

УЧРЕДИТЕЛИ:  
ФБУН ЦНИИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ РОСПОТРЕБНАДЗОРА  
ВСЕРОССИЙСКОЕ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО  
ЭПИДЕМИОЛОГОВ, МИКРОБИОЛОГОВ И ПАРАЗИТОЛОГОВ

# ЖУРНАЛ МИКРОБИОЛОГИИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ИММУНОБИОЛОГИИ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор В. В. ЗВЕРЕВ, д.б.н., проф., академик РАН

В.Г.АКИМКИН, д.м.н., проф., академик РАН; Н.И.БРИКО, д.м.н., проф., академик РАН;  
О.В.БУХАРИН, д.м.н., проф., академик РАН; А.Л.ГИНЦБУРГ, д.м.н., проф., академик  
РАН; А.В.КАРАУЛОВ, д.м.н., проф., академик РАН; М.П.КОСТИНОВ, д.м.н., проф.;  
В.В.КУТЫРЕВ, д.м.н., проф., академик РАН; В.В.МАЛЕЕВ, д.м.н., проф., академик РАН;  
М.И.МИХАЙЛОВ, д.м.н., проф., член-корр. РАН; Г.Г.ОНИЩЕНКО, д.м.н., проф.,  
академик РАН; А.Е. ПЛАТОНОВ, д.б.н., проф.; В.И.ПОКРОВСКИЙ, д.м.н., проф., академик  
РАН; О.А.СВИТИЧ, д.м.н., проф., член-корр. РАН; Р.И.СЕПИАШВИЛИ, д.м.н., проф.,  
член-корр. РАН; В.П.СЕРГИЕВ, д.м.н., проф., академик РАН; Арег АТОТОЛЯН, д.м.н.,  
проф., академик РАН; Н.Н.ФИЛАТОВ, д.м.н., проф., член-корр. РАН; С.В.ЧЕРКАСОВ,  
д.м.н., проф., член-корр. РАН; Н.Д.ЮЩУК, д.м.н., проф., академик РАН

*Двухмесячный научно-практический журнал*

*Основан в 1924 г.*

6

ноябрь—декабрь

МОСКВА 2018

ФБУН ЦНИИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ РОСПОТРЕБНАДЗОРА

## **СОСТАВ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА:**

БРУСИНА Е.Б. (Кемерово), ЗУЕВА Л.П. (Санкт-Петербург), КОРОЛЮК А.М. (Санкт-Петербург), МАМЕДОВ М.К. (Баку), ПРИСАКАРЬ В.И. (Кишинев), ТИТОВ Л.П. (Минск), ШАРКОВА В. (Владивосток), ШЕНДЕРОВ Б.А. (Москва), ШКАРИН В.В. (Н. Новгород)

Адрес редакции:

105064, Москва, М. Казенный пер., 5А, НИИВС им. И.И.Мечникова.

Статьи посылать: mech.inst@mail.ru

**Зав. редакцией Л.В.Иваничева**

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору  
в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций.  
Свидетельство ПИ № ФС77-36745

**Журнал индексируется в Scopus, РИНЦ,  
входит в перечень ВАК, является органом ВНОЭМП**

Формат 70x108 1/16. Печать офсетная.

---

Отпечатано в ООО «Буки Веди»  
119049, г. Москва, Ленинский проспект, д. 4, стр. 1 А  
Тел.: (495)926-63-96  
www.bukivedi.com  
E-mail: info@bukivedi.com

© ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, 2018

## **РЕАЛИЗАЦИЯ ПРОГРАММЫ ИММУНИЗАЦИИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ: ВЫЗОВЫ, ВОЗМОЖНОСТИ, ПЕРСПЕКТИВЫ\***

<sup>1</sup>Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, <sup>2</sup>Центральный НИИ эпидемиологии, Москва

*A.Yu.Popova<sup>1</sup>, E.B.Ezhlova<sup>1</sup>, A.A.Melnikova<sup>1,2</sup>, I.V.Mikheeva<sup>2</sup>*

## **IMPLEMENTATION OF THE PROGRAM OF IMMUNIZATION IN THE RUSSIAN FEDERATION AT THE PRESENT STAGE: CHALLENGES, OPPORTUNITIES, PROSPECTS**

<sup>1</sup> Rospotrebnadzor, <sup>2</sup> Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 3—10 (Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 3—10)

Иммунизация признана во всем мире одной из самых успешных и эффективных мер по сохранению жизни и здоровья людей.

В России массовая плановая иммунизация населения началась с конца 50-х — начала 60-х годов: в 1957 г. введена иммунизация против дифтерии, с 1960 г. — против полиомиелита, коклюша и столбняка, с 1968 г. — против кори, с 1982 г. — против эпидемического паротита, с 1998 г. — против вирусного гепатита В и краснухи.

За более чем шесть десятилетий достигнуты реальные успехи в снижении заболеваемости рядом инфекций. Благодаря иммунизации уровень заболеваемости управляемыми вакцинопрофилактикой инфекциями (корью, дифтерией, коклюшем, эпидемическим паротитом, краснухой, гепатитом В) по сравнению с допрививочным периодом снизились в десятки, сотни и тысячи раз: дифтерией — в 5000 раз (с 50-90 до 0,01 на 100 тыс. населения), корью — в 7000 раз (с 800-1000 до 0,12 на 100 тыс. населения), краснухой — в 6000 раз (с 120 до 0,02 на 100 тыс. населения), коклюшем — в 60 раз (с 200-400 до 5,6 на 100 тыс. населения), столбняком — в 90 раз (с 0,9 до 0,01 на 100 тыс. населения), острым гепатитом В — в 32 раза (с 30 до 0,94 на 100 тыс. населения).

Сегодня Российская Федерация вместе с другими странами реализует Глобальный план в отношении вакцин. В России цели государственной политики в области иммунизации абсолютно соответствуют целям Европейского плана действий в отношении вакцин (ЕПДВ) на 2015-2020 годы: поддержание статуса страны, свободной от полиомиелита (Цель ЕПДВ 1), элиминация кори и краснухи (Цель ЕПДВ 2), контроль распространения гепатита В (Цель ЕПДВ 3), достижение региональных целевых показателей охвата вакцинацией (Цель ЕПДВ 4), принятие основанных на доказательных данных решений о внедрении новых вакцин (Цель ЕПДВ 5), обеспечение финансовой устойчивости национальных программ иммунизации (Цель ЕПДВ 6).

Одним из важных аспектов выполнения ЕПДВ представляется обеспечение в рамках эпидемиологического надзора сбора качественных (достоверных) данных об иммунизации и эпидемическом процессе и расширение их использования, в том числе для принятия эффективных управленческих решений. Необходимо также развитие научных исследований и разработка новых вакцин, скорейшее их внедрение, а также приоритетность подготовки кадровых ресурсов.

В Российской Федерации заболеваемость инфекционными болезнями, управляемыми средствами специфической профилактики, в целом, находится на низком

---

\* Статьи данного номера являются переработанными материалами докладов XI съезда ВНОЭМП (*прим. ред.*)

**Экономическая значимость некоторых инфекционных болезней в Российской Федерации в 2017 году**

Нозологические формы	Ущерб, тыс. руб.
Туберкулез (впервые выявленный) активные формы	35 457 079,8
Ветряная оспа	12 669 590,0
Грипп	1 391 023,1
Вирусный гепатит А	1 021 219,7
Острый вирусный гепатит В	280 224,8
Менингококковая инфекция	271 691,4
Коклюш, паракоклюш	185 290,4
Эпидемический паротит	130 522,1
Корь	42 568,1
Туляремия	31 260,9
Лептоспироз	11 691,4
Брюшной тиф и паратифы	8 288,0
Столбняк	1 872,6
Краснуха	175,3
Дифтерия	0

уровне. Однако экономическая значимость данных нозологий, обусловленная наносимым ущербом, выраженная в стоимостных показателях, остается на достаточно высоком уровне (табл.)

По отчетным данным охват населения своевременной иммунизацией в рамках национального календаря профилактических прививок в декретированных возрастах стабильно составляют не менее 95%.

Вместе с тем, в последние годы на фоне активизации миграционных процессов отмечается рост числа лиц (детей и взрослых), не привитых вследствие отказов от иммунизации, необоснованного расширения списка медицинских противопоказаний к вакцинации, в результате чего осложнилась эпидемиологическая ситуация по некоторым инфекциям.

За последние годы в мире достигнут определенный прогресс в реализации основных целей Стратегического плана ликвидации полиомиелита и осуществления завершающего этапа в 2013—2018 гг.

Благодаря высокому уровню охвата детей профилактическими прививками против полиомиелита Россия в составе Европейского региона в 2002 году получила статус страны, свободной от полиомиелита, что ежегодно подтверждается Европейской сертификационной комиссией.

Но риск завоза вирусов полиомиелита (диких или вакцинородственных-ВРПВ) из других, в том числе эндемичных по полиомиелиту стран (в 2017 г. — Афганистан и Пакистан), остается. Кроме того, в двух странах мира (Демократической Республике Конго и Сирийской Арабской Республике) выявлена циркуляция ВРПВ типа 2, поэтому необходимо продолжение рутинной иммунизации до тех пор, пока не удастся в глобальном масштабе достигнуть цели ликвидации полиомиелита, которая поставлена ВОЗ на ближайшее десятилетие.

Внедрение с 2008 года иммунизации детей первого года жизни инактивированной вакциной против полиомиелита позволило решить проблему возникновения тяжелейшего поствакцинального осложнения — вакциноассоциированного полиомиелита (ВАПП). С 2009 года до 2017 года случаи ВАПП у реципиентов вакцины практически не регистрировались (за исключением 1 случая в 2015 году вследствие индивидуальных особенностей иммунитета ребенка).

Однако продолжают иметь место факты нарушения национального календаря профилактических прививок в части проведения первой и второй аппликации в курсе первичной иммунизации против полиомиелита живой оральной вакциной (БОПВ) вместо инактивированной (ИПВ). Такие случаи выявлены в Тверской, Курской, Курганской, Архангельской областях, Чеченской Республике, Москве и Московской области. Подобная практика является нарушением требований санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.2951—11 «Профилактика полиомиелита» и может послужить причиной возникновения вакциноассоциированного полиомиелита у привитых детей.

В 2009-2016 гг. и за 9 мес. 2017 г. случаи ВАПП были зарегистрированы в 15 субъектах Российской Федерации. Всего зарегистрировано 20 случаев заболевания, из них 5 случаев ВАПП у реципиента ОПВ и 15 случаев ВАПП у детей, контактировавших с недавно привитыми ОПВ.

Все дети, у которых развился ВАПП после контакта с привитыми ОПВ детьми, не были привиты против полиомиелита по причине отказа родителей от иммунизации или из-за длительных, в т.ч. необоснованных, медотводов. Контакт в большинс-

тве случаев происходил в домашнем очаге, но также были отмечены случаи контакта в закрытых детских коллективах (Алтайский край, Самарская область) и в детском саду (Чеченская Республика).

