и India 195, мы условно обозначили как 1.ORI2vi (в связи с обособленным расположением кластера на дендрограмме).

Для этих двух кластеров 1.ORI2v и 1.ORI2vi найдены маркерные SNPs (в позиции 260529 и 1192040 – для ветви 1.ORI2vi, в позиции 2133712 – для ветви 1.ORI2v) и рассчитаны праймеры для выявления этих SNPs методом ПЦР с последующим секвенированием полученных ПЦР-фрагментов [15]. С их помощью показано, что большинство штаммов, выделенных на территории Вьетнама за период 1964–1988 гг., принадлежали к филогенетическому кластеру 1.ORI2v.

Следует отметить, что полногеномные последовательности штаммов *Y. pestis* из Вьетнама до сих пор не представлены в международных базах данных, что значительно усложняет филогеографический анализ этой группы штаммов.

Цель этой работы – полногеномное секвенирование и филогенетический анализ штаммов *Y. pestis*, выделенных во Вьетнаме в период 1962–1989 гг.

Материалы и методы

Штаммы, изучение культурально-морфологических и биохимических свойств. Все использованные в работе штаммы *Y. pestis* получены из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб». Культивирование штаммов, изучение культурально-морфологических и биохи-

мических свойств штаммов, а также признаков, ассоциируемых с вирулентностью возбудителя чумы (пигментсорбция, зависимость от ионов Ca^{2+} при 37 °С), проводили в соответствии с методами лабораторной диагностики возбудителя чумы [16]. Плазмидный состав определяли по методу C. Kado, S. Liu [17].

Полногеномное секвенирование, поиск SNPs, филогенетический анализ, построение дендрограмм. Полногеномное секвенирование штаммов *Y. pestis* проводили в системе Ion PGM (Life technologies). Обработку данных секвенирования и сборку генома *de novo* выполняли с использованием программ Ion Torrent Suite software 4.2 и Newbler gsAssembler 2.6. Последовательности ридов собирали в геномы, покрытие которых по геному референсного штамма CO92 (номер доступа в GenBank NC_003143.1) составило не менее 95 % с 48-кратным прочтением.

Филогенетический анализ и построение дендрограммы осуществляли на основе обнаружения коровых SNPs в полногеномных последовательностях штаммов *Y. pestis*. Полногеномный SNP-анализ и поиск маркерных SNPs выполняли с помощью программы Wombac 2.0 на базе операционной системы BioLinux 8.0. Построение филогенетического дерева с использованием алгоритма Maximum Likelihood проводили в программе PhyML 3.1. Визуализацию результатов построения выполняли в программе FigTree 1.4.3.

Поиск ДНК-мишеней, конструирование праймеров, проведение ПЦР. Поиск ДНК-мишеней – SNPs, маркерных для отдельных кластеров штаммов, проводили, анализируя коровые SNPs с применением программы Mega 6.0 (http://www.megasoftware.net/). Оценку специфичности найденных SNPs осуществляли с использованием алгоритма BLAST по базе данных полногеномных последовательностей штаммов *Y. pestis* из базы данных NCBI GenBank. Расчет праймеров выполняли помощью программы Vector NTI 10 (http://www.thermofisher.com).

Проведение фрагментного секвенирования. Ампликоны, полученные в ПЦР на матрице ДНК исследуемых штаммов *Y. pestis*, секвенировали на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500xL (Thermo Fisher Scientific Inc., США). Анализ последовательностей выполняли при помощи программы MEGA 6.0 и алгоритма BLAST на основе нуклеотидных последовательностей из базы данных NCBI GenBank.

Результаты и обсуждение

Культурально-морфологические и биохимические свойства штаммов. В работе использовано 50 штаммов *Y. pestis*, выделенных на территории Вьетнама в период с 1962 по 1989 год. При исследовании их биохимических свойств установлено, что они не ферментируют рамнозу и глицерин, но способны к редукции нитратов и ферментации арабинозы и по этим признакам относятся к восточному биовару основного подвида *Y. pestis*. Все изученные штаммы из Вьетнама характеризуются зависимостью роста от ионов кальция при 37 °С и способностью синтезировать пестицин (кроме штамма 78054). Также все штаммы формировали пигментированные колонии на среде с гемином. Эти данные свидетельствуют в пользу вирулентности исследованных штаммов. Исключение составили *Y. pestis* P-13229 и *Y. pestis* 78054, которые, вероятно, утратили признаки кальцийзависимости и пестициногенности в процессе хранения.

У всех взятых в исследование штаммов из Вьетнама методом ПЦР обнаружено наличие маркерной делеции в 93 п.н. в гене *glpD* глицерол-3-фосфатдегидрогеназы, что подтверждает их принадлежность к восточному биовару. Плазмидный состав большинства штаммов оказался типичным. Они содержали три резидентные плазмиды – pFra, pCad и pPst. Исключение составил штамм *Y. pestis* KM761, не имеющий плазмиды pFra, а также штаммы P-13229 и 78054, у которых не было плазмиды pCad. У штамма 78054 также не имелось плазмиды pPst. Отсутствие плазмид у этих штаммов соотносилось с отсутствием у них фенотипических признаков, кодируемых этими репликонами.

Популяционная структура штаммов Y. pestis из Вьетнама. Для анализа популяционной структуры и филогенетических связей штаммов *Y. pestis*, выделенных на территории Вьетнама, использованы полногеномные последовательности 18 штаммов, секвенированных в РосНИПЧИ «Микроб», и 22 генома штаммов *Y. pestis* разных филогенетических линий из международной базы данных NCBI GenBank.

В результате проведения полногеномного SNP-анализа найден 1391 коровый полиморфный нуклеотид, с использованием которого проведено построение дендрограммы Maximum Likelihood (рис. 1). На этой дендрограмме штаммы, выделенные на территории Вьетнама в разные годы, вошли в разные ветви эволюции восточного биовара. Большинство штаммов, выделенных во Вьетнаме, вошли в ветвь 1.ORI2v, представленную штаммами из различных провинций Вьетнама, что согласуется с ранее полученными нами данными [15]. Два штамма расположились на дендрограмме за пределами этой ветви. Один из них – *Y. pestis* KM761 (провинция Донгнай, 1971 г.), составил отдельный кластер 1.ORI2vi вместе со штаммом India 195 (Индия, 1898 г.). Еще один штамм – *Y. pestis* 55-801 Saigon, выделенный на территории г. Хошимин в 1955 г., составил на дендрограмме восточного биовара отдельную ветвь 1.ORI1. Мы обозначили эту ветвь как 1.ORI1v. Ранее для ветвей 1.ORI2v и 1.ORI2vi нами найдены маркерные SNPs (мишени 1.ORI2v и 1.ORI2vi/1, 1.ORI2vi/2) [15] (табл. 1). В данной работе они использованы для исследования еще 19 штаммов из разных районов Вьетнама методом фрагментного секвенирования

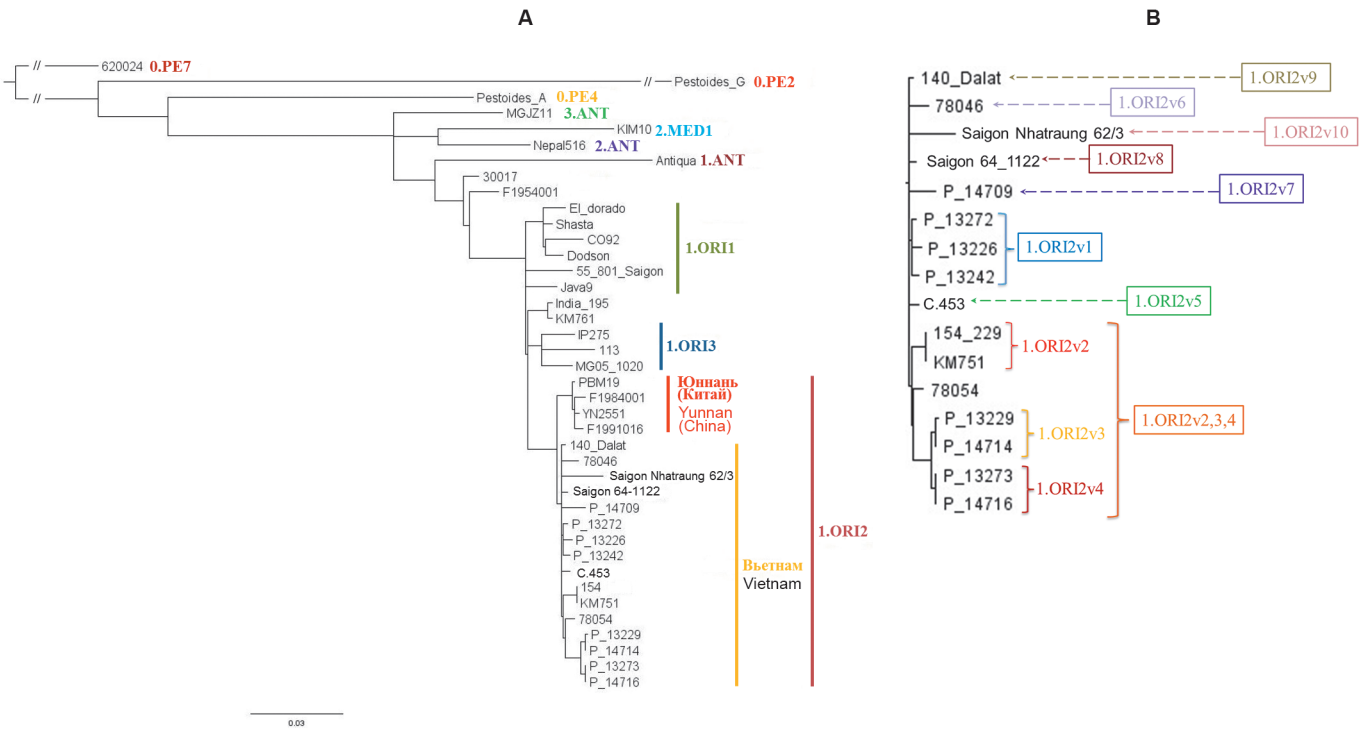


Рис. 1. Филогенетический анализ штаммов *Yersinia pestis*, выделенных на территории Вьетнама в 1962–1989 гг., по данным анализа 1391 корового SNPs в полногеномных последовательностях 40 штаммов разных филогенетических ветвей:

A – дендрограмма Maximum Likelihood, программа PhyML 3.1, модель HKY85. ***B*** – фрагмент дендрограммы с кластером 1.ORI2v

Fig. 1. Phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* strains isolated in the territory of Vietnam between 1962 and 1989, based on the data from investigation of 1392 core SNPs in whole genome sequences of 40 strains of different phylogenetic branches:

A – Maximum Likelihood Dendrogram, PhyML 3.1 software, model HKY85. ***B*** – fragment of the Dendrogram depicting 1.ORI2v cluster

ампликонов, полученных на матрице ДНК изучаемых штаммов (табл. 2).

В результате установлено, что штамм КМ762, выделенный в 1981 г. в провинции Донгнай, обладает SNPs 1.ORI2vi/1 и 1.ORI2vi/2 (G→A в позиции 260529 гена *YPO0258* и G→A в позиции 1192040 гена *YPO1051* по геному референсного штамма CO92), характерными для ветви 1.ORI2vi. Эта ветвь образована штаммами *Y. pestis* КМ761 и India 195 и не имеет SNP, специфичного для ветви 1.ORI2v (G→A в позиции 2133712 генf *YPO1896*). Оставшиеся 18 штаммов, изученные методом фрагментного секвенирования, содержат SNP, специфичный для ветви 1.ORI2v, и принадлежат к этой ветви.

Как показано на дендрограмме, вьетнамские штаммы ветви 1.ORI2v в свою очередь разделились с формированием двух субветвей, представленных группами штаммов (1.ORI2v1, 1.ORI2v2,3,4) и нескольких субветвей (1.ORI2v5-10), образованных единичными штаммами. Нами проведен поиск SNPs, специфичных для субветвей штаммов, принадлежащих к ветви 1.ORI2v, для выяснения пространственно-временных закономерностей распространения штаммов *Y. pestis* на территории Вьетнама. Установлено, что ветвь 1.ORI2v1, образованная штаммами P-13226, P-13272 и P-13242, обладает специфической заменой нуклеотида G→A в позиции 2896910 в гене *YPO2577* (табл. 1). На этот локус рассчитаны праймеры (табл. 2) и для 31 штамма получены ампликоны, которые в дальнейшем секвенировали. В результате установлено наличие этой нуклеотидной замены у штаммов P-13227, P-13228 и P-13234. Все три штамма, как и штамм P-13226, выделены в г. Камрань в 1985–1986 гг. Таким образом, эта ветвь представлена преимущественно штаммами, выделенными на территории портовых городов Камрань и Нячанг в 1985–1987 гг. Оба города расположены на восточном побережье Вьетнама на расстоянии 45 км друг от друга. Исключение составил штамм P-13272, выделенный на территории плато Тай Нгуен в 1986 г., который был, по-видимому, занесен на эту территорию.

Следующая ветвь, представленная группой из семи штаммов, получила обозначение 1.ORI2v2,3,4 и состоит из трех кластеров. Для штаммов этой ветви установлено наличие характерной мутации – замены G→A в позиции 2592628 в гене *YPO2305*. Методом фрагментного секвенирования выявлено наличие этой мутации в геномах девяти штаммов *Y. pestis* 190, 190B, 215, 79052, C.373, C.562, КМ715, КМ753, P-14713 (табл. 3). Все эти штаммы выделены в 1981–1982 гг. в г. Хошимин и провинции Донгнай. Это говорит о том, что в то время на этой территории существовала популяция штаммов 1.ORI2v2,3,4, которая в дальнейшем иррадиировала на территорию г. Нячанг и плато Тай Нгуен, образовав кластеры 1.ORI2v2, 1.ORI2v3 и 1.ORI2v4. Кроме того, в субветвь 1.ORI2v2,3,4 входит штамм 78054,

Таблица 1 / Table 1

Перечень SNPs, специфичных для ветвей штаммов *Y. pestis*, выделенных на территории Вьетнама

List of SNPs specific for the branches of *Y. pestis* strains isolated in the territory of Vietnam

Позиция от начала генома* Position from the head of the genome*	Мутация Mutation	Ген Gene	Функция гена Function of the gene	Ветвь *Y. pestis*, у которой присутствует мутация *Y. pestis* branch that has mutation
2133712	G→A	YPO1896	Pseudogene	1.ORI2v
260529	G→A	YPO0258	Type-III secretion protein	1.ORI2vi
1192040	G→A	YPO1051	Zinc metallopeptidase RseP	1.ORI2vi
2896910	G→A	YPO2577	Aldehyde dehydrogenase	1.ORI2v1
1723761	C→T	YPO1516	Hypothetical protein	1.ORI2v2
3296601	T→G	YPO2949	Hypothetical protein	1.ORI2v2
1707224	G→A	YPO1503–YPO1504**	-	1.ORI2v3
3974099	C→T	YPO3559-sspB**	-	1.ORI2v4
3087850	C→T	mnmC	5-methylaminomethyl-2-thiouridine methyltransferase	1.ORI2v5
3875199	G→A	YPO3469	Sugar ABC transporter ATP-binding protein	1.ORI2v5
1865245	T→G	YPO1639	Hypothetical protein	1.ORI2v6
2839029	C→T	menF	Menaquinone-specific isochorismate synthase	1.ORI2v6
2128697	G→T	YPO1890	GntR family transcriptional regulator	1.ORI2v3, 1.ORI2v4
3409393	C→A	YPO3050	Hypothetical protein	1.ORI2v3, 1.ORI2v4
2592628	G→A	YPO2305	Hypothetical protein	1.ORI2v2, 1.ORI2v3, 1.ORI2v4
623437	T→C	uxaC	Glucuronate isomerase	1.ORI2v7
2956447	C→T	glnS	Glutaminyl-tRNA synthetase	1.ORI2v7
3968300	C→T	gltB	Glutamate synthase subunit alpha	1.ORI2v7
2418621	C→T	YPO2149	Hypothetical protein	1.ORI2v8
3074669	C→T	fadL	Long-chain fatty acid outer membrane transporter	1.ORI2v8
129253	G→C	glpR	DNA-binding transcriptional repressor GlpR	1.ORI2v9
441176	A→G	YPO0421	Multi-drug efflux protein	1.ORI2v9
83657	A→G	cpxR	DNA-binding transcriptional regulator CpxR	1.ORI2v10
883030	C→T	cheD	Methyl-accepting chemotaxis protein	1.ORI2v10
4189423	A→G	nudC	NADH pyrophosphatase	1.ORI2v10

*Указана позиция по геному референсного штамма *Y. pestis* CO92 (номер доступа в NCBI Genbank № NC_003143.1).
**Указано межгенное пространство.

*Position is given based on the genome of the reference *Y. pestis* strain CO92 (access No to NCBI GenBank NC_003143.1).
**Intergenic space is indicated.

выделенный на территории г. Фантхьет в 1978 г. Этот город располагается по направлению предполагаемого пути распространения штаммов ветви 1.ORI2v2,3,4 из провинции Лонган через г. Хошимин в Нячанг (рис. 2).

Первый кластер 1.ORI2v2 образован штаммами КМ751 и 154, выделенными в провинциях Лонган и Донгнай в 1978 и 1981 гг. соответственно. Он имеет шесть специфических маркерных SNPs, два из которых (C→T в позиции 1723761 в гене *YPO1516* и T→G в позиции 3296601 в гене *YPO2949*) выбраны нами для расчета праймеров (табл. 1, 2). В ПЦР с использованием этих праймеров получены ампликоны на матрице ДНК 31 штамма из Вьетнама. В результате секвенирования образованных ампликонов установлено, что ни один из 31 штамма не имел в своем геноме этих специфических замен нуклеотидов. Таким образом, этот кластер представлен только двумя штаммами – КМ751 и 154, выделенными на территории провинций, граничащих с крупным г. Хошимин (Лонган с юго-запада, Донг Най с востока). Возможно, штаммы этой группы распространились с территории провинции Лонган на территорию провинции Донгнай.

Для поиска принадлежности штаммов к субветви 1.ORI2v3,4 ветви 1.ORI2v2,3,4 найдены две специфические нуклеотидные замены, расположенные в позиции 2128697 гена *YPO1890* и в позиции 3409393 гена *YPO3050*. В результате проведенного анализа установлено наличие первой замены в геноме штаммов КМ753 (г. Хошимин, 1979 г.) и Р-14713 (г. Нячанг, 1988 г.), а второй замены – у штаммов КМ753, Р-14713 и 79052 (г. Хошимин, 1979 г.). Таким образом, субветвь 1.ORI2v3,4 берет свое начало из г. Хошимин, откуда она в дальнейшем иррадиировала в г. Нячанг (рис. 2).

Кластер 1.ORI2v3 образован штаммами Р-13229 и Р-14714, выделенными в 1985 и 1989 гг. в г. Нячанг. Эта ветвь обладает одной специфической заменой нуклеотида G→A в позиции 1707224 в межгенном пространстве *YPO1503–YPO1504*. Однако среди 31 изученного штамма ни один не обладал таким характерным SNP. В итоге этот кластер представлен только двумя штаммами, выделенными в разных провин-

Таблица 2 / Table 2

Последовательности праймеров, использованных в работе

Sequences of primers utilized for the study

Название мишени Target name	Филогенетическая ветвь, у которой присутствует маркерный SNP Phylogenetic branch that has marker SNP	Последовательность праймеров Primer sequence
1.ORI2v	1.ORI2v	1.ORI2v-S – CCATCGGGTTGTGGCAAA 1.ORI2v-AS – AACACCATCGCCACACCA
1.ORI2vi/1	1.ORI2vi	1.ORI2vi/1-S – GGATTAATGGTGCACAGC 1.ORI2vi/1-AS – GCCATACCAATAAAGGGA
1.ORI2vi/2	1.ORI2vi	1.ORI2vi/2-S – TACTCTGGAGCCTGGCTGCGTT 1.ORI2vi/2-AS – ACACGGACACCACAGCGC
1.ORI2v1	1.ORI2v1	1.ORI2v1-S – GTTGCGGCAACAGTGTCA 1.ORI2v1-AS – TTGTTGTGCCGCCGTGAT
1.ORI2v2/1	1.ORI2v2	1.ORI2v2/1-S – TCTCTTCGGCAAAACGGG 1.ORI2v2/1-AS – ATATGCGGCTGATTGGTCAC
1.ORI2v2/2	1.ORI2v2	1.ORI2v2/2-S – CCAACAGCGTCAAGCGGT 1.ORI2v2/2-AS – TCTCGCACCTCTATAAGCCG
1.ORI2v3	1.ORI2v3	1.ORI2v3-S – TTTGAAGGAACGCGGTGC 1.ORI2v3-AS – TGCCTGCCTATCTGTTACGG
1.ORI2v4	1.ORI2v4	1.ORI2v4-S – CCGCCCTGAAGAGATAGAGC 1.ORI2v4-AS – GCGTTGAGCAGGATGATGACA
1.ORI2v5/1	1.ORI2v5	1.ORI2v5/1-S – CAGAATCTCGGCCACCAAT 1.ORI2v5/1-AS – CTGCAACACTGGCTCAATATCA
1.ORI2v5/2	1.ORI2v5	1.ORI2v5/2-S – CGCCCTCTTGTACCACCG 1.ORI2v5/2-AS – ATCGTGGTCCTGCGTGAAG
1.ORI2v6/1	1.ORI2v6	1.ORI2v6/1-S – TGTGTTGGCAGTTGGGCG 1.ORI2v6/1-AS – TCAGGCAGCAGAACGCGAGT
1.ORI2v6/2	1.ORI2v6	1.ORI2v6/2-S – TCTGTTAGTTGCCCGAATACCA 1.ORI2v6/2-AS – GCTCAGACTCACTTTCCTCAAT
1.ORI2v3,4/1	1.ORI2v3, 1.ORI2v4	1.ORI2v34/1-S – AGTCGCGATCACAGCCAA 1.ORI2v34/1-AS – CAGCATCAGTAAGACGGGTTCA
1.ORI2v3,4/2	1.ORI2v3, 1.ORI2v4	1.ORI2v34/2-S – CAGGAAGAGTGGTTAATGCCG 1.ORI2v34/2-AS – CGAGCGACATCACAAAATAGGA
1.ORI2v2,3,4	1.ORI2v2, 1.ORI2v3, 1.ORI2v4	1.ORI2v2,3,4-S – GGTTTCTTCCGTAGCCAA 1.ORI2v2,3,4-AS – TCCGGGCTTTGTACGAGA
1.ORI2v7/1	1.ORI2v7	1.ORI2v7/1-S – TCTGCGCCACCACAAAGC 1.ORI2v7/1-As – ACTTTACAACCGTGGGCG
1.ORI2v7/2	1.ORI2v7	1.ORI2v7/2-S – TATGCGGTTATGTTTGTTGCG 1.ORI2v7/2-As – AGATTTTGCATGGCCGAT
1.ORI2v7/3	1.ORI2v7	1.ORI2v7/3-S – CAAACTGATTACCTGTGCCTCG 1.ORI2v7/3-As – ATACGGGTGGCGGCTTTT
1.ORI2v8/1	1.ORI2v8	1.ORI2v8/1-S – TGGAATAGCCTCACGACG 1.ORI2v8/1-As – CGGGTGATGTGCAATGGA
1.ORI2v8/2	1.ORI2v8	1.ORI2v8/2-S – AGCAATACCGACATCAACAGAG 1.ORI2v8/2-As – GTATTGCGTTAGGGACCACC
1.ORI2v9/1	1.ORI2v9	1.ORI2v9/1-S – CGCCTTTTCTTCCGACCA 1.ORI2v9/1-As – GCAAACCATTCGGCGTGA
1.ORI2v9/2	1.ORI2v9	1.ORI2v9/2-S – TGCGCAGGTGATGGTCCG 1.ORI2v9/2-As – ATAATCGCCTGTTCCGCCTGGG
1.ORI2v10/1	1.ORI2v10	1.ORI2v10/1-S – GCACCATCAGCACTAGCA 1.ORI2v10/1-As – TCTGGGGAAACGATTGACC
1.ORI2v10/2	1.ORI2v10	1.ORI2v10/2-S – CGCAATCATCCAACGGGT 1.ORI2v10/2-As – TCTTTGACGTGCCTATCCAG
1.ORI2v10/3	1.ORI2v10	1.ORI2v10/3-S – ATTCCGTCCGGCTGGCAT 1.ORI2v10/3-As – TGGTGAATGGCAAGGGCA

циях с крупными портовыми городами.

Штаммы P-13273, P-14716, выделенные в 1986 и 1988 гг. от людей на территории Тай Нгуен и г. Винь, образовали кластер 1.ORI2v4. Для этого кластера выявлен один маркерный полиморфный нуклеотид, представляющий собой замену C→T в межгенном пространстве *YPO3559–sspB* в позиции 3974099. Из 31 изученного штамма ни один не обладал таким характерным SNP. Очевидно, эта линия эволюции циркулировала на территории плато Тай Нгуен и была занесена на территорию провинции Нгеан.

Остальные субветви, также входящие в ветвь 1.ORI2v, представлены одиночными штаммами. Субветвь 1.ORI2v5 образовал штамм C.453, выделенный в 1981 г. в г. Хошимин. Для этой субветви найдены два локуса, содержащих специфические SNPs: замена C→T в гене *mnmC* в позиции 3087850 и замена G→A в гене *YPO3469* в позиции 3875199. Обнаружено наличие обеих специфических для субветви 1.ORI2v5 замен нуклеотидов у штамма *Y. pestis*

Таблица 3 / Table 3

Штаммы *Y. pestis* из Вьетнама, использованные в работе

***Y. pestis* strains from Vietnam, used in the work**

Штамм / Strains	Очаг, регион выделения / Focus, area of isolation	Год, источник выделения / Year, source
P-14713	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1988 г., н/д / 1988, no data
190	10 р-н г. Хошимин / 10th district, Ho Chi Minh	1981 г., от *R. rattus*
КМ753	5 р-н г. Хошимин / 5th district, Ho Chi Minh	1979 г., от человека / human
79052	11 р-н г. Хошимин / 11th district, Ho Chi Minh	1979 г., от человека / human
C.373	Колхоз Кам Дуонг, провинция Донгнай / Collective farm Cam Duong, Dong Nai province	1982 г., от *S. murinus*
190B	Колхоз Кам Дуонг II / Collective farm Cam Duong II	1982 г., от человека / human
215	Куби II, провинция Донгнай / Kubi II, Dong Nai province	1981 г., от человека / human
P-13227	Камрань, провинция Кханьхоа / Cam Ranh, Khanh Hoa province	1985 г, от человека / human
P-13228	Камрань, провинция Кханьхоа / Cam Ranh, Khanh Hoa province	1987 г., от *R. exulans*
P-13234	Камрань, провинция Кханьхоа / Cam Ranh, Khanh Hoa province	1986 г., от человека / human
296E	Деревня Онг, провинция Донгнай / Ong village, Dong Nai province	1981 г., от человека / human
RN-69	Провинция Донгнай / Dong Nai province	1981 г., от *R. norvegicus*
P-14719	5 р-н г. Хошимин / 5th district, Ho Chi Minh	1988 г., от человека / human
Saigon 64-1198	Хошимин / Ho Chi Minh	1964 г., н/д / no data
P-13223	Провинция Кханьхоа / Khanh Hoa province	1985 г., от *R. exulans*
P-13270	Хошимин / Ho Chi Minh	1987 г., от блохи / flea
P-14720	Хошимин / Ho Chi Minh	1989 г., от человека / human
P-13250	Хошимин / Ho Chi Minh	1987 г., от человека / human
129	6 р-н г. Хошимин / 6th district, Ho Chi Minh	1981 г., от человека / human
1328 Saigon	Хошимин / Ho Chi Minh	1968 г., н/д / no data
XC 84	Провинция Донгнай / Dong Nai province	1981 г., от блохи *X. cheopis* / flea
C.562	Куби II, провинция Донгнай / Kubi II, Dong Nai province	1981 г., от *S. murinus*
124 Dalat	Далат, провинция Ламдонг / Dalat, Lamdong province	1967 г., н/д / no data
Nhatraung 64/307	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1964 г., н/д / no data
Nhatraung 64/300	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1964 г., н/д / no data
65/2 Nhatraung	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1965 г., н/д / no data
Nhatraung 65/63	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1965 г., н/д / no data
КМ 762	Деревня Онг, провинция Донгнай / Ong village, Dong Nai province	1981 г., от *S. murinus*
КМ 715	Куби II, провинция Донгнай / Kubi II, Dong Nai province	1981 г., от *R. exulans*
164A	Деревня Онг, провинция Донгнай / Ong village, Dong Nai province	1981 г., от человека / human
203	Р-н Тан Бинь, провинция Донгнай / Tan Binh area, Dong Nai province	1981 г., от человека / human
371	Деревня Онг, провинция Донгнай / Ong village, Dong Nai province	1981 г., от человека / human
140 Dalat	Далат, провинция Ламдонг / Dalat, Lamdong province	1967 г., н/д / no data
78046	Далат, провинция Ламдонг / Dalat, Lamdong province	1977 г., от человека/ human
Saigon Nhatraung 62/3	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1962 г., н/д / no data
Saigon 64-1122	Хошимин / Ho Chi Minh	1964 г., н/д / no data
P-14709	Хошимин / Ho Chi Minh	1988 г., от *R. exulans*
P-13272	Плато Тай Нгуен / Plateau Thai Nguyen	1986 г., от *M. musculus*
P-13226	Камрань, провинция Кханьхоа / Cam Ranh, Khanh Hoa province	1985 г., от человека / human
P-13242	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1987 г., от человека / human
C.453	6 р-н г. Хошимин / 6th district, Ho Chi Minh	1981 г., от *R. exulans*
154	Деревня Онг, провинция Донгнай / Ong village, Dong Nai province	1981 г., от человека / human
КМ751	Провинция Лонган / Longan province	1978 г., от человека / human
78054	Провинция Биньтхуан / Binh Thuan province	1978 г., от человека / human
P-13229	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1985 г., от *R. exulans*
P-14714	Нячанг, провинция Кханьхоа / Nha Trang, Khanh Hoa province	1988 г., от *R. rattus*
P-13273	Плато Тай Нгуен / Plateau Thai Nguyen	1986 г., от человека / human
P-14716	Винь, провинция Нгеан / Vinh, Nghe An province	1988 г., от человека / human
55-801 Saigon	Хошимин / Ho Chi Minh	1955 г., н/д / no data
КМ761	Провинция Донгнай / Dong Nai province	1981 г., от *R. rattus*

Примечание: н/д – нет данных об источнике выделения штаммов.

Note: no data – no available data on the source of isolation.

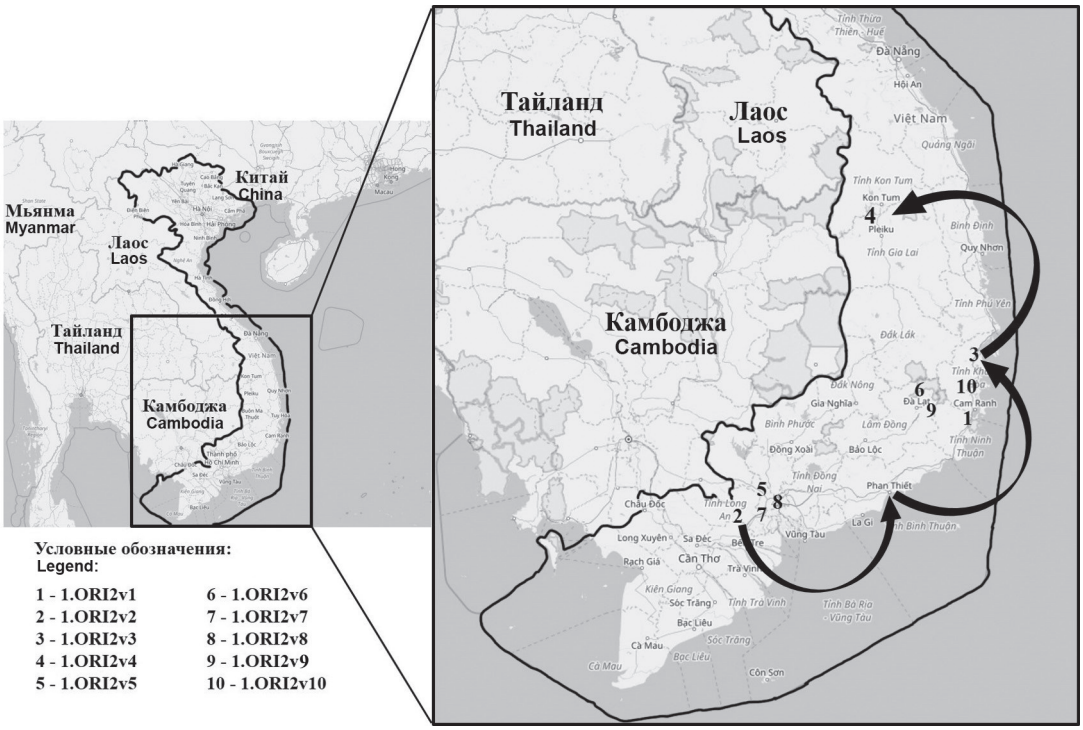


Рис. 2. Карта расположения и предполагаемого распространения штаммов *Y. pestis* различных генетических субветвей во Вьетнаме в 1962–1989 гг. Стрелками обозначено предполагаемое направление распространения штаммов субветви 1.ORI2v2,3,4

Fig. 2. The map of location and perceived dissemination of *Y. pestis* strains of various genetic sub-branches in Vietnam, 1962–1989. The arrows indicate the alleged direction of the spread of 1.ORI2v2,3,4 sub-branch strains

129 (г. Хошимин, 1981 г.) и штаммов, изолированных в провинции Донгнай – 164A (1981 г.), 203 (1981 г.), 296E (1981 г.), 371 (1981 г.). Таким образом, этот кластер представлен пятью штаммами, выделенными на территории крупного г. Хошимин и в расположенной восточнее провинции Донгнай (рис. 2).