В четырех из пяти случаев ВАПП у реципиентов ОПВ заболевание развилось после получения ранее не привитыми против полиомиелита детьми первой дозы ОПВ вместо ИПВ (2014 г. — в Республике Дагестан, 2016 г. — в Архангельской области, 2017 г. — в г. Москве и Московской области).

В одном случае ВАПП развился у ребенка из Иркутской области, получившего 4 прививку против полиомиелита ОПВ, первые три прививки были проведены ИПВ. У данного ребенка выявлены признаки иммунодефицита, в т.ч. результаты серологических исследований косвенно свидетельствовали о сниженном иммунном ответе на вакцинацию.

Благодаря принятым в последние годы дополнительным мерам по иммунизации населения против кори, в 2016 году заболеваемость этой инфекцией снизилась в 4,8 раза. Было зарегистрировано 178 случаев кори, показатель заболеваемости составил 0,12 на 100 тыс. населения. В 2017 г., по сравнению с 2016 г., заболеваемость корью выросла в 4,1 раза и составила 0,49 на 100 тыс. населения.

В некоторых субъектах Российской Федерации продолжают регистрироваться групповые очаги кори, что свидетельствует о недостатках в работе по иммунизации населения против этой инфекции. За 2017 год было сформировано 404 очага кори, из них 78,2% (316) составляли очаги с одним случаем заболевания и 21,8% (88) — очаги с распространением инфекции. Очаги с вторичным распространением наблюдались только на 9 территориях из 31, где регистрировалась заболеваемость. В 2017 году было зарегистрировано 30 очагов внутрибольничного заражения корью (в Республике Дагестан, Московской области, Ставропольском крае, Москве, Республике Крым), где пострадали 127 человек. Максимальное число заболевших в одном очаге — 15 чел. (г. Москва).

Продолжают регистрироваться локальные вспышки кори, в 2017 г. — 24 вспышки в 6 субъектах страны (г. Москва, Московская область, Республики Крым, Дагестан, Ставропольский и Хабаровский края), в которых пострадали 194 человека, из них 80,4 % составили дети.

Возникновение групповой заболеваемости корью на фоне высокого охвата прививками (95% и более) свидетельствует об имеющихся недостатках в организации иммунопрофилактики кори, в том числе о возможном недоучете не привитого населения, ошибках при планировании, недостоверности представляемых отчетных данных, что подтверждается выявлением при эпидемиологическом обследовании очагов инфекции определенной когорты лиц, не привитых и не защищенных от кори. Например, в Свердловской области даже после проведения противоэпидемической вакцинации в очагах оставалось около 20% не привитых против кори лиц, что сохраняло риск распространения инфекции. В Республике Дагестан по результатам серологических исследований в индикаторных группах детей в возрасте 9-10 лет и 16-17 лет выявлено от 12 до 20% серонегативных к вирусу кори.

Заболеваемость корью поддерживается населением, не привитым против кори, и лицами с неизвестным прививочным анамнезом, в том числе цыганским населением, членами религиозных общин и другими труднодоступными для иммунопрофилактики группами населения. Основной причиной отсутствия прививок у детей и взрослых являлись отказы от вакцинации.

В целях укрепления программы иммунизации Роспотребнадзор инициировал расширение возрастных границ для вакцинации против кори населения, относящегося к группам риска, до 55 лет, в связи с чем в приказ Министерства здравоохранения России внесены соответствующие изменения (приказ МЗ РФ от 16.06.2016 №370н).

Ежегодно в преддверии эпидемического сезона по гриппу и ОРВИ в Российской Федерации организуется вакцинация населения против гриппа.

В соответствии с Национальным календарем профилактических прививок (приказ Минздрава России от 21.03.2014 №125н) иммунизация против гриппа проводится детям с 6 месяцев, учащимся школ, образовательных организаций высше-

го и профессионального образования, взрослым, работающим по отдельным профессиям и должностям (работники медицинских и образовательных организаций, транспорта, коммунальной сферы), беременным женщинам, лицам старше 60 лет, а также лицам с хроническими заболеваниями.

Благодаря комплексным усилиям в преддверии эпидемического подъема заболеваемости гриппом и ОРВИ 2017-2018 гг. в стране против гриппа привито максимальное за последние годы количество лиц — около 62,8 млн человек (свыше 43,4% от численности населения). Наиболее успешно вакцинация против гриппа проведена в Республика Тыва, Краснодарском крае, Санкт-Петербурге, Пензенской области, Хабаровском крае и Амурской области. В целом, необходимо отметить существенную положительную динамику охвата профилактическими прививками против гриппа за последние 6 лет (с 26,4 до 43,4% численности совокупного населения).

Вместе с тем, показатели охвата иммунизацией против гриппа групп риска в Российской Федерации не достигли значений, рекомендованных ВОЗ (75%), и здесь предстоит еще поработать.

О результативности вакцинопрофилактики гриппа наглядно свидетельствует динамика заболеваемости: при увеличении охвата иммунизацией с 4,9 млн человек в 1996 г. до 55,9 млн человек в 2016 г. заболеваемость гриппом снизилась в 85,5 раза — с 5173,8 на 100 тыс. населения в 1997 г. до 60,5 в 2016 г.

Таким образом, массовая иммунизация населения против гриппа наряду с применением комплекса других профилактических и противоэпидемических мероприятий позволяет существенно снижать интенсивность эпидемического процесса гриппа и бремя его социально-экономических последствий.

Наряду с прививками, включенными в национальный календарь профилактических прививок, в субъектах Российской Федерации осуществляется иммунизация населения, прежде всего из групп риска, по эпидемическим показаниям: против сибирской язвы, чумы, желтой лихорадки, бешенства, клещевого вирусного энцефалита, туляремии, бруцеллеза, лептоспироза.

При этом следует отметить, что в последние годы объем иммунизации по эпидемическим показаниям снизился как в целом, так и по многим видам прививок.

Кроме того, в 2017 году не достигнуты плановые значения иммунизации населения против клещевого энцефалита (охват вакцинацией — 70,8%, ревакцинацией — 89,5%), туляремии (охват вакцинацией — 37%, ревакцинацией — 71,5%), бруцеллеза (охват вакцинацией — 91,9%, ревакцинацией — 87,9%), что не позволяет обеспечить надлежащую эффективность проводимых профилактических мероприятий в отношении перечисленных инфекций.

Развитие государственной программы иммунизации невозможно без совершенствования национального календаря профилактических прививок.

В настоящее время в Российской Федерации первичный вакцинальный курс прививок против полиомиелита состоит из трех аппликаций: две прививки инактивированной полиомиелитной вакциной — ИПВ (для первой и второй вакцинации) и одна — бивалентной оральной живой полиомиелитной вакциной — БОПВ, которая также используется для ревакцинации детей в возрасте 18 мес., 20 мес. и 14 лет.

Вакцина ИПВ содержит аттенуированные штаммы вируса полиомиелита всех трех типов (1, 2 и 3), вакцина БОПВ — только двух (1 и 3), в связи с чем формирование иммунитета к вирусу 2 типа при данной схеме иммунизации (2ИПВ + 1БОПВ) не будет гарантировано, так как требует проведения не менее трех аппликаций. Таким образом, с момента перехода на применение БОПВ в популяции будут накапливаться контингенты детей с отсутствием иммунитета к вирусу 2 типа, то есть не защищенных от данного вируса.

При этом в развитых странах, в т.ч. европейских, США и др. для рутинной вакцинации в рамках национальных программ иммунизации применяются только ИПВ, содержащие вирусы трех типов, в связи с чем популяционный иммунитет там постоянно поддерживается к вирусам всех трех типов.

С учетом данного опыта, целесообразно рассмотреть вопрос о введении третьей прививки ИПВ в национальный календарь. Это предложение поддержано Союзом

педиатров России и специалистами Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова (письмо от 29.12.2015 №593).

Применение вакцины ИПВ для третьей аппликации в курсе первичной иммунизации против полиомиелита позволило бы поддерживать коллективный иммунитет, прежде всего среди детей первых лет жизни, наиболее восприимчивых к полиомиелиту.

Для принятия такого решения потребуется закупка дополнительно около 1,7 млн доз вакцины (стоимость одной дозы — около 300 руб.).

В настоящее время Предприятие по производству бактериальных и вирусных препаратов ИПВЭ им. М.П.Чумакова проводит разработку отечественной вакцины ИПВ. Считаю целесообразным поддержать данный проект и принять меры по ускорению его реализации. Наличие отечественной инактивированной вакцины обеспечит поддержание эпидемиологического благополучия страны, значительно снизит расходы по закупке импортных вакцинных препаратов, будет способствовать выполнению международных обязательств Российской Федерации в области выполнения программы ликвидации полиомиелита.

С 2011 года в национальный календарь профилактических прививок Российской Федерации введены прививки против гемофильной инфекции типа b, которые также включены в национальные календари большинства зарубежных стран. Для иммунизации детей в России используются как зарубежные, так и отечественная вакцина против гемофильной инфекции типа b, не уступающая по эффективности и безопасности зарубежным аналогам.

Вместе с тем, вакцинация против гемофильной инфекции типа b проводится ограниченным контингентом детей — только группам риска (400–500 тыс. ежегодно — около 24% детей первых лет жизни), тогда как в США, странах Европейского региона и многих странах СНГ прививаются все дети до 2 лет.

Согласно рекомендаций ВОЗ и Союза педиатров России, прививки против гемофильной инфекции должны получать все дети первых лет жизни. 100% охват иммунизацией детей первых лет жизни против этой инфекции является одним из индикаторов выполнения «Глобального плана действий в отношении вакцин», принятого странами на 66 Всемирной Ассамблее Здравоохранения (2013).

Расширение контингентов, получающих прививки против гемофильной инфекции, позволит снизить заболеваемость и смертность населения от пневмоний и гнойных менингитов, в этиологической структуре которых гемофильная палочка типа b занимает одно из ведущих мест. Также снизится заболеваемость отитом, синуситом, остеомиелитом. Ориентировочная потребность в моновакцинах против гемофильной инфекции составит при условии вакцинации детского населения в декретированных возрастах около 5 млн доз. В настоящее время отечественным производителем вакцины по собственной передовой технологии (Ростовский НИИМиП Роспотребнадзора) производится только около 300 тыс. доз ежегодно.

В 2014 году в национальный календарь введена прививка против пневмококковой инфекции для детей первых лет жизни, а также в календарь по эпидпоказаниям для иммунизации взрослых. В 2017 г. вакцинированы против пневмококковой инфекции более 2,32 млн человек, что на 5% больше, чем в прошлом году, из них более 1,83 млн детей. Получили ревакцинацию 1,33 и 1,3 млн человек, соответственно, что также выше показателей прошлого года на 27,5%.

Ветряная оспа остается в Российской Федерации одной из наиболее распространенных детских болезней, которой ежегодно болеют от 500 до 850 тысяч чел., из них детей — около 94%. Экономический ущерб от заболеваний ветряной оспой оценивается в 11 млрд руб. в год.

Специальные профилактические меры в отношении ветряной оспы в России до недавнего времени не применяли, а противоэпидемические мероприятия не всегда приводили к ожидаемому результату и не ограничивали распространение инфекции.

Всемирная организация здравоохранения рекомендует проводить плановую (рутинную) иммунизацию детей в странах, где ветряная оспа является значительной проблемой здравоохранения, экономики и общества в целом, где вакцина является

доступной и где достижим высокий (85-90%) охват вакцинацией, который может поддерживаться на постоянном уровне.

На сегодняшний день эффективность плановой вакцинопрофилактики ветряной оспы доказана во многих странах. Накопленный опыт позволяет говорить о способности вакцины при массовой иммунизации приводить к 80% снижению числа случаев заболевания, 96% снижению частоты госпитализации и 92% снижению смертности.

Вакцины против ветряной оспы зарегистрированы в большинстве стран мира и вошли в программы иммунизации детей в США, Канаде, Германии, ряде регионов Испании, Италии и других стран.

Вопрос о необходимости вакцинопрофилактики ветряной оспы в России неоднократно поднимался педиатрами и эпидемиологами страны. Вакцинацию против этой инфекции рекомендуют проводить двукратно детям в возрасте 12 мес. и 6 лет. Потребность в вакцине против ветряной оспы составит около 3,3 млн доз в год.

Ротавирусная инфекция является одной из основных причин возникновения диареи у детей. По некоторым оценкам ежегодно в мире ротавирусами инфицируется около 125 млн человек. В среднем 6% случаев смерти среди детей в возрасте до 5 лет обусловлены этой инфекцией. Большинство смертей от этого заболевания регистрируется в развивающихся странах. В экономически развитых странах ротавирусная инфекция является одной из основных причин госпитализации детей первых трех лет жизни и рассматривается как значительное бремя для системы здравоохранения и общества.

В Российской Федерации в последнее десятилетие отмечается четко выраженная тенденция к росту заболеваемости ротавирусной инфекцией со среднегодовым темпом прироста около 3-4%. Ежегодно в детских коллективах регистрируются вспышки, связанные с ротавирусами.

ВОЗ считает приоритетным скорейшее внедрение ротавирусных вакцин с учетом конкретной эпидемиологической и экономической ситуации в странах, прежде всего — в развивающихся. Ротавирусная вакцина внедрена в национальные календари прививок в 13 странах Европейского региона. Иммунизация проводится трехкратно детям первого года жизни.

Вакцинопрофилактика, по заключению экспертов ЦНИИЭ Роспотребнадзора, является эффективным способом снижения заболеваемости ротавирусной инфекцией. Ориентировочный срок внедрения ротавирусных вакцин в национальный календарь профилактических прививок Российской Федерации — 2020 год.

Остается актуальным вопрос о создании Национального технического консультативного органа (группы) по иммунизации (НТКГИ), рекомендованного ВОЗ для всех стран.

В настоящее время НТКГИ функционируют в большинстве промышленно развитых и в ряде развивающихся стран. НТКГИ является одновременно техническим ресурсным центром и совещательным органом. Общей целью создания функционирующего технического консультативного органа на национальном уровне является предоставление лицам, формирующим политику, и руководителям программ иммунизации необходимых рекомендаций для принятия научно обоснованных политических решений по вопросам иммунизации, включая выбор новых вакцин и технологий, внесение необходимых поправок в действующие программы иммунизации и календари прививок.

В ряде медицинских организаций, особенно в сельской местности, остаются проблемы в обеспечении безопасных условий проведения иммунизации в плане неудовлетворительного санитарно-технического состояния и оснащенности прививочных кабинетов, обеспечения надлежащего температурного режима хранения и транспортирования иммунобиологических лекарственных препаратов (далее — ИЛП).

За 9 мес. 2017 г. проверено более 11,5 тыс. медицинских организаций и медицинских кабинетов детских образовательных организаций. В ходе контрольно-надзорных мероприятий выявлены нарушения требований санитарного законодательства к оснащению прививочных кабинетов (5,3% от числа проверенных); к условиям

сбора, обеззараживания и удаления медицинских отходов (3,2%); к ведению медицинской документации (26,7 %); к осмотру и наблюдению пациентов (7,3%); в 5,6% проверенных организаций отмечено неудовлетворительное санитарно-техническое состояние прививочных кабинетов; в 3,9% — нарушение температурного режима хранения и транспортирования ИЛП.

При анализе причин возникновения поствакцинальных осложнений (далее — ПВО) установлено, что около 20% ПВО обусловлены техническими ошибками медицинского персонала при введении препарата.

Указанные факты свидетельствуют об отсутствии должной ответственности, недостаточном уровне подготовки медицинских работников по вопросам организации и проведения вакцинопрофилактики, а также об отсутствии системной разъяснительной работы с родителями, отказывающимися от профилактических прививок детям.

Целесообразно рассмотреть вопрос о возобновлении в полном объеме деятельности Национального органа контроля ИЛП.

В соответствии с рекомендациями ВОЗ каждая страна, которая производит биологические препараты, должна иметь национальный орган контроля (далее — НОК), обеспечивающий надзор за качеством иммунобиологических препаратов.

В Российской Федерации до 2011 г. в соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации от 18.12.1995 № 1241, функции НОК выполнял Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича.

В связи с реорганизацией системы государственного надзора за качеством ИЛП — ликвидацией ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора и образованием на его базе Научного центра экспертизы средств медицинского применения Минздрава России — НОК ликвидирован, при этом утрачен ряд важнейших функций, ранее на него возлагавшихся, в том числе: разработка проектов нормативных документов, национальных требований к качеству препаратов, государственных (национальных) стандартных образцов и национальных диагностических панелей; обеспечение производителей и научно-исследовательских организаций не только в России, но и в странах СНГ микробиологическими штаммами; участие в многоцентровых испытаниях ИЛП и в разработке международных стандартов; инспектирование производств ИЛП конкретных видов; мониторинг побочного действия вакцин и расследование осложнений, возникающих после введения ИЛП, получение от потребителей рекламаций. Прекратил работу Комитет ИЛП, функционирующий при ГИСК им. Л.А. Тарасевича, который являлся экспертным органом и рассматривал все вопросы, касающиеся качества ИЛП (протоколы и результаты испытаний, рекомендации по исключению неэффективных препаратов, окончательная экспертная оценка ИЛП перед их формальной регистрацией).

Мониторинг осложнений, возникающих после введения ИЛП, как и других лекарственных средств, возложен на Росздравнадзор. Вместе с тем, система мониторинга, созданная после реорганизации НОК, не обеспечивает возможность оперативного реагирования при возникновении неблагоприятных последствий введения ИЛП, которые могут носить массовый характер.

Отсутствие должного контроля за производством ИЛП со стороны государственных органов может негативно отразиться на качестве ИЛП и неблагоприятно сказаться на санэпидобстановке в стране.

За последние 10 лет число поствакцинальных осложнений (ПВО) существенно снизилось: если в 2006-2012 гг. число их составляло около 500-600 ежегодно, то в 2015 году зарегистрировано 202 случая, в 2016 году — 221 случай, в 2017 г. — 278 случаев, что является результатом неполной регистрации ПВО вследствие реорганизации системы их учета.

В настоящее время осуществляется подготовка обновленного варианта методических рекомендаций по осуществлению медицинскими организациями деятельности по выявлению, расследованию и профилактике побочных проявлений после иммунизации.

Объективные и достоверные данные о безопасности и эффективности вакцин и вакцинопрофилактики послужат самым действенным ответом на современную антипрививочную пропаганду, которая основана на порой непомерных преувеличениях и рассчитана на профессиональную неосведомленность. В ней игнорируется риск осложнений при заболевании непривитых. У слушателя/читателя возникает иллюзия, что если завтра запретить все прививки, то настанет новая счастливая жизнь без аллергии, аутоиммунопатологии и злокачественных опухолей. Все инфекционные заболевания, включая бешенство и туберкулез, станут легкими и самоизлечимыми. О врачах, осуществляющих вакцинацию, и о специалистах, разрабатывающих и производящих вакцины, антипрививочная пропаганда отзывается, как о преступниках.

Антипрививочному движению в России способствует смена идеологической парадигмы и информационная либерализация, доступность интернет-ресурсов пропаганды, наличие рынка псевдомедицинских услуг, главным образом, гомеопатии, попустительство рациональной медицины и недостатки профессиональной подготовки врачей, прежде всего — педиатров, в области вакцинологии и вакцинопрофилактики.

Основные направления противодействия антивакцинальной пропаганде обозначены в постановлении Главного государственного санитарного врача Российской Федерации «О дополнительных мерах по повышению эффективности вакцинопрофилактики населения» от 10.03.2017 № 34 (зарегистрировано в Минюсте России рег.№46902 31.05.2017).

Таким образом, исходя из потенциальных возможностей иммунопрофилактики, отвечая на современные вызовы и с учетом перспектив развития этой мультидисциплинарной сферы здравоохранения, целесообразно: обеспечить устойчивое финансирование целевых разработок отечественных комплексных ИЛП, а также создание новых вакцин на основе современных биотехнологий; рассмотреть вопрос об организации производства комбинированных препаратов на базах имеющихся в стране высокотехнологичных фармацевтических предприятий при условии переноса в страну полного цикла зарубежных технологий; принять меры по обеспечению эффективного функционирования «холодовой цепи» при транспортировании и хранении ИЛП; возобновить деятельность Национального органа контроля ИЛП с обеспечением регулярного инспектирования производств ИЛП и выполнением других, возложенных на него функций по контролю качества производимых ИЛП; обеспечить активную санитарно-просветительную работу с населением посредством всех форм коммуникаций с акцентом на современные информационные технологии.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

*С.Л.Плавинский<sup>1</sup>, Н.Н.Ладная<sup>2</sup>, Е.Е.Зайцева<sup>3</sup>, А.Н.Барина<sup>1</sup>*

## **ПОРАЖЕННОСТЬ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ СРЕДИ УЯЗВИМЫХ ГРУПП НАСЕЛЕНИЯ В РОССИИ — РЕЗУЛЬТАТЫ ИНТЕГРИРОВАННОГО БИОПОВЕДЕНЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В 2017 Г.**

<sup>1</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова, С.-Петербург; <sup>2</sup>Центральный НИИ эпидемиологии, Москва; <sup>3</sup>Фонд «Открытый Институт здоровья населения», Москва