Штамм 78046 образовал субветвь 1.ORI2v6. Он выделен в 1977 г. в г. Далат. Для этой субветви найдены две специфические замены нуклеотидов: T→G в гене *YPO1639* в позиции 1865245 и замена C→T в гене *menF* в позиции 2839029. Эти замены не обнаружены ни у одного из исследованных штаммов. Скорее всего, эта субветвь была распространена в провинции Ламдонг до 1981 г., а в дальнейшем ее сменили субветви 1.ORI2v234 и 1.ORI2v9.

Штамм P-14709, выделенный от больного в 1988 г. в одном из районов г. Хошимин, составил отдельную субветвь 1.ORI2v7, для которой нами найдены 3 маркерные SNPs, расположенные в позициях 623437, 2956447 и 3968300 (гены *uxa*C, *glnS* и *gltB*) и являющиеся заменами T→C, C→T и C→T соответственно. В результате проведенного анализа обнаружено наличие этих маркерных замен нуклеотидов у штаммов P-13250, P-13270, P-14719 и P-14720, выделенных в нескольких кварталах г. Хошимин в 1987–1989 гг. Таким образом, эти штаммы также вошли в субветвь 1.ORI2v7, которая состоит из хронологически более молодых штаммов, чем штаммы субветвей 1.ORI2v6 и 1.ORI2v234, циркулировавшие на территории Хошимина ранее в 1977 г. и 1985–1887 гг. соответственно.

Штамм Saigon 64-1122, выделенный в г. Хошимине в 1964 г., также образовал отдельную субветвь 1.ORI2v8, для которой обнаружены две маркерные мутации в позициях 2418621 и 3074669 (гены *YPO2149* и *fadL*) – замены C→T. В результате анализа ни у одного штамма не выявлено наличие этих маркерных мутаций в структуре генома, что, видимо, указывает на то, что эта субветвь не получила широкого распространения.

Отдельная субветвь 1.ORI2v9 включает штамм *Y. pestis* 140 Dalat, выделенный в провинции Ламдонг. Для нее обнаружены два маркерных полиморфных локуса в позициях 129253 и 441176 (гены *glpR* и *YPO0421*) замены G→C и A→G соответственно. Нами установлено, что эти специфические маркеры есть у еще двух штаммов – *Y. pestis* 124 Dalat и RN-69, выделенных на территории провинции Ламдонг в 1981–1982 гг. Таким образом, эта субветвь представлена тремя штаммами из одной провинции.

Штамм Saigon Nhatraung 62/3, выделенный в 1962 г. в г. Нячанг, образовал на дендрограмме субветвь 1.ORI2v10, для которой выявлены три маркерных полиморфных локуса в позициях 83657, 883030 и 4189423 (в генах *cpxR*, *cheD* и *nudC*) – замены A→G, C→T и C→G соответственно. В дальнейшем ни одна из этих трех маркерных мутаций не обнаружена у других штаммов и, по-видимому, штаммы этой субветви не получили широкого распространения на этой и других территориях Вьетнама.

Таким образом, на основании проведенного анализа 50 штаммов *Y. pestis*, выделенных во Вьетнаме в период с 1955 по 1989 год, для 18 из которых проведено полногеномное секвенирование, а 32 исследованы методом фрагментного секвенирования, определена их популяционная структура. Установлено, что штаммы, выделенные на территории Вьетнама, формируют несколько филогенетических ветвей: основная часть штаммов образует ветвь 1.ORI2v, два штамма вместе со штаммом из Индии в составе линии 1.ORI2 образуют отдельную ветвь 1.ORI2vi, еще один штамм – 55-801 Saigon – располагается обособленно в составе 1.ORI1.

Ветвь 1.ORI2v состоит из десяти субветвей 1.ORI2v1-10 (рис. 2), отличающихся местом и временем выделения образующих их штаммов. Штаммы из некоторых ветвей не получили широкого распространения и встречались в определенных географических регионах Вьетнама. Так, на территории провинции Ламдонг с административным центром г. Далат установлена циркуляция двух субветвей – 1.ORI2v6 (1977 г.) и 1.ORI2v7 (1981–1982 гг.), представленных одним и пятью штаммами соответственно. Также обнаружена субветвь 1.ORI2v1, распространенная в г. Камрань в 1985–1987 гг. и состоящая из шести штаммов. В городе Нячанг выявлена циркуляция двух субветвей: более старой 1.ORI2v10 (один штамм, 1962 г.) и более молодой 1.ORI2v3 (два штамма, 1985–1989 гг.). В г. Хошимин выявлена циркуляция четырех субветвей в разные временные промежутки: 1.ORI2v5 (1981 г.) – 6 штаммов, 1.ORI2v7 (1988 г.) – 5, 1.ORI2v8 (1964 г.) – 1, 1.ORI2v2,3,4 (1981–1982 гг.) – 16.

Следует отметить филогенетическое родство субветвей 1.ORI2v2, 1.ORI2v3 и 1.ORI2v4. Ветвь 1.ORI2v2,3,4 берет свое начало в провинции Лонган (1978–1981 гг.) и столице провинции Биньтхуан г. Фантхьет (1978 г.), в дальнейшем получает распространение в г. Хошимин (1981–1982 гг.), после чего иррадиирует в столицу провинции Кханьхоа г. Нячанг (1985–1989 гг.), а затем – на плато Тай Нгуен (1986–1988 гг.), после чего заносится на территорию провинции Нгеан (1988 г.).

На основании полученных данных можно предположить, что проникновение чумы во Вьетнам происходило несколько раз путем передачи инфекции синантропными крысами, занесенными кораблями с территории Китая, и сухопутным путем из близлежащего очага чумы на территории провинции Юньнань. Кроме того, два вьетнамских штамма кластеризуются вместе с индийским, что говорит о заносе в 1981 г. с территории Индии, скорее всего, морским путем.

Первоначально чума проникла в прибрежный город Нячанг в 1898 г. из Гонконга морским путем, а затем начала охватывать прибрежные территории вплоть до самой южной части страны. В северные провинции чума занесена в 1908 г., изначально поразив г. Ханой. Позже заболевание достигло не только границы с Камбоджей, но и регистрировалось в центральной части Вьетнама. В результате к 1943 г. чума проникла на плато Тай Нгуен, а затем в крупные города – Хошимин, Далат, Камрань и Фантхьет.

Следующая волна распространения штаммов началась с 60-х годов XX в. с появлением во Вьетнаме штаммов из природного очага чумы на территории провинции Юньнань. Об этом свидетельствуют данные по филогенетическому родству выделенных в 1962–1989 гг. штаммов, кластеризующихся со штаммами из провинции Юньнань в Китае в составе линии 1.ORI2, образуя отдельную от китайских штаммов ветвь, состоящую из ряда субветвей.

Кластеризация штаммов, выделенных в разные временные промежутки, внутри ветви 1.ORI2v по субветвям 1.ORI2v1,2,3,4, по-видимому, связана с адаптацией к климатическим условиям южной части страны. В то же время вспышки в начале XX в. в северной части Вьетнама указывают на возможность распространения и адаптации возбудителя чумы в других климатических условиях.

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

Список литературы

1. Cavanaugh D.C., Dangerfield H.G., Hunter D.H., Joy R.J., Marshall Jr J.D., Quy D.V., Vivona S., Winter P.E. Some observations on the current plague outbreak in the Republic of Vietnam. *Amer. J. Public. Health*. 1968; 58(4):42–52. DOI: 10.2105/ajph.58.4.742.

2. Velimirovic B. Investigations on the epidemiology and control of plague in South Vietnam. Part I, II. *Zentralbl. Bakteriol. Orig. A.* 1974; 228(4):482–532. PMID: 4155202.

3. Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3. DOI: 10.1038/ng.705.

4. Касьян А.Ф., Дао Суан Винь, Бобров А.Г. Характеристика некоторых биологических свойств штаммов возбудителя чумы, циркулирующих во Вьетнаме. В кн.: Корзун Л.П., редактор. Экологические и эпизоотологические аспекты чумы во Вьетнаме. М.: ГЕОС; 2003. С. 96–8.

5. Слудский А.А., Ли Тхи Ви Хыонг, Касьян А.Ф. Данг Туан Дат, Матросов А.Н., Дао Суан Винь, Майоров Н.В., Сунцов В.В. Современная эпидемическая активность антропогенных очагов чумы на плато Тайнгуен. В кн.: Корзун Л.П., редактор. Экологические и эпизоотологические аспекты чумы во Вьетнаме. М.: ГЕОС; 2003. С. 10–2.

6. Pham H., Dang D., Minh N.N.T., Nguyen N.D., Nguyen T.V. Correlates of environmental factors and human plague: an ecological study in Vietnam. *Intern. J. Epidemiol.* 2009; 38(6):1634–41. DOI: 10.1093/ije/dyp244.

7. Сунцов В.В., Сунцова Н.И., Матросов А.Н., Кузнецов А.А., Данг Туан Дат, Лыонг Тхи Мо, Слудский А.А., Куклев Е.В., Тарасов М.А., Касьян И.А., Майоров Н.В., Астахова Т.С. Антропоургические очаги чумы во Вьетнаме: прошлое и настоящее. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2014; 4:29–35. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-4-29-35.

8. Акиев А.К., Варшавский С.Н., Козакевич В.П. Природная очаговость чумы в Юго-Восточной Азии (Вьетнам). В кн.: Солдаткин И.С., редактор. Эпидемиология и профилактика чумы и холеры. Саратов; 1983. С. 43–52.

9. Motin V.L., Georgescu A.M., Elliott J.M. Hu P., Worsham P.L., Ott L.L., Slezak T.R., Sokhansanj B.A., Regala W.M., Brubaker R.R., Garcia E. Genetic variability of *Yersinia pestis* isolates as predicted by PCR–based IS100 genotyping and analysis of structural genes encoding glycerol–3–phosphate dehydrogenase (glpD). *J. Bacteriol.* 2002; 184(4):1019–27. DOI: 10.1128/jb.184.4.1019-1027.2002.

10. Куклев Е.В., Куклева Л.М., До Тхунг. Характеристика штаммов чумного микроба, выделенных на плато ТайНгуйен (Вьетнам) в 1990 году. В сб. работ: Тропцентр-91. М.: ЮНИФИР;

1992. С. 253–5.

11. Филиппов А.А., Солодовников Н.С., Куклева Л.М., Проценко О.А. Изучение плазмидного состава штаммов возбудителя чумы из разных природных очагов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1992; 69(3):10–3.

12. Шведун Г.П., Савостина Е.П., Можаров О.Т., Плотников О.П. Плазмидный спектр штаммов чумного микроба из Вьетнама. В кн.: Актуальные проблемы профилактики особо опасных и природно-очаговых инфекционных болезней. Саратов; 1994. С. 173.

13. Guiyoule A., Grimont F., Iteman I. Grimont P.A., Lefèvre M., Carniel E. Plague pandemics investigated by ribotyping of *Yersinia pestis* strains. *J. Clin. Microbiol.* 1994; 32(3):634–41. PMID: 8195371. PMCID: PMC263099.

14. Сучков И.Ю., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Арутюнов Ю.И., Шишияну М.В., Мишанькин Б.Н. VNTR-генотипы в коллекции природных штаммов *Yersinia pestis* из республики Вьетнам. В кн.: Современные технологии в диагностике особо опасных инфекционных болезней. Саратов; 2003. С. 177–80.

15. Куклева Л.М., Никифоров К.А., Альхова Ж.В., Романов Н.И., Носов Н.Ю., Фадеева А.В., Малахаева А.Н., Шарапова Н.А., Девдариани З.Л., Попов Ю.А., Ерошенко Г.А. Молекулярно-генетические и фенотипические особенности штаммов возбудителя чумы, выделенных во Вьетнаме. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; 4:45–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-4-45-49.

16. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика особо опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.

17. Kado C., Liu S. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol*. 1981; 145(3):365–73. PMID: 7009583. PMCID: PMC217141.

References

1. Cavanaugh D.C., Dangerfield H.G., Hunter D.H., Joy R.J., Marshall Jr J.D., Quy D.V., Vivona S., Winter P.E. Some observations on the current plague outbreak in the Republic of Vietnam. *Amer. J. Public. Health*. 1968; 58(4):42–52. DOI: 10.2105/ajph.58.4.742.

2. Velimirovic B. Investigations on the epidemiology and control of plague in South Vietnam. Part I, II. *Zentralbl. Bakteriol. Orig. A.* 1974; 228(4):482–532. PMID: 4155202.

3. Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3. DOI: 10.1038/ng.705.

4. Kas'yan A.F., Dao Suan Vinn, Bobrov A.G. [Characteristics of certain biological properties of plague agent strains circulating in Vietnam]. In: Korzun L.P., editor. [Ecological and Epizootiological Aspects of Plague in Vietnam]. M: "GEOS"; 2003. P. 96–8.

5. Sludsky A.A., Li Thi Vi Khyong, Kas'yan A.F., Dang Tuan Dat, Matrosov A.N., Dao Suan Vinn, Mayorov N.V., Suntsov V.V. [Current epidemic activity of anthropogenic plague foci on the Plateau Thai Nguyen]. In: Korzun L.P., editor. [Ecological and Epizootiological Aspects of Plague in Vietnam]. M: "GEOS"; 2003. P. 10–2.

6. Pham H., Dang D., Minh N.N.T., Nguyen N.D., Nguyen T.V. Correlates of environmental factors and human plague: an ecological study in Vietnam. *Intern. J. Epidemiol.* 2009; 38(6):1634–41. DOI: 10.1093/ije/dyp244.

7. Suntsov V.V., Suntsova N.I., Matrosov A.N., Kuznetsov A.A., Dang Tuan Dat, Lyong Thi Mo, Sludsky A.A., Kouklev E.V., Tarasov M.A., Kas'yan I.A., Mayorov N.V., Astakhova T.S. [Anthropourgic foci of plague in Vietnam: past and present]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2014; (4):29–35. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-4-29-35.

8. Akiev A.K., Varshavsky S.N., Kozakevich V.P. [Natural focality of plague in South-Eastern Asia (Vietnam)]. In: Soldatkin I.S., editor. [Epidemiology and Prophylaxis of Plague and Cholera]. Saratov; 1983. P. 43–52.

9. Motin V.L., Georgescu A.M., Elliott J.M. Hu P., Worsham P.L., Ott L.L., Slezak T.R., Sokhansanj B.A., Regala W.M., Brubaker R.R., Garcia E. Genetic variability of *Yersinia pestis* isolates as predicted by PCR–based IS100 genotyping and analysis of structural genes encoding glycerol–3–phosphate dehydrogenase (glpD). *J. Bacteriol.* 2002; 184(4):1019–27. DOI: 10.1128/jb.184.4.1019-1027.2002.

10. Kouklev E.V., Kukleva L.M., Do Thuong [Characteristics of plague microbe strains isolated on the Plateau Thai Nguyen (Vietnam) in 1990]. In the Collection of Works: [Tropical Center-91]. M.: "UNIFIR"; 1992. P. 253–55.

11. Filippov A.A., Solodovnikov N.S., Kukleva L.M., Protsenko O.A. [Studies of plasmid composition of plague agent strains from different natural foci]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 1992; 69(3):10–3.

12. Shvedun G.P., Savostina E.P., Mozharov O.T., Plotnikov O.P. [Plasmid specter of plague microbe strains from Vietnam]. In: [Relevant Issues of Prevention of Particularly Dangerous and Natural-Focal Infectious Diseases]. Saratov; 1994. P. 173.

13. Guiyoule A., Grimont F., Iteman I. Grimont P.A., Lefèvre M., Carniel E. Plague pandemics investigated by ribotyping of *Yersinia pestis* strains. *J. Clin. Microbiol.* 1994; 32(3):634–41. PMID: 8195371. PMCID: PMC263099.

14. Suchkov I.Yu., Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Arutyunov Yu.I., Shishiyanu M.V., Mishan'kin B.N. VNTR-genotypes in the collection of natural *Yersinia pestis* strains from the Republic of Vietnam. In: [Modern Technologies in Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases]. Saratov 2003. P. 177–80.

15. Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'khova Z.V., Romanov N.I., Nosov N.Y., Fadeeva A.V., Malakhaeva A.N., Sharapova N.A., Devdariani Z.L., Popov Y.A., Eroshenko G.A. Molecular-genetic and phenotypic peculiarities of plague agent strains isolated in Vietnam. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; 4:45–49. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-4-45-49.

16. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. Laboratory Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases. Practice Guidelines. M.: CJSC "Shiko" 2013: 560 p.

17. Kado C., Liu S. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol*. 1981; 145(3):365–73. PMID: 7009583. PMCID: PMC217141.

Authors:

Nikiforov K.A., Kukleva L.M., Al'khova Zh.V., Oglodin E.G., Makashova M.A., Naryshkina E.A., Guseva N.P., Eroshenko G.A., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Dang Hong Chien, Vo Viet Kyong. Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center. Hanoi, Vietnam.

Lyong Thi Mo. Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center (Southern Branch). Ho Chi Minh, Vietnam.

Об авторах:

Никифоров К.А., Куклева Л.М., Альхова Ж.В., Оглодин Е.Г., Макашова М.А., Нарышкина Е.А., Гусева Н.П., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Dang Hong Chien, Vo Viet Kyong. Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр. Вьетнам, Ханой, СРВ 63 Нгуен Ван Хуен, Кау Зяй.

Lyong Thi Mo. Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр (Южное отделение). Вьетнам, Хо Ши Мин, 3, ул. 3/2, район 10.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-108-114

УДК 616.98:578.833.2(571.54/55)

А.О. Туранов[1], А.Я. Никитин[2], Е.И. Андаев[2], С.В. Балахонов[2], Н.И. Шашина[3]

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ТЕРРИТОРИИ ЗАБАЙКАЛЬСКОГО КРАЯ ПО ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ КЛЕЩЕВЫМ ВИРУСНЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ

[1]ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Забайкальском крае», Чита, Российская Федерация;
[2]ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт», Иркутск, Российская Федерация;
[3]ФБУН «Научно-исследовательский институт Дезинфектологии», Москва, Российская Федерация

Цель исследования – провести дифференциацию административных районов Забайкальского края в период спада заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом (КВЭ) на группы эпидемиологического риска и охарактеризовать их по объему мер специфической и неспецифической профилактики. **Материалы и методы.** Ретроспективный анализ эпидемиологической обстановки по КВЭ основан на данных формы № 2 статистической отчетности «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за 2009–2019 гг. и других материалах Управления Роспотребнадзора по Забайкальскому краю. Путем расчета 95 % доверительного интервала для среднемноголетних показателей числа случаев КВЭ за 10-летний период в муниципальных образованиях края и оценки принадлежности отклоняющихся значений к исследуемой совокупности проведена разбивка районов на группы с различным уровнем эпидемиологического риска. **Результаты и обсуждение.** Из 32 районов Забайкальского края 24 являются эндемичными по КВЭ. Последние разделены на пять групп: с очень высоким показателем эпидемиологического риска (2 района), с высоким (5), средним (8) и низким (8), а также административный центр субъекта, который по всему комплексу показателей (проявление болезни, плотность населения, факторы направленного снижения КВЭ, социально-бытовые и экономические условия) не может рассматриваться совместно с другими МО. Каждая группа районов охарактеризована по числу случаев и инцидентности КВЭ, обращаемости людей, пострадавших от присасывания клещей, в медицинские организации, объемам вакцинации, серопрофилактики, площадям акарицидных обработок. Даны рекомендации по необходимому комплексу и объемам мер профилактики КВЭ в группах административных районов, различающихся по уровню эпидемиологического риска.

Ключевые слова: клещевой вирусный энцефалит, заболеваемость, дифференциация территорий, эпидемиологические риски.

Корреспондирующий автор: Никитин Алексей Яковлевич, e-mail: nikitin_irk@mail.ru.

Для цитирования: Туранов А.О., Никитин А.Я., Андаев Е.И., Балахонов С.В., Шашина Н.И. Дифференциация территории Забайкальского края по заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:108–114. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-108-114

Поступила 20.04.20. *Отправлена на доработку* 14.05.20. *Принята к публ.* 20.05.20.

A.O. Turanov[1], A.Ya. Nikitin[2], E.I. Andaev[2], S.V. Balakhonov[2], N.I. Shashina[3]

Differentiation of Transbaikal Territory by Tick-Borne Viral Encephalitis Incidence

[1]Center of Hygiene and Epidemiology in Transbaikal Territory, Chita, Russian Federation;
[2]Irkutsk Research Anti-Plague Institute, Irkutsk, Russian Federation;
[3]Research Institute of Disinfectology, Moscow, Russian Federation

Abstract. **Objective** of the study was to differentiate the Administrative Districts of the Transbaikal Territory at the time of Tick-borne viral encephalitis (TBVE) incidence recession by epidemiological risk groups and to characterize them by volume of specific and nonspecific preventive measures. **Materials and methods.** Retrospective analysis of TBVE epidemiological situation is based on the statistical reporting data "Information on infectious and parasitic diseases" in 2009–2019 and other materials of the Rospotrebnadzor Administration in the Transbaikal Territory. The clustering of areas with various levels of epidemiological risk was conducted by calculation of 95 % confidential interval for long-term annual average of TBVE cases in municipal units of the Territory over a decade and assessment of appurtenance of the deviating values to the aggregate under study. **Results and discussion.** Twenty four out of 32 districts of the Transbaikal Territory are endemic for TBVE. These areas are divided into five groups: with very high epidemiological risk (2 districts), high (5), medium (8), and low (8) risk respectively, as well as the administrative center of the constituent entity which by the whole complex of indicators (disease manifestation, population density, factors of targeted TBVE decrease, social-and-living and economical conditions) cannot be considered together with the rest of municipalities. Each group of the districts was characterized by the number of cases and TBVE incidence rates, medical aid seeking by persons who suffered from tick bites, vaccination volumes, seroprevention, areas of acaricide treatments. Recommendations are presented for the essential complex and scope of measures to prevent TBVE in the groups of administrative districts that differ by the level of epidemiological risk.

Key words: tick-borne viral encephalitis, incidence, differentiation of territories, epidemiological risks.

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

Corresponding author: Aleksey Ya. Nikitin, e-mail: nikitin_irk@mail.ru.

Citation: Turanov A.O., Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Balakhonov S.V., Shashina N.I. Differentiation of Transbaikal Territory by Tick-Borne Viral Encephalitis Incidence. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:108–114. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-108-114

Received 20.04.20. *Revised* 14.05.20. *Accepted* 20.05.20.

Nikitin A.Ya., ORCID: http://orcid.org/0000-0002-3918-7832
Andaev E.I., ORCID: http://orcid.org/0000-0002-6612-479X
Balakhonov S.V., ORCID: http://orcid.org/0000-0003-4201-5828
Shashina N.I., ORCID: http://orcid.org/0000-0003-2537-8926

Природные очаги клещевого вирусного энцефалита (КВЭ) известны на территории многих стран умеренной климатической зоны Евразийского континента [1–5]. По мнению ряда авторов, в период потепления климата, приводящего к изменению ареалов клещей-переносчиков КВЭ, опасность этой инфекции будет возрастать, а нозоареал – расширяться в северо-восточном направлении [6–8]. В настоящее время очевидно, что динамика заболеваемости КВЭ на территории отдельных стран имеет свои особенности [2, 3, 9, 10]. В Российской Федерации (РФ) в течение XXI в. наблюдается устойчивый тренд на снижение заболеваемости КВЭ [11]. Тем не менее, для здравоохранения РФ эта природно-очаговая инфекция остается одной из наиболее значимых. Ежегодно болезнь регистрируется в 43–56 субъектах, на территории которых проживает до 70 млн человек. Клинические проявления имеют место в среднем почти у 2 тыс. пострадавших от присасывания иксодовых клещей, сотни из которых становятся инвалидами, десятки случаев заканчиваются летальными исходами.

К значимым факторам риска заболеваемости КВЭ относятся резистентность и реактивность организма человека, географическое расположение района, численность, активность, а также вирусофорность иксодовых клещей и их прокормителей. Однако наиболее надежными и широко применяемыми критериями оценки активности природных очагов являются данные по регистрируемой заболеваемости и обращаемости населения по поводу присасывания клещей [12]. Дифференциация территорий субъектов по риску заболеваемости позволяет научно обоснованно подойти к выбору тактики и необходимых объемов мер профилактики КВЭ в муниципальных образованиях (МО), имеющих сходную инцидентность и общий вектор факторов эпидемиологического риска.

Забайкальский край относится к числу эндемичных по КВЭ субъектов, образующих в РФ кластер со средним для страны уровнем заболеваемости [11, 13]. Вместе с тем течение болезни в большинстве случаев характеризуется среднетяжелыми и тяжелыми формами и нередко заканчивается летальным исходом. Ранее проведена дифференциация территорий 32 МО Забайкальского края на пять групп по числу случаев КВЭ в каждом из районов для двух десятилетних периодов: 1993–2002 и 2003–2012 гг. [13]. В работе обосновывалось то, что десятилетние наблюдения пригодны для объективного ранжирования территорий по степени риска. Причем отмечалось, что за весь период исследований (1993–2012 гг.) на территории края не выявлен тренд к изменению числа случаев КВЭ. Однако после 2012 г. в Забайкальском крае началось достоверное ($P<0,01$) снижение числа случаев и инцидентности КВЭ (рис. 1). Соответственно, возникла необходимость актуализировать группировку МО по уровням эпидемиологического риска с учетом новых данных. Отметим, что в течение трех последних лет число случаев КВЭ в Забайкальском крае не изменяется, то есть достигнут некоторый паритет в характере проявления лоймопотенциала природных очагов и применяемых мер профилактики КВЭ. Изменение эпидемиологической ситуации в ближайшее время зависит как от действия внешних меняющихся факторов (климат, ареал переносчика и др.), так и от тактики профилактики инфекции.

Цель исследования – провести дифференциацию административных районов Забайкальского края в период спада заболеваемости КВЭ на группы эпидемиологического риска и охарактеризовать их по объему мер специфической и неспецифической профилактики.

Материалы и методы

Забайкальский край включает 32 муниципальных образования, из них 24 являются эндемичными по КВЭ. Ретроспективный анализ эпидемиологической ситуации по КВЭ в Забайкальском крае проведен на основе материалов формы № 2 статистической отчетности «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за 2003–2019 гг. Кроме того, проанализированы среднемноголетние показатели (СМП) обращаемости населения за медицинской помощью в связи с присасыванием клещей, данные о вирусофорности переносчика, количеству привитых людей, а также сведения об объемах противоклещевых обработок, собранные специалистами Роспотребнадзора.

Для выделения групп МО, значимо различающихся по числу случаев КВЭ, использован расчет

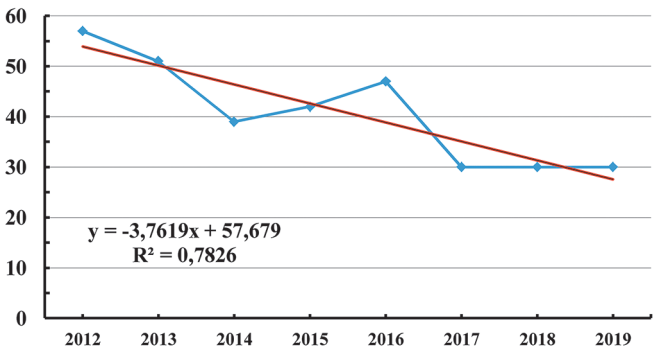


Рис. 1. Изменение числа случаев КВЭ в Забайкальском крае в 2012–2019 гг.

Fig. 1. Changes in the number of TBVE cases in Transbaikal Territory in 2012–2019

95 % доверительного интервала (ДИ), а также применен непараметрический метод оценки принадлежности отдельных «выпадающих» значений к исследуемой совокупности [13, 14]. Проанализирован период заболеваемости КВЭ за 2009–2018 гг. Кроме абсолютных значений, учитывались данные по инцидентности КВЭ, приведенные в расчете на 100 тыс. населения ($^0/_{0000}$), а также обращаемости людей, пострадавших от присасывания клещей, в медицинские организации в расчете на 10 тыс. населения ($^0/_{000}$).

Статистическая обработка материалов (нахождение СМП, статистических ошибок, ДИ, оценка принадлежности «выпадающих» значений выборке) проведена стандартными методами биометрии в программе Excel [14–16].

Результаты и обсуждение

Данные по числу случаев и инцидентности КВЭ у населения Забайкальского края на территориях всех МО за 2009–2018 гг. приведены в табл. 1. За весь период зарегистрировано 426 больных. В соответствии с разработанным алгоритмом дифференциации МО по группам эпидемиологического риска [13] на первом этапе в отдельную группу выделено восемь районов, относящихся к неэндемичным (код $\Г_0$ в табл. 1). Площадь территорий МО из группы $\Г_0$ составляет 146924 км^2. В этих районах проживает около 128 тыс. человек. За 10 лет здесь зарегистрировано пять случаев КВЭ, которые связаны с инфицированием людей вне зоны проживания. МО группы $\Г_0$ расположены на севере Забайкальского края и вдоль его границы с Монголией и Китаем (рис. 2). Вне сомнения, пространственная кластеризация всех МО из одной группы риска указывает на ведущую роль ландшафтных и климатических факторов в формировании в них определенного типа эпидемического процесса (в данном случае отсутствия заболеваемости). Причиной неэндемичности по КВЭ северных территорий Забайкальского края (9 и 24) является недостаток в летний период тепла для развития популяций таежных клещей – основных переносчиков возбудителей этой инфекции в Сибири. Случаи присасывания переносчиков к людям регистрируются не каждый год и в небольшом количестве. Причиной неэндемичности юго-восточных открытых степных территорий края (№ 8, 12, 14, 18, 20, 22) является их излишняя для обитателей таежных ландшафтов сухость.

В дополнение к ранее использованному алгоритму [13] в этой работе в отдельную группу ($\Г_4$) по уровню эпидемиологического риска выделен административный центр – Чита, так как по комплексу показателей (плотность населения, вероятность контакта населения с переносчиком, факторы направленного снижения заболеваемости, социально-бытовые и экономические условия) он не может рассматриваться совместно с другими МО. Необходимость формирования группы $\Г_4$ следует и из анализа абсолютного числа больных и инцидентности КВЭ: по первому показателю Чита уступает лишь Петровск-Забайкальскому району, по второму – приближается к минимальным для всего края показателям (табл. 1).

На следующем этапе процедуры дифференциации территории Забайкальского края по эпидемиологическим рискам выделено два района (Петровск-Забайкальский и Красночикойский), которые по числу случаев КВЭ статистически достоверно ($P<0,01$) отличаются от остальных эндемичных МО (табл. 1). Эти два района формируют группу $\Г_5$ с очень высокой заболеваемостью.