*Цель.* Оценка распространенности ВИЧ-инфекции среди представителей уязвимых групп населения — потребителей инъекционных наркотиков (ПИН), секс-работников (СР) и мужчин, имеющих секс с мужчинами (МСМ) в наиболее крупных городах ряда субъектов Российской Федерации с высоким и средним уровнем пораженности ВИЧ-инфекцией. *Материалы и методы.* В исследование включены 3744 представителя уязвимых групп, выборки формировались респондентами или по методике время-место. Исследование проводилось в 2017 г. в

семи регионах Российской Федерации — городах Москве, Санкт-Петербурге, Екатеринбурге, Красноярске, Кемерово, Томске и Перми. Был проведен опрос по специально разработанной анкете и проведено тестирование на наличие ВИЧ-инфекции. Для оценки количества новых случаев ВИЧ-инфекции использован метод ретроспективной когорты. *Результаты.* Согласно полученным результатам пораженность ВИЧ-инфекцией среди ПИН составила от 48,10% [95% доверительный интервал (ДИ)=42,20...54,10%] в Красноярске до 75,20% [95%ДИ=69,90...80,60%] в Кемерово. Пораженность СР — от 2,32% [95%ДИ=0,49...4,17%] в Санкт-Петербурге до 15,01% [95%ДИ=11,46...18,56%] в Перми. Пораженность МСМ — от 7,10% [95%ДИ=4,10...10,10%] в Москве до 22,80% [95%ДИ=17,90...27,70%] в Санкт-Петербурге. *Заключение.* Оценка количества новых случаев ВИЧ-инфекции по методу ретроспективной когорты показывает на высокую скорость распространения ВИЧ-инфекции среди ПИН во всех городах, кроме Санкт-Петербурга, относительно высокую скорость — от 1,6% в год [95%ДИ=0,1 .. 3,1%] до 4,6% в год [95%ДИ=0,0 .. 11%] среди МСМ и до 12,3% зараженных в год [95%ДИ=0,0 .. 28,3%] среди СР. В целом ситуация в исследованных группах является неблагоприятной и требует усиления профилактической работы в этих группах населения.

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 10—18

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, лица, употребляющие инъекционные наркотики, секс-работники, мужчины, занимающиеся сексом с мужчинами, эпиднадзор, Российская Федерация

*S.L.Plavinskiy<sup>1</sup>, N.N.Ladnaya<sup>2</sup>, E.E.Zaytseva<sup>3</sup>, A.N.Barinova<sup>1</sup>*

## **HIV PREVALENCE AMONG VULNERABLE GROUPS IN RUSSIA — RESULTS OF AN INTEGRATED BIO-BEHAVIORAL SURVEY**

<sup>1</sup>Mechnikov North-Western State Medical University, Sankt-Petersburg; <sup>2</sup>Central Research Institute of Epidemiology, Moscow; <sup>3</sup>Open Health Institute Foundation, Moscow, Russia

*Aim.* Of the study is to assess HIV prevalence in the vulnerable groups namely injecting drug users (IDU), sex workers (SW), and men who have sex with men (MSM) in some of the largest Russian regional capitals mostly affected by HIV infection. *Materials and methods.* The study involved 3744 persons from vulnerable groups enrolled by respondent-driven sampling (RDS) or time-location sampling (TLS). The study was undertaken in seven regions of the Russian Federation: Moscow, St.-Petersburg, Yekaterinburg, Krasnoyarsk, Kemerovo, Tomsk and Perm. All participants were interviewed using specially designed questionnaire and then tested for HIV. The retrospective cohort method was applied to evaluate the number of new HIV cases among respondents. *Results.* HIV prevalence in IDUs ranged from 48.10% [95% confidence interval (CI)=42.20...54.10%] in Krasnoyarsk and 75.20% [95%CI=69.90...80.60%] in Kemerovo. HIV prevalence among sex workers varied from 2.32% [95%CI=0.49...4.17%] in St. Petersburg to 15.01% [95%CI=11.46...18.56%] in Perm. HIV prevalence among MSM ranged from 7.10% [95%CI=4.10...10.10%] in Moscow to 22.80% [95%CI=17.90...27.70%] in St.-Petersburg. *Conclusion.* The number of new HIV infections estimated by the retrospective cohort method indicated rapid spread of HIV infection among IDUs in all cities except St.-Petersburg, relatively high HIV growth rates among MSM ranging from 1.6% per year [95%CI=0.1... 3.1%] to 4.6% per year [95%CI=0.0... 11%] and 12.3% annual HIV growth rate [95%CI=0.0... 28.3%] among sex workers. Generally, the situation in the studied groups remained adverse and called for more intensive prevention activities in vulnerable populations.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 10—18

Key words: HIV infection, injecting drug users, sex workers, men who have sex with men, HIV surveillance, Russia

## **ВВЕДЕНИЕ**

Несмотря на значительные успехи, достигнутые медицинской наукой в деле борьбы с ВИЧ-инфекцией, она продолжает оставаться важнейшей проблемой общественного здоровья. Согласно данным Объединенной программы Организации Объединенных Наций по СПИДу (ЮНЭЙДС), к концу 2017 года в мире с ВИЧ-инфекцией жили 36,9 миллионов человек (31,1—43,9 млн), что очень важно,

ежегодно в последнее десятилетие наблюдается около двух миллионов новых случаев этого заболевания, в 2017 г. произошло 1,8 млн заражений ВИЧ [16]. При этом достаточно напряженной остается ситуация в регионе Восточной Европы и Средней Азии, не исключая Российскую Федерацию. При этом, если в Европе и Северной Америке основной пораженной группой являются мужчины, имеющие секс с мужчинами, то для Российской Федерации важнейшей проблемой остается синдемия наркотической зависимости и ВИЧ-инфекции [8]. Как отмечается в Распоряжении Правительства РФ от 20.10.2016 N 2203-р «Об утверждении Государственной стратегии противодействия распространению ВИЧ-инфекции в Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» важной задачей по противодействию распространению ВИЧ-инфекции в Российской Федерации является проведение эпидемиологических и биоповеденческих исследований, в том числе в группах населения повышенного риска, к которым относятся потребители инъекционных наркотиков (ПИН), мужчины, занимающиеся сексом с мужчинами (МСМ) и секс-работники (СР) или, в терминах Распоряжения Правительства, последние две группы обозначаются как лица, занимающиеся проституцией и вступающие в нетрадиционные сексуальные отношения. Знание поведенческих особенностей представителей этих групп, распространенности ВИЧ-инфекции в сочетании с информацией об их численности может помочь более точно оценить ситуацию с ВИЧ-инфекцией в Российской Федерации и более адекватно подходить к модельным оценкам дальнейшего ее развития и разработке профилактических программ. Поэтому целью данного исследования было проанализировать пораженность уязвимых групп населения ВИЧ-инфекцией в нескольких регионах Российской Федерации и попытаться оценить возможности дальнейшего течения эпидемического процесса в этих группах. В исследовании также, безусловно, изучались соответствующие модели рискованного поведения и уровень знаний по вопросам ВИЧ-инфекции, однако эта тема будет предметом следующих публикаций.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были вовлечены 3744 человека, являвшихся представителями трех наиболее уязвимых к заражению ВИЧ-инфекцией групп — лица, употребляющие инъекционные наркотики, секс-работники (в данном исследовании только женщины) и мужчины, имеющие секс с мужчинами. В исследование включались представители уязвимых групп населения в возрасте 18 лет и старше, предоставившие информированное согласие на участие в опросе и экспресс-тестирование на ВИЧ-инфекцию, а также соответствующие критериям включения в исследование. Поскольку такие люди относятся к группам, труднодоступным для системы здравоохранения, для рекрутирования респондентов в исследование использовалось два специализированных метода формирования выборки — выборка, формируемая респондентами (ВФР, RDS) и выборка, формируемая по принципу время-место (ВВМ, TLS). Исследование проводилось в 2017 г. в семи регионах Российской Федерации — городах Москве, Санкт-Петербурге, Екатеринбурге, Красноярске, Кемерово, Томске и Перми. В субъектах федерации, в которых проводилось исследование, в 2017 г. проживало 21,3% от численности населения России и 31,5 % от числа всех зарегистрированных инфицированных ВИЧ (297 тыс. россиян). Субъекты Федерации, в которых проводилось исследование, имели высокий и очень высокий уровень пораженности ВИЧ-инфекцией (от 494,0 до 1741,4 на 100 тыс. населения), из всех субъектов лишь г. Москва относилась к числу регионов со средним уровнем пораженности ВИЧ-инфекцией.

Методология формирования выборки респондентами была применена для групп ПИН и МСМ, для группы СР выборка формировалась методом время-место. Детальное описание того, какие группы были изучены в каких городах, представлено далее.

Методология ВФР детально описана в других публикациях [9-11]. В данном исследовании в группах ПИН и МСМ в каждом городе были выбраны 8 начальных респондентов («зерен»), каждому из которых было выдано по три купона,

с помощью которых они могли привлечь в исследование других респондентов из своей социальной сети. После завершения опроса и тестирования, связанных с исследованием, респонденты получали по три купона, чтобы привлечь новых участников. Для защиты конфиденциальности данных респондентов, купоны содержали идентификационную информацию об исследовании без указания на особенности исследуемых групп и с кодами, которые позволяли установить, от какого купона был направлен данный респондент, но не было связей между номером купона и личностью респондента. Анкеты были анонимными, и в них заносился номер купона, с помощью этого же номера устанавливалась связь с результатами тестирования. За участие в исследовании — потраченное время, транспортные расходы и прочее участники получали вознаграждение в размере эквивалента 700 рублей за участие в исследовании и 500 рублей за привлечение в исследование новых респондентов по купонам — вознаграждение выдавалось подарочными картами в соответствующем номинале. В сравнении, исследование МСМ, выполненное в Москве аналогичным методом [17], предлагало возмещение в размере эквивалента 1000 рублей за участие и 500 рублей за каждого приведенного респондента (допускалось привлечение до четырех новых участников).

Первоначальные респонденты были выбраны таким образом, чтобы как можно больше отличаться друг от друга, в первую очередь, по таким признакам, как возраст и наличие ВИЧ-инфекции. В группе ПИН было несколько «непродуктивных зерен», т.е. тех, от кого не пришел ни один респондент. В Томске таких было 4, в Кемерово и Екатеринбурге — по 2. Ввиду медленного формирования выборки в группе МСМ были привлечены дополнительные первоначальные респонденты — один в Екатеринбурге и два в Санкт-Петербурге. Важным показателем в методологии ВФР, позволяющем оценить качество формирования выборки, является количество волн или поколений респондентов по отношению к первичному респонденту. Число волн составило от 6 до 18 с медианой в 10 волн. В теории ВФР предполагается, что после 6 волн выборка становится независимой от характеристик исходных респондентов и приобретает свойства репрезентативности. Вместе с тем, в группе МСМ в Москве не удалось достичь запланированного размера выборки, что привело к появлению широких доверительных интервалов.