Завершающим этапом дифференциации является разбивка с применением метода расчета 95 % ДИ оставшихся МО на три группы. В результате проведенной процедуры восемь МО отнесены к группе с низкой заболеваемостью (группа $\Г_1$ – не более 6 случаев КВЭ за 10 лет); восемь МО вошли в кластер со средним уровнем заболеваемости ($\Г_2$ – от 7 до 13 случаев); пять МО отнесены к территориям высокого эпидемиологического риска ($\Г_3$ – более 13 случаев КВЭ за 10 лет).

Таким образом, все МО Забайкальского края разбиты на шесть групп. Ниже более подробно охарактеризованы пять групп эндемичных районов, в том числе по факторам направленного снижения заболеваемости КВЭ (табл. 2).

Группа МО $\Г_1$ (№ 1–3, 5, 7, 10, 15, 28 в табл. 1 и на рис. 2) – с низким уровнем эпидемиологического риска, включает 8 районов с общей площадью 59340 км^2, где проживает около 178 тыс. жителей. Всего на территории МО $\Г_1$ выявлено 27 случаев КВЭ (2009–2018 гг.), средняя инцидентность составила (2,2±0,74) $^0/_{0000}$. Больные в МО группы $\Г_1$ регистрируются не каждый год. Во всех административных районах этой группы случаи КВЭ проявляются реже шести раз за 10 лет. На территории МО $\Г_1$ в медицинские учреждения в среднем ежегодно обращаются 8,7 $^0/_{000}$ лиц, пострадавших от присасывания клещей (табл. 2). Суммарно за год вакцинируются от КВЭ около 7700 жителей МО $\Г_1$ (СМП 962,5), серопрофилактику провели 740 пострадавшим от присасывания клещей (СМП 92,9). Акарицидные обработки выполняются на 159 га территорий МО $\Г_1$ (СМП 19,9 га). На территориях МО группы $\Г_1$ эпидемиологическая обстановка является относительно благополучной, так как популяции таежных клещей находятся в условиях излишней сухости лесостепных и степных ландшафтов. Акарицидные обработки должны проводиться в небольших объемах, после тщательного анализа ранее выявленных мест обитания клещей рода *Ixodes*.

В МО $\Г_2$ (8 районов с № 6, 11, 16, 17, 23, 25, 27, 30 в табл. 1 и на рис. 2) со средним уровнем эпидемиологического риска за 10 лет выявлено 78 случаев КВЭ при СМП инцидентности (6,2±1,34) $^0/_{0000}$ Уровень заболеваемости КВЭ в МО $\Г_2$ достоверно выше, чем в МО $\Г_1$. Число жителей МО $\Г_2$ состав-

Таблица 1 / Table 1

Число случаев и инцидентность КВЭ в муниципальных образованиях Забайкальского края, входящих в пять групп эпидемиологического риска (2009–2018 гг.)

Number of cases and TBVE incidence in the municipal units of Transbaikal Territory, falling into five clusters according to epidemiological risk level (2009–2018)

№ пп Order No	Название района Municipality	Число случаев КВЭ Number of TBVE cases	Код группы риска (по числу случаев КВЭ)* Code of Risk group (by the number of cases)*	Инцидентность КВЭ TBVE incidence	№ пп Order No	Название района Municipality	Число случаев КВЭ Number of TBVE cases	Код группы риска (по числу случаев КВЭ)* Code of Risk group (by the number of cases)*	Инцидентность КВЭ TBVE incidence
1	Агинский Aginsky	4	$Г_1$	1,1	17	Нерчинский Nerchinsky	12	$Г_2$	4,3
2	Акшинский Akshinsky	3	$Г_1$	2,8	18	Нерчинско-Заводский Nerchinsko-Zavodsky	0	$Г_0$	0,0
3	Александрово-Заводский Aleksandrovo-Zavodsky	6	$Г_1$	7,1	19	Оловяннинский Olovyanninsky	20	$Г_3$	5,7
4	Балейский Baleisky	17	$Г_3$	8,5	20	Ононский Ononsky	2	$Г_0$	1,9
5	Борзинский Borzinsky	2	$Г_1$	0,4	21	Петровск-Забайкальский Petrovsk-Zabaikalsky	81	$Г_5$	22,0
6	Газимуро-Заводский Gazimuro-Zavodsky	11	$Г_2$	11,7	22	Приаргунский Priargunsky	1	$Г_0$	0,5
7	Дульдургинский Dal'durginsky	3	$Г_1$	2,1	23	Сретенский Sretensky	8	$Г_2$	3,5
8	Забайкальский Transbaikal	1	$Г_0$	0,5	24	Тунгиро-Олёкминский Tungiro-Olekminsky	1	$Г_0$	7,2
9	Каларский Kalarsky	0	$Г_0$	0,0	25	Тунгокоченский Tungokochensky	10	$Г_2$	7,7
10	Калганский Kalgansky	2	$Г_1$	2,2	26	Улётовский Uletovsky	25	$Г_3$	11,3
11	Карымский Karymsky	8	$Г_2$	2,3	27	Хилокский Khiloksky	9	$Г_2$	3,0
12	Краснокаменский Krasnokamensky	0	$Г_0$	0,0	28	Чернышевский Chernyshevsky	4	$Г_1$	1,2
13	Красночикойский Krasnochikoisky	59	$Г_5$	30,5	29	Читинский Chitinsky	27	$Г_3$	4,2
14	Кыринский Kyrinsky	0	$Г_0$	0,0	30	Шелопугинский Shelopuginsky	10	$Г_2$	11,8
15	Могойтуйский Mogoituisky	3	$Г_1$	1,1	31	Шилкинский Shilkinsky	16	$Г_3$	3,9
16	Могочинский Mogochinsky	10	$Г_2$	5,2	32	Чита Chita	71	$Г_4$	2,2

*Неэндемичные территории вошли в группу, обозначенную $Г_0$; группа $Г_1$ (низкая заболеваемость) включает МО с числом случаев КВЭ от 1 до 6; $Г_2$ (средняя заболеваемость) – МО с числом случаев КВЭ от 7 до 13; $Г_3$ (высокая заболеваемость) – МО с числом случаев более 13; $Г_4$ – административный центр субъекта, который по всему комплексу показателей (проявление болезни; плотность населения; факторы направленного снижения КВЭ; социально-бытовые и экономические условия) не может рассматриваться совместно с другими МО; $Г_5$ (очень высокая заболеваемость) – два МО достоверно отличающиеся по числу случаев КВЭ от остальных эндемичных районов (см. текст).

*Non-endemic territories were included into G_0 cluster; G_1 group (low incidence rates) comprises municipalities with the number of TBVE cases amounting to 1–6; G_2 (medium level of incidence) – number of TBVE cases is between 7 and 13; G_3 (high incidence) – more than 13 cases of TBVE; G_4 – administrative center of the constituent entity which by the whole complex of indicators (disease manifestation, population density, factors of targeted TBVE decrease, social-and-living and economical conditions) cannot be considered together with the rest of municipalities; G_5 (very high incidence) – two municipal units that statistically differ from other endemic regions by the number of TBVE cases (see text).

ляет около 547 тыс. человек, которые проживают на площади в 138 тыс. км^2. В течение 10 лет в шести районах МО $Г_2$ (т.е. в 75 % из них) регистрировали шесть и более случаев КВЭ и только в двух – менее шести. Ежегодно в группе МО $Г_2$ суммарно прививают от КВЭ около 8200 человек (СМП 1025,0), а серопрофилактику провели для 670 пострадавших от присасывания клещей (СМП 83,7) (табл. 2). Суммарная площадь акарицидных обработок составляет 189 га в год. На территориях МО $Г_2$ присутствуют лесные массивы. Противоклещевые обработки должны проводиться на участках, где наиболее вероятен контакт людей с клещами. Обычно к ним относят летние оздоровительные учреждения, особенно детские. Санитарно-эпидемиологическая служба Забайкальского края на основе анализа динамики числа случаев присасывания клещей к людям может судить о достаточности проводимых мероприятий по неспецифической профилактике.

Группа МО $Г_3$ (№ 4, 19, 26, 29, 31 по табл. 1 и рис. 2) – с высокой степенью эпидемиологического риска, включает в себя пять административных районов общей площадью 49968 км^2, где проживает около 454 тыс. человек. За десять лет на этой

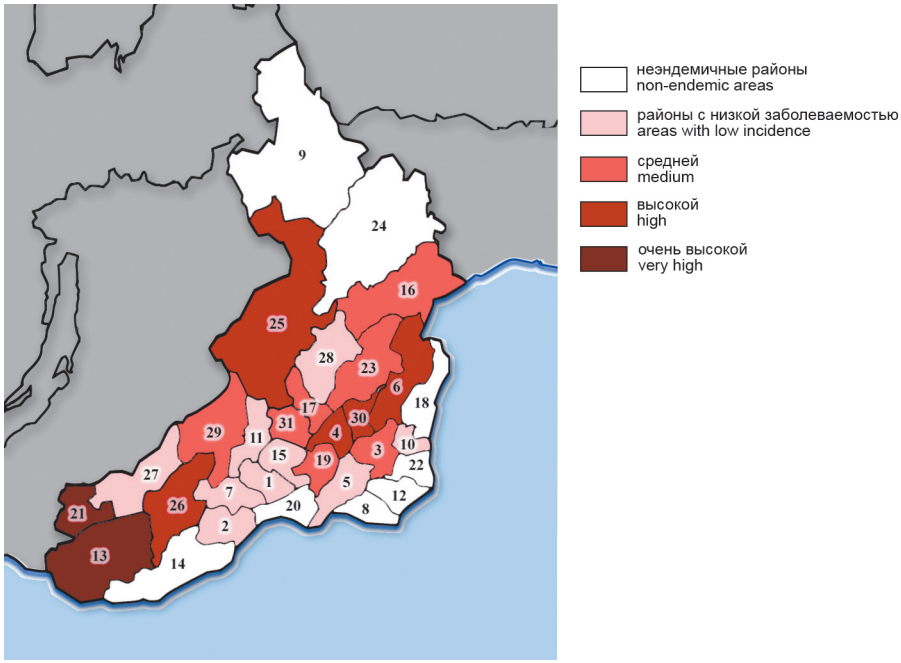


Рис. 2. Карта-схема расположения МО Забайкальского края с различной инцидентностью КВЭ. Цифры соответствуют номерам районов по табл. 1

Fig. 2. Location of municipal units with different TBVE incidence across Transbaikal Territory. Figures correspond to order No of areas in Table1

территории отмечено 105 случаев КВЭ. СМП заболеваемости составляет (6,7±1,41) $^0/_{0000}$. Во всех МО $Г_3$ за 10 лет наблюдалось более шести случаев КВЭ. Ежегодно в МО $Г_3$ прививают от КВЭ 9600 человек (СМП 1940,0), а серопрофилактику провели 608 пострадавшим от присасывания клещей (СМП 121,6) (табл. 2). СМП обращаемости в медицинские организации равен 11,3 $^0/_{000}$. Акарицидные обработки проводятся на площади в 612 га, что в относительных показателях значительно больше, чем в группах $Г_1$ и $Г_2$ (табл. 2). На территориях МО из группы $Г_3$ в связи с более частыми контактами людей с таежными клещами и, соответственно, высоким риском заражения людей, еще более важно правильно выбрать участки под противоклещевые обработки.

В группу $Г_4$ включен административный центр – Чита (№ 32 по табл. 1), с численностью населения 320 тыс. Несмотря на то, что здесь ежегодно выявляют больных КВЭ (71 случай за 10 лет) и много случаев обращения в медицинские учреждения лиц, пострадавших от присасывания клещей (333,4 $^0/_{000}$), инцидентность болезни является не высокой (табл. 1). Одной из причин этого могут быть особые условия краевого центра: достаточно развитая система здравоохранения и Роспотребнадзора, наличие учреждений, занимающихся неспецифической профилактикой, а также гигиеническая грамотность населения. Так, СМП серопрофилактики, вакцинации и площади акарицидных обработок в $Г_4$ самые высокие в Забайкальском крае (табл. 2). Тем не менее, в отличие от всей территории края, в Чите отсутствует тренд на снижение числа случаев КВЭ. Возможно, это связано с отмеченной во многих городах северного полушария тенденцией проникновения клещей рода *Ixodes* в парки, лесопарки, на кладбища и другие территории, являющиеся подобием таежных и лесных массивов, где возрастает число контактов переносчика с людьми [17].

МО группы $Г_5$ – с очень высоким эпидемиологическим риском (№ 13 и 21 по табл. 1 и рис. 2), характеризуются самым большим числом случаев КВЭ, которые регистрируются ежегодно. К МО группы $Г_5$ относится только два района: Петровск-Забайкальский и Красночикойский. За время наблюдений на территории МО $Г_5$ заболело КВЭ 140 человек. Инцидентность составляет (26,3±4,25) $^0/_{0000}$, что достоверно выше, чем во всех других МО. Общая площадь двух районов 37400 км^2, на их территории проживает около 48 тыс. человек. Районы находятся на юге Забайкальского края и граничат друг с другом (рис. 2). Следовательно, очень высокие эпидемиологические риски на их территории, вероятнее всего, связаны с природно-климатическими особенностями, благоприятными для популяций таежного клеща. Сумма по СМП вакцинируемых ежегодно в МО группы $Г_5$ составляет около 4200 человек (СМП 2100,0), а серопрофилактику проводят в среднем 172 пострадавшим от присасывания клещей (СМП 85,8) (табл. 2). Однако, учитывая, что людей, пострадавших от присасывания клещей, в относительных показателях на территории МО группы $Г_5$ почти на порядок больше, чем в МО из $Г_1$–$Г_3$ (табл. 2), можно утверждать, что проводимых объемов профилактических мер явно недостаточно. Этот вывод относится и к мерам неспецифической профилактики. Так, суммарная площадь акарицидных работ по СМП ежегодных обработок (46,4 га) составляет 93 га, что меньше, чем в группе с более низким эпидемиологическим риском ($Г_3$ по табл. 2). Тем не менее в Петровск-Забайкальском МО выявлено достоверное ($P<0,01$) снижение числа случаев КВЭ за 2012–2018 гг., в то время как в Красночикойском МО подобный тренд отсутствует.

Резюмируя проведенный анализ, отметим, что в МО из групп $Г_0$–$Г_2$ эпидемиологическая ситуация по КВЭ устойчивая и не вызывает необходимости пе-

Таблица 2 / Table 2

Среднемноголетние показатели факторов, направленно влияющих на заболеваемость КВЭ в муниципальных образованиях Забайкальского края с разным уровнем эпидемиологического риска

Long-term annual average indicators (LTAA) of the factors directly affecting TBVE incidence in municipal units (MU) of Transbaikal Territory with different level of epidemiological risk

Код группы МО / Code of MU group	СМП пострадавших от присасывания клещей в расчете на 10 тыс. жителей (‰) LTAA of people exposed to tick bites per 10 thousand of the population (‰)	СМП числа людей, проходящих серопрофилактику после присасывания клеща LTAA of the number of persons receiving seroprevention treatment after tick bite	СМП числа людей, вакцинируемых от КВЭ за год LTAA of the number of persons vaccinated against TBVE annually	СМП площади акарицидных обработок (га) LTAA of the area of acaricide treatments (Ha)
$Г_1$ / G_1	8,7	92,9	962,5	19,9
$Г_2$ / G_2	7,9	83,7	1025,0	23,7
$Г_3$ / G_3	11,3	121,6	1940,0	122,4
$Г_4$ / G_4	19,7	540,1	5500,0	333,4
$Г_5$ / G_5	70,7	85,8	2100,0	46,4

ресматривать объемы и тактику профилактических мероприятий. Вероятно, к категории МО, где проведение профилактических мероприятий адекватно существующей эпидемиологической обстановке, следует отнести и Читу ($Г_4$), так как инцидентность КВЭ не высока (табл. 1).

Эпидемиологические риски, сформировавшиеся в МО из групп $Г_3$ и особенно $Г_5$, вызывают большую настороженность. На территории этих районов необходимо проведение дополнительного эпидемиологического и эпизоотологического анализа для выбора более адекватных профилактических мероприятий. Отметим, что особая настороженность в отношении заболеваемости КВЭ в Красночикойском районе высказана нами ранее [13] в период начала ухудшения эпидемиологической обстановки в этом МО. Отмечено, что район развивается преимущественно в сельскохозяйственном направлении, трудовая занятость населения низкая, существуют высокие риски контакта людей с переносчиком, особенно в период активного сбора дикоросов. С тех пор социальная и экономическая составляющие жизни населения этого МО мало изменились и снижения заболеваемости КВЭ не наблюдается. Таким образом, для понимания причин и принятия управленческих решений по регулированию мер профилактики в МО $Г_3$–$Г_5$ недостаточно изучить характер действия факторов направленного снижения заболеваемости КВЭ (табл. 2) или активности природного очага инфекции – не менее важен анализ социально-экономических условий жизни населения района и работы учреждений здравоохранения.

В целом предлагаем следующие рекомендации по специфической и неспецифической профилактике КВЭ на территории Забайкальского края.

В районах, относящихся к группе с высоким эпидемиологическим риском ($Г_5$) – Петровск-Забайкальском и Красночикойском – проводить массовую вакцинацию против КВЭ всего детского и взрослого населения (не менее 95 %) и экстренную иммуноглобулинопрофилактику, в районах с высоким, средним и низким эпидемиологическим риском проводить вакцинацию группам риска и экстренную иммуноглобулинопрофилактику. Объемы акарицидных обработок должны возрастать в соответствии с уровнем риска заражения по группам территорий (от $Г_1$ до $Г_5$).

На всей территории края все население должно быть информировано об опасности заболевания КВЭ, путях передачи возбудителя, о биологических особенностях таежных клещей – основных переносчиков возбудителей опасной инфекции, способах защиты от их присасывания, рисков заражения различными сопутствующими инфекциями и о современных средствах индивидуальной защиты (аэрозолях для обработки одежды и специальной защитной одежде).

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

Список литературы

1. Злобин В.И., Рудаков Н.В., Малов И.В. Клещевые трансмиссивные инфекции. Новосибирск: Наука; 2015. 224 с.

2. Чернохаева Л.Л., Холодилов И.С., Пакскина Н.Д. Современный ареал клещевого энцефалита в Российской Федерации. *Труды института полиомиелита и вирусных энцефалитов имени М.П. Чумакова РАМН. Медицинская вирусология*. 2016; 30(1):6–22.

3. Dobler G., Erber W., Schmitt H.-J., editors. The TBE book. Singapore: Global Health Press; 2018. 304 p.

4. Valarcher J.F., Hägglund S., Juremalm M., Blomqvist G., Renström L., Zohari S., Leijon M., Chirico J. Tick-borne encephalitis. *Rev. Sci. Tech*. 2015; 34(2):453–66. DOI: 10.20506/rst.34.2.2371.

5. Ruo-Xi Sun, Sheng-Jie Lai, Yang Yang, Xin-Lou Li, Kun Liu, Hong-Wu Yao, Hang Zhou, Yu Li, Li-Ping Wang, Di Mu, Wen-Wu Yin, Li-Qun Fang, Hong-Jie Yu, Wu-Chun Cao. Mapping the distribution of tick-borne encephalitis in mainland China. *Ticks Tick borne Dis.* 2017; 8(4):631–39. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2017.04.009.

6. Hay S.I., Tatem A.J., Graham A.J., Goetz S.J., Rogers D.J. Global environmental data for mapping infectious disease distribution. *Adv. Parasitol*. 2006; 62:37–77. DOI: 10.1016/S0065-308X(05)62002-7.

7. Jaenson T.J.T., Jensen J.K. Records of ticks (*Acari*, *Ixodidae*) from the Faroe Islands. *Norw. J. Entomol*. 2007; 54:11–5.

8. Randolph S.E., Rogers D.J. Tick-borne disease systems: mapping geographic and phylogenetic space. *Adv. Parasitol*. 2006; 62:263–91. DOI: 10.1016/S0065-308X(05)62008-8.

9. Riccardi N., Antonello R.M., Luzzati R., Zajkowska J., Di Bella S., Giacobbe D.R. Tick-borne encephalitis in Europe: a brief update on epidemiology, diagnosis, prevention, and treatment. *Eur. J. Intern. Med*. 2019; 62:1–6. DOI: 10.1016/j.ejim.2019.01.004.

10. Ruzek D., Avšič Županc T., Borde J., Chrdle A., Eyer L., Karganova G., Kholodilov I., Knap N., Kozlovskaya L., Matveev A., Miller A. D., Osolodkin D. I., Overby A. K., Tikunova N., Tkachev S., Zajkowska J. Tick-borne encephalitis in Europe and Russia: Review of pathogenesis, clinical features, therapy, and vaccines. *Antiviral*

Res. 2019; 164:23–51. DOI: 10.1016/j.antiviral.2019.01.014.

11. Носков А.К., Никитин А.Я., Андаев Е.И., Пакскина Н.Д., Яцменко Е.В., Веригина Е.В., Иннокентьева Т.И., Балахонов С.В. Клещевой вирусный энцефалит в Российской Федерации: особенности эпидемического процесса в период устойчивого спада заболеваемости, эпидемиологическая ситуация в 2016 г., прогноз на 2017 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; 1:37–43. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-1-37-43.

12. Рудаков Н.В., Пеньевская Н.А., Савельев Д.А., Рудакова С.А., Штрек С.В., Андаев Е.И., Балахонов С.В. Дифференциация эндемичных территорий по уровням заболеваемости клещевыми трансмиссивными инфекциями как основа выбора стратегии и тактики профилактики. *Здоровье населения и среда обитания*. 2019; 12:56–61. DOI: 10.35627/2219-5238/2019-321-12-56-61.

13. Ильин В.П., Андаев Е.И., Балахонов С.В., Носков А.К., Туранов А.О. Алгоритм классификации муниципальных образований субъекта Российской Федерации, основанный на оценке доверительного интервала заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом (на примере Забайкальского края). *Acta Biomedica Scientifica*. 2013; 6:115–21.

14. Терентьев П.В., Ростова Н.С. Практикум по биометрии. Учебное пособие. Л.: Изд-во Ленинградского университета; 1977. 152 с.

15. Ивантер Э.В., Коросов А.В. Элементарная биометрия. Петрозаводск: ПетрГУ; 2013. 110 с.

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

17. Успенский И.В. Кровососущие клещи (*Acarina*, *Ixodoidea*) как существенный компонент городской среды. *Зоологический журнал*. 2017; 96(8): 871–98.

References

1. Zlobin V.I., Rudakov N.V., Malov I.V. [Tick-borne Transmissible Infections]. Novosibirsk: “Nauka”; 2015. 224 p.

2, Chernokhaeva L.L., Kholodilov I.S., Pakskina N.D. [Current distribution area of tick-borne encephalitis in the Russian Federation]. *Trudy Instituta Poliomielita i Virusnykh Entsefalitov Imeni M.P. Chumakova RAMN. Meditsinskaya Virusologiya [Proceedings of the Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis Named after M.P. Chumakov, RAMS. Medical Virology]*. 2016; 1:6–22.

3. Dobler G., Erber W., Schmitt H.-J., editors. The TBE book. Singapore: Global Health Press; 2018. 304 p.

4. Valarcher J.F., Hägglund S., Juremalm M., Blomqvist G., Renström L., Zohari S., Leijon M., Chirico J. Tick-borne encephalitis. *Rev. Sci. Tech*. 2015; 34(2):453–66. DOI: 10.20506/rst.34.2.2371.

5. Ruo-Xi Sun, Sheng-Jie Lai, Yang Yang, Xin-Lou Li, Kun Liu, Hong-Wu Yao, Hang Zhou, Yu Li, Li-Ping Wang, Di Mu, Wen-Wu Yin, Li-Qun Fang, Hong-Jie Yu, Wu-Chun Cao. Mapping the distribution of tick-borne encephalitis in mainland China. *Ticks Tick borne Dis.* 2017; 8(4):631–39. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2017.04.009.

6. Hay S.I., Tatem A.J., Graham A.J., Goetz S.J., Rogers D.J**.** Global environmental data for mapping infectious disease distribution. *Adv. Parasitol*. 2006; 62:37–77. DOI: 10.1016/S0065-308X(05)62002-7.

7. Jaenson T.J.T., Jensen J.K. Records of ticks (*Acari*, *Ixodidae*) from the Faroe Islands. *Norw. J. Entomol*. 2007; 54:11–5.

8. Randolph S.E., Rogers D.J. Tick-borne disease systems: mapping geographic and phylogenetic space. *Adv. Parasitol*. 2006; 62:263–91. DOI: 10.1016/S0065-308X(05)62008-8.

9. Riccardi N., Antonello R.M., Luzzati R., Zajkowska J., Di Bella S., Giacobbe D.R. Tick-borne encephalitis in Europe: a brief update on epidemiology, diagnosis, prevention, and treatment. *Eur. J. Intern. Med*. 2019; 62:1–6. DOI: 10.1016/j.ejim.2019.01.004.

10. Ruzek D., Avšič Županc T., Borde J., Chrdle A., Eyer L., Karganova G., Kholodilov I., Knap N., Kozlovskaya L., Matveev A., Miller A. D., Osolodkin D. I., Overby A. K., Tikunova N., Tkachev S., Zajkowska J. Tick-borne encephalitis in Europe and Russia: Review of pathogenesis, clinical features, therapy, and vaccines. *Antiviral Res*. 2019; 164:23–51. DOI: 10.1016/j.antiviral.2019.01.014.

11. Noskov A.K., Nikitin A.Ya, Andaev E.I., Pakskina N.D, Yatsmenko E.V., Verigina E.V., Innokent’eva I.I., Balakhonov S.V. [Tick-borne virus encephalitis in the Russian Federation: features of epidemic process in steady morbidity decrease period. Epidemiological condition in 2016 and the forecast for 2017]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; 1: 37–43. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-1-37-43.

12. Rudakov N.V., Pen’evskaya N.A., Savel’ev D.A., Rudakova S.A., Shtrek S.V., Andaev E.I., Balakhonov S.V. [Differentiation of endemic areas by the levels of morbilities of tick-borne infections as the basis for the choice of prevention strategy and tactics]. *Zdorovie Naseleniya i Sreda Obitaniya [Population health and Life Environment]*. 2019; 12:56–61.

13. Iljin V.P., Andaev E.I., Balakhonov S.V., Noskov A.K., Turanov A.O. [Algorithm classification of municipal unions of the Russian Federation region based on a confidential interval estimation of tick-borne encephalitis virus incidence (Transbaikal krai as an example)]. *Acta Biomedica Scientifica*. 2013; 6:115–21.

14. Terentiev P.V., Rostova N.S. [Workshop on Biometry. Handbook]. Leningrad: Publishing house of the Leningrad University; 1977. 152 p.

15. Ivanter E.V., Korosov A.V. [Elementary Biometry]. Petrozavodsk: “PetrGU”; 2013. 110 p.

16. Savilov E.D., Astaf’ev V.A., Zhdanova S.N., Zarudnev E.A. [Epidemiological Analysis: Methods of Statistical Processing of a Material]. Novosibirsk: “Nauka-Tsentr”; 2011. 156 p.

17. Uspensky I.V. [Blood-sucking ticks (Acarina, Ixodoidea) as an essential component of the urban environment]. *Zoologichesky Zhurnal [Russian Journal of Zoology]*. 2017; 8(96):871–98.

Authors:

Turanov A.O. Center of Hygiene and Epidemiology in Transbaikal Territory. 70, Leningradsksys St., Chita, 672000, Russian Federation. E-mail: cge@megalink.ru.

Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Balakhonov S.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Shashina N.I. Research Institute of Disinfectology. 18, Nauchy Proezd, Moscow, 117246, Russian Federation.

Об авторах:

Туранов А.О. Центр гигиены и эпидемиологии в Забайкальском крае. Российская Федерация; 672000, Чита, ул. Ленинградская, 70. E-mail: cge@megalink.ru.

Никитин А.Я., Андаев Е.И., Балахонов С.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Шашина Н.И. Научно-исследовательский институт Дезинфектологии. Российская Федерация, 117246, Москва, Научный проезд, 18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-115-121

УДК 616.9:616-07

Е.Г. Фомина, Е.Е. Григорьева, А.С. Владыко

РЕКОМБИНАНТНЫЕ РЕТРОВИРУСНЫЕ ЧАСТИЦЫ: ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В КАЧЕСТВЕ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ КОНТРОЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ ОПАСНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии», Минск, Республика Беларусь

Цель работы – разработка технологии получения положительных контрольных образцов на основе рекомбинантных ретровирусных частиц, а также ее применение при создании наборов реагентов для выявления РНК возбудителей опасных и особо опасных вирусных инфекций методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. **Материалы и методы**. Для выполнения исследований использованы молекулярно-биологические, генно-инженерные и иммунологические методы: полимеразная цепная реакция, рестрикция, лигирование, клонирование, трансформация, трансфекция и цитофлуориметрия. **Результаты и обсуждение**. Разработана и апробирована технология получения положительных контрольных образцов на основе рекомбинантных вирионов, включающая в себя создание генноинженерной конструкции на базе ретровирусного вектора с клонированной в него диагностической последовательностью вирусного генома; получение «пакующей» клеточной линии, продуцирующей химерные ретровирусные частицы; определение титра рекомбинантных вирионов методом проточной цитометрии и полимеразной цепной реакции; использование полученного на их основе препарата в качестве положительного контрольного образца при ПЦР-диагностике инфекционного агента. Технология использования ретровирусных векторов как носителей фрагментов РНК-геномных вирусов применена при разработке тест-систем для ПЦР-диагностики опасных и особо опасных вирусных инфекций, что позволило повысить эксплуатационные качества диагностических наборов и исключить на этапе их производства работу с концентрированными инфекционными агентами, относящимися к 3 и 4 группам риска по классификации ВОЗ (вирусы Ласса, клещевого энцефалита, лимфоцитарного хориоменингита и возбудители геморрагической лихорадки с почечным синдромом).

Ключевые слова: РНК-содержащие вирусы, молекулярно-генетическая диагностика, рекомбинантные ретровирусные частицы, положительный контрольный образец.

Корреспондирующий автор: Фомина Елена Георгиевна, e-mail: feg1@tut.by.

Для цитирования: Фомина Е.Г., Григорьева Е.Е., Владыко А.С. Рекомбинантные ретровирусные частицы: технология получения и использование в качестве положительных контрольных образцов для ПЦР-диагностики опасных вирусных инфекций. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:115–121. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-115-121

Поступила 01.04.20. *Отправлена на доработку* 18.04.20. *Принята к публ.* 15.06.20.

E.G. Fomina, E.E. Grigorieva, A.S. Vladyko

Recombinant Retroviral Particles: Technology of Poduction and Application as Positive Controls for PCR Diagnostics of Dangerous Viral Infections

Republican Research and Practical Center of Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

Abstract. **Objective.** Construction of positive control samples based on recombinant retroviral particles and their application in RT-PCR diagnostic assays for RNA detection of agents of dangerous and particularly dangerous viral infections. **Materials and methods.** Molecular biological, genetic engineering, and immunological methods were used: polymerase chain reaction, restriction, ligation, cloning, transformation, transfection, flow cytometry. **Results and discussion.** Technology of positive control samples producing based on recombinant virions has been developed and tested. It includes construction of retroviral vector with cloned diagnostic sequence of the viral genome; obtaining a packaging cell line producing chimeric retroviral particles; determination of recombinant virions titer by flow cytometry and polymerase chain reaction; application of the obtained preparation as a control sample for PCR diagnostics of infectious agents. Positive controls based on retroviral vectors as carriers of genomic RNA fragments of pathogenic viruses were used in the development of PCR diagnostic kits for dangerous and particularly dangerous viral infections. Their application increased the kits quality and made it possible to exclude the work with concentrated hazardous infectious agents (Lassa virus, tick-borne encephalitis virus, lymphocytic choriomeningitis virus, Puumala virus).

Key words: RNA-containing viruses; molecular-genetic diagnostics; recombinant retroviral particles; positive control

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

Corresponding author: Elena G. Fomina, e-mail: feg1@tut.by.

Citation: Fomina E.G., Grigorieva E.E., Vladyko A.S. Recombinant Retroviral Particles: Technology of Poduction and Application as Positive Controls for PCR Diagnostics of Dangerous Viral Infections. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:115–121. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-115-121

Received 01.04.20. *Revised* 18.04.20. *Accepted* 15.06.20.

Fomina E.G., ORCID: http://orcid.org/0000-0003-4664-4752
Grigorieva E.E., ORCID: http://orcid.org/0000-0003-3919-0625
Vladyko A.S., ORCID: http://orcid.org/0000-0001-6927-5043

Одним из основных методов молекулярной диагностики вирусных инфекций в последние годы стала полимеразная цепная реакция (ПЦР). Создание современных диагностических тест-систем для выявления геномов РНК-содержащих вирусов на основе метода полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) предполагает наличие в комплектации тест-системы положительного контрольного образца (ПКО).

В качестве положительных образцов могут быть использованы вируссодержащие биологические жидкости, транскрибированные *in vitro* молекулы РНК, ампликоны генов-мишеней и др. Однако их применение в лабораторной практике ограничивается рядом факторов. Использование в качестве ПКО культуры выявляемого возбудителя предполагает периодическую работу с биологически активными инфекционными агентами, включающую такие опасные процедуры, как наработка биомассы, концентрирование и очистка вируса. При этом в наборах реагентов, предназначенных для выявления и идентификации возбудителей опасных и особо опасных инфекций, такой вариант ПКО значительно уменьшает возможность применения данных диагностикумов вне специализированных лабораторий. Положительные образцы на основе комплементарной ДНК не могут эффективно использоваться в указанном качестве, так как не обеспечивают контроль этапа выделения генетического материала и стадии обратной транскрипции, что повышает риск получения ложноотрицательных результатов. Нестабильность контрольных образцов на основе вирусной РНК при их хранении и транспортировании ввиду чувствительности к действию РНКаз значительно ограничивает возможность применения препаратов подобного типа [1–3].

В последнее время все большее предпочтение отдается генно-инженерным контролям, созданным на основе бактериофагов и вирусов животных [4, 5]. Такие контроли обладают рядом преимуществ: они безопасны в сравнении с биологическими жидкостями, содержащими патогены; позволяют контролировать процесс выделения генетического материала, практически имитируя выделение генома микроорганизма из природного материала; при необходимости дают возможность сравнительной количественной оценки содержания патогена в исследуемой пробе; потенциально их можно стандартизировать по количеству генов-мишеней. Получение генно-инженерных положительных образцов особенно актуально, когда речь идет о вирусных агентах, для которых не разработаны адекватные методы культивирования (гепатит С, ВИЧ), или о вирусных агентах, относящихся к 3 и 4 группам риска по современной классификации ВОЗ [6–9].

Как правило, генно-инженерные положительные контроли представляют собой рекомбинантные бактериофаги или вирусы, в геном которых клонированы диагностические гены-мишени. Примеры использования таких контролей многообразны: армированные РНК на основе бактериофага М2 для молекулярно-генетической диагностики энтеровирусных [10, 11] и арбовирусных инфекций [12], ретровирусные частицы [13] и рекомбинантные вирионы на основе вируса гриппа для диагностики гепатита С [14], вирусоподобные частицы на базе лентивирусов для диагностики MERS-CoV [15] и лихорадки Эбола [7].

В целом, разработка положительных контролей, устойчивых к воздействию РНКаз и позволяющих максимально имитировать вирусную частицу, обеспечивая таким образом возможность контроля всех этапов исследования, остается актуальным вопросом при создании диагностических тестов для детекции РНК-содержащих вирусов.

Целью данного исследования являлась разработка технологии получения положительных контрольных образцов на основе рекомбинантных ретровирусных частиц и ее применение при создании наборов реагентов для выявления РНК возбудителей опасных и особо опасных вирусных инфекций методом ОТ-ПЦР.

Материалы и методы

Все генно-инженерные манипуляции проводили с использованием коллекционного штамма *Escherichia coli DH5α* (*supE44 lacU169* (*ϕ80 lacZΔM15*) *hsdR17 recA1 endA1 gyrA96 thi-1 relA1*). Трансформацию бактериальных клеток, выделение плазмидной ДНК, электрофоретический анализ фрагментов осуществляли согласно рекомендациям, приведенным в руководстве [16]; рестрикцию, лигирование плазмидной ДНК и фрагментов – в соответствии с условиями, рекомендуемыми изготовителем Thermo Scientific (США). Для выделения вирионной РНК использовали набор реагентов «РИБО-преп» («АмплиСенс», Российская Федерация) в соответствии с инструкцией производителя. Реакцию обратной транскрипции проводили со случайными праймерами с использованием набора «Реверта-L» (производство ФГУН ЦНИИ эпидемиологии, Российская Федерация) согласно прилагаемой инструкции. Для постановки ПЦР использовали Taq-полимеразу, десятикратный реакционный буфер, раствор $MgCl_2$, смесь дезоксинуклеотидов (Thermo Scientific, США), а также праймеры и гибридизационные зонды, синтезированные ОДО «Праймтех» (Республика Беларусь). ПЦР осуществляли на термоциклере Corbett Research (Corbett Life Sciences, Австралия), ПЦР с детекцией продуктов реакции в режиме реального времени – на амплификаторе iQ5 (Bio-Rad, США). Для подбора праймеров и гибридизационных проб использовали программу Vector NTI.

«Пакующая» клеточная линия GP+env-AM12, продуцирующая ретровирусные вирионы с амфотропным спектром хозяев, а также линия клеток NIH 3T3, созданная на основе фибробластов мыши и используемая для определения биологического титра вируса, получены из Российской коллекции

клеточных культур позвоночных (РККК П) (Санкт-Петербург, Российская Федерация). Клеточные линии культивировали в среде DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) (Sigma, США) с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (Sigma, США), 2 мМ L-глутамина (Sigma, США), 100 ед/мл пенициллина (Sigma, США), 100 мкг/мл стрептомицина (Sigma, США) при температуре 37 °С и 5 % содержании CO_2.

Ретровирусный вектор вводили в «пакующую» клеточную линию GP+env-AM12 посредством полибреновой методики трансфекции. Для этого $4 \cdot 10^5$ клеток «пакующей» линии помещали во флакон с площадью ростовой поверхности 25 $см^2$ за день до постановки эксперимента. На второй день среду культивирования заменяли 1 мл свежей среды, содержащей 10 мкг плазмидной ДНК, и инкубировали в течение 6 ч в присутствии 10 мкг/мл полибрена (Sigma, США). Затем проводили химический «шок» в присутствии 20 % DMSO (Sigma, США) в течение 5 мин, далее клетки отмывали и помещали в свежую среду. На следующий день культуральную среду заменяли на селективную, содержащую 400 мкг/мл G418 (Sigma, США) (химический аналог неомицина). Клоны, устойчивые к антибиотику, изолировали на 12–14 день после трансфекции и размножали в монослое для последующего анализа.

Титр вируса определяли согласно модифицированному протоколу, описанному в статье D. Markowitz [17]. Культуральную жидкость, собранную от клонов клеток GP+env-AM12, трансфицированных ретровирусным вектором, центрифугировали в течение 10 мин при 3000 g для удаления клеток и дебриса. Инфицирование проводили немедленно после сбора вируса. Реципиентные клетки NIH 3T3 высевали с плотностью $3 \cdot 10^5$ на 25 $см^2$ во флаконы за 24 ч до инфицирования. На второй день среду заменяли на 1 мл свежей среды, содержащей 8 мкг/мл полибрена и аликвоты тестируемого вируса. Инкубирование проводили в течение 2 ч, после чего среду заменяли на свежую. Количество клеток, экспрессирующих eGFP, анализировали спустя 72 ч после инфицирования с помощью проточного цитофлуориметра (BD Biosciences FACSCanto I, США). Титр вирусных частиц рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{титр вируса} = A \cdot B / 100 \cdot C,$$

где A – количество клеток в культуральном сосуде на момент инфицирования; B – количество флуоресцирующих клеток; C – корректирующий коэффициент, учитывающий разведение супернатанта, нанесенное на клетки.

Для определения титра ретровирусных частиц методом ОТ-ПЦР использовали набор реагентов «Универсальный РНК-стандарт с детекцией продуктов реакции в режиме реального времени «Белар-РНК-стандарт-ПЦР/РВ» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Республика Беларусь).

Результаты и обсуждение

При разработке диагностических тестов для выявления РНК-содержащих вирусов особое значение приобретает способ получения положительных контрольных образцов. Эти образцы должны содержать РНК-копию гена-мишени, желательно защищенную белковой оболочкой, и подвергаться всем основным этапам пробоподготовки: выделение РНК, обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция. На наш взгляд, наиболее подходящим способом получения контрольных образцов является клеточный биосинтез «пакующей» линией рекомбинантных ретровирусных частиц, в геном которых встроен диагностический ген-мишень. Специфическая нуклеотидная последовательность в такой частице упакована в белковую оболочку, которая защищает ее от действия РНКаз, и представлена в диплоидной форме в виде РНК. Идея использования ретровирусных частиц как носителей генетической информации, обусловленная природной способностью ретровирусов встраиваться в геном клетки-хозяина в форме провируса и транкрибироваться в его составе, используя клеточную ферментативную систему, положена в основу создания высокотехнологичного способа получения РНК-стандартов. Данная технология апробирована при разработке диагностических тест-систем для выявления геномов возбудителей наиболее актуальных для Республики Беларусь природно-очаговых инфекций: геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС), лимфоцитарного хориоменингита (ЛХМ) и клещевого энцефалита (КЭ), а также опасной геморрагической лихорадки Ласса, эндемичной для стран Африки.

Технологический процесс биосинтеза рекомбинантных ретровирусных частиц состоит из нескольких этапов. Первый этап связан с конструированием плазмидного вектора, объединяющего ретровирусную и бактериальную часть и содержащего кассеты регуляторных элементов, необходимых для успешной репликации его в про- и эукариотической клеточной системе, а также ген-мишень инфекционного агента.

Бактериальная часть конструкции включает плазмиду pBR322 и позволяет проводить все генно-инженерные манипуляции по клонированию и отбору рекомбинантных плазмид в бактериальном штамме *E. coli DH5α*. Достоинством плазмиды является тот факт, что ее репликация происходит независимо от клеточного цикла. Это позволяет получить большое количество копий плазмиды, что важно для последующих этапов клонирования. В состав вектора включен ген устойчивости к ампициллину, благодаря наличию которого возможна селекция бактериальных клонов при выращивании на среде с антибиотиком.

Ретровирусная часть получена на базе генома вируса лейкемии мышей Молони (MoMuLV), она содержит только цис-действующие последователь-

ности, необходимые для репликации (длинные концевые повторы (LTR – long terminal repeat); Ψ – область упаковки-димеризации вирусного генома; PBS (primer binding site) – сайт связывания т-РНК затравки; полипуриновый тракт – сайт инициации синтеза плюс-цепи ДНК (PPT, polypurine tract). По концам LTR расположены небольшие частично инвертированные повторы (att-сайты), необходимые для интеграции провируса в геном инфицированной клетки. В вектор встроен полилинкер, содержащий сайты гидролиза ферментов рестрикции.

В ретровирусную кассету вектора клонированы дополнительно две функционально значимые нуклеотидные последовательности: одна из них кодирует зеленый флюоресцирующий белок (*egfp*), другая – аминогликозид 3'-фосфотрансферазу (*neo*). Транскрипция каждого из этих белков происходит под контролем собственного промотора: зеленый флуоресцирующий белок транскрибируется с CMV-промотора (промотор ранних генов цитомегаловируса), ген *neo* – с 5'-промотора вируса лейкемии мышей Молони. Каждая из последовательностей несет свою функциональную нагрузку. Экспрессируемый белок eGFP позволяет оценить титр ретровирусных частиц с использованием цитофлуориметра, а аминогликозид 3'-фосфотрансфераза – селектировать рекомбинантные клеточные клоны на среде с антибиотиком.

Таким образом, в результате проведенных генно-инженерных манипуляций конструируется плазмида, содержащая все необходимые элементы для успешной репликации как в бактериальной, так и в эукариотической системе, в полилинкер которой дополнительно клонируется диагностически значимый ген-мишень (рис. 1).

Для создания векторных конструкций pLCMV3´retro, pLassaretro, pTBEretro, pPUUretro, содержащих в качестве вставки диагностически значимые фрагменты генома вирусов ЛХМ, Ласса, КЭ и ГЛПС соответственно, определены, амплифицированы и клонированы в ретровирусный вектор вирусспецифические диагностические гены-мишени: фрагмент S-сегмента генома вируса ЛХМ (штамм Armstrong) размером 156 пар нуклеотидов (п.н.); фрагмент L-сегмента генома вируса Ласса (198 п.н.); фрагмент гена NS5 вируса клещевого энцефалита (92 п.н.); фрагмент M-сегмента вируса Пуумала (365 п.н.).

На следующем этапе ретровирусные векторы с помощью полибреновой методики трансфекции вводили в клетки «пакующей» клеточной линии. «Пакующие» линии представляют собой перевиваемые клетки, в которых осуществляется синтез всех вирусспецифических белков, необходимых для формирования инфекционных ретровирусных частиц. В наших экспериментах использована клеточная линия GP+env-AM12, продуцирующая ретровирусные вирионы с амфотропным спектром хозяев [18].

В результате трансфекции сконструированными ретровирусными векторами клеток мышиных фибробластов GP+env-AM12 и их последующего культивирования на селективной среде получены клоны «пакующих» клеточных линий AM12 LCMV3´retro, AM12 Lassaretro, AM12 TBEretro, AM12 PUUretro, продуцирующие рекомбинантные ретровирусные частицы.

Супернатант «пакующей» клеточной линии содержит химерные ретровирусные вирионы, титр которых определяется с помощью инфицирования определенной дозой вируса индикаторной клеточной линии NIH 3T3 и последующего подсчета инфицированных клеток на проточном цитофлуориметре. Маркером, указывающим на инфицированность клеток, служит экспрессия в них зеленого флуоресцирующего белка. Количественной характеристикой титра вирусных частиц является количество флуоресцирующих клеток, подсчитанное с использованием метода проточной цитометрии. Проверенный таким образом инфекционный титр является точкой отсчета для определения физического титра (количество геном-эквивалентов гена-мишени в полученном образце положительного контроля), который может быть значительно выше по следующим причинам: геном ретровируса диплоидный; частицы могут быть дефектными и не инфицировать индикаторные клетки, но содержать репортерный ген. Физический титр определяется экспериментально с использованием

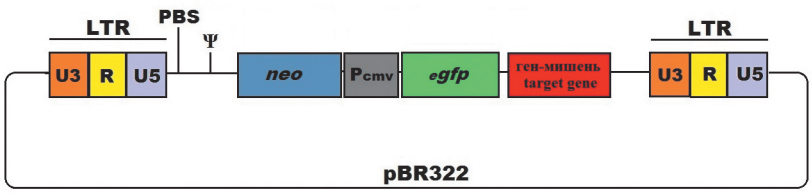


Рис. 1. Структура ретровирусного вектора:

LTR (long terminal repeat) – длинные концевые повторы, включающие *U3*, *R*, *U5* районы вирусного генома; *PBS* (primer binding site) – сайт связывания т-РНК затравки; *Ψ* – область упаковки-димеризации вирусного генома; *neo* – нуклеотидная последовательность, кодирующая аминогликозид 3'-фосфотрансферазу; P_{CMV} – промотор ранних генов цитомегаловируса человека; *egfp* – ген, кодирующий белок eGFP (enhanced green fluorescent protein); *ген-мишень* – фрагмент ДНК диагностически значимого участка вирусного генома

Fig. 1. Retroviral vector structure:

LTR – long terminal repeat including *U3*, *R*, *U5* regions; *PBS* – primer binding site; *Ψ* – extended retroviral packaging signal; *neo* – neomycin phosphotransferase gene; P_{CMV} – human cytomegalovirus (CMV) early promoter region; *egfp* – enhanced green fluorescent protein gene; *target gene* – diagnostically significant DNA fragment of the viral genome

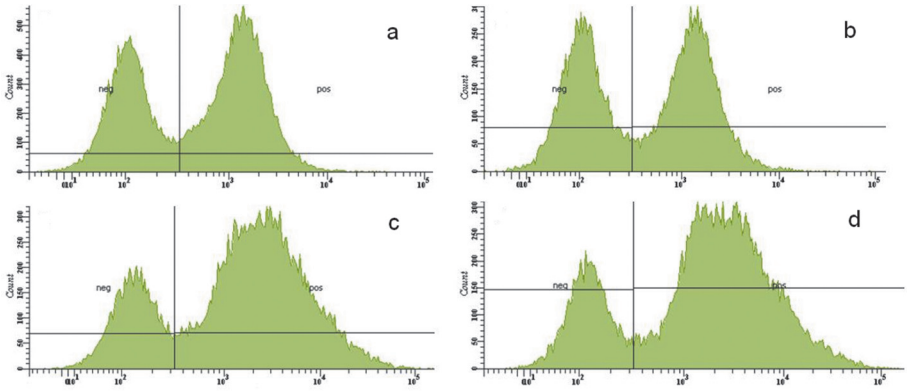


Рис. 2. Определение количества флуоресцирующих клеток индикаторной клеточной линии, инфицированных ретровирусными частицами, содержащимися в культуральной жидкости «пакующих» клеточных линий AM12 LCMV3´retro (*a*), AM12 Lassaretro (*b*), AM12 TBEretro (*c*), AM12 PUUretro (*d*)

Fig. 2. Quantification of fluorescent indicator cells infected with retroviral particles from culture medium of packaging cell lines AM12 LCMV3´retro (*a*), AM12 Lassaretro (*b*), AM12 TBEretro (*c*), AM12 PUUretro (*d*)

молекулярно-генетических методов путем десятикратного титрования супернатанта клеточной линии с последующим выделением РНК, постановкой ОТ-ПЦР. Мишенью для проведения ПЦР в режиме реального времени служит нуклеотидная последовательность гена *egfp,* содержащаяся в ретровирусном векторе. Таким образом, биологический титр ретровирусных частиц оценивался как по экспрессии белка, так и по наличию нуклеотидной последовательности гена-мишени в составе рекомбинантной частицы в культуральной жидкости.

Инфекционный титр ретровирусных частиц, продуцируемых клеточными клонами «пакующих» линий AM12 LCMV3´retro, AM12 Lassaretro, AM12 TBEretro, AM12 PUUretro, изучен с использованием индикаторной линии NIH 3T3 с помощью проточного цитофлуориметра по флуоресцентному сигналу зеленого флуоресцирующего белка. Его значение для отдельных клеточных клонов составило от $1{,}4 \cdot 10^5$ до $4{,}7 \cdot 10^5$ КОЕ/мл. Репрезентативные результаты экспериментов представлены на рис. 2.

В связи с тем, что диагностически значимый вирусный репортерный ген находится в составе одной кассеты с *egfp*, количество геном-эквивалентов, определяемое относительно стандартных разведений плазмидной ДНК, содержащей его нуклеотидную последовательность, приблизительно равно значению физического титра рекомбинантных частиц. Пример определения количества геном-эквивалентов гена-мишени вируса ЛХМ в образце культуральной жидкости «пакующей» клеточной линии AM12 LCMV3´retro представлен на рис. 3.

Стабильная продукция рекомбинантных вирионов «пакующими» линиями позволяет стандартизировать процесс получения положительных контрольных образцов $К^{+LCMV}$ОТ-ПЦР, $К^{+LAS}$ОТ-ПЦР, $К^{+TBE}$ОТ-ПЦР, $К^{+PUU}$ОТ-ПЦР при комплектации диагностических тест-систем для выявления генетического материала опасных и особо опасных вирусов: «Белар-ЛХМ-ПЦР/РВ», «Белар-БУНИА-ФЛАВИ-ФИЛО-АРЕНА-ПЦР», «Белар-КИ-ПЦР/РВ» и «Белар-ГЛПС-ПЦР/РВ».

Полученные клеточные линии депонированы в Специализированную коллекцию вирусов и бактерий, патогенных для человека, созданную в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (номера депонентов: 27/14 AM12 PUUretro, 28/14 AM12 TBEretro, 29/14 AM12 Lassaretro и 30/14 AM12 LCMV3´retro), и могут эффективно применяться на протяжении многих лет, не требуя проведения дополнительных генно-инженерных манипуляций.

Исследования по оценке свойств положительных контрольных образцов $К^{+LCMV}$ОТ-ПЦР, $К^{+LAS}$ОТ-ПЦР, $К^{+TBE}$ОТ-ПЦР и $К^{+PUU}$ОТ-ПЦР показали их относительную стабильность в условиях продолжи-

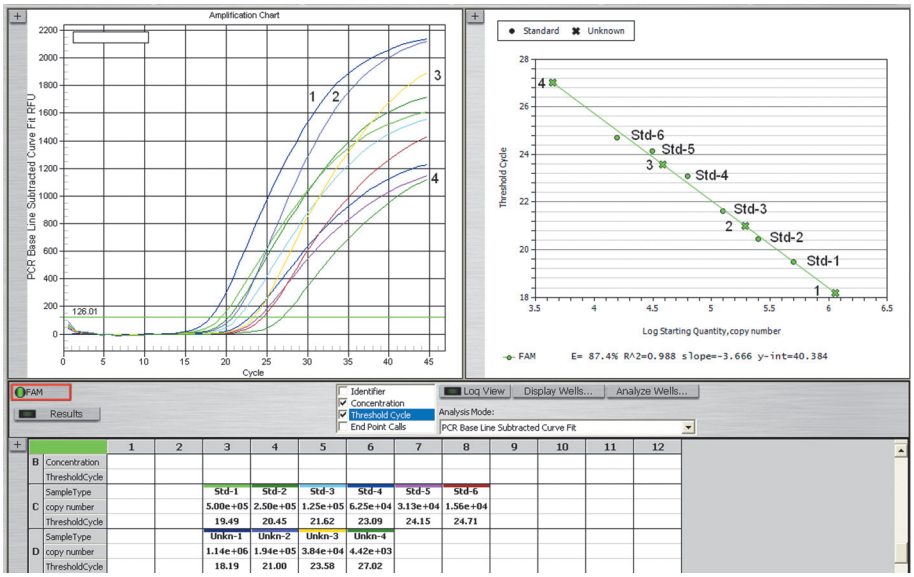


Рис. 3. Оценка количества геном-эквивалентов гена-мишени вируса ЛХМ в культуральной жидкости «пакующей» клеточной линии AM12 LCMV3´retro методом ОТ-ПЦР с детекцией продуктов реакции в режиме реального времени:

Std 1–6 – двукратные разведения плазмидной ДНК, содержащей нуклеотидную последовательность гена *egfp*, с известным количеством копий генетического материала; *1–4* – серийные разведения образца культуральной жидкости «пакующей» линии AM12 LCMV3´retro

Fig. 3. Evaluation of LCMV target gene copies in packaging cell line AM12 LCMV3´retro culture medium by real time RT-PCR:

Std 1–6 – two-fold dilutions of plasmid DNA containing *egfp* nucleotide sequence with determined number of genetic material copies; *1–4* – serial dilutions of AM12 LCMV3´retro culture medium sample

Стабильность положительных контрольных образцов на основе рекомбинантных ретровирусных частиц при различных условиях хранения

Stability of positive control samples based on recombinant retroviral particles under various storage conditions

Условия хранения Storage conditions	Срок хранения Storage period	ΔCt K^{+LCMV} ОТ-ПЦР K^{+LCMV} RT-PCR	ΔCt* K^{+LAS} ОТ-ПЦР K^{+LAS} RT-PCR	ΔCt K^{+TBE} ОТ-ПЦР K^{+TBE} RT-PCR	ΔCt K^{+PUU} ОТ-ПЦР K^{+PUU} RT-PCR
-70 °C	1 год 1 year	0.01	0.01	0.02	0.01
	2 года 2 years	0.05	0.03	0.08	0.08
	3 года 3 years	0.17	0.23	0.19	0.16
	4 года 4 years	0.51	0.64	0.60	0.62
-20 °C	1 месяц 1 month	-0.01	0.02	-0.01	0.01
	6 месяцев 6 months	0.04	-0.02	0.05	0.02
	12 месяцев 12 months	0.12	0.11	0.09	0.09
+4 °C	8 часов 8 hours	0.03	0.02	0.01	-0.02
	16 часов 16 hours	0.14	0.08	0.17	0.10
	24 часа 24 hours	0.36	0.24	0.18	0.22

* – образцы исследованы методом ОТ-ПЦР с использованием набора реагентов «Белар-РНК-стандарт-ПЦР/РВ»; результаты представлены как среднее значение полученной для трех независимых экспериментов разницы в пороговом цикле (ΔCt) по сравнению с образцами, подвергнутыми однократному кратковременному замораживанию при -70 °C.

* – samples were assessed by RT-PCR with Belar-RNA-standard PCR real-time kit; the results are presented as the average value of the difference in the threshold cycle (ΔCt) obtained for three independent experiments compared to samples subjected to a single short-term freezing at -70 °C.

тельного хранения при -70 °C, сохранность эксплуатационных характеристик в пределах срока годности тест-систем при соблюдении соответствующих требований (12 мес., -20 °C), а также при моделировании условий, применяемых в случае транспортирования диагностических наборов (24 ч, +4 °C). Результаты исследований представлены в таблице.

Технология использования ретровирусных векторов как носителей фрагментов РНК-геномных патогенных вирусов на примере четырех РНК-содержащих вирусов, относящихся к разным семействам, является доказательством того, что описанные подходы могут использоваться при разработке современных тест-систем для ПЦР-диагностики широкого спектра вирусов, генетический материал которых представлен молекулой РНК.

Технология получения положительных контролей на основе рекомбинантных молекул дает возможность значительно улучшить молекулярно-генетическую диагностику РНК-содержащих вирусов, адекватно оценить эффективность реакции как на стадии разработки диагностического теста, так и при его коммерческом использовании. Данный подход к получению положительных контрольных образцов приобретает особую значимость в тех случаях, когда речь идет об опасных, особо опасных и вновь возникающих вирусных инфекциях, а также патогенных РНК-содержащих вирусах, для которых не найдены адекватные способы культивирования. Вместе с тем предложенная технология в случае экстремальной ситуации при необходимости неотложной диагностики позволяет использовать искусственно синтезированные ДНК-фрагменты геномов вирусов, не имея их в наличии, и получать их РНК-копии.

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

Список литературы

1. Сизикова Т.Е., Мельникова Е.В., Маношкин А.В., Петров А.А., Мельников Д.Г., Пантюхин В.Б., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. Использование внешних и внутренних контрольных образцов при постановке полимеразной цепной реакции и обратной транскрипции полимеразной цепной реакции. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2013; 3:41–4.

2. Петров А.А., Лебедев В.Н., Казанцев А.В., Ковальчук Е.А., Сизикова Т.Е., Пышная Н.С., Павельев Д.И., Кутаев Д.А., Борисевич С.В. Использование генно-инженерных конструкций в качестве контрольных образцов при оценке наборов реагентов для выявления РНК возбудителей опасных и особо опасных вирусных инфекций методом обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2018; 63(6):372–5. DOI: 10.18821/0869-2084-2018-63-6-372-375.

3. Mikel P., Vasickova P., Kralik P. Methods for preparation of MS2 phage-like particles and their utilization as process control viruses in RT-PCR and qRT-PCR detection of RNA viruses from food matrices and clinical specimens. *Food Environ. Virol*. 2015; 7(2):96–111. DOI: 10.1007/s12560-015-9188-2.

4. Ninove L., Nougairede A., Gazin C., Thirion L., Delogu I., Zandotti C., Charrel R.N., De Lamballerie X. RNA and DNA bacteriophages as molecular diagnosis controls in clinical virology: a comprehensive study of more than 45,000 routine PCR tests. *PLoS One*. 2011; 6(2):e16142. DOI: 10.1371/journal.pone.0016142.

5. Wen A., Steinmetz N. Design of virus-based nanomaterials for medicine, biotechnology, and energy. *Chem. Soc. Rev*. 2016; 45(15):4074–126. DOI: 10.1039/c5cs00287g.

6. Fu Y., Wang G., Wu Q., Yang X., Zhang R., Zhang K., Lin

G., Han Y., Bao L., Li Z., Li J. Preparation of MS2-based nanoparticles as control and standard materials for the molecular detection of Dengue virus serotypes. *Virus Res*. 2017; 233:42–50. DOI: 10.1016/j.virusres.2017.02.011.

7. Mattiuzzo G., Ashall J., Doris K.S., MacLellan-Gibson K., Nicolson C., Wilkinson D.E., Harvey R., Almond N., Anderson R., Efstathiou S., Minor P.D., Page M. Development of lentivirus-based reference materials for Ebola virus nucleic acid amplification technology-based assays. *PLoS One.* 2015; 10(11):e0142751. DOI: 10.1371/journal.pone.0142751.

8. Dedkov V., Magassouba N., Safonova M., Naydenova E., Ayginin A., Soropogui B., Kourouma F., Camara A., Camara J., Kritzkiy A., Tuchkov I., Shchelkanov M., Maleev V. Development and evaluation of a one-step quantitative RT-PCR assay for detection of Lassa virus. *J. Virol. Methods*. 2019; 271:113674. DOI: 10.1016/j.jviromet.2019.113674.

9. Gholami M., Ravanshad M., Baesi K., Samiee S., Rozbahani N., Mohraz M. Preparation and evaluation of ribonuclease-resistant viral HIV RNA standards based on armored RNA technology. *Iran Biomed J*. 2018; 22(6):394–400. DOI: 10.29252/.22.6.394.

10. Землянский В.А., Дедюля К.Л., Поклонская Н.В., Амвросьева Т.В. Векторная конструкция для накопления армированной РНК. *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук.* 2015; 2:19–22.

11. Mikel P., Vasickova P., Tesarik R., Malenovska H., Kulich P., Vesely T., Kralik P. Preparation of MS2 phage-like particles and their use as potential process control viruses for detection and quantification of enteric RNA viruses in different matrices. *Front. Microbiol*. 2016; 7:1911. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01911.

12. Borghetti I., Zambenedetti M., Requião L., Vieira D., Krieger M., Pontello Rampazzo R. External control viral-like particle construction for detection of emergent arboviruses by real-time reverse-transcription PCR. *BioMed Res. Int*. 2019; 2019:2560401. DOI: 10.1155/2019/2560401.

13. Куликов С.М., Судариков А.Б., Глинщикова О.А. Внутренний стандарт на основе ретровирусного вектора для определения вируса гепатита С в конкурентной полимеразной цепной реакции. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2004; 6:84–8.

14. Wang X., Liu F., Jiang L., Bao Y., Xiao Y., Wang H. Use of chimeric influenza viruses as a novel internal control for diagnostic rRT-PCR assays. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 2016; 100(4):1667–76. DOI: 10.1007/s00253-015-7042-y.

15. Zhou D., Li Y., Li J., Yu J., Yang H., Wei H. Construction of lentivirus-based reference material for RT-PCR detection of Middle East Respiratory Syndrome coronavirus and its application in external quality assessment. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2019; 19(9):5510–16. DOI: 10.1166/jnn.2019.16591.

16. Sambrook J., Russell D.W., editors. Molecular Cloning: a Laboratory Manual: in 3 vol. 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001. Vol. 1. 749 p.

17. Markowitz D., Goff S., Bank A. Construction and use of a safe and efficient amphotropic packaging cell line. *Virology*. 1988; 167(2):400–6. PMID: 2462307.

18. Markowitz D., Goff S., Bank A. A safe packaging line for gene transfer: separating viral genes on two different plasmids. *J. Virol.* 1988; 62(4):1120–4. PMID: 2831375 PMCID: PMC253118.

References

1. Syzykova T.Ye., Melnikova Ye.V., Manoshkin A.V., Petrov A.A., Melnikov D.G., Pantyukhov V.B., Lebedev V.N., Borisevitch S.V. The application of external and internal control objects in case of using of polymerase chain reaction and reverse transcription of polymerase chain reaction *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Russian Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2013; 3:41–4.

2. Petrov A.A., Lebedev V.N., Kazantsev A.V., Kovalchuk E.A., Sizikova T.E., Pyshnaya N.S., Paveliev D.I., Kutaev D.A., Borisevich S.V. The use of genetic engineering constructions as control samples on evaluation of diagnostic kits for reveal of RNA of hazard and extremely hazard agents of virus infections by reverse transcription - polymerase chain reaction. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Russian Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2018; 63(6):372–5. DOI: 10.18821/0869-2084-2018-63-6-372-375.

3. Mikel P., Vasickova P., Kralik P. Methods for preparation of MS2 phage-like particles and their utilization as process control viruses in RT-PCR and qRT-PCR detection of RNA viruses from food matrices and clinical specimens. *Food Environ. Virol*. 2015; 7(2):96–111. DOI: 10.1007/s12560-015-9188-2.