Все респонденты отвечали на вопросы анкеты и проходили тестирование на ВИЧ-инфекцию. С помощью опросника собиралась информация по демографическим данным, истории сексуальных отношений и использования презервативов, употреблению психоактивных веществ (инъекционные и неинъекционные наркотики, алкоголь), тестированию на ВИЧ-инфекцию, гепатиты (только ПИН) и инфекции, передающиеся преимущественно половым путем, и результатам этого тестирования, а также стигме и дискриминации изучаемых групп. Анкета, использованная для опроса ПИН, включала 171 вопрос, для опроса СР — 117 вопросов, и для опроса МСМ — 147 вопросов.

Тестирование на ВИЧ-инфекцию проводилось с помощью наборов тестов на антитела OraQuick ADVANCE® Rapid HIV-1/2. Согласно имеющимся литературным данным, тест обладает чувствительностью 98,7% (95%ДИ=97.5—99.4%) и специфичностью 99,8% (95%ДИ= 99.6—99.9%). Негативные результаты испытаний считались отрицательными для целей исследования. При неопределенном результате теста участник тестировался повторно. Все участники исследования, получившие положительные результаты экспресс-тестов OraQuick, направлялись в медицинские организации для тестирования крови в лабораторных условиях, вне места опроса, по стандартному алгоритму методом иммуноферментного анализа ELISA, с подтверждением методом иммуноблота. Все участники имели доступ к консультированию и другим службам поддержки.

Для проведения анализа данных были использованы стандартные статистические пакеты программ, такие как система R (версия 3.3) с установленной библиотекой RDS для обработки данных, полученных с помощью выборки, формируемой респондентами, и SAS (University Edition) для данных, полученных на выборке «время — место».

Библиотека RDS — набор функций, разработанный для анализа данных ВФР, который производит оценку распространенности заболевания в популяции в определенный момент времени и предоставляет 95% доверительный интервал для ключевых показателей переменных (Mark S. Handcock, Ian E. Fellows, Krista J. Gile (2012) RDS: Respondent-Driven Sampling, Version 0.7-8.). Анализ проводился с учетом поправок на размер социальной сети и гомогенность этой сети. Количество «новых» случаев ВИЧ-инфекции определялось методом ретроспективной когорты на основе опроса о предшествующем тестировании на ВИЧ-инфекцию в сочетании с результатами тестирования при опросе, как описано ранее [3].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общее число респондентов из трех изучаемых групп составило 3744 человека. Детальное разделение по группам и городам приведено в табл. 1. Средний возраст был наиболее высоким в группе ПИН, где он составлял 34-35 лет. В группах СР и МСМ он был примерно на 7-8 лет ниже.

Таблица 1. Тип выборки и количество респондентов в городах исследования

Город	ПИН	СР	МСМ
Екатеринбург	ВФР (343)	ВВМ (205)	ВФР (351)
Кемерово	ВФР (354)		
Красноярск	ВФР (352)	ВВМ (201)	
Пермь	ВФР (353)	ВВМ (210)	
Томск	ВФР (355)		
Санкт-Петербург	ВФР (352)	ВВМ (201)*	ВФР (311)
Москва			ВФР (156)
Всего	2109	817	818

Примечание. \* В Санкт-Петербурге в исследование были включены только КСР, которые работают в салонах, уличные КСР в этом исследовании не изучались, что существенно снижает репрезентативность выборки в этом городе и характеризует лишь специфическую, труднодоступную часть группы КСР.

Пораженность ВИЧ-инфекцией лиц, относящихся к уязвимым группам, была различной, но в целом ее можно было охарактеризовать как высокую и очень высокую (табл. 2).

Обращает на себя внимание высокая пораженность ВИЧ-инфекцией группы ПИН, где она составляла от половины до двух третей всех обследованных. Вместе с тем, текущая пораженность этой группы оставляет возможность как для дальнейшего процесса распространения ВИЧ-инфекции в этой группе, так и для профилактики случаев заражения. Как будет показано ниже, возможность продолжения процесса распространения в этой группе существует. Наименее пораженной была

МСМ он был примерно на 7-8 лет ниже. Среди ПИН примерно от одной трети (Томск) до одной четверти (Красноярск) составляли женщины, суммарная доля женщин (без коррекции) составила 31,6%. Все опрошенные СР были женщинами, все МСМ мужчинами.

Средний возраст в отдельных уязвимых группах был обычно близким, исключая группу СР, где возраст участниц из Санкт-Петербурга был достоверно выше, чем в других городах. Вместе с тем, возможно, это имело объяснение, которое заключалось в том, что в Санкт-Петербурге в выборку были включены только СР, которые работают в салонах. Уличная СР в Санкт-Петербурге не изучалась.

Таблица 2. Пораженность ВИЧ-инфекцией уязвимых групп (95% доверительные интервалы)\*

Город	ПИН	СР	МСМ
Санкт-Петербург	48,3% [42,3...54,3% ]	2,32% [0,49...4,17%]	22,8% [17,9...27,7%]
Пермь	64,6% [58,5...70,7% ]	15,01% [11,46...18,56%]	
Красноярск	48,1% [42,2...54,1% ]	5,4% [2,31...8,49%]	
Екатеринбург	57,2% [50,7...63,7% ]	14,19% [6,18...22,19%]	16,5% [11,5...21,4%]
Томск	63,2% [57,4...69,0% ]		
Москва			7,1% [4,1...10,1%]
Кемерово	75,2% [69,9...80,6% ]		

Примечание. \* Оценки по RDS-I.

группа СР, однако, степень пораженности ВИЧ-инфекцией СР в Екатеринбурге и Перми была значимо выше, чем в Санкт-Петербурге. Однако, в Санкт-Петербурге в исследование 2017 г. были включены лишь салонные СР, поэтому группа является несопоставимой с другими городами, более ранние исследования среди уличных СР в этом городе демонстрировали очень высокую пораженность ВИЧ-инфекцией, ввиду того, что большинство уличных СР в Санкт-Петербурге относились к ПИН. Пораженность в Екатеринбурге СР была близка к таковой у МСМ. В свою очередь, пораженность МСМ в Екатеринбурге была значимо выше, чем в Москве. Самая высокая пораженность МСМ была отмечена в Санкт-Петербурге. Распространенность ВИЧ-инфекции среди МСМ и СР указывает на возможность быстрого увеличения пораженности в этих группах.

В группе СР заражение ВИЧ-инфекцией могло происходить по причине употребления наркотиков, поэтому отдельно была проанализирована пораженность СР, которые не употребляли наркотики. Пораженность СР, которые не употребляли наркотики, ожидаемо оказалась значимо ниже, чем пораженность группы СР в целом. Однако даже в такой группе пораженность в Перми составила 8,9%, а в Екатеринбурге составляла 5,3%. Правда, в Красноярске она составила 1,3%, а в Санкт-Петербурге — 2,5%. И, хотя можно было утверждать, что в большинстве городов именно потребление наркотиков является основной причиной заражения СР ВИЧ-инфекцией, тем не менее, значительное число случаев ВИЧ-инфекции среди женщин, не потреблявших наркотики, указывает на значительную долю случаев заражения СР половым путем. Из всех опрошенных МСМ об употреблении инъекционных наркотиков в последние 6 месяцев сообщили 2 человека в Екатеринбурге, ни одного в Москве и 4 в Санкт-Петербурге. Опыт потребления имелся у 12 человек в Санкт-Петербурге (3,7%), 3 человек в Москве (1,8%), 9 в Екатеринбурге (0,8%). Таким образом, в группе МСМ потребление инъекционных наркотиков с очень малой степенью вероятности было причиной относительно высокой пораженности ВИЧ-инфекцией, что подтверждается и молекулярно-биологическими данными [6].

Интересно было сравнить полученные данные с результатами других исследований в Российской Федерации, использовавшими похожую методологию привлечения респондентов.

В 2014 году было проведено исследование, включившее такие города, как Абакан, Барнаул, Волгоград, Набережные Челны, Пермь [2]. В каждом из этих городов были обследованы приблизительно 100 ПИН. Пермь входила как в исследование 2014 года, так и в настоящее исследование 2017 года. Оценки пораженности респондентов ВИЧ-инфекцией в Перми среди потребителей инъекционных наркотиков в 2014 году составили 44,9%, а в 2017 году — 64,6%. Еще одним городом, который входил в число регионов, результаты обследования респондентов из которых описываются выше, был Санкт-Петербург. По целому ряду причин, в этом городе проводилось много исследований с использованием ВФР. Одно из первых было проведено в 2005-2006 гг. и включало 387 человек [13], в 2007-2009 гг. — включало 411 человек [7], 2012-2013 гг. — включало 811 человек [12], в 2017 году в исследование были включены 352 человека. Интересно, что с 2005 по 2017 гг. пораженность ПИН в Санкт-Петербурге оставалась примерно на одном уровне, составляя в 2005-2006 гг. — 50%, в 2007-2009 гг. — 59%, в 2012-2013 гг. — 55,7%, в 2017 г. — 48,3%.

В 2007-2009 годах исследование с использованием ВФР проводилось в Екатеринбурге [7], были обследованы 343 ПИН, и пораженность ВИЧ-инфекцией составила 64%. В рамках настоящего исследования пораженность была оценена на уровне 57,2%, при этом доверительный интервал настоящего исследования включает в качестве верхней границы значение 64%, и поэтому можно предположить, что пораженность группы ПИН в Екатеринбурге существенно не изменилась.

Также проводились исследования в группах МСМ в Москве, но в 2005-2006 гг. исследование выполнялось с формированием выборки по принципу время-место, в то время как в исследованиях 2010-2013 гг. и 2017 г. использовалась ВФР. В 2010-2013 гг. в исследование были включены 1376 человек [18], и пораженность изученной группы ВИЧ-инфекцией составила 15,6%. В 2017 г. в исследование вошли 156 человек,

из которых 7,1% были ВИЧ-инфицированы. Доверительные интервалы были широкими, поэтому нельзя было утверждать, что имелись различия между двумя этими исследованиями.

В целом обращает на себя внимание тот факт, что пораженность ВИЧ-инфекцией, в особенности среди ПИН, в различных городах нарастает примерно до уровня 50-60%, а потом стабилизируется. Интересно, что такая стабилизация для Екатеринбурга была описана и другими авторами и поддерживается результатами моделирования [5], а на данных Санкт-Петербурга [14] была показана стабилизация пораженности около 50% ПИН с постоянным приростом пораженности их сексуальных партнеров от наблюдаемого уровня в 5,6% до более, чем 10% через 10 лет (примерно со скоростью 0,44% в год).

Для оценки возможной скорости распространения ВИЧ-инфекции в ключевых группах в настоящий момент был использован метод ретроспективной когорты, предложенный ранее. В каждом городе была выделена группа лиц, которые ответили положительно на вопрос о том, что они тестировались в течение последнего года и отрицательно на вопрос о том, что у них был установлен положительный статус по ВИЧ-инфекции. В этой группе были проанализированы результаты обследования на ВИЧ-инфекцию, соответственно положительные результаты можно было рассматривать как новые случаи ВИЧ-инфекции, аппроксимируя, таким образом, заболеваемость. Результаты этого анализа приведены в табл. 3.

Как видно из приведенных данных, ситуация в ключевых группах является крайне неблагоприятной. Среди ПИН, которые тестировались в течение последнего года и считали, что у них нет ВИЧ-инфекции, тестирование на ВИЧ-инфекцию в рамках данного исследования дало положительный результат у 14% обследованных в Перми и Екатеринбурге, 18% лиц в Томске и 9% лиц в Красноярске. В Кемерово данный показатель достиг 25%. Эти данные свидетельствуют о том, что эпидпроцесс ВИЧ-инфекции в группе ПИН продолжает развиваться очень активно. В 2016 году по показателю заболеваемости лидировали преимущественно регионы Уральского и Сибирского федеральных округов: Кемеровская область (зарегистрировано 237,0 новых случаев ВИЧ-инфекции на 100 тыс. населения), Иркутская (155,0), Свердловская (151,4), Тюменская область без АО (143,2), Новосибирская (138,1), Челябинская (137,0), Томская (131,9) области, Красноярский (130,6), Пермский (127,0) края [4]. Сравнение этих данных с результатами исследования показывает, что наиболее неблагополучные регионы имеют и наиболее значительное число «новых» случаев среди ПИН, что указывает на то, что распространение ВИЧ-инфекции среди ПИН продолжает оставаться наиболее важным фактором в сохранении неблагоприятной ситуации по ВИЧ-инфекции в Российской Федерации. Надо заметить, что, согласно полученным в Санкт-Петербурге в 2005-2008 годах данным [15], количество новых случаев ВИЧ-инфекции среди ПИН составляет, в течение года, от 14,1% (95% ДИ=10,7-17,6) до 23,9% (95% ДИ=17,8-30,1), что хорошо согла-

Таблица 3. «Новые» случаи ВИЧ-инфекции у лиц ключевой группы, ранее тестировавшихся в течение последнего года на наличие ВИЧ-инфекции и получивших отрицательный результат (точечные оценки и 95% ДИ)

Город	ПИН	МСМ	СР
С.-Петербург	1,5% [0,4 .. 2,5% ]	2,2% [0,0 .. 5,4% ]	1,6% [0,0 .. 3,7% ]
Пермь	13,9% [2,0 .. 25,9% ]		4,1% [0,6 .. 7,6% ]
Красноярск	9,3% [0,0 .. 19,6% ]		0,0% [0,0 .. 2,6%]
Екатеринбург	14,1% [7,3 .. 20,9% ]	4,6% [0,0 .. 11% ]	12,3% [0,0 .. 28,3% ]
Томск	18,1% [9,5 .. 26,8% ]		
Москва		1,6% [0,1 .. 3,1% ]	
Кемерово	24,8% [11,6 .. 37,9% ]		

Примечание. 75% СР в Красноярске тестировались в последние 6 месяцев, верхняя граница доверительного интервала в случае отсутствия «новых» случаев — верхняя граница доверительного интервала Клоппера — Пирсона для нулевого значения при наблюдаемом количестве респондентов.

суется с приведенными выше данными по всем городам, кроме Санкт-Петербурга. Очевидно, что при такой скорости распространения инфекции наблюдаемая пораженность достигается за два — четыре года. Как было показано ранее, у ПИН наивысшая вероятность заражения наблюдается вскоре после начала употребления, а затем она снижается [1], и результаты по Санкт-Петербургу показывают, что, скорее всего, через десять лет исследование захватило именно такую, более стабильную популяцию. В то же время, в других городах, возможно, идет приток новых потребителей, среди которых быстро распространяется ВИЧ-инфекция. Однако, поскольку средний возраст ПИН во всех городах был одинаковым, возможную роль в распространении инфекции играет и смена употребляемых наркотиков. Так, результаты опроса показывают, что героин был основным употребляемым наркотиком в 2017 г. только в Кемерово (указали как основной наркотик 92,4% опрошенных ПИН [95%ДИ=88,1...96,8%]) и Томске (59,4% [95%ДИ=32,3...86,6%]), тогда как меткатиноны или синтетические наркотики («соли») были указаны как основные наркотики в Перми (81,6% [95%ДИ=76,5...86,7%]), Екатеринбурге (60,6% [95%ДИ=46,7...74,5%]) и Красноярске (57,6% [95%ДИ=42,7...72,6%]). В Санкт-Петербурге по данным респондентов основным наркотиком был метадон (71,6% [95%ДИ=65,6...77,5%]), что согласуется с результатами другого исследования в этом городе [12].

Также обращает на себя внимание достаточно большое число «новых» случаев ВИЧ-инфекции в группах МСМ и СР. Здесь доверительные интервалы были широкими, отражая относительно малую численность групп, на которых можно было применить метод «ретроспективной когорты», однако 4,1% «новых» случаев среди СР в Перми и 12% в Екатеринбурге указывают, что данная группа активно вовлечена в процесс распространения ВИЧ-инфекции. При этом необходимо помнить о более высоком риске передачи ВИЧ-инфекцией от людей, недавно инфицированных ВИЧ (в связи с высокой вирусной нагрузкой), что позволяет говорить о серьезном неблагополучии в Кемерово, Томске, Екатеринбурге и Перми.

В целом представленные выше данные свидетельствуют о крайне неблагоприятной ситуации с пораженностью ВИЧ-инфекцией уязвимых групп. Соотношение пораженности этих групп указывает на ведущую роль употребления наркотиков инъекционным путем в распространении ВИЧ-инфекции, однако относительно высокая пораженность МСМ в сочетании с низкой распространенностью опыта потребления наркотиков инъекционным путем и аналогичные данные в отношении СР, отрицавших опыт употребления, указывают на нарастающую роль полового пути передачи. При этом во многих вошедших в исследование городах наблюдается распространение ВИЧ-инфекции в среде наркопотребителей, связанное, с высокой степенью вероятности, с притоком новых наркопотребителей и/или изменением структуры наркопотребления. В целом ситуация в исследованных группах является сложной и требует усиления профилактической работы в этих группах населения.

*Авторы приносят благодарность некоммерческим организациям, принявшим участие в сборе данных для этого исследования: Автономной некоммерческой организации Центр социальной помощи «ЛУНА», Екатеринбург; Благотворительному фонду «Поддержки социальных инициатив и общественного здравоохранения», Москва; Кемеровскому региональному отделению общероссийской общественной организации «Российский Красный Крест»; Красноярской региональной общественной организации «Мы против СПИДа»; Межрегиональной общественной организации (Общество ВИЧ инфицированных и больных СПИДом) «Позитивный диалог», Санкт-Петербург; Региональному общественному фонду помощи различным категориям населения Свердловской области «Новая Жизнь», Екатеринбург; Санкт-Петербургскому благотворительному общественному фонду медико-социальных программ «Гуманитарное действие»; Свердловскому региональному общественному фонду «Эра здоровья», Екатеринбург; Томскому региональному некоммерческому благотворительному фонду «Томск-Анти-СПИД»; Фонду «Зеркало, организация помощи лицам находящимся в зоне социального риска», Пермь. Также благодарим РОО социальных проектов в сфере благополучия населения «Стеллит» в лице М.М. Русаковой и К.Ю. Ерицян, осуществлявшую мониторинг сбора данных в регионах.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Баринова А.Н., Плавинский С.Л., Виноградова Н.Х. Использование одномоментных данных для оценки интенсивности заражения потребителей инъекционных наркотиков ВИЧ-инфекцией и вирусным гепатитом С — отсутствие постоянства риска. Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им И.И. Мечникова. 2015;7(1):78-87.
2. Ерицын К.Ю., Корнилова М.С., Одиноква В.А. Отчет по результатам дозорного биоповеденческого исследования по ВИЧ-инфекции среди потребителей инъекционных наркотиков в гг. Абакан, Барнаул, Волгоград, Пермь, Набережные Челны. Москва: НП Эсверо; 2015.
3. Плавинский С.Л., Бобрик А.В., Баринова А.Н., Ерошина К.М., Новожилов А.В. Эффективность программ снижения вреда для предотвращения распространения ВИЧ-инфекции в Российской Федерации. Российский семейный врач. 2009, 13(2):20-24.
4. Покровский В.В., Ладная Н.Н., Соколова Е.В. ВИЧ-инфекция. Информационный бюллетень № 42 Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, 2018.
5. Cepeda J.A., Eritsyan K., Vickerman P. et al. Potential impact of implementing and scaling up harm reduction and antiretroviral therapy on HIV prevalence and mortality and overdose deaths among people who inject drugs in two Russian cities: a modelling study. Lancet HIV. 2018 S2352-3018(18): 30168-78.
6. Dukhovlina E., Masharsky A., Toussova O. et al. Two Independent HIV Epidemics in Saint Petersburg, Russia Revealed by Molecular Epidemiology. AIDS Res. Hum. Retroviruses. 2015,31(6):608-614.
7. Eritsyan K., Heimer R., Barbour R. et al. Individual-level, network-level and city-level factors associated with HIV prevalence among people who inject drugs in eight Russian cities: a cross-sectional study. BMJ Open. 2013, 3(6):e002645.
8. Heimer R. The Policy-Driven HIV Epidemic Among Opioid Users in the Russian Federation. Curr. HIV/AIDS Rep. 2018, 15(3):259-265.
9. Heckathorn D.D. Respondent-Driven Sampling: A New Approach to the Study of Hidden Populations. Social Problems. 1997, 44(2):174-199.
10. Heckathorn D.D. Respondent-Driven Sampling II: Deriving Valid Population Estimates from Chain-Referral Samples of Hidden Populations. Social Problems. 2002, 49(1):11-34.
11. Heckathorn D.D. Snowball versus respondent-driven sampling. Sociol Methodol. 2011, 41(1):355-366.
12. Heimer R., Lyubimova A., Barbour R., Levina O.S. Emergence of methadone as a street drug in St. Petersburg, Russia. Int. J. Drug. Policy. 2016, 27:97-104.
13. Iguchi M.Y., Ober A.J., Berry S.H. et al. Simultaneous recruitment of drug users and men who have sex with men in the United States and Russia using respondent-driven sampling: sampling methods and implications. J. Urban. Health. 2009, 86 Suppl 1:5-31.
14. Mills H.L., White E., Colijn C. et al. HIV transmission from drug injectors to partners who do not inject, and beyond: modelling the potential for a generalized heterosexual epidemic in St. Petersburg, Russia. Drug Alcohol Depend. 2013, 133(1):242-247.
15. Niccolai L.M., Verevchkin S.V., Toussova O.V. et al. Estimates of HIV incidence among drug users in St. Petersburg, Russia: continued growth of a rapidly expanding epidemic. Eur. J. Public. Health. 2011, 21(5):613-619.
16. UNAIDS DATA 2018. Geneva: UNAIDS; 2018.
17. Wirtz A.L., Zelaya C.E., Latkin C. et al. Alcohol Use and Associated Sexual and Substance Use Behaviors Among Men Who Have Sex with Men in Moscow, Russia. AIDS Behav. 2016, 20(3):523-536.
18. Wirtz A.L., Zelaya C.E., Latkin C. et al. The HIV care continuum among men who have sex with men in Moscow, Russia: a cross-sectional study of infection awareness and engagement in care. Sexually Transmitted Infections. 2016;92(2):161-167.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

*Н.В.Козырина, Н.Н.Ладная, Р.С.Нарсия*

## ПУТИ ЭЛИМИНАЦИИ ВЕРТИКАЛЬНОЙ ПЕРЕДАЧИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Центральный НИИ эпидемиологии, Москва

*Цель.* Анализ данных, отражающих современное состояние проблемы, выявление актуальных возможностей снижения риска передачи ВИЧ от матери к ребенку в Российской Федерации. *Материалы и методы.* Были проанализированы основные статистические данные по ВИЧ-инфекции Роспотребнадзора, Минздрава России за 2017 г. по указанной теме.