4. Ninove L., Nougairede A., Gazin C., Thirion L., Delogu I., Zandotti C., Charrel R.N., De Lamballerie X. RNA and DNA bacteriophages as molecular diagnosis controls in clinical virology: a comprehensive study of more than 45,000 routine PCR tests. *PLoS One*. 2011; 6(2):e16142. DOI: 10.1371/journal.pone.0016142.

5. Wen A., Steinmetz N. Design of virus-based nanomaterials for medicine, biotechnology, and energy. *Chem. Soc. Rev*. 2016; 45(15):4074–126. DOI: 10.1039/c5cs00287g.

6. Fu Y., Wang G., Wu Q., Yang X., Zhang R., Zhang K., Lin G., Han Y., Bao L., Li Z., Li J. Preparation of MS2-based nanoparticles as control and standard materials for the molecular detection of Dengue virus serotypes. *Virus Res*. 2017; 233:42–50. DOI: 10.1016/j.virusres.2017.02.011.

7. Mattiuzzo G., Ashall J., Doris K.S., MacLellan-Gibson K., Nicolson C., Wilkinson D.E., Harvey R., Almond N., Anderson R., Efstathiou S., Minor P.D., Page M. Development of lentivirus-based reference materials for Ebola virus nucleic acid amplification technology-based assays. *PLoS One.* 2015; 10(11):e0142751. DOI: 10.1371/journal.pone.0142751.

8. Dedkov V., Magassouba N., Safonova M., Naydenova E., Ayginin A., Soropogui B., Kourouma F., Camara A., Camara J., Kritzkiy A., Tuchkov I., Shchelkanov M., Maleev V. Development and evaluation of a one-step quantitative RT-PCR assay for detection of Lassa virus. *J. Virol. Methods*. 2019; 271:113674. DOI: 10.1016/j.jviromet.2019.113674.

9. Gholami M., Ravanshad M., Baesi K., Samiee S., Rozbahani N., Mohraz M. Preparation and evaluation of ribonuclease-resistant viral HIV RNA standards based on armored RNA technology. *Iran Biomed J*. 2018; 22(6):394–400. DOI: 10.29252/.22.6.394.

10. Zemlyansky V.A., Dedyulya K.L., Poklonskaya N.V., Amvros'eva T.V. [Vector design for accumulation of reinforced RNA]. *Vestnik Natsional'noi Akademii Nauk Belarusi [Bulletin of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical Science series]*. 2015; 2:19–22.

11. Mikel P., Vasickova P., Tesarik R., Malenovska H., Kulich P., Vesely T., Kralik P. Preparation of MS2 phage-like particles and their use as potential process control viruses for detection and quantification of enteric RNA viruses in different matrices. *Front. Microbiol*. 2016; 7:1911. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01911.

12. Borghetti I., Zambenedetti M., Requião L., Vieira D., Krieger M., Pontello Rampazzo R. External control viral-like particle construction for detection of emergent arboviruses by real-time reverse-transcription PCR. *BioMed Res. Int*. 2019; 2019:2560401. DOI: 10.1155/2019/2560401.

13. Kulikov S.M., Sudarikov A.B., Glinshchikova O.A. [Internal standard on the basis of retroviral vector for the detection of Hepatitis C virus in competitive polymerase chain reaction]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology, and Immunobiology]*. 2004; 6:84–8.

14. Wang X., Liu F., Jiang L., Bao Y., Xiao Y., Wang H. Use of chimeric influenza viruses as a novel internal control for diagnostic rRT-PCR assays. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 2016; 100(4):1667–76. DOI: 10.1007/s00253-015-7042-y.

15. Zhou D., Li Y., Li J., Yu J., Yang H., Wei H. Construction of lentivirus-based reference material for RT-PCR detection of Middle East Respiratory Syndrome coronavirus and its application in external quality assessment. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2019; 19(9):5510–16. DOI: 10.1166/jnn.2019.16591.

16. Sambrook J., Russell D.W., editors. Molecular Cloning: a Laboratory Manual: in 3 vol. 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001. Vol. 1. 749 p.

17. Markowitz D., Goff S., Bank A. Construction and use of a safe and efficient amphotropic packaging cell line. *Virology*. 1988; 167(2):400–6. PMID: 2462307.

18. Markowitz D., Goff S., Bank A. A safe packaging line for gene transfer: separating viral genes on two different plasmids. *J. Virol.* 1988; 62(4):1120–4. PMID: 2831375 PMCID: PMC253118.

Authors:

Fomina E.G., Grigorieva E.E., Vladyko A.S. Republican Research and Practical Center of Epidemiology and Microbiology. 23, Filimonova St., Minsk, 220114, Republic of Belarus. E-mail: feg1@tut.by.

Об авторах:

Фомина Е.Г., Григорьева Е.Е., Владыко А.С. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии. Республика Беларусь, Минск, ул. Филимонова, 23. E-mail: feg1@tut.by.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-122-128
УДК 616.98:578.833.2

Н.И. Хаммадов

ПОИСК ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА ДЛЯ ЕГО СПЕЦИФИЧНОЙ ИНДИКАЦИИ

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», Казань, Российская Федерация

Цель исследования – анализ генетических маркеров вируса клещевого энцефалита, которые можно использовать для специфичной индикации максимально большего числа штаммов и изолятов вируса. **Материалы и методы.** В качестве амплифицируемого материала использовалась плазмидная ДНК и нуклеиновые кислоты клещей рода *Ixodes* и *Dermacentor*. Полимеразную цепную реакцию осуществляли на амплификаторе «С1000» с оптическим блоком «CFX96» (BioRad). Видовое (штаммовое) разнообразие выявляемых с применением анализируемых генетических маркеров организмов определяли в программной утилите «nBLAST». Дизайн нуклеотидных последовательностей праймеров и зондов проводили, используя программу «Vector NTI 9.1.0» (Invitrogen Corporation). Выделение нуклеиновых кислот производили методом магнитной сорбции с комплектом реагентов «МАГНО-сорб». Праймеры и зонды синтезировали в ЗАО «Евроген» (Москва, Россия). Для ПЦР использовались реактивы производства ЗАО «Синтол» (Москва, Россия). **Результаты и обсуждение.** При индикации генома вируса клещевого энцефалита основным критерием выбора маркерной последовательности является специфичное выявление нуклеиновых кислот только искомого микроорганизма. Для поиска специфичной маркерной нуклеотидной последовательности произведен анализ полногеномных нуклеотидных последовательностей различных штаммов и изолятов вируса клещевого энцефалита. Взаимное сравнение всех указанных выше геномов позволило определить семь условно консервативных локусов, характеризующихся минимальной вариабельностью нуклеотидов. Опираясь в дальнейшей работе на результаты выравнивания нуклеотидных последовательностей изолятов вируса клещевого энцефалита, в том числе учитывая нуклеотидные последовательности гетерогенных микроорганизмов, выполнен дизайн праймеров и зондов для амплификации каждого из маркерных локусов, наиболее аналитически значимые олигонуклеотиды разработаны на основе локусов 4 и 7. Амплификация с олигонуклеотидными затравками для индикации вируса клещевого энцефалита была результативной как в отдельной ПЦР с положительным контролем, так и в сочетании с ДНК клещей.

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита, специфичность, полиморфизм генома, ПЦР, локусы, генетические маркеры, олигонуклеотиды, индикация.

Корреспондирующий автор: Хаммадов Наиль Ильдарович, e-mail: nikhammadov@mail.ru.

Для цитирования: Хаммадов Н.И. Поиск генетических маркеров вируса клещевого энцефалита для его специфичной индикации. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:122–128. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-122-128
Поступила 21.01.20. *Отправлена на доработку* 13.02.20. *Принята к публ.* 03.03.20.

N.I. Khammadov

Search for Genetic Markers of Tick-Borne Encephalitis Virus for Its Specific Indication, Genomic Analysis

Federal Center of Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

Abstract. **Objective** of the study is to analyze the genetic markers of tick-borne encephalitis virus, which can be used to specifically indicate the maximum number of virus strains and isolates. **Materials and methods.** Plasmid DNA and nucleic acids of the tick, the genus *Ixodes* and *Dermacentor*, were used as amplified material. Polymerase chain reaction (PCR) was conducted on C1000 amplifier with a CFX96 optical unit (BioRad). The species (strain) variety of detected organisms, using the analyzed genetic markers, was determined in the nBLAST software utility. The design of the nucleotide sequences of primers and probes was performed using "Vector NTI 9.1.0" (Invitrogen Corporation). Nucleic acids were isolated by magnetic sorption with a reagent panel MAGNO-sorb. Primers and probes were synthesized at "Evrogen" company, Moscow, Russia. The reagents for PCR were manufactured by "Syntol" company, Moscow, Russia. **Results and discussion.** When indicating the genome of the tick-borne encephalitis virus, the main criterion for choosing a marker sequence is the specific detection of nucleic acids of only the desired microorganism. The genome-wide nucleotide sequences of various strains and isolates of tick-borne encephalitis virus were analyzed to search for a specific marker nucleotide sequence. Mutual comparison of all the above mentioned genomes made it possible to determine 7 conventionally conservative loci characterized by minimal nucleotide variability. The further work was based on the results of alignment of the nucleotide sequences of tick-borne encephalitis virus isolates, including the nucleotide sequences of heterogeneous microorganisms; primers and probes were designed to amplify each of the marker loci; the most analytically significant oligonucleotides were developed based on loci 4 and 7. Amplification with oligonucleotide primers to indicate tick-borne encephalitis virus was effective, both in a separate PCR with a positive control, and in combination with tick DNA.

Key words: Tick-borne encephalitis virus, specificity, genome polymorphism, PCR, loci, genetic markers, oligonucleotides, indication.

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

*Corres*ponding author: Nail I. Khammadov, e-mail: nikhammadov@mail.ru.
Citation: Khammadov N.I. Search for Genetic Markers of Tick-Borne Encephalitis Virus for Its Specific Indication, Genomic Analysis. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:122–128. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-122-128
Received 21.01.20. *Revised* 13.02.20. *Accepted* 03.03.20.

Khammadov N.I., ORCID: http://orcid.org/0000-0001-5669-1486

Нахождение человека в лесопарковой зоне, независимо от близости к населенным пунктам, сопряжено с риском укусов кровососущих насекомых (кроме времени года, характеризующегося отрицательными температурами). Кроме дискомфорта от самого укуса, существует риск инфицирования различными заболеваниями, переносчиками которых являются кровососущие насекомые. Чаще всего переносчиками инфекционных болезней в Приволжском федеральном округе Российской Федерации являются иксодовые клещи; сообщения об инфекционных заболеваниях, вызванных укусом клеща, не редки и в других регионах страны, а также за ее пределами [1–5]. Особо актуальными являются клещевой энцефалит и болезнь Лайма, они чаще всего регистрируются при укусах клещей и могут нанести тяжкий вред здоровью [6–8]. По сравнению с другими инфекциями, поражающими репродуктивную систему, органы пищеварения и дыхания [9, 10], клещевой энцефалит характеризуется поражением нервной системы [11]. При схожей симптоматике клещевого энцефалита с бактериальными инфекциями, поражающими центральную нервную систему, их лечение и профилактика существенно отличаются, что подчеркивает необходимость своевременной специфической индикации клещевого энцефалита. Хорошим маркером для индикации клещевого энцефалита являются его нуклеиновые кислоты.

Возбудителем клещевого энцефалита является РНК-содержащий вирус, принадлежащий к семейству *Flaviviridae*, роду *Flavivirus*, виду *Tick-borne encephalitis virus*.

В России за 2009–2013 гг. зафиксировано 333,79 случаев укусов клещей на 10 тыс. населения, при этом в 2,15 случаев (на 10 тыс. населения) присасывание клеща стало причиной заболевания клещевым энцефалитом [12].

Для индикации клещевого энцефалита используют серологические и молекулярно-генетические методы; в представленной работе показан анализ наиболее подходящих генетических маркеров для индикации вируса клещевого энцефалита.

Цель исследования – анализ генетических маркеров вируса клещевого энцефалита, которые можно использовать для специфической индикации максимально большего числа штаммов и изолятов вируса.

Материалы и методы

Использованная в данной работе методология биоинформационного анализа геномов различных изолятов всех серотипов возбудителей боррелиоза и клещевого энцефалита с последующим дизайном праймеров и зонда имеет общие принципы, которые используются и для других микроорганизмов [13, 14]. Искомые нуклеотидные последовательности определены путем поисковых запросов в базе данных NCBI (Национальный центр биологической информатизации). Видовое (штаммовое) разнообразие выявляемых организмов с применением анализируемых генетических маркеров определяли в программной утилите «nBLAST». Дизайн нуклеотидных последовательностей праймеров и зондов проводили, используя программу «Vector NTI 9.1.0» (Invitrogen Corporation). При дизайне олигонуклеотидных затравок учитывали возможность амплификации целевых ДНК-маркеров (для индикации клещевых инфекций) и ДНК-маркеров внутреннего контроля амплификации (ДНК клеща) в единых условиях амплификации.

В качестве амплифицируемого материала использовалась плазмидная ДНК (положительный контроль, синтезированный в ЗАО «Евроген», Россия) и нуклеиновые кислоты клещей родов *Ixodes* и *Dermacentor*. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) осуществляли на амплификаторе «C1000» с оптическим блоком «CFX96» (BioRad). При работе с образцами клещей проводили пробоподготовку, включающую в себя такие этапы, как гомогенезация (образец и ступка с пестиком предварительно охлаждены до -70 °C) и экстракция (физиологическим раствором NaCl). Выделение нуклеиновых кислот производили методом магнитной сорбции с комплектом реагентов «МАГНО-сорб», вариант 100-200 («АмплиСенс», ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии, Россия), согласно инструкции производителя.

Для ПЦР амплификации использовали следующий состав реакционной смеси из расчета на одну пробу: 1,5 мкл 25 mM раствора $MgCl_2$; 1,5 мкл 2,5 mM раствора dNTP; 1,5 мкл 10x буфера для ПЦР; по 0,5 мкл 10 pM раствора каждого зонда для ПЦР; по 0,5 мкл 10 pM раствора каждого прямого и обратного праймеров; 0,5 мкл Taq-полимеразы; 5 мкл нуклеиновых кислот и 3,5 деионизированной воды. Праймеры и зонды синтезировали в ЗАО «Евроген» (Москва, Россия). Для ПЦР использовались реактивы производства ЗАО «Синтол» (Москва, Россия). Конечный объем реакционной смеси составил 15 мкл. Реакционная смесь для ОТ-ПЦР (ПЦР с обратной транскрипцией молекулы РНК) отличалась от вышеуказанной смеси наличием фермента MMLV для обратной транскрипции (ЗАО «Евроген», Москва, Россия) в количестве 0,2 мкл на одну реакцию. Амплификация нуклеиновых кислот осуществлялась по следующей программе:

I стадия – денатурация ДНК при 95 °C в течение 2 мин;

II стадия – 5 циклов, состоящих из 10 с при 95 °C, 30 с при 57,7 °C;

III стадия – 40 циклов, состоящих из 10 с при

95 °С, 30 с при 57,7 °С.

Детекция результата ПЦР (флуоресценция) происходит на каждом из 40 циклов третьей стадии ПЦР при 59 °С по каналам Fam, Rox, R6G и Cy5. ОТ-ПЦР осуществляли по схожей программе с добавлением этапа обратной транскрипции (37 °С в течение 30 мин) до основной программы амплификации.

Результаты и обсуждение

При индикации генома вируса клещевого энцефалита основным критерием выбора маркерной последовательности является специфичное выявление нуклеиновых кислот только искомого микроорганизма. Кроме искомого вида *Tick-borne encephalitis virus* (NCBI: txid11084), род *Flavivirus* насчитывает еще 60 видов вирусов, среди которых есть патогенные для человека вирусы, а именно: вирус денге (NCBI: txid12637), вирус японского энцефалита (NCBI: txid11072), вирус лихорадки Западного Нила (NCBI: txid11082), вирус желтой лихорадки (NCBI: txid11089), вирус Зика (NCBI: txid64320) и др. Для поиска специфичной маркерной нуклеотидной последовательности произведен анализ полногеномных нуклеотидных последовательностей различных штаммов и изолятов вируса клещевого энцефалита. Геном вируса клещевого энцефалита представлен в виде РНК, последовательность которого содержит более 11 тыс. нуклеотидов. Анализ вариабельности нуклеотидных последовательностей различных штаммов и изолятов вируса производился относительно их геномов, которые имели следующие идентификационные номера: AB062063, AB062064, AB753012, AY169390, DQ989336, EU816450, EU816451, EU816452, EU816455, FJ997899, GQ228395, HM859894, JF819648, JN003205, JN229223, JQ825144, JQ825145, JQ825146, JQ825147, JQ825148, JQ825150, JQ825152, JQ825153, JQ825157, JQ825158, JQ825159, JQ825160, JQ825161, JQ825163, JX498940, KF880803, KF880805, KF951037, KJ739729, KJ739730, KJ739731, KJ914682, KJ914683, KM019546, KP844726, KP844727, KT001070, KT001071, KT001072, KT001073, KT069219, KU761568, KU761570, KU761571, KU761572, KU761573, KU761575, KU761576 и MF374487. Для удобства дальнейшей интерпретации геномного анализа обозначения позиции в геноме вируса будут производиться относительно генома *Tick-borne encephalitis virus strain Primorye*-633 (GenBank ID: HM859894).

Взаимное сравнение всех указанных выше геномов позволило определить семь условно консервативных локусов, характеризующихся минимальной вариабельностью нуклеотидов. Первый консервативный локус располагался в позиции с 33 по 215 нуклеотид генома вируса клещевого энцефалита, второй локус – с 1092 по 1229 нуклеотид, третий локус – с 2925 по 3071 нуклеотид, четвертый локус – с 3177 по 3398 нуклеотид, пятый локус – с 3372 по 3493 нуклеотид, шестой локус – с 5193 по 5323 нуклеотид и седьмой локус – с 5784 по 5956 нуклеотид. Нуклеотидные последовательности вышеуказанных локусов представлены на рис. 1.

Последовательность нуклеотидов, выделенная желтым цветом, характеризуется идентичностью во всех анализируемых нуклеотидных последовательностях. Выделение белым цветом указывает на точечную замену анализируемого нуклеотида (менее 50 % совпадение по отношению к общему числу анализируемых нуклеотидных последовательностей), этим же цветом выделен «урацил» (особенность программы). Нуклеотиды, выделенные синим цветом, характеризуются идентичностью в большинстве анализируемых нуклеотидных последовательностей (более 50 % совпадение по отношению к общему числу анализируемых нуклеотидных последовательностей).

В каждом из анализируемых локусов есть не вариабельные участки нуклеотидной последовательности, комплементарно которым можно выполнить дизайн олигонуклеотидных праймеров и зондов для амплификации искомого локуса.

Поисковые запросы по этим локусам в программной утилите nBLAST дали полную характеристику относительно принадлежности искомых нуклеотидных последовательностей к геномам различных живых существ. Так, первый локус характеризовался наличием максимально схожей последовательности у 100 объектов, все они относились к вирусу клещевого энцефалита; исключение из результатов поиска названия «*Tick-borne encephalitis virus*» позволило выявить 19 объектов вируса клещевого энцефалита (97,27–100 % идентичность, 99–100 % покрытия), в названии которых нет наименования вируса, и 3 вида гетерогенных организмов вирусной природы. Второй локус характеризовался наличием максимально схожей последовательности у 100 объектов, все они относились к вирусу клещевого энцефалита (94,93–100 % идентичность, 99–100 % покрытия), исключение из результатов поиска названия «*Tick-borne encephalitis virus*» позволило выявить 5 объектов вируса клещевого энцефалита (в виде клонированного вектора), в названии которых нет наименования вируса. Третий локус характеризовался наличием максимально схожей последовательности у 95 объектов, все они относились к вирусу клещевого энцефалита (92,52–100 % идентичность, 99–100 % покрытия), исключение из результатов поиска названия «*Tick-borne encephalitis virus*» позволило выявить 2 объекта, один из которых представлен гетерогенным вирусом. Четвертый локус характеризовался наличием максимально схожей последовательности у 100 объектов, все они относились к вирусу клещевого энцефалита (89,19–100 % идентичность, 99–100 % покрытия), исключение из результатов поиска названия «*Tick-borne encephalitis virus*» позволило выявить 1 объект – клонированный вектор вируса клещевого энцефалита. Пятый локус характеризовался наличием максимально схожей последовательности у 100 объектов, все они относи-

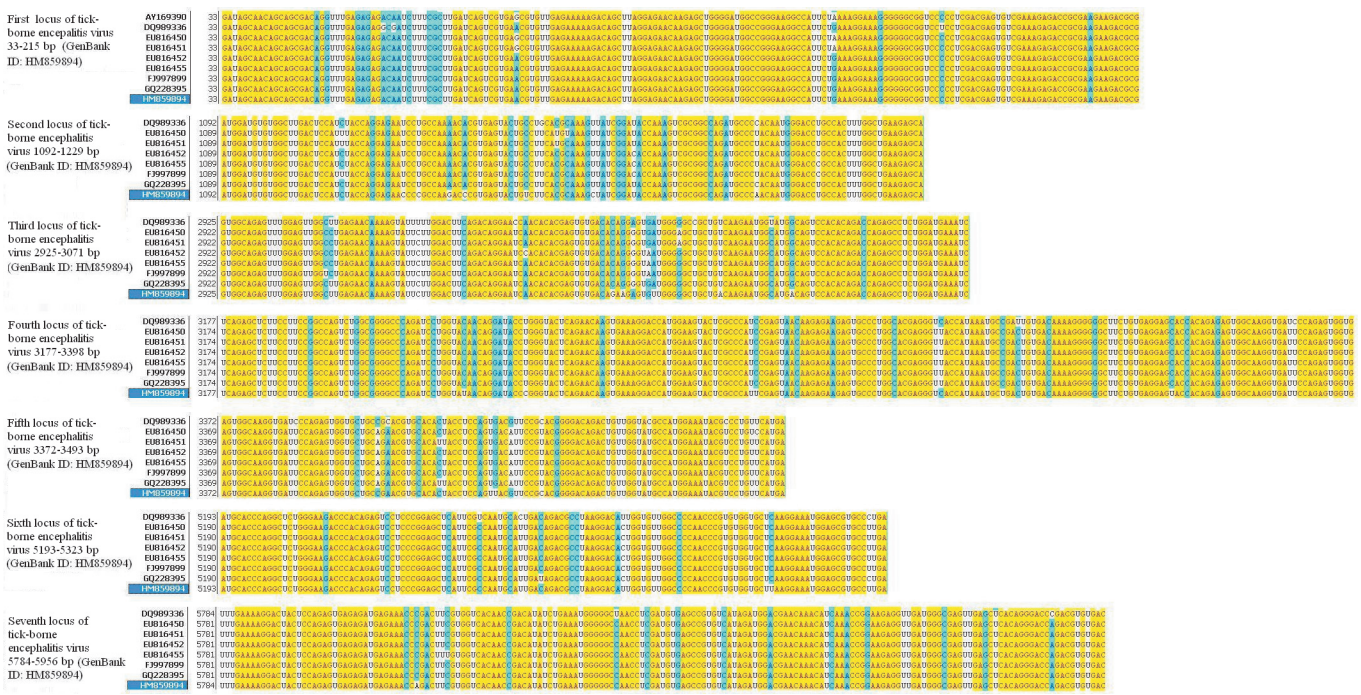


Рис. 1. Сравнение нуклеотидных последовательностей различных изолятов вируса клещевого энцефалита. Единица измерения позиции локуса в геноме указана в парах нуклеотидных оснований (bp)

Fig. 1. Comparison of the nucleotide sequences of various tick-borne encephalitis virus isolates. The unit of measurement of the locus position in the genome is indicated in base pairs (bp)

лись к вирусу клещевого энцефалита (92,62–100 % идентичность, 97–100 % покрытия), исключение из результатов поиска названия «*Tick-borne encephalitis virus*» позволило выявить 1 объект – клонированный вектор вируса клещевого энцефалита. Шестой локус характеризовался наличием максимально схожей последовательности у 100 объектов, все они относились к вирусу клещевого энцефалита (91,6–100 % идентичность, 99–100 % покрытия), исключение из результатов поиска названия «*Tick-borne encephalitis virus*» позволило выявить 1 объект вируса клещевого энцефалита, в названии которого нет наименования вируса, и 3 вида гетерогенных организмов вирусной природы. Седьмой локус характеризовался наличием максимально схожей последовательности у 100 объектов, все они относились к вирусу клещевого энцефалита (90,75–100 % идентичность, 100 % покрытия), исключение из результатов поиска названия «*Tick-borne encephalitis virus*» позволило выявить 1 объект – клонированный вектор вируса клещевого энцефалита.

Выделение нуклеотидов желтым, белым или синим цветом осуществлялось по алгоритму, схожему с описаниями рис. 1.

В локусах, представленных на рис. 2, дополнительно к нуклеотидным последовательностям изолятов вируса клещевого энцефалита добавлены нуклеотидные последовательности гетерогенных микроорганизмов, которые в результате анализа в ресурсе «BLAST» характеризовались схожестью нуклеотидной последовательности (первые семь позиций, а именно JF416964, MG720088, NC_027709, DQ462443, DQ235153, DQ235152 и MN537791).

В результате сравнения анализируемых нуклеотидных последовательностей установлено, что при добавлении в сравниваемый список гетерогенных микроорганизмов ранее консервативные нуклеотидные последовательности (потенциальные места для дизайна праймеров и зондов) приобрели значительную вариабельность. Такое изменение сравнительных характеристик анализируемых нуклеотидных последовательностей позволяет сделать вывод о минимальном влиянии выявленных гетерогенных микроорганизмов на специфичность создаваемых олигонуклеотидных затравок при дизайне праймеров и зондов для ПЦР, амплифицирующих применяемые в данной работе маркерные локусы вируса клещевого энцефалита.

Опираясь в дальнейшей работе на результаты выравнивания нуклеотидных последовательностей изолятов вируса клещевого энцефалита, в том числе учитывая нуклеотидные последовательности гетерогенных микроорганизмов, выполнен дизайн праймеров и зондов для амплификации каждого из маркерных локусов (при наличии такой возможности). Для амплификации первого анализируемого локуса и флуоресцентного контроля ПЦР разработаны следующие праймеры и зонд: enceph F locus 1 (gcggtctctttcgacactcgtc), enceph R locus 1 (cggatagcaacagcagcgaca), enceph P locus 1 (c tcttgttctcctaagctgtcttattctcaacacg); все нуклеотидные последовательности имеют направление молекулы 5' → 3'. Для амплификации второго анализируемого локуса и флуоресцентного контроля ПЦР разработаны следующие праймеры и зонд: enceph F locus 2 (ctcttcagccaaagtggcaggt), enceph

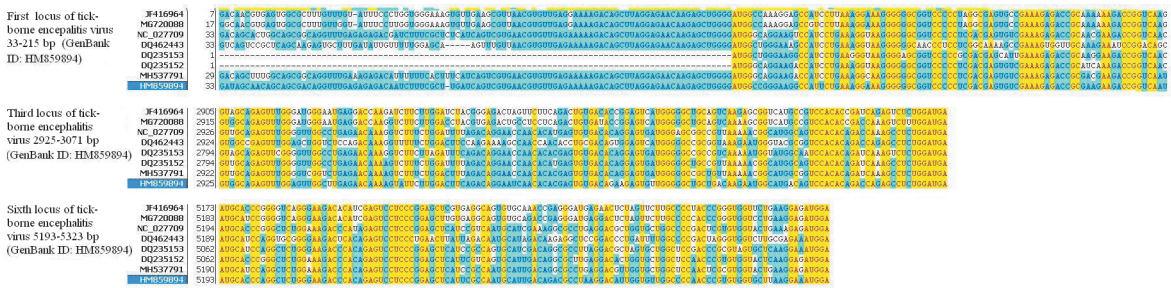


Рис. 2. Сравнение нуклеотидных последовательностей различных изолятов вируса клещевого энцефалита с гетерогенными микроорганизмами. Единица измерения позиции локуса в геноме указана в парах нуклеотидных оснований (bp)

Fig. 2. Comparison of the nucleotide sequences of various tick-borne encephalitis virus isolates with heterogeneous microorganisms. The unit of measurement of the locus position in the genome is indicated in base pairs (bp)

R locus 2 (atggatgtgtggcttgactccat), enceph P locus 2 (attgttgggcatctggccgcgac). Для амплификации третьего анализируемого локуса и флуоресцентного контроля ПЦР не получилось разработать праймеры и зонд, так как не удалось найти достаточно консервативные нуклеотидные последовательности в области маркерного локуса, а длины имеющихся консервативных участков недостаточно для достижения необходимого показателя температуры плавления олигонуклеотидов. Для амплификации четвертого анализируемого локуса и флуоресцентного контроля ПЦР разработаны следующие праймеры и зонд: enceph F locus 4 (gctcttccttccggccagtc), enceph R locus 4 (ccactctggaatcaccttgcca), enceph P locus 4 (tgaaaggaccatggaagtactcgccc). Для амплификации пятого и шестого анализируемых локусов и флуоресцентных контролейПЦР разработать праймеры и зонды не удалось, так как не обнаружены нуклеотидные последовательности, соответствующие необходимым характеристикам [14]. Для амплификации седьмого анализируемого локуса и флуоресцентного контроля ПЦР разработаны следующие праймеры и зонд: enceph F locus 7 (aggactactccagagtgagagatgagaaa), enceph R locus 7 (tcaactcgcccatcaacctctt), enceph P locus 7 (tggtcacaaccgacatatctgaaatggg).

В результате дизайна олигонуклеотидных затравок для индикации вируса клещевого энцефалита разработано четыре группы праймеров и зондов для ПЦР (локусы 1, 2, 4 и 7). Характеристика разработанных олигонуклеотидов относительно количества вариабельных нуклеотидов, количества димеров, количества вторичных структур и температуры плавления представлена в табл. 1.

Дизайн олигонуклеотидов осуществлялся с учетом минимизации возможной вариабельности нуклеотидных последовательностей искомых изолятов вируса клещевого энцефалита. Во всех случаях, кроме ПЦР-зонда на второй локус, удалось достичь показателя, равного не более одной замене в одном олигонуклеотиде. Все димеры и вторичные структуры характеризовались минимальной длиной (не более четырех нуклеотидов), данный показатель указывает на отсутствие негативного влияния на процесс амплификации.

Для уточнения аналитической значимости каждого из анализируемых локусов генома вируса клещевого энцефалита все разработанные олигонуклеотиды подвергли BLAST-анализу, результаты которого представлены в табл. 2.

Исходя из анализа данных табл. 1 и 2, установлено, что наиболее аналитически значимые олигонуклеотиды разработаны на основе локусов 4 и 7.

Для контроля амплификации применялись олигонуклеотиды, комплементарные большой субъединице рибосомальной РНК клеща рода *Dermacentor reticulatus* (GenBank ID: MK880193) и гену цитохро-

Таблица 1 / Table 1

Характеристики нуклеотидных последовательностей праймеров и зондов для ПЦР

Characteristics of the nucleotide sequences of primers and probes for PCR

Показатель характеристики / название олигонуклеотида Characteristic value / name of the oligonucleotide	Enceph F locus 1	Enceph R locus 1	Enceph P locus 1	Enceph F locus 2	Enceph R locus 2	Enceph P locus 2	Enceph F locus 4	Enceph R locus 4	Enceph P locus 4	Enceph F locus 7	Enceph R locus 7	Enceph P locus 7
Количество вариабельных нуклеотидов The number of variable nucleotides	1	1	0	1	0	3	1	0	0	0	1	1
Количество димеров Number of Dimers	7	0	11	4	6	4	2	4	2	12	0	9
Количество вторичных структур Number of Hairpin Loops	3	0	5	2	3	1	0	2	0	5	0	4
Температура плавления, °C Melting point, °C	57,6	58,6	64,3	57,2	57,0	67,4	57,5	58,5	64,0	57,6	57,4	64,3

Таблица 2 / Table 2

Принадлежности анализируемых нуклеотидных последовательностей к геномам различных живых существ

Appurtenance of the analyzed nucleotide sequences to the genomes of various living beings

Показатель специфичности Specificity indicator	Enceph F locus 1	Enceph R locus 1	Enceph P locus 1	Enceph F locus 2	Enceph R locus 2	Enceph P locus 2	Enceph F locus 4	Enceph R locus 4	Enceph P locus 4	Enceph F locus 7	Enceph R locus 7	Enceph P locus 7
Количество выявляемых изолятов искомого вируса The number of detected virus isolates	>100	>100	>100	99	>100	>100	>100	>100	96	>100	>100	100
Количество выявляемых гетерогенных организмов The number of detected heterogeneous organisms	15	1	7	1	20	2	1	3	0	0	3	3

ма В клеща *Ixodes ricinus* (GenBank ID: MH336087). Внутренний контроль амплификации разработан для проверки качества выделения нуклеиновых кислот, для ПЦР в этом случае использовали следующие олигонуклеотиды: F Ixodes (catattgaattt gaggaggattttcagt), R Ixodes (tgtgaagtaagggtggaaagg gat), P Ixodes (Cy5-acactcactcgatttttttctttacattttatttta ccttt-RRQ2), F Dermacentor (gctaagagaatggaatttcag ggaa), R Dermacentor (agatgccccaactaagaattcctaat), P Dermacentor (Cy5-aagaaacaattatataaattaaggacaagaag accctaagaa-RRQ2), все нуклеотидные последовательности имеют направление молекулы 5' → 3'.