*Результаты.* В 2017 г. женщины составляли существенную долю среди ВИЧ инфицированных как среди всех больных, так и среди новых случаев (37-38%). Количество новых случаев ВИЧ-инфекции среди женщин ежегодно растет и к 2017 г. по сравнению с 2010 г. увеличилось на 62%. В 28 регионах Российской Федерации более 1% беременных женщин были инфицированы ВИЧ. За весь период наблюдения (с 1987 г.) к концу 2017 г. в России зарегистрировано 177 663 беременностей у женщин с ВИЧ инфекцией, завершившихся родами, в том числе в 2017 г. — 14 969. В 2017 г. 91,0% беременных принимали АРТ в период беременности, в родах — 94,7%, 98,7% новорожденных получили профилактический курс АРТ. Однако трехэтапный курс химиопрофилактики получили только 89,1% пар мать-ребенок. Выявлено, что 1635 пар мать-ребенок (10,9%) пропустили какой-то из этапов профилактики. Основная причина неполной профилактики поздняя диагностика ВИЧ-инфекции у матери. Вирусная нагрузка ВИЧ не была подавлена до родов у 25,8% ВИЧ-позитивных беременных женщин, закончивших беременность родами в 2017 г. (2527 женщин обследованных на вирусную нагрузку и 1342 — не принимавших АРТ во время беременности). Диагноз ВИЧ-инфекция в 2017 г. поставлен 708 детям, рожденным ВИЧ-позитивными матерями, из них только 235 родились в 2017 г. По расчетным данным риск вертикальной передачи ВИЧ в 2017 г. составил 2,3%. Значительное число детей (35 579 родившихся в разные годы) имели неокончательный тест на ВИЧ. 3,9% от всех детей с ВИЧ-инфекцией, рожденных ВИЧ-позитивными женщинами, заразились при грудном вскармливании. Выявлено, что в когорте детей, рожденных ВИЧ-позитивными женщинами, выше показатели смертности, так в 2017 г. младенческая смертность была в 1,5 раза выше, перинатальная смертность — почти в 2 раза выше общепопуляционного уровня. *Заключение.* Исследование показало, что для улучшения ситуации в области вертикальной передачи ВИЧ необходимо решить ряд задач, связанных с проведением программ, направленных на «низкопороговый» доступ к наблюдению, лечению и «удержанию» в системе оказания помощи женщинам, особенно из групп риска, широким внедрением ранней диагностики ВИЧ-инфекции в первые 2 месяца жизни новорожденного, срочным дообследованием детей старшего возраста, имеющих неокончательный лабораторный результат на ВИЧ, выявлением и устранением факторов, влияющих на повышенную смертность детей раннего возраста, а также консультированием по вопросу вскармливания и совершенствованием статистических подходов.

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 18—25

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, АРТ, вертикальная передача ВИЧ-инфекции от матери к ребенку, вирусная нагрузка

*N.V.Kozyrina, N.N.Ladnaya, R.S.Narsia*

## WAYS TO ELIMINATION OF MOTHER-TO-CHILD TRANSMISSION OF HIV

Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

*Aim.* The article addresses the progress in elimination of mother-to-child transmission of HIV in the Russian Federation. The authors reviewed the available data on the current situation and identified opportunities to reduce the risk of mother-to-child transmission of HIV. *Materials and methods.* The basic HIV statistics for 2017 from the federal public health watchdog Rospotrebnadzor and the Russia's ministry of health were analysed. The findings included several important aspects. *Results.* In 2017, women constituted a substantial proportion of population living with HIV, both among all cases and among new HIV infections (37%—38%). The number of new HIV cases among women was growing every year and by 2017 increased 62% compared to 2010. In 28 regions of the Russian Federation, more than 1% of pregnant women were HIV positive. Across the whole monitoring period (from 1987), 177,663 pregnancies complicated by HIV infection and ended in delivery were registered in Russia by the end of 2017, including 14,969 such pregnancies in 2017 alone. In 2017, 91.0% of pregnant women living with HIV took ART during pregnancy, 94.7% received it in labour. 98.7% of new-borns were given antiretroviral therapy as prevention. However, a three-stage chemoprophylaxis was provided to only 89.1% of mother-child pairs. It was revealed that 1,635 mother-child pairs (10.9%) missed at least one of prevention stages. The main reason for incomplete prevention was the late diagnosis of HIV infection in mothers. The viral load before delivery was not suppressed in 25.8% of HIV-positive pregnant women whose pregnancies were completed in 2017 (2,527 women were tested for viral load and 1,342 did not take antiretroviral drugs during pregnancy). 708 children born to HIV-positive mothers were diagnosed HIV positive in 2017 of whom, however, only 235 were born that year. Calculations showed that in 2017 the risk of vertical HIV transmission amounted to 2.3%, which were 348 new-born

babies. A significant number of children (35,579 born in different years) did not undergo a final HIV test. 3.9% of all HIV-infected children born to HIV-positive women had contracted HIV through breastfeeding. There was also a trend towards increasing the number of HIV transmissions this way. The article reveals that in the cohort of children born women, the death rate is higher. So in 2017 mortality among infants born to HIV-positive mothers was 1.5 times higher, while perinatal mortality was twice as high as in the general population. *Conclusion.* The study showed that in order to improve the situation concerning vertical transmission of HIV, it is necessary to solve a number of tasks related to low threshold programmes aimed at access to surveillance, treatment and retention in care for women, especially those of at-risk of HIV. The ways to achieve the goal are early infant HIV diagnosis in first two months of new-borns' life, urgent final laboratory examination of older children exposed to HIV at birth, determination and elimination of factors leading to increased infant mortality, breast-feeding counselling, as well as improvements in statistical methods.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 18–25

Key words: HIV-infection, ART, mother-to-child transmission of HIV, viral load

## ВВЕДЕНИЕ

Профилактика передачи ВИЧ от матери к ребенку на протяжении десятилетий борьбы с эпидемией ВИЧ-инфекции остается одним из самых эффективных профилактических мер. Так как инфицирование ребенка вирусом иммунодефицита человека от ВИЧ-позитивной матери может происходить в период беременности, родов и после родов (при грудном вскармливании) профилактическое вмешательство проводят последовательно во все периоды возможного инфицирования. Среди основных профилактических мер выделяют своевременное тестирование на ВИЧ, консультирование и прием антиретровирусных препаратов будущей матерью и ребенком, кесарево сечение (по показаниям), замена грудного вскармливания искусственным в странах, где это приемлемо. В связи с тем, что грудное вскармливание является одной из самых частых причин инфицирования детей ВИЧ в мире, ВОЗ рекомендует странам, исходя из местных условий, применять одну из двух стратегий вскармливания младенцев: либо исключительно грудное с рождения на фоне антиретровирусной терапии, либо искусственное, без прикладывания к груди. При своевременном применении современных профилактических мер вероятность рождения инфицированного ребенка может быть критически снижена до 1% и менее. При этом методика постоянно совершенствуется, исходя из научных данных и мониторинга ситуации в этой области.

По данным ЮНЭЙДС за период с 2010 по 2017 г. благодаря профилактике передачи ВИЧ от матери к ребенку удалось предотвратить около 1,4 млн [880 000–2 100 000] новых случаев ВИЧ-инфекции у детей [4]. Это достижение непосредственно связано с быстрым увеличением доли инфицированных ВИЧ беременных женщин, которые получали антиретровирусные препараты для предотвращения передачи ВИЧ от матери ребенку или антиретровирусную терапию: в 2010 году этот показатель составлял лишь 51%, к 2017 году он вырос до 80%.

Но несмотря на успехи профилактики, количество новых случаев ВИЧ-инфекции среди детей в мире остается высоким, в 2017 г. в мире инфицировались во время беременности, родов и при грудном вскармливании 180 000 детей, а число, живущих с ВИЧ детей в возрасте до 15 лет составило 1,8 млн [1,3–2,4 млн] в 2017 г. Важно также понимать, что огромное количество детей по-прежнему умирает в Африканском регионе, наиболее пораженном ВИЧ-инфекцией — 2,6 млн новорожденных умерли в 2017 году, а еще 2,6 миллиона были мертворожденными [2, 5]. Часть этих смертей связана с ВИЧ-инфекцией, однако не всегда дети своевременно обследовались на ВИЧ. Непосредственно от СПИД в 2017 г. в мире умерли 110 000 [63 000–160 000] детей до 15 лет.

Однако уже сегодня ВОЗ ставит задачу перед общественным здравоохранением всех стран снизить риск инфицирования ребенка до минимума, то есть элимини-

ровать (ликвидировать) вертикальный путь передачи вируса как значимый. В цифровом эквиваленте — это не более 20 000 новых инфекций среди детей в мире или сокращение на 95% числа новых случаев ВИЧ-инфекции среди детей к 2020 году. Планируется достигнуть этой цели к 2020 г. [3].

ВОЗ разработаны четкие критерии такой элиминации на уровне страны, если в течение 1 года: вертикальная передача ВИЧ менее 2% среди детей, не получающих грудного вскармливания, менее 5% ВИЧ-инфицированных среди детей, получающих грудное вскармливание, вертикальная передача менее 50 случаев на 100 000 живорожденных.