Разработанные праймеры для индикации вируса клещевого энцефалита имеют температуру плавления (57,75±0,44) °С, а праймеры для контроля амплификации – (56,35±0,29) °С, такая разница температур создает более благоприятные условия амплификации праймеров для индикации вируса клещевого энцефалита (при температуре отжига 57,7 °С).

Для контроля результата амплификации создан положительный контроль со специфической вставкой маркерных последовательностей вируса клещевого энцефалита (5'gctcttccttccggccagtcaggactact ccagagtgagagatgagaaatgaaaggaccatggaagtactcgccctggt cacaaccgacatatctgaaatgggtggcaaggtgattccagagtggaaga ggttgatgggcgagttga3'). Вставку маркерной последовательности в плазмиду «pAL2-T» заказали в ЗАО «Евроген». Результат амплификации разработанных олигонуклеотидных затравок с нуклеиновыми кислотами клещей и плазмидного контроля изображен на рис. 3.

Амплификация с олигонуклеотидными затравками для индикации вируса клещевого энцефалита была результативной как в отдельной ПЦР с положительным плазмидным контролем, так и в сочетании с ДНК клещей.

Для определения предела обнаружения вируса подготовили 12 десятикратных разведений плазмидной ДНК с начальной концентрацией 426,6 нг/мкл, что соответствует (для применяемой плазмиды) 125663628880 молекул в микролитре раствора. Каждое из 12 разведений ДНК амплифицировали в восьми повторах, начальное разведение для амплификации составило 10^{-3}. Предельное работоспособное (шесть случаев амплификации из 8 реакций) разведение плазмидной ДНК составило 10^{-11}, что соответствует 6,29 молекул ДНК в реакционной смеси.

Индикация амплификации с олигонуклеотидными затравками для выявления вируса клещевого энцефалита осуществлялась по каналу Rox, а внутреннего контроля амплификации – по каналу Cy5.

Применение разработанных олигонуклеотидов позволит с высокой степенью достоверности определять носительство иксодовыми клещами вируса клещевого энцефалита. При этом достоверность эффек-

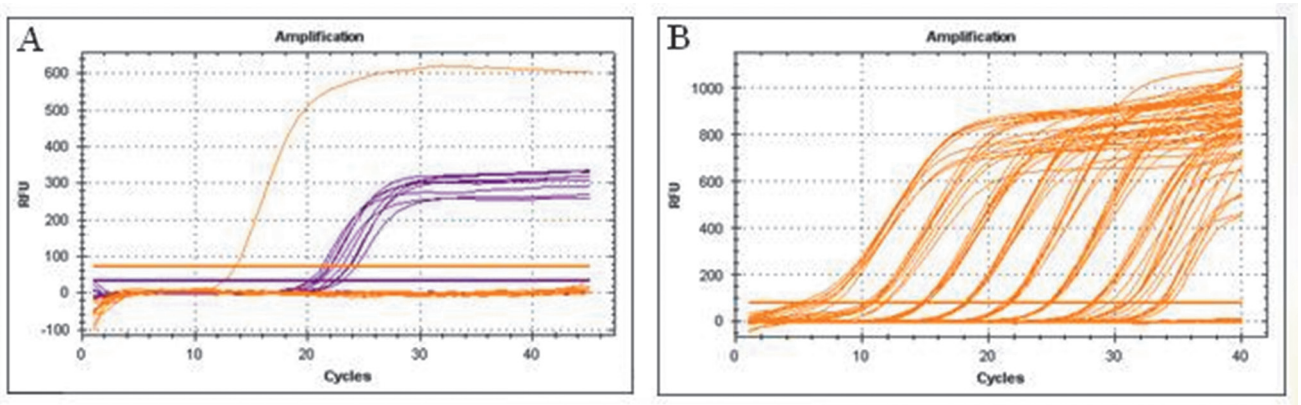


Рис. 3. Амплификация маркерных локусов для индикации вируса клещевого энцефалита:

A – амплификация плазмидного контроля и ДНК клещей; ***B*** – амплификация плазмидного контроля для определения предела чувствительности ПЦР

Fig. 3. Amplification of marker loci to indicate tick-borne encephalitis virus:

A – amplification of plasmid control and tick DNA; ***B*** – amplification of the plasmid control to determine the sensitivity threshold of PCR

тивности выделения нуклеиновых кислот будет подтверждаться амплификацией внутреннего контроля (амплификация геномной ДНК клеща), а достоверность выявления РНК вируса клещевого энцефалита будет достигаться при амплификации (ОТПЦР) обоих выбранных в данной работе локусов (№ 4 и 7).

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

Список литературы

1. Туник Т.В., Ляпунов А.В., Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А., Арбатская Е.В., Чапоргина Е.А., Каверзина А.С., Петрова И.В., Савелькаева М.В., Горбунова Е.Л. Эффективность антибиотикопрофилактики болезни Лайма (клещевого боррелиоза) у лиц, пострадавших от укусов иксодовых клещей. *Acta Biomedica Scientifica*. 2012; (2–1):67–70.
2. Madison-Antenucci S., Kramer L.D., Gebhardt L.L., Kauffman E. Emerging tick-borne diseases. *Clin. Microbiol. Rev.* 2020; 33(2):e00083-18. DOI: 10.1128/CMR.00083-18.
3. Ляпунов А.В., Данчинова Г.А., Хаснатинов М.А., Туник Т.В., Арбатская Е.В., Петрова И.В., Савелькаева М.В., Горбунова Е.Л., Гладкова Е.П. Встречаемость антигена вируса клещевого энцефалита у населения, пострадавшего от укусов иксодовых клещей. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.* 2013; (2–2):115–8.
4. Оглезнева Е.Е., Ильина Т.М., Чеботарева Т.Я. Ситуация по заболеваемости инфекциями, передающимися при укусах клещей, и мерах их профилактики на территории Белгородской области за период 2015 – 8 месяцев 2017 гг. *Инфекция и иммунитет.* 2017; S:476.
5. Данчинова Г.А., Ляпунов А.В., Манзарова Э.Л., Ляпунова Н.А., Соловаров И.С., Петрова И.В., Хаснатинов М.А. Необходимость совершенствования экстренной диагностики клещевых инфекций у людей, пострадавших от укусов иксодовых клещей за пределами России. *Acta Biomedica Scientifica*. 2018; 3(4):129–37. DOI: 10.29413/ABS.2018-3.4.19.
6. Конев В.П. Клещевой энцефалит: патоморфология и молекулярная патология. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии.* 2007; 11:87–90.
7. Пиневич О.С., Попонникова Т.В., Вахрамеева Т.Н., Бедарева Т.Ю., Галиева Г.Ю., Берданова В.С. Клинические и этиологические аспекты клещевых микст-инфекций у детей. *Мать и дитя в Кузбассе*. 2008; 3:30–5.
8. Леонова Г.Н., Крылова Н.В., Павленко Е.В., Беликов С.И., Кондратьев И.Г. Значение дальневосточных штаммов вируса клещевого энцефалита в инфекционной патологии. *Здоровье населения и среда обитания*. 2012; 1:4–6.
9. Хусаинов Ф.М., Евстифеев В.В., Хусаинова Г.И., Хамидуллина Р.З., Фазулзянов И.Р., Яковлев С.И. Клинико-эпизоотологическое проявление хламидийного аборта у коз. *Ветеринарный врач.* 2018; 3:41–4.
10. Гумеров В.Г., Евстифеев В.В., Макаев Х.Н., Галиуллин А.К., Каримуллина И.Г., Коннов М.Н. Эпизоотологический и серологический мониторинг смешанных респираторно-кишечных инфекций крупного рогатого скота. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана.* 2019; 237(1):56–60. DOI: 10.31588/2413-4201-1883-237-1-56-60.
11. Этенко Д.А., Громова О.А., Субботин А.В., Семенов В.А. Комплексная терапия очаговой формы смешанной клещевой энцефалит-боррелиозной инфекции. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2016; 8(3):26–30. DOI: 10.14412/2074-2711-2016-3-26-30.
12. Носков А.К., Ильин В.П., Андаев Е.И., Пакскина Н.Д., Веригина Е.В., Балахонов С.В. Заболеваемость клещевым вирусным энцефалитом в российской федерации и по федеральным округам в 2009–2013 гг., эпидемиологическая ситуация в 2014 г. и прогноз на 2015 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2015; 1:46–50. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-1-46-50.
13. Khammadov N.I., Aleksandrova N.M., Khammadova A.V., Shuralev E.A. Evaluation of the Effectiveness of Genetic Markers of Mycobacteria for Assessing the Disinfection Quality by Viability Real Time PCR. *BioNanoScience.* 2019; 9:918–27. DOI: 10.1007/s12668-019-00654-8.
14. Khammadova A.V., Shuralev E.A., Khammadov N.I., Oumarou B.M., Faizov T.K., Mukminov M.N. Design of primers for identification of honey bee viruses in multiplex-PCR. *Astra Salvensis*. 2017; 2017:481–90.

References

1. Tunik T.V., Lyapunov A.V., Khasnatinov M.A., Danchinova G.A., Arbatskaya E.V., Chaporgina E.A., Kaverzina A.S., Petrova I.V., Savel'kaeva M.V., Gorbunova E.L. [The effectiveness of antibiotic prophylaxis of Lyme disease (tick-borne borreliosis) in individuals affected by bites of ixodid ticks]. *Acta Biomedica Scientifica*. 2012; (2–1):67–70.
2. Madison-Antenucci S., Kramer L.D., Gebhardt L.L., Kauffman E. Emerging tick-borne diseases. *Clin. Microbiol. Rev.* 2020; 33(2):e00083-18. DOI: 10.1128/CMR.00083-18.
3. Lyapunov A.V., Danchinova G.A., Khasnatinov M.A., Tunik T.V., Arbatskaya E.V., Petrova I.V., Savelkaeva M.V., Gorbunova E.L., Gladkova E.P. [The incidence of tick-borne encephalitis virus antigen in a population affected by tick bites]. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossijskoj akademii meditsinskih nauk. [Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences]*. 2013; (2–2):115–8.
4. Oglezneva E.E., Ilina T.M., Chebotareva T.YA. [The situation with the incidence of infections transmitted by tick bites and measures for their prevention in the territory of the Belgorod region for the period 2015 – 8 months of 2017]. *Infekciya i immunitet. [Russian journal of Infection and immunity]*. 2017; S:476.
5. Danchinova G.A., Lyapunov A.V., Manzarova E.L., Lyapunova N.A., Solovarov I.S., Petrova I.V., Khasnatinov M.A. [The need to improve emergency diagnosis of tick-borne infections in people affected by bites of *Ixodidae* ticks outside of Russia]. *Acta Biomedica Scientifica.* 2018; 4:129–37. DOI: 10.29413/ABS.2018-3.4.19.
6. Konev V.P. [Tick-borne encephalitis: pathomorphology and molecular pathology]. *Dal'nevostochnyj zhurnal infektsionnoj patologii. [Far Eastern Journal of Infectious Pathology]*. 2007; 11:87–90.
7. Pinevich O.S., Poponnikova T.V., Vahrameeva T.N., Bedareva T.Y., Galieva G.Y., Berdanova V.S. Clinical and etiological aspects of tick-borne mixed infections in children]. *Mat' i ditya v Kuzbasse. [Mother and child in Kuzbass]*. 2008; 3:30–5.
8. Leonova G.N., Krylova N.V., Pavlenko E.V., Belikov S.I., Kondrat'ev I.G. [The importance of Far Eastern tick-borne encephalitis virus strains in infectious pathology]. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya. [Public Health and Life Environment]*. 2012; 1:4–6.
9. Khusainov F.M., Evstifeev V.V., Khusainova G.I., Khamidullina R.Z., Fazulzyanov I.R., Yakovlev S.I. [Clinical and epizootiological manifestation of chlamydial abortion in goats]. *Veterinarnyj vrach [Veterinarian]*. 2018; 3:41–4.
10. Gumerov V.G., Evstifeev V.V., Makaev H.N., Galiullin A.K., Karimullina I.G., Konnov M.N. [Epizootiological and serological monitoring of mixed respiratory and intestinal infections in cattle]. *Uchenye zapiski Kazanskoj gosudarstvennoj akademii veterinarnoj meditsiny im. N.E. Baumana. [Scientific notes of Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman]*. 2019; 1:56–60. DOI: 10.31588/2413-4201-1883-237-1-56-60
11. Etenko D.A., Gromova O.A., Subbotin A.V., Semenov V.A. [Combined therapy of the focal form of mixed tick-borne encephalitis-borreliosis infection]. *Nevrologiya, nejropsikhiatriya, psihosomatika [Neurology, neuropsychiatry, psychosomatics]*. 2016; 3:26–30. DOI: 10.14412/2074-2711-2016-3-26-30.
12. Noskov A.K., Ilin V.P., Andaev E.I., Pakskina N.D., Verigina E.V., Balahonov S.V. [Tick-borne viral encephalitis incidence in the Russian Federation and federal districts in 2009-2013, epidemiological situation in 2014 and forecast for 2015]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*.. 2015; (1):46–50. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-1-46-50.
13. Khammadov N.I., Aleksandrova N.M., Khammadova A.V., Shuralev E.A. Evaluation of the Effectiveness of Genetic Markers of Mycobacteria for Assessing the Disinfection Quality by Viability Real Time PCR. *BioNanoScience.* 2019; 9:918–27. DOI: 10.1007/s12668-019-00654-8.
14. Khammadova A.V., Shuralev E.A., Khammadov N.I., Oumarou B.M., Faizov T.K., Mukminov M.N. Design of primers for identification of honey bee viruses in multiplex-PCR. *Astra Salvensis*. 2017; 2017:481–90.

Authors:

Khammadov N.I. Federal Center of Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation. Nauchniy Gorodok-2, Kazan, Tatarstan, 420075, Russian Federation. E-mail: vnivi@mail.ru.

Об авторах:

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-129-134

УДК 616.98:579.842.23(517.3)

А.В. Холин[1], М.Б. Шаракшанов[1], Д.Б. Вержуцкий[1], В.М. Корзун[1], Л. Оргилбаяр[2], Ц. Ганхуяг[2], Д. Гандболд[2], Н. Цогбадрах[2], Д. Цэрэнноров[2], Б. Цэрэндулам[3], Г. Эрдэнэдэлгэр[3], Н. Пагмадулам[3], М. Бадамцэцэг[3], Л. Бужинлхам[3], Я. Эрдэнэцэцэг[3], Г. Амарсанаа[3], Я. Алтангэрэл[3], С.В. Балахонов[1]

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ПРИГРАНИЧНОЙ С РОССИЕЙ ЧАСТИ ХАРХИРА-ТУРГЕНСКОГО ПРИРОДНОГО ОЧАГА ЧУМЫ МОНГОЛИИ В 2019 г.

[1]ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; [2]Национальный центр зоонозных инфекций, Улаанбаатар, Монголия; [3]Центр зоонозных инфекций Увс аймака, Улаангом, Монголия

Цель работы – оценка современной эпизоотической ситуации в приграничной с Российской Федерацией части Хархира-Тургенского природного очага чумы Монголии. **Материалы и методы.** Эпизоотологическое обследование проведено на площади 2715,5 км^2. На обнаружение возбудителя чумы исследовано 213 проб полевого материала из них: 90 проб – мелкие млекопитающие, 102 пробы – эктопаразиты, 17 проб – остатки стола хищных птиц и сухих костные останки монгольских сурков, 4 пробы – погадки хищных птиц. Лабораторная деятельность осуществлялась в «Микробиологической лаборатории экспресс диагностики» на базе автомобиля ГАЗель. Исследования полевого материала проводились с использованием иммунохроматографического (ИХ) анализа и полимеразной цепной реакции (ПЦР). Пробы с положительной реакцией в ПЦР и ИХ тестах далее исследовали бактериологическим методом. При проведении эпизоотологического обследования использованы ГИС-инструменты. Все полученные результаты наносились на электронные карты в программе QGIS 2.18.26. **Результаты и обсуждение.** Капсульный антиген (F1) *Yersinia pestis* обнаружен в трех (1,4 %) исследуемых образцах (n=213), ДНК чумного микроба – в восьми (3,7 %). При бактериологическом исследовании положительно реагирующих проб из одной – остатки стола хищных птиц (монгольский сурок), выделена культура возбудителя чумы основного подвида *Y. pestis*. Осуществлено географическое позиционирование точек эпизоотологического обследования, положительных находок при иммунологических и молекулярно-генетических исследованиях. Результаты эпизоотологического обследования свидетельствуют об активной фазе циркуляции возбудителя чумы основного подвида в Хархира-Тургенском природном очаге Монголии.

Ключевые слова: приграничный Хархира-Тургенский природный очаг чумы, Северо-Западная Монголия, эпизоотическая активность, *Yersinia pestis*.

Корреспондирующий автор: Холин Алексей Викторович, e-mail: alex.holin@mail.ru.

Для цитирования: Холин А.В., Шаракшанов М.Б., Вержуцкий Д.Б., Корзун В.М., Оргилбаяр Л., Ганхуяг Ц., Гандболд Д., Цогбадрах Н., Цэрэнноров Д., Цэрэндулам Б., Эрдэнэдэлгэр Г., Пагмадулам Н., Бадамцэцэг М., Бужинлхам Л., Эрдэнэцэцэг Я., Амарсанаа Г., Алтангэрэл Я., Балахонов С.В. Результаты эпизоотологического обследования приграничной с Россией части Хархира-Тургенского природного очага чумы Монголии в 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:129–134. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-129-134

Поступила 02.04.20. *Принята к публ.* 15.05.20.

A.V. Kholin[1], M.B. Sharakshanov[1], D.B. Verzhutsky[1], V.M. Korzun[1], L. Orgilbayar[2], Ts. Gankhuyag[2], D. Gandbold[2], N. Tsogbadrakh[2], D. Tserennorov[2], B. Tserendulam[3], G. Erdenedelger[3], N. Pagmadulam[3], M. Badamtsetseg[3], L. Buzhinlkham[3], Ya. Erdenetsetseg[3], G. Amarsanaa[3], Ya. Altangerel[3], S.V. Balakhonov[1]

Results of Epizootiological Survey along the Border Areas of Kharkhira-Turgensky Natural Plague Focus between Russia and Mongolia in 2019

[1]Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation; [2]National Center of Zoonotic Infections, Ulaanbaatar, Mongolia; [3]Center of Zoonotic Infections in Uvs Aimak, Ulaangom, Mongolia

Abstract. **Objective** of the study was to assess the current epizootic settings along the border part of Kharkhira-Turgensky natural plague focus between Russia and Mongolia. **Materials and methods**. Epizootiological survey covered 2715.5 km^2. 213 samples of field material were tested (90 specimens of mammals, 102 specimens of ectoparasites, 17 samples of leftover food of predatory birds and dry skeletal remnants of marmots, 4 regurgitates of birds of prey). Laboratory works were carried out in "Microbiological laboratory for express diagnostics" mounted on the platform of the minibus "GAZelle". Tests of field material were performed using immune-chromatographic (IC) assay and polymerase chain reaction (PCR). PCR and IC positive samples were further investigated applying bacteriological method. Epizootiological surveyed deployed GIS instruments. All the results obtained were plotted on the electronic maps using QGIS 2.18.26 software. **Results and discussion**. Capsular antigen (F1) of *Yersinia pestis* was detected in three (1.4 %) studied samples (n=213), DNA of plague microbe – in eight samples (3.7 %). Bacteriological investigation of positive samples revealed one sample (leftover food of predatory birds – Mongolian marmot) from which plague agent culture was isolated. The culture belonged to *Y. pestis* of the main subspecies. Geographical positioning of the epizootiological survey sites was conducted, as well as positive findings of immunological and molecular-genetic assays. Results of epizootiological survey are indicative of active phase of plague agent circulation (main subspecies) in Kharkhira-Turgensky natural focus in Mongolia.

Key words: borderline Kharkhira-Turgensky natural plague focus, North-Western Mongolia, epizootic activity, *Yersinia pestis*.

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

Corresponding author: Aleksei V. Kholin, e-mail: alex.holin@mail.ru.

Citation: Kholin A.V., Sharakshanov M.B., Verzhutsky D.B., Korzun V.M., Orgilbayar L., Gankhuyag Ts., Gandbold D., Tsogbadrakh N., Tserennorov D., Tserendulam B., Erdenedelger G., Pagmadulam N., Badamtsetseg M., Buzhinlkham L., Erdenetsetseg Ya., Amarsanaa G., Altangerel Ya., Balakhonov S.V. Results of Epizootiological Survey along the Border Areas of Kharkhira-Turgensky Natural Plague Focus between Russia and Mongolia in 2019. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:129–134. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-129-134

Received 02.04.20. *Accepted* 15.05.20.

Эпизоотологический мониторинг трансграничных и приграничных с Россией природных очагов чумы Северо-Западной Монголии проводился на постоянной основе советскими и монгольскими специалистами в 1950–1980 гг. По ряду объективных причин после 1990 г. эпизоотологическое обследование приграничных районов с монгольской стороны ведется нерегулярно и в недостаточных объемах, что не позволяет объективно оценить современную эпизоотическую ситуацию. Начиная с 2017 г., в рамках реализации Распоряжения Правительства РФ от 05.09.2016 г. № 1864-р, Приказа руководителя Роспотребнадзора от 29.12.2016 г. и прямых договоренностей с Министерством здоровья Монголии и Национальным Центром зоонозных инфекций, возобновлены совместные российско-монгольские обследовательские работы на территории двух трансграничных природных очагов чумы: Сайлюгемском (Баян-Улгийский аймак) и Хойт-Хэрленском (Дорнодский аймак) [1–4]. В 2019 г. область исследований на монгольской территории была расширена – в нее вошел приграничный Хархира-Тургенский природный очаг.

Хархира-Тургенский очаг чумы находится в западной части Увс аймака (сомоны Бух-Мурэн, Сагил, Тургэн, Тариалан, Ховд) и приурочен к горностепному поясу хребтов Байрыш-Ула, Турген-Ула и Хайрхан-Ула. Северные окраины этого очага непосредственно примыкают к государственной границе Российской Федерации (Монгун-Тайгинский и Овюрский кожууны (районы) Республики Тыва) [4, 5].

Очаг известен с 1946 г., когда на его территории (юго-западные склоны Хархира-Тургенского горного узла) произошла вспышка чумы среди жителей, погибло девять человек (Бухмуринская вспышка чумы) [6]. Место первичного заражения, связанного с охотой на монгольского сурка (*Marmota sibirica*), находилось примерно в 130 км от границы с Горным Алтаем и в 40 км от Тувы. Эпидемиологическое расследование, проведенное на месте вспышки, позволило предположить наличие в этом районе (урочище Хату) длительно существующего природного очага чумы, о чем свидетельствовали полученные от местного населения сведения о гибели людей от «тарбаганьей болезни» в 1930–1931 гг., когда сначала заболел и умер охотник на сурка, а следом за ним заболело и умерло еще 14 человек [6]. В 1952 г. в сомоне Тариалан произошла вспышка чумы среди людей, заболели пять человек. В 1955 г. зарегистрирован случай заболевания и смерти человека в сомоне Турген [7]. Первые культуры чумного микроба из полевого материала в районе гор Хархира и Турген выделены в 60-х годах прошлого столетия [8]. Два случая заболевания человека произошли на востоке Увс аймака в 1992 г. (сомон Ундурхангай) и оба завершились летальным исходом. При обследовании окрестностей выделены культуры возбудителя чумы от *M. sibirica*. В 2005–2011 гг. в сомоне Бух-Мурен обнаружены антитела к чумному микробу у нескольких отловленных тарбаганов и выявлена фракция 1 в трупах грызунов этого вида [9]. С 2012 г. о положительных результатах эпизоотологического обследования на чуму на этой территории не сообщалось. Всего с 1930 по 1992 год в границах очага зарегистрировано 15 эпидемических проявлений инфекции, во время которых выявлено 56 случаев заболевания человека чумой с летальностью 94,6 %. Практически все вспышки связаны с эпизоотиями среди тарбаганов.

К настоящему времени пространственная и биоценотическая структуры очага изучены недостаточно. Д. Галбадрах и Л. Чинболд [8] выделяют на его территории три микроочага: северный Хавчугинский, Отринский и Хух-Салагинский. Эпидемические и эпизоотические проявления отмечались локально в западной, северной, восточной и южной частях Хархира-Тургенского горного узла, что дает основание предполагать наличие здесь нескольких автономных мезоочагов. Эпизоотии наблюдались среди монгольских сурков (*M. sibirica*), длиннохвостых сусликов (*Spermophilus undulatus*), монгольских (*Ochotona pallas*) и даурских (*Ochotona dauurica*) пищух. По мнению Ж. Дэмбэрела и соавт. [10], *M. sibirica* являлся одним из основных носителей чумы в Хархира-Тургенском природном очаге – от него выделено наибольшее количество культур возбудителя этой инфекции. При этом С.Н. Варшавский и соавт. [11] считали основным носителем длиннохвостого суслика, а Д. Галбадрах и Л. Чинболд [8, 12] – монгольскую пищуху. Несмотря на непосредственную близость эпизоотических проявлений к Тувинскому природному очагу чумы, где циркулируют штаммы основного подвида филогенетической ветви 4.ANT биовара *antiqua* [13], на территории Хархира-Тургенского природного очага изолировали только варианты основного подвида возбудителя с тремя каноническими плазмидами *Y. pestis* [4, 14].

Цель работы – оценка современной эпизоотической ситуации в приграничной с Россией части Хархира-Тургенского природного очага чумы Монголии.

Материалы и методы

С 14 июля по 6 августа 2019 г. совместным российско-монгольским эпидемиологическим отрядом выполнено эпизоотологическое обследование

приграничной с Россией части Хархира-Тургенского природного очага чумы Монголии. Мероприятия осуществлялись в соответствии с МУ 3.1.3.2355-08 «Организация и проведение эпидемиологического надзора в природных очагах чумы на территории Российской Федерации». Работы проведены на площади 2715,5 км^2 в 35 секторах на протяжении 75 км вдоль государственной границы и до 40 км вглубь Монголии, сбор полевого материала произведен с 37 точек (рисунок).

Собран и исследован на чуму следующий полевой материал: млекопитающие – 123 экз., из них монгольский сурок – 66 (добытые – 39, остатки стола хищных птиц – 4, в том числе свежие – 2, сухие – 2, трупы – 12, в том числе свежие – 1, сухие – 11, костные останки сурка – 11), длиннохвостый суслик – 19 (все добытые), монгольская пищуха – 22 (все добытые), даурская пищуха – 2, сибирский тушканчик (*Allactaga major*) – 6, полуденная песчанка (*Meriones meridianus*) – 6, хомячок (*Phodopus* sp.) – 2, блохи – 231 (15 видов), погадки хищных птиц – 20. Всего на обнаружение ДНК капсульного антигена (F1) *Y. pestis* исследовано 213 проб.

Выполнено 45 пеших маршрутов по учету численности носителей возбудителя чумы общей протяженностью 80 км, площадь 320 га, протяженность автомобильных маршрутов составила 950 км. Осмотрено 892 входа нор грызунов и зайцеобразных. На обследованной территории изучены области распространения монгольского сурка, длиннохвостого суслика и монгольской пищухи. Эти исследования осуществлялись при проведении пеших и автомобильных маршрутов.

Проведение лабораторных исследований осуществлялось в автономных условиях в мобильной «Микробиологической лаборатории экспресс диагностики» на базе автомобиля ГАЗель, подаренной Национальному Центру зоонозных инфекций Министерства здравоохранения Монголии Российской Федерацией в рамках выполнения распоряжения Правительства РФ от 05.09.2016 г. № 1864-р.

Очес млекопитающих, вскрытие и забор материала, разбор мумифицированных трупов, остатков стола и погадок хищных птиц; постановка иммунохроматографических тестов и определение видовой принадлежности эктопаразитов проводили в специально оборудованной юрте.

Исследования полевого материала осуществляли с использованием экспресс-иммунохроматографического метода (ИХ-тест), направленного на выявление капсульного антигена (F1) чумного микроба – «ИХ тест-система *Yersinia pestis*» (ФБУН ГНЦ ПМБ, п. Оболенск), а также молекулярно-генетическим методом – ПЦР в режиме реального времени Rotor-Gene Q, с применением тест-систем «Амплисенс *Yersinia pestis*-FL» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии, Москва) и «Набор реагентов для выявления ДНК *Yersinia pestis* методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов в режиме реального времени (Ген *Yersinia pestis* индикация – РГФ)» (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», Саратов). В последующем при получении положительных результатов методами экспресс-диагностики материал дополнительно изучался стандартными бактериологическим методами.

При проведении эпизоотологического обследования использованы ГИС-инструменты. Все полученные результаты наносились на электронные карты в программе QGIS 2.18.26.

Результаты и обсуждение

Состояние численности и область распространения носителей. Монгольский сурок населяет практически всю обследованную местность, кроме обширной опустыненной территории урочищ

Эпизоотические проявления на обследованной территории приграничного Хархира-Тургенского природного очага чумы в 2019 г.:

1 – государственная граница, *2* – граница субъектов Российской Федерации, *3* – обследованные сектора, *4* – точки сбора полевого материала, *5* – секторы с эпизоотическими проявлениями, *6* – место выделения чумного микроба, *7* – места обнаружения ДНК *Y. pestis*, *8* – места получения серопозитивных результатов

Epizootic manifestations in the surveyed territory of the borderline Charkhira-Turgensky natural plague focus in 2019:

1 – state border, *2* – boundaries of the constituent entities of the Russian Federation, *3* – surveyed sectors, *4* – sites of filed material collection, *5* – sectors with epizootic manifestations, *6* – site of plague agent isolation, *7* – sites of *Y. pestis* DNA detection, *8* – sites where tests of field material were seropositive

Хатугийн-Нарийны-Худо, Ушигийн-Хэдээ, Бух-Мурэгнийн-Хара-Худо от юго-западного склона хр. Турген-Ула до р. Бух-Мурэн. Численность зверьков в период обследований, по данным маршрутных учетов, варьировала от 0,2 до 3,7 жилых бутанов (ж.б.) на 1 га, при среднем значении для всей обследованной территории – 1,3 ж.б. на 1 га (n=43). Средняя заселенность бутанов составила 93,0 % (n=43). Поселения сурков отмечались на высоте от 1448 м над ур. м. (дельта р. Харигийн-Гол, левый берег) до 2598 м над ур. м. (ур. Урт-Булгин-Эх). Высокая численность грызунов этого вида была отмечена в урочищах Урт-Булгин-Эх (2,7 ж.б. на 1 га), Шулуустэй (2,8), Цалгир (3,0), Ховчу (3,7). В целом уровень численности монгольского сурка на изученной территории Северо-Западной Монголии высокий и превышает таковой в смежных районах Юго-Западной Тувы, где его численность на большей части территории низкая за счет массового неконтролируемого промысла.

На обследованной территории поселения длиннохвостого суслика распределены неравномерно и в основном приурочены к увлажненным понижениям, долинам ручьев и рек. Численность данного вида варьировала от 0,0 до 15,0 зверьков на 1 га, при среднем значении 2,6 (n=16). Поселения суслика отмечались на высоте от 1940 м над ур. м. (ур. Нарин-Сала) до 2468 м над ур. м. (ур. Мергин-Эх). Высокая численность зверьков этого вида наблюдалась в ур. Гулзаад-Эхэн – 10 зверьков на 1 га (2077 м над ур. м.) и ур. Цаган-Гол Хотыл – 15 на 1 га (2030 м над ур. м.).

Наиболее плотные поселения монгольской пищухи на обследованной территории преимущественно располагались по пологим участкам межгорных долин, нижним и средним частям логов. Уровень численности зверька по отдельным учетам колебался от 0,0 до 27,5 жилых колоний на 1 га, среднее значение составило 4,6 (n=33). Средняя заселенность колоний 64,1 % (n=32). В целом на обследованных участках численность населения этого вида зайцеобразных была невысокая, за исключением некоторых урочищ: Банзар-Гэсэн – 10,8 жилых колоний (ж.к.) на 1 га (2249 м над ур. м.), Булгин-Эх – 13,5 (2130 м над ур. м.), Хаг – 17,9 (2283 м над ур. м.), Мергин-Эх – 27,5 (2144 м над ур. м.). Следует отметить, что три из них располагаются в непосредственной близости к российской территории, где находятся действующие мезоочаги Тувинского природного очага чумы: ур. Булгин-Эх и ур. Хаг – Кара-Бельдырский мезоочаг, ур. Мергин-Эх – Верхне-Барлыкский мезоочаг. При этом перемещение зверьков между территориями России и Монголии не ограничено никакими существенными географическими преградами.

Видовой состав блох. При проведении эпизоотологического обследования собран 231 экз. блох, которые относились к 12 видам: *Citellophilus tesquorum, Oropsylla silantiewi, Amphipsylla primaris, Ctenophyllus hirticrus, Frontopsylla hetera, Neopsylla mana, Frontopsylla frontalis, Rhadinopsylla li transbaikalica, Neopsylla pleskei, Pulex irritans, Amphalius runatus, Xenopsylla scrjabini.* Насекомые сняты при очесе монгольского сурка, длиннохвостого суслика, монгольской пищухи, хомячка (*Phodopus* sp.) – 147 экз., а также добыты из входов нор этих зверьков – 84 экз. Эти представители отряда *Siphonaptera* типичны для данной территории Северо-Западной Монголии.

Эпизоотическая активность. Эпизоотические проявления, подтвержденные выделением культуры возбудителя чумы, обнаружением ДНК чумного микроба, положительными результатами серологических исследований на наличие капсульного антигена *Y. pestis* установлены на площади 305,0 км^2, что составляет 11,2 % от обследованной территории (рисунок).

В урочище Дарьт (1852 м над ур. м., сомон Бух-Мурэн) 21 июля 2019 г. у хищных птиц (6 черных грифов) отобран свежерасклеванный монгольский сурок, из этого материала выделена одна культура возбудителя чумы основного подвида. Площадь эпизоотии составила 82,9 км^2 (рисунок). Расстояние по прямой до российско-монгольской границы, в северо-западном направлении равнялось 17 км, до мест эпизоотических проявлений на территории Тувинского очага чумы – 18–21 км (Кара-Бельдырский мезоочаг, ур. Ак-Адыр, Толайты, Шара-Харагай). До точек эпизоотических проявлений в соседнем трансграничном Сайлюгемском природном очаге (Баян-Улгийский аймак), где в 2017–2018 гг. отмечались активные эпизоотии чумы на серых сурках, составило 62–63 км (положительные результаты ПЦР и серологических реакций, участки Харамагнай, Борхаг, Кок-Сай) и 78–85 км до мест выделения культур (участки Бухан-Толгой, Шине-Дава, Хундий, Заг, Талын-Толгой, Жаргалант) (рисунок).

При проведении иммунохроматографической диагностики капсульный антиген *Y. pestis* обнаружен в трех (1,4 %) исследуемых образцах (рисунок). Положительные результаты получены от блох *A. primaris*, *C. tesquorum, C. hirticrus*, очесанных с длиннохвостого суслика, который добыт в ур. Гулзаад (сомон Сагил) – в непосредственной близости от государственной границы.

Методом ПЦР ДНК *Y. pestis* обнаружена в восьми (3,7 %) пробах (рисунок). Положительные результаты получены из остатков стола хищных птиц (монгольский сурок, ур. Дарьт), костных останков *M. sibirica* (ур. Хавчуу Засх, сомон Бух-Мурэн), погадок хищных птиц (объединенная проба – 13 шт., ур. Цалгир, сомон Бух-Мурэн), от блох *A. primaris*, *C. tesquorum, C. hirticrus*, снятых с длиннохвостого суслика (ур. Гулзаад, сомон Сагил), блохи *C. hirticrus*, снятой с *M. sibirica* (ур. Цалгир, сомон Бух-Мурэн), а также от блохи *C. tesquorum* с монгольской пищухи (ур. Уолидустай, сомон Сагил). Результаты исследований подтверждены двумя взаимоконтролирующими тест-системами.

Бактериологическим методом исследовано во-

семь проб, положительно реагирующих в ИХ-тесте и ПЦР. Посев производился на питательную среду – агар Хотингера (Центр по изучению зоонозных инфекций Увс аймака, Монголия). Через 18–24 ч на посевах с пробы № 9 (остатки стола хищных птиц – монгольский сурок, ур. Дарьт) и пробы № 18 (костные останки *M. sibirica*, ур. Хавчуу Засх) обнаружены единичные мелкие колонии, имеющие бурый зернистый центр и прозрачную периферическую зону с фестончатыми краями. При пересевах не отмечено роста возбудителя чумы в достаточных для проведения дифференциальных исследований количествах. Для дальнейшей идентификации чашки Петри с посевами и первичный материал переданы в лабораторию Национального центра по изучению зоонозных инфекций Монголии (г. Улан-Батор), где от пробы № 9 выделена культура возбудителя чумы основного подвида.

Таким образом, результаты проведенного эпизоотологического обследования приграничного Хархира-Тургенского природного очага чумы в 2019 г. свидетельствуют о том, что на обследованной территории – в поселениях монгольского сурка, длиннохвостого суслика и монгольской пищухи – протекает эпизоотия чумы. Положительные находки обнаружены на территории сомонов Бух-Мурэн – в ур. Дарьт выделена культура *Yersinia pestis,* в сомоне Сагил в урочищах Хавчуу Засх, Цалгир, Уолидустай получены положительны результаты ПЦР и ИХТ.

В связи с обнаружением активного эпизоотического процесса в поселениях массовых видов млекопитающих, в первую очередь *M. sibirica*, на которого местное население продолжает охотиться (браконьерство), несмотря на введенные ограничения, тем самым подвергая себя риску заражения, дальнейшее обследование этого приграничного природного очага чумы Монголии необходимо продолжить. При этом для более объективной оценки современного эпидемиологического потенциала и выявления эпидемических угроз со стороны данного природного очага требуются дальнейшие более глубокие и расширенные исследования.

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

Список литературы

1. Косилко С.А., Балахонов С.В., Отгонбаяр Д., Цогбадрах Н., Ярыгина М.Б., Корзун В.М., Цэрэнноров Д., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Уржих Ч. Монгольская часть трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в 2017 г. Сообщение 2. Современные эпидемиологические риски. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 2:62–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-62-67.

2. Корзун В.М., Балахонов С.В., Денисов А.В., Ярыгина М.Б., Рождественский Е.Н., Абибулаев Д.Э., Шефер В.В., Косилко С.А., Отгонбаяр Д., Байгалмаа М., Оргилбаяр Л., Уржих Ч., Тоголдор Н., Махбал А., Дауренбек Х., Цогбадрах Н., Цэрэнноров Д., Ганболд Х. Монгольская часть трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в 2017 г. Сообщение 1. Эпизоотическая ситуация. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 1:79–84. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-79-84.

3. Корзун В.М., Балахонов С.В., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Токмакова Е.Г., Санаров П.П., Акулова С.С., Косилко С.А., Отгонбаяр Д., Оргилбаяр Л., Батжав Д., Уржих Ч., Тоголдор Н., Махбал А., Цогбадрах Н., Цэрэнноров Д. Эпизоотическая ситуация в Монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 2:79–86. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-79-86.

4. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Обеспечение эпидемиологического благополучия в природных очагах чумы на территории стран СНГ и Монголии в современных условиях. Ижевск: изд-во ООО «Принт»; 2018. 336 с.

5. Кучерук В.В., Бибиков Д.И. Сурки как хранители чумы. В кн.: Зимина Р.П., Исаков Ю.А., редакторы. Сурки. Биоценотическое и практическое значение. М.: Наука; 1980. С. 111–64.

6. Летов Г.С., Абрамова Г.С. Бухмуринская вспышка легочной чумы. *Известия Иркутского противочумного института.* 1959; 20:107–10.

7. Некипелов Н.В. Эпизоотология чумы в Монгольской Народной Республике. *Известия Иркутского противочумного института.* 1959; 22:108–243.

8. Галбадрах Д., Чинболд Л. Природные очаги Сайлюгема и Хархира-Алтайской горной провинции. Эпидемиология и профилактика особо опасных инфекций в МНР и СССР: Материалы III международной монголо-советской научной конференции, Улан-Батор 8–9 декабря 1977 г. Улан-Батор; 1978. С. 44–6.

9. Baigalmaa M., Gandbold D., Otgonbayar D., Tserennorov D. Current situation of plague foci in Mongolia. *Current issues on zoonotic diseases.* Ulaanbaatar, 2017; 17:39–44.

10. Дэмбэрэл Ж., Краминский В.А., Некипелов Н.В., Равдоникас И.О., Чулунбатор Ц. Районирование чумных очагов Центральной Азии. *Доклады Иркутского противочумного института*. Иркутск, 1974; 10:45–7.

11. Варшавский С.Н., Козакевич В.П., Лавровский А.А., Некипелов Н.В. География природных очагов чумы в Центральной Азии (западная, юго-западная и юго-восточная части МНР). *Проблемы особо опасных инфекций*. 1975; 3–4(43–44):5–14.

12. Галбадрах Д., Чинболд Л. К характеристике природного очага чумы Монгольского Алтая (1975–1979 гг.). *Проблемы природной очаговости чумы*. Иркутск, 1980; 1:21–2.

13. 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.

14. Riehm J.M.,Vergnaud G., Kiefer D., Tserennorov D., Otgonbaatar D, Tungalag K, Zöller L, Wölfel R, Flèche P.L., Scholz H.C. *Yersinia pestis* lineages in Mongolia. *PlosOne*, 2012; 7(2):e30624. DOI: 10.1371/journal.pone.0030624.

References

1. Kosilko S.A., Balakhonov S.V., Otgonbayar D., Tsogbadrakh N., Yarygina M.B., Korzun V.M., Tserennorov D., Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Urzhikh C. Mongolian part of the transboundary Sailugem natural plague focus in 2017. Communication 2. Modern epidemiological risks. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018;(2):62–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-62-67.

2. Korzun V.M., Balakhonov S.V., Denisov A.V., Yarygina M.B., Rozhdestvensky E.N., Abibulaev D.E., Shefer V.V., Kosilko S.A., Otgonbayar D., Baigalmaa M., Orgilbayar L., Urzhikh C., Togoldor N., Makhbal A., Daurenbek H., Tsogbadrakh N., Tserennorov D., Ganbold K. Mongolian part of the transboundary Sailugem natural plague focus in 2017. Communication 1. Epizootic condition. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018;(1):79-84. (In Russ.) DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-79-84.

3. Korzun V.M., Balakhonov S.V., Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Tokmakova E.G., Sanarov P.P., Akulova S.S., Kosilko S.A., Otgonbayar D., Orgilbayar L., Batzhav D., Urzhikh C., Togoldor N., Makhbal A., Tsogbadrakh N., Tserennorov D. Epizootic situation in the Mongolian part of the transboundary Sailugem natural plague focus in 2018. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (2):79-86. (In Russ.) DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-79-86.

4. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Provision of Epidemiological Welfare in Natural Plague Foci in the Territory of CIS countries and Mongolia under Current Conditions]. Izhevsk: "Print" LLC; 2018. 336 p.

5. Kucheruk V.V., Bibikov D.I. [Marmots as Plague Keepers]. In: Zimina R.P., Isakov Yu.A., editors. [Marmots. Biocoenotic and Practical Significance]. M.: "Nauka"; 1980. P. 111–64.

6. Letov G.S., Abramova G.S. [Bukhmurinsk outbreak of pneumonic plague]. *Izvestiya Irkutskogo Protivochumnogo Instituta [Bulletin of Irkutsk Anti-Plague Institute]*. 1959; 20:107–10.

7. Nekipelov N.V. [Epizootiology of plague in Mongolian

People's Republic. *Izvestiya Irkutskogo Protivochumnogo Instituta [Bulletin of Irkutsk Anti-Plague Institute]*. 1959; 22:108–243.

8. Galbadrakh D., Chinbold L. [Natural foci of Sailyugem and Kharkhira-Altai mountain province. Epidemiology and Prophylaxis of particularly dangerous infections in MPR and USSR: Proceedings of the III International Mongolian-Soviet Scientific Conference, Ulan-Bator, December 8–9, 1977]. Ulan-Bator; 1978. P. 44–6.

9. Baigalmaa M., Gandbold D., Otgonbayar D., Tserennorov D. Current situation of plague foci in Mongolia. *Current issues on zoonotic diseases*. Ulaanbaatar, 2017; 17:39–44.

10. Demberel Zh., Kraminsky V.A., Nekipelov N.V., Ravdonikas I.O., Chulunbator Ts. [Zoning of plague foci of Central Asia. *Doklady Irkutskogo Protivochumnogo Instituta [Reports of Irkutsk Anti-Plague Institute]*. Irkutsk, 1974; 10:45–7.

11. Varshavsky S.N., Kozakevich V.P., Lavrovsky A.A., Nekipelov N.V. [Geography of natural plague foci in Central Asia (western, south-western and south-eastern parts of MPR)]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 1975; 3–4(43–44):5–14.

12. Galbadrakh D., Chinbold L. [Characteristics of natural plague focus of Mongolian Altai (1975–1979). *Problemy Prirodnoi Ochagovosti Chumy [Problems of Natural Focality of Plague]*. Irkutsk, 1980; 1:21–2.

13. 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.

14. Riehm J.M.,Vergnaud G., Kiefer D., Tserennorov D., Otgonbaatar D, Tungalag K, Zöller L, Wölfel R, Flèche P.L., Scholz H.C. *Yersinia pestis* lineages in Mongolia. *PlosOne*, 2012; 7(2):e30624. DOI: 10.1371/journal.pone.0030624.

Authors:

Kholin A.V., Sharakshanov M.B., Verzhutsky D.B., Korzun V.M., Balakhonov S.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Orgilbayar L., Gankhuyag Ts., Gandbold D., Tsogbadrakh N., Tserennorov D. National Center of Zoonotic Infections. Ulaanbaatar, Mongolia. E-mail: nczd@nczd.gov.mn.

Tserendulam B., Erdenedelger G., Pagmadulam N., Badamtsetseg M., Buzhinlkham L., Erdenetsetseg Ya., Amarsanaa G., Altangerel Ya. Center of Zoonotic Infections in Uvs Aimak. Ulaangom, Mongolia. E-mail: Batboldtseegii1127@gmail.com.

Об авторах:

Холин А.В., Шаракшанов М.Б., Вержуцкий Д.Б., Корзун В.М., Балахонов С.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Оргилбаяр Л., Ганхуяг Ц., Гандболд Д., Цогбадрах Н., Цэрэнноров Д. Национальный центр зоонозных инфекций. Монголия, 18131, Улаанбаатар, Сонгинохайрхан микрорайон, 20 хороо. E-mail: nczd@nczd.gov.mn

Цэрэндулам Б., Эрдэнэдэлгэр Г., Пагмадулам Н., Бадамцэцэг М., Бужинлхам Л., Эрдэнэцэцэг Я., Амарсанаа Г., Алтангэрэл Я. Центр зоонозных инфекций Увс аймака. Монголия; Увс аймак, Улаангом, 10 хороо. E-mail: Batboldtseegii1127@gmail.com.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-135-137

УДК 595.771(477.75)

И.С. Коваленко[1], С.Н. Якунин[1], Д.Э. Абибулаев[1], В.В. Владычак[1], Н.В. Бородай[2], В.П. Смелянский[2], В.К. Фомина[2], Л.С. Зинич[1], С.Н. Тихонов[1]

ОБНАРУЖЕНИЕ *AEDES* (*STEGOMYIA*) *ALBOPICTUS* (SKUSE, 1895) В КРЫМУ

[1]ФГКУЗ «Противочумная станция Республики Крым», Симферополь, Российская Федерация;
[2]ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград, Российская Федерация

Обнаружение на юге России (район Большого Сочи, Черноморское побережье Кавказа) комаров *Aedes albopictus* позволило предположить возможность их завоза в Крым. **Цель** работы – определение возможности существования на территории полуострова эпидемически значимого переносчика – комара *Ae. albopictus*. **Материалы и методы.** В рамках энтомологического мониторинга проводился сбор комаров с мая по октябрь 2018 г. и с мая по сентябрь 2019 г. на разных административных территориях Крыма: Бахчисарайский, Джанкойский, Раздольненский, Сакский, Черноморский районы, города Симферополь, Севастополь и Феодосия. Взрослые комары отбирались автоматической ловушкой Mosquito Magnet® Executive (США) с приманкой на основе октенола. Активно атакующих самок собирали с помощью аспиратора по методу Гуцевича. Отлов проводился в вечерние и ночные часы. Всего осуществлено 26 выездов, отработано 77 ч и отловлено 8463 экземпляра комаров (имаго и личинок). **Результаты и обсуждение.** При энтомологическом мониторинге территории Крымского полуострова впервые обнаружены кровососущие комары *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1895). Учитывая благоприятные климатические условия Крыма, тенденцию к глобальному потеплению климата, адаптацию комаров в холодный период, особенности биологии *Aedes albopictus*, а также распространение этого вида в европейской части юга России, возможно формирование и распространение стабильно воспроизводящейся популяции переносчика на территории полуострова. Для подтверждения циркуляции в Крыму самостоятельной популяции *Ae. albopictus*, а не случайного завоза взрослых особей, погибающих зимой, необходимо дальнейшее проведение регулярных энтомологических обследований.

Ключевые слова: кровососущие комары, *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1895), Крым.

Корреспондирующий автор: Коваленко Ирина Сергеевна, e-mail: krimpchs@mail.ru.

Для цитирования: Коваленко И.С., Якунин С.Н., Абибулаев Д.Э., Владычак В.В., Бородай Н.В., Смелянский В.П., Фомина В.К., Зинич Л.С., Тихонов С.Н. Обнаружение *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1895) в Крыму. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:135–137. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-135-137

Поступила 20.09.19. *Отправлена на доработку* 24.01.20. *Принята к публ.* 28.01.20.

I.S. Kovalenko[1], S.N. Yakunin[1], D.E. Abibulaev[1], V.V. Vladychak[1], N.V. Boroday[2], V.P. Smelyansky[2], V.K. Fomina[2], L.S. Zinich[1], S.N. Tikhonov[1]

Reporting of *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1895) in the Territory of Crimea

[1]Plague Control Station in the Republic of Crimea, Simferopol, Russian Federation;
[2]Volgograd Research Anti-Plague Institute, Volgograd, Russian Federation

Abstract. Detection of epidemiologically significant mosquitoes *Ae. albopictus* in the south of Russia (the Greater Sochi region, the Black Sea coast of Caucasus) suggested the possibility of their introduction into Crimea. **Objective** was to determine the possibility of existence of epidemically significant vector – mosquito *Ae. albopictus* in Crimea. **Materials and methods**. Within the frames of entomological monitoring, mosquitoes were collected during May-October, 2018 and May-September, 2019 in different regions of Crimea: Bakhchisaray, Dzhankoy, Razdolnensky, Saksky, Black Sea regions, urban areas of Simferopol, Sevastopol and Feodosiya. Fully-grown mosquitoes were caught by automatic trap Mosquito Magnet Executive (USA) with octenol-based bait. Actively attacking females were collected with an aspirator by Gutsevich method. The survey was conducted in the evening and night hours. A total of 26 visits were made, 77 hours were spent, and 8463 mosquitoes (adult and larvae) were captured. **Results and discussion**. During entomological monitoring of the territory of Crimean Peninsula for the first time bloodsucking mosquitoes *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1895) were found. Given the favorable climatic conditions in Crimea, the trend towards global warming, the adaptation of mosquitoes to the periods of cold, biology of *Aedes albopictus*, the distribution of this species in the European part of southern Russia, the formation and dissemination of sustainably replicating vector population on the Crimea Peninsula is possible. To confirm the circulation of independent *Ae. albopictus* population in Crimea, not a random import of adult specimens who die in winter, further entomological surveys are required on a regular basis.

Key words: bloodsucking mosquitoes, *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1895), Crimea.

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

Corresponding author: Irina S. Kovalenko, e-mail: krimpchs@mail.ru.

Citation: Kovalenko I.S., Yakunin S.N., Abibulaev D.E., Vladychak V.V., Boroday N.V., Smelyansky V.P., Fomina V.K., Zinich L.S., Tikhonov S.N. Reporting of *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1895) in the Territory of Crimea. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:135–137. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-135-137

Received 20.09.19. *Revised* 24.01.20. *Accepted* 28.01.20.

Aedes albopictus (Frederick A. Askew Skuse, 1895 г.) – азиатский тигровый комар – переносчик возбудителей желтой лихорадки, лихорадок денге, Зика, Западного Нила, а также вируса Чикунгунья и др. Кроме арбовирусов, они способны переносить личинок нитчатых червей рода *Dirofilaria*, которые вызывают дирофиляриозы у людей и животных.

Ae. albopictus является довольно устойчивым к влиянию низких температур видом, кладки яиц выдерживают кратковременное промерзание. Адаптивная способность к сезонным колебаниям и устойчивость к влиянию неблагоприятных факторов посредством диапаузы способствует колонизации *Ae. albopictus* различных экологических ниш и расширению своего ареала обитания [1].

Впервые в Европу (в Албанию) данный вид комаров завезен из Китая в середине 70-х годов прошлого века. Это был первый зарегистрированный случай обнаружения *Ae. albopictus* вне Юго-Восточной Азии. В 1990 г. *Ae. albopictus* зарегистрирован в Италии. Предположительно, он завезен через Геную и в настоящее время получил широкое распространение во многих провинциях Италии. В период с 1999 по 2012 год данный вид комаров распространился во Францию, Бельгию, Грецию, Испанию, Балканы, Швейцарию, Нидерланды и Мальту. В 2012 г. несколько экземпляров *Ae. albopictus* поймано вдоль автомагистралей в южной Германии, что позволило предположить их ввоз автотранспортом из южной Европы. Однако в 2014 г. в южной Германии уже обнаружены все стадии развития комаров *Ae. albopictus* в течение длительных периодов времени, что подтвердило существование местной самостоятельной популяции.

Таким образом, за относительно небольшой промежуток времени в основном за счет завоза личинок и яиц транспортом *Ae. albopictus* довольно быстро распространился из первоначального ареала в западной части Тихого океана и Юго-Восточной Азии на разные континенты, проник в Европу, Африку, на Ближний Восток, Северную, Южную Америку и Карибский бассейн. В настоящее время наблюдается тенденция к расширению его ареала [2, 3].

В России вид *Ae. albopictus* впервые обнаружен при энтомологическом мониторинге кровососущих комаров в районе Большого Сочи в пос. Хоста в июле 2011 г. [4]. В том же году на северо-западе Турции и на границе с Грецией с помощью ловушек-контейнеров собраны яйца кровососущих комаров, из которых в последующем выведены имаго *Ae. albopictus* – вида, ранее здесь не отмеченного. Это позволило предположить, что появление вида на Черноморском побережье Кавказа связано с завозом преимагинальных стадий *Ae. albopictus* в результате регулярных морских грузоперевозок из Турции в Россию, в частности в Краснодарский край.

При дальнейшем обследовании в сентябре–октябре 2012 г. территории Черноморского побережья России и Абхазии от Анапы до Нового Афона найдены личинки и имаго *Ae. albopictus* в Адлерском, Хостинском, Лазаревском, Туапсинском районах Краснодарского края и в г. Пицунда, Абхазия. Наиболее северное место обнаружения *Ae. albopictus* – пос. Джубга, Краснодарский край [5].

В 2015 г. в г. Геленджик обнаружены активно нападающие самки комара *Ae. albopictus* [6], что свидетельствовало о продолжающемся его распространении по Черноморскому побережью Кавказа.

В 2018 г. комары *Ae. albopictus* зарегистрированы в Новороссийске, самая северная точка его обнаружения – станица Натухаевская (44.913 с.ш., 37.556 в.д.). До 2019 г. на территории Крыма *Ae. albopictus* не обнаруживался [7].

Цель работы – определение возможности существования на территории Крыма эпидемически значимого переносчика комара *Ae. albopictus*.

Материалы и методы

В рамках энтомологического мониторинга переносчиков опасных инфекционных заболеваний проводился сбор комаров с мая по октябрь 2018 г. и с мая по сентябрь 2019 г. в разных районах Крыма. За этот период обследовано восемь административных единиц полуострова: Бахчисарайский, Джанкойский, Раздольненский, Сакский, Черноморский районы, города Симферополь, Севастополь и Феодосия. Взрослых комаров ловили с помощью автоматической ловушки Mosquito Magnet® Executive (США) с приманкой на основе октенола. Активно атакующих самок собирали с помощью эксгаустера по методу Гуцевича [8]. Отлов проводился в вечерние и ночные часы. Всего осуществлено 26 выездов, отработано 77 ч и отловлено 8463 экземпляра комаров (имаго и личинок).

Результаты и обсуждение

В связи с тем, что территория южнобережного Крыма по климатогеографическим параметрам является благоприятной для заселения комарами *Ae. albopictus,* возникло предположение о возможном существовании здесь этого переносчика. Обнаружение в 2018 г. в Крыму потенциального переносчика тропических лихорадок – комара *Ae. koreicus* [9], который был завезен в Европу из Юго-Восточной Азии и получил широкое распространение во многих странах Европы, дает основание предполагать возможность внедрения и распространения и других видов инвазивных комаров.

При плановом энтомологическом мониторинге 22 июля 2019 г. на территории городского кладбища Ялты, Республика Крым (44.486560 с.ш., 34.114455 в.д.), отловлен один экземпляр самки комара *Ae. albopictus*. При проведении повторных мониторинговых обследований места обнаружения *Ae. albopictus*, 5 сентября 2019 г. отловлен еще один экземпляр активно нападающей самки *Ae. albopictus*,

а также визуально зафиксированы еще два экземпляра. Отлов проводился в дневное время с применением метода А.В. Гуцевича «на себе» [10]. Определение наколотых экземпляров имаго комаров проведено по определительным таблицам [10, 11].

Для выяснения вопросов: существует ли в Крыму самостоятельная популяция *Ae. albopictus* и являются ли частью воспроизводящейся популяции обнаруженные экземпляры, или это летние популяции, возникающие в результате случайного завоза особей и погибающие зимой, необходимо проведение регулярных энтомологических обследований. При подтверждении факта жизнедеятельности местной популяции целесообразно дальнейшее проведение исследований для определения границ ареала этого вида в Крыму.

Таким образом, учитывая благоприятные климатические условия Крыма для комаров *Ae. albopictus,* тенденцию к глобальному потеплению климата, а также адаптацию комаров к переживанию в холодный период [12], возможно формирование и распространение стабильно воспроизводящейся популяции этого вида на территории полуострова. Увеличившийся в последнее время объем товарооборота, может также способствовать ввозу на территорию Крыма *Ae. albopictus* на разных стадиях развития.

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

Список литературы

1. Bonizzoni M., Gasperi G., Chen X., James A.A. The invasive mosquito species *Aedes albopictus*: current knowledge and future perspectives. *Trends Parasitol*. 2013; 29(9):460–8. DOI: 10.1016/j.pt.2013.07.003.
2. Medlock J.M., Hansford K.M., Schaffner F., Versteirt V., Hendrickx G., Zeller H., Bortel W.V. A Review of the Invasive Mosquitoes in Europe: Ecology, Public Health Risks, and Control Options. *Vector Borne Zoonotic. Dis*. 2012; 12(6):35–47. DOI: 10.1089/vbz.2011.0814.
3. *Aedes albopictus* – current known distribution: August 2019. [Электронный ресурс]. URL: https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/aedes-albopictus-current-known-distribution-august-2019 (дата обращения 15.08.2019).
4. Ганушкина Л.А., Таныгина Е.Ю., Безжонова О.В., Сергиев В.П. Об обнаружении комаров *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* Skuse на территории Российской Федерации. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни.* 2012; 1:3–4.
5. Ганушкина Л.А., Безжонова О.В., Патраман И.В., Таныгина Е.Ю., Сергиев В.П. Распространение *комаров Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* L. и *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* Skus. на Черноморском побережье Кавказа. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2013; 1:45–6.
6. Забашта М.В. Расширение ареала *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* Skuse, 1895 на Черноморском побережье России. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2016; 3:10–1.
7. Федорова М.В., Швец О.Г., Юничева Ю.В., Медяник И.М., Рябова Т.Е., Отставнова А.Д. Современные границы распространения инвазивных комаров *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (L.,1762) и *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1895) на юге Краснодарского края России. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2018; 2:101–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-101-105.
8. Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих в природных очагах опасных инфекционных болезней. МУ 3.1.3012-12. М.; 2012. 55 с.
9. Коваленко И.С., Тихонов С.Н. Обнаружение *Aedes koreicus* (Edwards, 1917) (*Diptera, Culicidae*) на территории Крымского полуострова. *Паразитология*. 2019; 53(2):129–135.
10. Гуцевич А.В., Мончадский А.С., Штакельберг А.А. Фауна СССР. Насекомые двукрылые. Комары. Л.: Наука, 1970. Т. 3(4). С. 293.
11. Guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe. European Center for Disease Prevention and Control. Stockholm; 2012. 95 p.
12. Paupy C., Delatte H., Bagny L., Corbel V., Fontenille D. *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: from the darkness to the light. *Microbes Infect.* 2009; 11(14–15):1177–85. DOI: 10.1016/j.micinf.2009.05.005.

References

1. Bonizzoni M., Gasperi G., Chen X., James A.A. The invasive mosquito species *Aedes albopictus*: current knowledge and future perspectives. *Trends Parasitol*. 2013; 29(9):460–8. DOI: 10.1016/j.pt.2013.07.003.
2. Medlock J.M., Hansford K.M., Schaffner F., Versteirt V., Hendrickx G., Zeller H., Bortel W.V. A Review of the Invasive Mosquitoes in Europe: Ecology, Public Health Risks, and Control Options. *Vector Borne Zoonotic. Dis*. 2012; 12(6):35–47. DOI: 10.1089/vbz.2011.0814.
3. *Aedes albopictus* – current known distribution: August 2019. (Cited 15 Aug 2019). [Internet]. Available from: https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/aedes-albopictus-current-known-distribution-august-2019.
4. Ganushkina L.A., Tanygina E.Yu., Bezzhonova O.V., Sergiev V.P. [Regarding detection of mosquitoes *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* Skuse in the territory of the Russian Federation]. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]*. 2012; 1:3–4.
5. Ganushkina L.A., Bezzhonova O.V., Patraman I.V., Tanygina E.Yu., Sergiev V.P. [Dissemination of mosquitoes *Aedes (Stegomyia) aegypti* L. and *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* Skus. along the Black Sea coastline of Caucasus] *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]*. 2013; 1:45–6.
6. Zabashta M.V. [Expansion of the areal of Aedes (Stegomyia) albopictus Skuse, 1895 on the Black Sea coast of Russia]. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]*. 2016; 3:10–1.
7. Fedorova M.V., Shvets O.G., Yunicheva Y.V., Medyanik I.M., Ryabova T.E., Otstavnova A.D. Dissemination of invasive mosquito species, *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (L., 1762) and *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1895) in the South of Krasnodar Region, Russia. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (2):101–5. (In Russ.) DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-101-105.
8. Collection, accounting and preparation for laboratory testing of bloodsucking arthropods in natural foci of dangerous infectious diseases. Methodological Regulations MR 3.1.3012-12. M.; 2012. 55 p.
9. Kovalenko I.S., Tikhonov S.N. Recording of Aedes koreicus (Ewards, 1917) (*Diptera, Culicidae*) in the territory of Crimea. *Parazitologiya [Parasitology]*. 2019; 53(2):129–35.
10. Gutsevich A.V., Monchadsky A.S., Shtakelberg A.A. Fauna of the USSR. Dipterous Insects. Mosquitoes. L.: "Nauka", 1970. Vol. 3(4). P. 293.
11. Guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe. European Center for Disease Control and Prevention. Stockholm; 2012. 95 p.
12. Paupy C., Delatte H., Bagny L., Corbel V., Fontenille D. *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: from the darkness to the light. *Microbes Infect.* 2009; 11(14–15):1177–85. DOI: 10.1016/j.micinf.2009.05.005.

Authors:

Kovalenko I.S., Yakunin S.N., Abibulaev D.E., Vladychak V.V., Zinich L.S., Tikhonov S.N. Plague Control Station in the Republic of Crimea. 42, Promishlennaya St., Simferopol, 295023, Russian Federation.

Boroday N.V., Smelyansky V.P., Fomina V.K. Volgograd Research Anti-Plague Institute. 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Об авторах:

Коваленко И.С., Якунин С.Н., Абибулаев Д.Э., Владычак В.В., Зинич Л.С., Тихонов С.Н. Противочумная станция Республики Крым. Российская Федерация, 295023, Симферополь, ул. Промышленная, 42. E-mail: krimpchs@mail.ru.

Бородай Н.В., Смелянский В.П., Фомина В.К. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@ sprint-v.com.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-138-140

УДК 616.98:578.2(575.1)

С.С. Саидалиев, Д.С. Мирзабаев, М.М. Мадаминов

ОПЫТ БОРЬБЫ С КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ УЗБЕКИСТАН

Республиканский Центр профилактики чумы, карантинных и особо опасных инфекций Министерства Здравоохранения Республики Узбекистан, Ташкент, Республика Узбекистан

В статье приведены данные об эпидемиологической обстановке по COVID-19 в Республике Узбекистан. По состоянию на 29.06.2020 г. в стране зарегистрирован 8031 лабораторно подтвержденный случай заболевания COVID-19. Отмечено 22 случая смерти. Описана национальная стратегия по предупреждению заноса инфекции на территорию страны и дальнейшего распространения среди населения. Охарактеризован комплекс мероприятий по реагированию на распространение COVID-19 в Республике Узбекистан. Представлены меры по оказанию Республикой Узбекистан поддержки странам-партнерам в борьбе с COVID-19.

Ключевые слова: Республика Узбекистан, COVID-19, противоэпидемические мероприятия.

Корреспондирующий автор: Саидалиев Саидмурод Саидганиевич, e-mail: rs_pchc@mail.ru.

Для цитирования: Саидалиев С.С., Мирзабаев Д.С., Мадаминов М.М. Опыт борьбы с коронавирусной инфекцией в Республике Узбекистан. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:138–140. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-138-140

Поступила 15.06.20. *Отправлена на доработку* 18.06.20. *Принята к публ.* 21.06.20.

S.S. Saidaliev, D.S. Mirzabaev, M.M. Madaminov

Lessons Learned from Fighting Coronavirus Disease in the Republic of Uzbekistan

Republican Center for Prophylaxis of Plague, Quarantine and Particularly Dangerous Infections, Tashkent, Republic of Uzbekistan

Abstract. The paper contains the data on epidemiological situation on COVID-19 in the Republic of Uzbekistan. As of June 29, 2020, 8031 laboratory confirmed cases of COVID-19 were registered across the country; 22 cases with lethal outcome. The paper describes the national policy in the prevention of importation of this infection into the territory of Uzbekistan and halting further spread among the population. Complex measures in response to the transmission of COVID-10 are specified. The paper defines support activities provided for the partner countries by the Republic of Uzbekistan to control COVID-19 pandemic.

Key words: Republic of Uzbekistan, COVID-19, anti-epidemic measures.

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

Corresponding author: Saidmurod S. Saidaliev, e-mail: rs_pchc@mail.ru.

Citation: Saidaliev S.S., Mirzabaev D.S., Madaminov M.M. Lessons Learned from Fighting Coronavirus Disease in the Republic of Uzbekistan. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:138–140. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-138-40

Received 15.06.20. *Revised* 18.06.20. *Accepted* 21.06.20.

Коронавирусная инфекция, впервые зарегистрированная в Китайской Народной Республике [1], не обошла стороной и Республику Узбекистан. Первый случай заболевания COVID-19 в республике зарегистрирован 15 марта 2020 г. у гражданина Узбекистана, вернувшегося из Франции. При этом до конца марта 2020 г. заболеваемость в стране оставалась низкой, а число новых выявленных инфицированных лиц не превышало 16 человек в сутки. В последующем динамика ежедневного прироста новых случаев заболевания демонстрировала неустойчивый характер с выраженным ростом заболеваемости к июню 2020 г. Максимальный прирост новых случаев заболевания зарегистрирован 24 июня – 328 человек. По состоянию на 29 июня 2020 г. в стране зарегистрирован 8031 лабораторно подтвержденный случай заболевания COVID-19. В активной фазе болезни находятся 2680 человек, из них 25 пациентов находятся в тяжелом состоянии; зарегистрировано 5329 случаев выздоровления. Отмечено 22 случая смерти. Показатель летальности в целом по стране составляет 0,27 % [2].

Распространение коронавирусной инфекции в мире вызвало серьезную озабоченность у руководства Республики Узбекистан. Со стороны Президента республики принято Распоряжение РП-5537 от 29 января 2020 г. «Об организации республиканской Специальной комиссии по подготовке программы по предотвращению завоза и распространения коронавирусной инфекции в Республику Узбекистан». В соответствии с Распоряжением организована Специальная комиссия во главе с Премьер-министром республики.

В течение короткого времени разработан План основных мероприятий по предупреждению заноса инфекции на территорию страны и дальнейшего распространения среди населения, который взят за основу национальной стратегии в данном направлении. Создан Координационный штаб при Министерстве по чрезвычайным ситуациям (МЧС) во главе с первым заместителем министра Министерства по чрезвычайным ситуациям.

В рамках исполнения соответствующего Указа Президента Республики Узбекистан создан антикризисный фонд, предназначенный для реализации мер по противодействию пандемии и поддержки экономики страны в сложившихся условиях. Предусмотрены

мероприятия по стимулированию работников здравоохранения, привлеченных к диагностике, лечению, организации эпидемиологических расследований и организации противоэпидемических мероприятий за счет средств указанного фонда.

Кроме того, во всех заинтересованных министерствах и ведомствах, в том числе и в Министерстве здравоохранения, организованы Штабы по координации действий по предотвращению завоза и распространения нового коронавируса в республику. Выработанные тактические шаги ведомственными штабами в оперативном порядке представлялись в Координационный штаб при МЧС, где предложения обобщались и передавались для принятия соответствующего тактического решения в Специальную комиссию при Кабинете Министров [3, 4].

На первом этапе, до момента регистрации первого случая коронавирусной инфекции среди населения (с середины января до 15 марта), основной упор делали в направлении предупреждения завоза источников инфекции. После первого случая заболевания противоэпидемические мероприятия дополнились мерами по минимизации распространения инфекции среди населения, в том числе при использовании опыта реагирования других стран [5].

Приняты дополнительные меры по усилению санитарно-карантинного контроля в пунктах пропуска (ПП) через государственную границу Республики Узбекистан. Во всех ПП установлен усиленный медицинский контроль за прибывающими из неблагополучных регионов лицами с проведением двойной термометрии с использованием стационарного и переносного тепловизионного оборудования.

Министерством здравоохранения утвержден Приказ по алгоритму действий при обнаружении больного в санитарно-пропускном пункте (СКП), на воздушных судах и/или железнодорожном транспорте. Проведены тактико-специальные учения в пунктах пропуска через государственную границу, определены основные задачи заинтересованных министерств и ведомств, разработан координационный механизм совместных действий [3].

Для приема лиц, прибывающих из-за рубежа, развернуты специальные учреждения на базе трех санаториев и одной городской больницы Ташкента: госпитали для временного размещения (до эвакуации) выявленных больных, провизорные отделения для лиц с симптомами, не исключающими новую коронавирусную инфекцию, и изоляторы для наблюдения за контактировавшими с ними лицами. В последующем такие учреждения развернуты и содержались в постоянной готовности во всех регионах страны. С этой целью использовались приостановившие свою деятельность санатории с собственным персоналом и приданными силами медицинских организаций.

Развернуты специализированные госпитали с инфекционными боксами при клинике НИИ вирусологии, НИИ эпидемиологии, микробиологии и инфекционных заболеваний, освобождена и перепрофилирована одна из клиник Ташкентской медицинской академии, развернут мобильный полевой госпиталь Министерства обороны. Во всех областях страны освобождены и подготовлены инфекционные больницы, в районах развернуты дополнительные отделения для приема и лечения больных. Для больных коронавирусной инфекцией перепрофилирован городской перинатальный центр и Центр педиатрии Ташкента, в Зангиатинском районе Ташкентской области – многопрофильная инфекционная больница.

Проведен ряд тренингов и семинаров для медицинских работников по выявлению, изоляции, безопасной эвакуации до специализированного лечебного учреждения, диагностике, лечению, использованию индивидуальных средств защиты и другим вопросам. Утверждены протоколы диагностики и лечения от новой коронавирусной инфекции.

Проведены семинары для экипажей и бортпроводников АО «Uzbekistan airways», а также для железнодорожных бригад и проводников АО «Узбекистон темир йуллари» по эпидемиологии и профилактике коронавирусной инфекции с целью своевременного обнаружения и изоляции пассажиров с подозрением на заболевание.

С момента, когда ВОЗ объявила вспышку коронавирусной инфекции чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение [6], специальной Комиссией принято решение о закрытии границ Республики Узбекистан для пассажирских перевозок на всех видах транспорта, за исключением международных грузовых перевозок.

Организованы рейсы для эвакуации граждан Республики Узбекистан из Китая, Южной Кореи, Японии, Ирана, Италии и других стран, где наблюдалась неблагополучная эпидемическая ситуация, с обязательной 14-дневной изоляцией в специализированных учреждениях. В Ташкентской области организован обсерватор на 15 тыс. мест, возведенный по модульному типу из изолированных контейнеров, рассчитанных на четырех пациентов. Созданы соответствующие условия для жизнеобеспечения. Такая структура карантинного учреждения позволила резко снизить возможные контакты между людьми, подвергнутыми риску заражения в ходе 14-дневного карантина.

Согласно решению специальной Комиссии отменены все международные, внутригосударственные рейсы, движение автотранспорта, поездов и общественного транспорта. Закрыты границы с другими странами. Прекращена деятельность детских садов, школ, колледж-лицеев, ВУЗов, предприятий общественного питания, магазинов и рынков.

В целях предупреждения возникновения паники среди населения и повышения осведомленности в области борьбы с коронавирусной инфекцией регулярно проводятся пресс-конференции с представителями Министерства здравоохранения для средств массовой информации [3].

Налажено отечественное производство средств

индивидуальной защиты и диагностических тест-систем. Приобретены аппараты исскуственной вентиляции легких в достаточном количестве, часть из которых получены в рамках международной помощи из Китая, Турции, России и других стран.

Лабораторное обследование лиц, прибывших из неблагополучных по коронавирусной инфекции стран, проводится в 16 вирусологических лабораториях страны, включая лабораторию при Агентстве санитарно-эпидемиологического благополучия и НИИ вирусологии. В работе активно использовались три мобильные лаборатории, переданные Республике Узбекистан Российской Федерацией в рамках Соглашения о сотрудничестве в реализации ММСП, подписанного в 2017 г. между Министерством здравоохранения Республики Узбекистан и Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации.

В рамках международного сотрудничества с целью осуществления эффективных ответных мер на вспышку заболевания COVID-19, вызванного новым коронавирусом (SARS-CoV-2), в Республике Узбекистан, Европейское региональное бюро Всемирной организации здравоохранения направило своих специалистов в страну для технической оценки проводимых противоэпидемических и профилактических мероприятий. Эксперты ВОЗ оценили обстановку и дали рекомендации по укреплению эпидемиологического надзора в стране с учетом международного опыта. Проведен ряд учебных семинаров и технических совещаний с целью обмена опытом в борьбе с новой коронавирусной инфекцией. На постоянной основе проводятся консультации посредством видео-конференц-связи с представителями министерств здравоохранения и клиник, а также учеными ведущих стран. Приглашены специалисты из Южной Кореи, США, Германии и других стран для проведения мастер классов и тематических консультаций. Согласно приглашению правительства Республики Таджикистан ряд специалистов Узбекистана выехали в Таджикистан для оказания консультативно-методической помощи местным специалистам. Кроме того, в Республику Таджикистан поставлены контейнеры для размещения лиц с подозрением на COVID-19.

На фоне отсутствия эффективного лечения и вакцины в сочетании с ростом числа новых случаев заболевания в Республике Узбекистан развернуты беспрецедентные меры по сдерживанию распространения инфекции, направленные на резкое сокращение международных пассажиропотоков и мобильности населения на национальном уровне. Предупредительные профилактические и противоэпидемические мероприятия позволили значительно снизить темпы роста числа больных COVID-19 и не допустить взрывного роста заболеваемости и летальных случаев среди населения.

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

Список литературы

1. Novel Coronavirus – China. [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int/csr/don/12-january-2020-novel-coronavirus-china/en/ (дата обращения 15.06.2020).

2. Ситуация по COVID-19 в Европейском регионе [Электронный ресурс]. URL: https://who.maps.arcgis.com/apps/opsdashboard/index.html#/a19d5d1f86ee4d99b013eed5f637232d (дата обращения 29.06.2020).

3. Министерство здравоохранения Республики Узбекистан. [Электронный ресурс]. URL: https://www.minzdrav.uz/ (дата обращения 15.06.2020).

4. Положение о Специальной комиссии по вопросам транспорта и транспортных коммуникаций при Кабинете Министров Республики Узбекистан. [Электронный ресурс]. URL: https://nrm.uz/contentf?doc=413893_polojenie_o_specialnoy_komissii_po_voprosam_transporta_i_transportnyh_kommunikaciy_pri_kabinete_ministrov_respubliki_uzbekistan_(prilojenie_n_2_k_postanovleniyu_km_ruz_ot_06_03_2009_g_n_57)&products=1_vse_zakonodatelstvo_uzbekistana (дата обращения 15.06.2020).

5. 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.

6. Заявление по итогам второго совещания Комитета по чрезвычайной ситуации в соответствии с Международными медико-санитарными правилами, в связи со вспышкой заболевания, вызванного новым коронавирусом 2019 г. (nCoV). [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int/ru/news-room/detail/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-(2019-ncov) (дата обращения 15.06.2020).

References

1. Novel Coronavirus – China. (Cited 15 June 2020). [Internet]. Available from: https://www.who.int/csr/don/12-january-2020-novel-coronavirus-china/en/.

2. Epidemiological situation on COVID-19 in the European region. (Cited 29 June 2020). [Internet]. Available from: https://who.maps.arcgis.com/apps/opsdashboard/index.html#/a19d5d1-f86ee4d99b013eed5f637232d.

3. Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan. (Cited 15 June 2020). [Internet]. Available from: https://www.minzdrav.uz/.

4. Provision on Special Commission on Transportation and Transport Communications reporting to the Chamber of Ministers of the Republic of Uzbekistan. (Cited 15 June 2020). [Internet]. Available from: https://nrm.uz/contentf?doc=413893_polojenie_o_specialnoy_komissii_po_voprosam_transporta_i_transportnyh_kommunikaciy_pri_kabinete_ministrov_respubliki_uzbekistan_(prilojenie_n_2_k_postanovleniyu_km_ruz_ot_06_03_2009_g_n_57)&products=1_vse_zakonodatelstvo_uzbekistana.

5. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Y.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.

6. Statement on the outcome of the second meeting of the Emergency committee in accordance with International Health Regulations in connection with the outbreak of infection caused by new coronavirus 2019 (nCoV). (Cited 15 June 2020). [Internet]. Available from: https://www.who.int/ru/news-room/detail/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-(2019-ncov).

Authors:

Saidaliev S.S., Mirzabaev D.S., Madaminov M.M. Republican Center for Prophylaxis of Plague, Quarantine and Particularly Dangerous Infections. Tashkent, Republic of Uzbekistan. E-mail: rs_pchc@mail.ru.

Об авторах:

Саидалиев С.С., Мирзабаев Д.С., Мадаминов М.М. Республиканский Центр профилактики чумы, карантинных и особо опасных инфекций Министерства Здравоохранения Республики Узбекистан. Республика Узбекистан, Ташкент, ул. Эшона Бобохонова, 2. E-mail: rs_pchc@mail.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-141-143

УДК 616.98:578.2(575.2)

С.В. Хегай[1,3], А.К. Джапарова[2], Э.М. Дуйшеналиева[2], Б. Калмырзаев[4], К.Т. Касымбекова[4], Т.Э. Кучук[3], Н.Т. Усенбаев[4], А.Т. Жунушов[1]

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ

[1]Институт биотехнологии Национальной академии наук Кыргызской Республики, Бишкек, Кыргызская Республика;
[2]Республиканский центр карантинных и особо опасных инфекций МЗ Кыргызской Республики, Бишкек, Кыргызская Республика;
[3]Научно-производственное объединение «Профилактическая медицина» МЗ Кыргызской Республики, Бишкек, Кыргызская Республика; [4]Министерство здравоохранения Кыргызской Республики, Бишкек, Кыргызская Республика

Цель исследования – разработка эффективного метода пулирования проб для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 с помощью ПЦР, а также оценка данного подхода с различными тест-системами. **Материалы и методы.** Выявление РНК коронавируса SARS-CoV-2 проводилось в пробах, содержащих образцы мазков из носа людей, помещенных в транспортную среду. Пять образцов объединяли в один пул для выполнения анализа. Оценку эффективности метода пулирования «в одной пробирке» для выполнения массовых исследований на COVID-19 проводили с помощью тест-систем «Вектор-ПЦРрв-2019-nCoV-RG-19» (Россия), «АртТест COVID-19» (Республика Беларусь) и «BioSpeedy» (Турция). **Результаты и обсуждение.** Всего исследовано 587 пулов образцов, составленных из 2935 исследуемых проб, в которых обнаружено и подтверждено методом ПЦР 56 образцов, содержащих РНК SARS-CoV-2. Результаты применения метода пулирования коррелировали с данными, полученными без пулирования образцов. Среднее значение отклонения цикла составляло в среднем 2 C_t, кривая флуоресценции положительных образцов соответствовала «S» форме.

Ключевые слова: COVID-19, РНК SARS-CoV-2, ПЦР-диагностика, пулирование.

Корреспондирующий автор: Хегай Сергей Валерьевич, e-mail: hegay@inbox.ru.

Для цитирования: Хегай С.В., Джапарова А.К., Дуйшеналиева Э.М., Калмырзаев Б., Касымбекова К.Т., Кучук Т.Э., Усенбаев Н.Т., Жунушов А.Т. Молекулярная диагностика коронавирусной инфекции в Кыргызской Республике. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:141–143. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-141-143

Поступила 22.05.20. *Принята к публ.* 28.05.20.

S.V. Khegay[1,3], A.K. Dzhaparova[2], E.M. Dushenalieva[2], B. Kalmyrzaev[4], K.T. Kasymbekova[4], T.E. Kuchuk[3], N.T. Usenbaev[4], A.T. Zhunushov[1]

Molecular Diagnostics of Coronavirus Infection in the Kyrgyz Republic

[1]Institute of Biotechnology, National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic, Bishkek, Kyrgyz Republic;
[2]Republican Center for Quarantine and Particularly Dangerous Infections of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic, Bishkek, Kyrgyz Republic;
[3]Scientific and Production Association «Preventive Medicine» of the Ministry of Health, Bishkek, Kyrgyz Republic;
[4]Ministry of Health of the Kyrgyz Republic, Bishkek, Kyrgyz Republic

Abstract. **Objective** of the study was to develop an effective method of sample pooling for the detection of SARS-CoV-2 coronavirus RNA using PCR and evaluate that approach with various test systems. **Materials and methods.** SARS-CoV-2 coronavirus RNA was detected in samples containing nasal swabs placed in a transport medium. 5 samples were combined into one pool to perform the analysis. The effectiveness of the "in single test tube" pooling method for performing mass studies for COVID-19 was evaluated using the Vector-PCRrv-2019-nCoV-RG-19 test systems, Russia; "ArtTest COVID-19", Belarus; "BioSpeedy", Turkey. **Results and discussion.** A total of 587 pools were studied, consisting of 2935 test samples, in which 56 samples containing SARS-CoV-2 RNA were detected and confirmed by PCR. When studying the method of pooling samples, its specificity and optimal sensitivity for detecting SARS-CoV-2 RNA using the Vector-PCRrv-2019-nCoV-RG, ArtTest COVID-19, and BioSpeedy test systems were shown. The results of applying the pooling method correlated with the data obtained without pooling samples. The average deviation of the cycle amounted to 2 C_t; the fluorescence curve of positive samples corresponded to the «S» form.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2 RNA, PCR diagnostics, pooling.

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

Corresponding author: Sergey V. Khegay, e-mail: hegay@inbox.ru.

Citation: Khegay S.V., Dzhaparova A.K., Dushenalieva E.M., Kalmyrzaev B., Kasymbekova K.T., Kuchuk T.E., Usenbaev N.T., Zhunushov A.T. Molecular Diagnostics of Coronavirus Infection in the Kyrgyz Republic. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; 2:141–143. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-141-143

Received 22.05.20. *Accepted* 28.05.20.

В декабре 2019 г. в Китайской Народной Республике произошла вспышка атипичной пневмонии, вызванной новым коронавирусом, который позже получил обозначение SARS-CoV-2 [1]. Болезнь быстро распространилась по всему миру и 11 марта 2020 г. ВОЗ заявила о пандемии вирусной пневмонии COVID-19, вызванной новым коронавирусом [2]. Сложившаяся ситуация по распространению

коронавирусной инфекции в мире остается напряженной. На сегодняшний день число заболевших по всему миру превысило 4 млн человек. В Кыргызской Республике на 28 апреля 2020 г. всего выявлено 708 случаев. Важную роль в недопущении распространения инфекции играет повышение эффективности и увеличение объема проводимых лабораторных исследований, обеспечивающих быстрое выявление заболевших [3, 4].

Цель исследования – разработка эффективного метода пулирования проб для выявления коронавируса SARS-CoV-2 с помощью ПЦР и оценка характеристик данного подхода с различными тест-системами.

Материалы и методы

С 5 по 27 апреля 2020 г. на базе лаборатории вирусологии и редких инфекций Республиканского центра карантинных и особо опасных инфекций Кыргызской Республики проведены исследования по внедрению метода пулирования нативных проб от лиц, тестируемых на наличие коронавирусной инфекции. Оценку эффективности разработанного метода на способность выявлять РНК коронавируса SARS-CoV-2 с помощью ПЦР проводили на образцах проб, объединенных в один пул. В качестве проб использовали мазки из носа пациентов, помещенные в транспортную среду. Исследовано 2935 образцов, полученных на территории всей республики.

В работе принимали участие специалисты-эксперты по лабораторной диагностике COVID-19 из РЦКиООИ, РНПЦККЛДИБ НПО «ПМ», ИБ НАН КР и МЗ КР.

Для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в пулированных пробах использовались тест-системы: «Вектор-ПЦРрв-2019-nCoV-RG» производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия), «АртТест COVID-19» производства «АртБиотех» (Республика Беларусь) и «BioSpeedy COVID-19 RT-qPCR TespitKiti» производства BioSpeedy (Турция).

Результаты и обсуждение

По данным Республиканского штаба по борьбе с коронавирусом Кыргызской Республики, в период с 13 по 16 марта 2020 г. количество реагентов для выявления коронавируса SARS-CoV-2 в стране было ограничено, в связи с чем образцы от прибывших в Кыргызстан людей в марте консервировали с помощью замораживания. На 05.04.2020 г. было уже 8439 замороженных проб. Использование метода пулирования проб предложено в целях расширения контингента тестируемых на коронавирусную инфекцию COVID-19 при проведении массовых исследований образцов мазков из носа обследуемых и сокращения затрат на лабораторные процедуры. Внедрение в лабораторную диагностику метода пулирования нативных проб и объединение методов RT-PCR / qPCR «в одной пробирке» для выявления РНК SARS-CoV-2 оказало существенный эффект в раннем, быстром тестировании образцов.

Всего исследовано 2935 образцов, объединенных в 587 пулов, из них для 40 пулов получен положительный результат, что составило 6,8 % от числа обследованных. В дальнейшем для 40 пулов, содержащих значение C_t<32 по каналу накопления продукта к вирусу, составляющие их пробы (всего 200), исследовали индивидуально. В результате проведенного анализа среди 200 проб из положительных пулов обнаружены 56 проб, содержащих РНК коронавируса, что составило 1,9 % положительных результатов от общего числа исследованных проб. Таким образом, количество проведенных ПЦР для исследования 2935 образцов при использовании метода пулирования равнялось 787 (без учета контролей), что составило на 2000 реакций меньше по сравнению с индивидуальным анализом каждого образца и обеспечило существенную экономию реактивов.

После внедрения метода пулирования проб с 5 по 12 апреля 2020 г. усилиями девяти лабораторий республики в кратчайший срок проанализированы все замороженные пробы и пробы от новых случаев. В настоящее время метод успешно применяется в специализированных лабораториях г. Бишкек (РЦКиООИ, ДПЗиГСЭН, ЦГСЭН г. Бишкек, РЦ «СПИД», НЦФ) и в мобильных лабораториях экспресс-диагностики, базирующихся в РЦКиООИ, которые направлены в Ошскую, Джалал-Абадскую и Нарынскую области. Согласно статистическим данным Республиканского штаба, на период с 5 по 20 апреля 2020 г. приходится наибольшее количество случаев в день и общее количество случаев. В течение двух недель после внедрения в лабораторную диагностику COVID-19 метода пулирования наблюдалось увеличение в 5 раз полученных положительных результатов на коронавирусную инфекцию (с 114 до 568). Благодаря ускоренному тестированию и проведению соответствующих противоэпидемических мероприятий пик заболеваемости пройден 20 апреля 2020 г., в настоящее время заболеваемость среди населения идет на спад.

В результате проведенных исследований установлено преимущество метода пулирования по сравнению с индивидуальным тестированием. Сэкономлено значительное количество реактивов для исследования образцов, что существенно снижает стоимость каждого анализа с учетом относительно высокой стоимости наборов для тестирования. Кардинально уменьшена нагрузка на оборудование и сокращена занятость лабораторных специалистов.

Положительный результат применения разработанного способа заключается в проведении быстрого тестирования с охватом большего количества лиц. Разработанная методика внедрена и используется повсеместно лабораторными специалистами в соответствии с приказом МЗ КР № 218 от 05.04.2020 г. «Об определении вирусологических лабораторий и

создании мобильных бригад по оказанию практической помощи по предупреждению распространения коронавирусной инфекции COVID-19».

Таким образом, применение стратегии пулирования уменьшило число требуемых тестов почти на 65 % и позволило значительно сократить расходы на скрининг COVID-19 в условиях, когда эпидемия COVID-19 находится на начальном этапе. Разработанный метод позволил за короткое время провести исследование образцов на коронавирусную инфекцию без дополнительной закупки дорогостоящих тест-наборов, оборудования и обучения специалистов. Данный метод прост в использовании и доступен для специалистов, проводящих лабораторную диагностику на COVID-19.

Все проведенные стадии исследования образцов, полученных от людей, соответствовали законодательству Кыргызской Республики. От всех людей, ставших объектами исследований, получено информированное согласие.

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

References / Список литературы

1. Novel Coronavirus – China. Disease outbreak news. (Cited 01 Apr 2020). [Internet]. Available from: https://www.who.int/csr/don/12-january-2020-novel-coronavirus-china/en/.

2. World Health Organization. Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). (Cited 01 Apr 2020). [Internet]. Available from: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf.

3. World Health Organization. Critical preparedness, readiness and response actions for COVID-19: interim guidance. (Cited 27 Mar 2020). [Internet]. Available from: https://www.who.int/publications-detail/critical-preparedness-readiness-and-response-actions-for-covid-19.

4. World Health Organization. Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19: interim guidance. (Cited 10 Apr 2020). [Internet]. Available from: https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-strategy-recommendations-for-covid-19-interim-guidance.

Authors:

Khegay S.V. Institute of Biotechnology, National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic; 265, Avenue Chuy, Bishkek, 720071, Kyrgyz Republic, e-mail: hegay@inbox.ru. Scientific and Production Association «Preventive Medicine» of the Ministry of Health; 8, Logvinenko St., Bishkek, 720040, Kyrgyz Republic.

Zhunushov A.T. Institute of Biotechnology, National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic. 265, Avenue Chuy, Bishkek, 720071, Kyrgyz Republic. E-mail: hegay@inbox.ru.

Dzhaparova A.K., Dushenalieva E.M. Republican Center for Quarantine and Particularly Dangerous Infections of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic. 92, Skryabina St., Bishkek, 720005, Kyrgyz Republic.

Kuchuk T.E. Scientific and Production Association «Preventive Medicine» of the Ministry of Health. 8, Logvinenko St., Bishkek, 720040, Kyrgyz Republic.

Kalmyrzaev B., Kasymbekova K.T., Usenbaev N.T. Ministry of Health of the Kyrgyz Republic. 148, Moskovskaya St., Bishkek, 720040, Kyrgyz Republic.

Об авторах:

Хегай С.В. Институт биотехнологии Национальной академии наук Кыргызской Республики; Кыргызская Республика, 720071, Бишкек, проспект Чуй, 265; e-mail: hegay@inbox.ru. Научно-производственное объединение «Профилактическая медицина»; Кыргызская Республика, 720040, Бишкек, ул. Логвиненко, 8.

Жунушов А.Т. Институт биотехнологии Национальной академии наук Кыргызской Республики. Кыргызская Республика, 720071, Бишкек, проспект Чуй, 265. E-mail: hegay@inbox.ru.

Джапарова А.К., Дүйшеналиева Э.М. Республиканский центр карантинных и особо опасных инфекций Министерства здравоохранения Кыргызской Республики. Кыргызская Республика, 720005, Бишкек, ул. Скрябина, 92.

Кучук Т.Э. Научно-производственное объединение «Профилактическая медицина» Министерства здравоохранения. Кыргызская Республика, 720040, Бишкек, ул. Логвиненко, 8.

Калмырзаев Б., Касымбекова К.Т., Усенбаев Н.Т. Министерство здравоохранения Кыргызской Республики. Кыргызская Республика, 720040, Бишкек, ул. Московская, 148.

ПАМЯТИ ВАЛЕНТИНА ЛЕОНИДОВИЧА ШЕВЧЕНКО
(1929–2020 гг.)

4 июня 2020 г. на 91 году жизни скончался выдающийся медицинский зоолог, орнитолог и териолог, крупный специалист по эпизоотологии и профилактике чумы, автор гипотезы «птичьей чумы» как одного из факторов пространственного распространения чумного микроба, кандидат биологических наук Валентин Леонидович Шевченко.

В.Л. Шевченко родился в г. Купянске Харьковской области в семье военного. В 1953 г. окончил биологический факультет Харьковского государственного университета, поступил на работу зоологом в Уральскую противочумную станцию, где проработал всю жизнь и прошел путь от рядового зоолога отделения до старшего научного сотрудника, заведующего зоологической лабораторией станции. Валентин Леонидович – автор более 200 работ в области природной очаговости, эпизоотологии и профилактики чумы. Наиболее выдающиеся его исследования и публикации посвящены биологии каменки-плясуньи в свете ее возможного эпизоотологического значения в пространственной диссеминации возбудителя чумы. Его оригинальные данные до сих пор массово цитируются специалистами-чумологами в нашей стране и за рубежом.

В.Л. Шевченко был высоко эрудированным специалистом, обладал большими организаторскими способностями, воспитал немало квалифицированных специалистов в области медицинской зоологии. Он обладал удивительным чувством юмора, был бескомпромиссным, принципиальным и энергичным руководителем, умел вести полемику, но никогда не позволял себе обижать собеседника.

Редакционная коллегия и редакционный совет журнала «Проблемы особо опасных инфекций», сотрудники института «Микроб» выражают глубокое соболезнование родным и близким В.Л. Шевченко. Светлая память о товарище, соратнике, друге, крупном специалисте в области проблем природной очаговости инфекционных болезней навсегда сохранится в наших сердцах.