Наряду с вышеизложенным, необходимо, чтобы в стране, претендующей на элиминацию вертикальной передачи ВИЧ, в течение 2 лет: более 95% беременных женщин с ВИЧ, знающих и не знающих свой статус в отношении ВИЧ-инфекции, как минимум 1 раз посетили врача, более 95% беременных женщин знали свой ВИЧ-статус, более 95% ВИЧ-позитивных беременных женщин получали антиретровирусные препараты.

Исходя из критериев элиминации вертикального пути передачи ВИЧ-инфекции и поставленных целей очевидно, что это понятие не означает полное отсутствие детей, инфицированных вертикальным путем, однако таких детей в стране, заявившей об элиминации, должно быть очень мало, такое небольшое количество, которое не имеет значимого влияния на общественное здравоохранение.

Первой страной, получившей от ВОЗ в 2015 г. сертификат об элиминации вертикального пути передачи ВИЧ, стала Куба, в 2016 г. — Армения, Беларусь и Молдова, а в 2017 г. сертификат получили 6 стран Карибского региона: Ангилья, Антигуа и Барбуда, Бермудские острова, Каймановы острова, Монтсеррат и Сент-Китс и Невис. Важно отметить, что выполнение вышеприведенных критериев является сложной задачей даже для стран с небольшим количеством родов у инфицированных ВИЧ женщин, и до настоящего времени все страны, получившие сертификат об элиминации вертикального пути передачи ВИЧ, имеют небольшое количество родов. В тех странах, где немного родов, каждый случай инфицирования ребенка от матери существенно влияет на статистику, в странах с большим количеством родов — требуются существенные ресурсы (человеческие и материальные) для реализации комплексных программ профилактики. При этом, даже странам, получившим сертификат об элиминации, необходимо наращивать усилия по профилактике вертикальной передачи ВИЧ, так как каждые 2 года статус страны, элиминировавшей вертикальную передачу ВИЧ, требует подтверждения.

Снижение риска передачи ВИЧ-инфекции от матери к ребенку до минимальных значений является одним из ключевых ожидаемых результатов Государственной стратегии противодействия распространению ВИЧ-инфекции в Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу [1].

Постоянный мониторинг достижений в области профилактики вертикальной передачи ВИЧ демонстрирует, как Россия движется к минимизации риска инфицирования детей вертикальным путем, и новые актуальные задачи, которые встают перед практическим здравоохранением на этом пути.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено изучение статистических данных за 2017 г., находящихся в свободном доступе: «Основные показатели здоровья матери и ребенка, деятельность службы охраны детства и родовспоможения в Российской Федерации» Минздрава России, 2018. Изучены форма мониторинга Роспотребнадзора за 2017 г. «Сведения о мероприятиях по профилактике ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, выявлению и лечению больных ВИЧ», форма №61 за 2017 г. «Сведения о болезни, вызванной вирусом иммунодефицита человека» государственного статистического наблюдения. Кроме того, были проанализированы данные о выявленных случаях ВИЧ-инфекции у детей, сообщенные уполномоченными территориальными медицинскими организациями страны в Федеральный научно-методический центр по профилак-

тике и борьбе со СПИД ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора по форме медицинской учетной документации №266 у-88, данные о причинах заражения ВИЧ детей. Расчет предполагаемого числа детей, инфицированных ВИЧ, проведен с использованием рекомендуемой ЮНЭЙДС программы «Spectrum». Программа позволяет рассчитать уровень передачи ВИЧ от матери ребенку, исходя из объема проведенных мероприятий, эффективность которых считается установленной более ранними исследованиями.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В Российской Федерации в последнее десятилетие наблюдается быстрое распространение ВИЧ-инфекции среди населения. К концу 2017 г. кумулятивное количество зарегистрированных случаев ВИЧ-инфекции среди граждан Российской Федерации составило 1 220 659 человек, включая 276 660 умерших больных. Значительную долю среди всех больных ВИЧ-инфекцией и среди 104 тысяч новых случаев ВИЧ-инфекции в 2017 г. составляют женщины (37% и 38% соответственно). Количество новых случаев ВИЧ-инфекции среди женщин ежегодно растет и к 2017 г. по сравнению с 2010 г. увеличилось на 62%. Среди женщин в возрасте 15-49 лет 0,9% жили с установленным диагнозом ВИЧ-инфекции, а в возрасте 30-39 лет их доля составляла 1,6%. Подавляющее большинство инфицированных ВИЧ женщин находятся в репродуктивном возрасте и инфицируются ВИЧ половым путем. В 2017 г. 67,9% женщин получили диагноз ВИЧ-инфекции в возрасте до 40 лет, ранее доля молодых женщин была еще выше, в 2000 г. на эту возрастную группу приходилось 96,7%, а в 2007 — 89,6%. В 2016 г. в 28 регионах Российской Федерации более 1% беременных женщин были инфицированы ВИЧ, что соответствует генерализованной стадии эпидемии ВИЧ-инфекции согласно классификации ВОЗ и свидетельствует о активной передаче ВИЧ-инфекции среди основной популяции. На протяжении двух десятилетий в стране ежегодно увеличивалось количество родов у ВИЧ-инфицированных женщин, в 2016-2017 гг. оно впервые в истории наблюдения стало снижаться. За весь период наблюдения (с 1987 г.) к концу 2017 г. в России зарегистрировано 177 663 беременностей у женщин с ВИЧ-инфекцией, завершившихся родами, в том числе, в 2015 г. — 16 078, в 2016 г. — 16 035, в 2017 г. — 14 969. Всего за указанный период в Российской Федерации родились от ВИЧ-инфицированных матерей 177 974 живых детей. Очевидно, что в обозримой перспективе в стране количество родов у инфицированных ВИЧ женщин будет продолжать оставаться весьма значительным.

В 2017 г. 93% женщин с ВИЧ-инфекцией получали дородовую медицинскую помощь в женской консультации. Подавляющее большинство (91,0%) беременных принимали АРТ в период беременности, в родах — 94,7% и 98,7% новорожденных получили профилактический курс антиретровирусных препаратов.

Полный трехэтапный курс химиопрофилактики получили 89,1% пар мать-ребенок, и соответственно эти дети имеют наименьший риск инфицирования. С другой стороны, 10,9% пар (1635 пар мать-ребенок) по различным причинам пропустили какой-то из этапов профилактики, чаще всего это АРТ в период беременности из-за поздней диагностики ВИЧ-инфекции у матери. Дети, рожденные в таких парах, имеют повышенный риск инфицирования. Неполный охват женщин антиретровирусной химиопрофилактикой/терапией (в 2017 г. не получили химиопрофилактику 9% ВИЧ-инфицированных женщин во время беременности) и недостаточный охват пар мать-ребенок трехэтапной профилактикой представляются связанными с недостаточной работой по формированию приверженности беременных женщин, наблюдению и лечению, организационными трудностями по обеспечению лекарственными препаратами, по работе с труднодоступными группами женщин. Еще одной из причин может быть слабое взаимодействие между акушерско-гинекологической службой и центрами СПИД.

Важным критерием эффективности проводимой в период беременности АРТ является снижение вирусной нагрузки перед родами до неопределяемого уровня.

Контролируемая вирусная нагрузка матери (ниже порога определения тест-систем) — ключевое условие эффективной профилактики. Такие результаты были получены у 80,7% обследованных женщин в 2017 г. Однако, по данным формы государственного статистического наблюдения №61 за 2017 г. «Сведения о болезни, вызванной вирусом иммунодефицита человека», у 2527 беременных перед родами вирусная нагрузка была выше порога определения (19,3% среди 13102 беременных, больных ВИЧ-инфекцией, В20-В24, которым проведено исследование вирусной нагрузки перед родами). Вероятно, к этому количеству необходимо добавить и 1342 женщины, которые согласно форме №61 не принимали антиретровирусные препараты во время беременности. Следовательно, неоптимальная вирусная нагрузка перед родами имела у 25,8% (3869) ВИЧ-позитивных беременных женщин в России, закончивших беременность родами в 2017 г. Во всех случаях, когда вирусная нагрузка у беременной не «под контролем» АРТ, ситуация требует экстренных мер во время родов и в послеродовой период: оперативное родоразрешение, проведение химиопрофилактики ребенку с помощью усиленных схем, дополнительное консультирование женщины по вопросам приверженности терапии, при необходимости изменение схемы лечения.

За весь период эпидемии с 1987 г. среди всех рожденных от ВИЧ-позитивных матерей у 10 163 детей (5,7%) была подтверждена ВИЧ-инфекция, среди детей с верифицированным диагнозом инфицировалось ВИЧ уже 7,1%, поскольку значительная доля детей в 2017 г. (включая рожденных в предыдущие годы) имела неокончательный лабораторный результат на ВИЧ-инфекцию. При этом из родившихся в 2017 г. инфицировалось по расчетным данным («Spectrum») 2,3% (348 детей). Важно отметить, что на практике в 2017 г. диагноз ВИЧ-инфекция установлен 708 детям, рожденным ВИЧ-позитивными матерями, из них только 235 родились в 2017 г., остальные дети были рождены в предыдущие годы. При этом, согласно действующей форме статистического наблюдения Минздрава России №61, дети, которым был поставлен диагноз ВИЧ-инфекции не в год их рождения, не будут учтены в статистике вертикальной передачи ВИЧ-инфекции. Как видно из вышесказанного, число их очень велико. Без лечения ВИЧ-позитивные дети имеют высокий риск прогрессирования ВИЧ-инфекции. Важно подчеркнуть, что ВОЗ рекомендует определиться с ВИЧ-статусом новорожденных как можно быстрее, максимум к концу второго месяца жизни ребенка, и в случае установления диагноза ВИЧ-инфекции незамедлительно начать проведение антиретровирусной терапии. Однако на практике такая ранняя постановка диагноза новорожденному представляет значительную сложность, в 2017 г. только 62% новорожденных были обследованы в эти сроки, при этом в возрасте до 1 года диагностику прошли уже 90% рожденных в 2017 г. Сложность ситуации состоит в том, что дети, которые были инфицированы ВИЧ вертикально, имеют высокий риск смерти без лечения именно в первый год жизни, поэтому у них так важна ранняя диагностика ВИЧ-инфекции. К концу 2017 г. в России по данным Роспотребнадзора из 177 974 детей, рожденных ВИЧ-позитивными женщинами, 35 579 родившихся в разные годы имели неокончательный тест на ВИЧ. Можно предположить, что среди этих детей с неверифицированным диагнозом имеются и дети с положительным ВИЧ-статусом, состояние здоровья которых требует срочно-го начала лечения ВИЧ-инфекции.

За весь период наблюдения 398 детей (3,9% от всех инфицированных детей ВИЧ+матерей) заразились ВИЧ-инфекцией при грудном вскармливании. В последние годы наблюдается стойкая тенденция к росту количества впервые выявленных детей, инфицированных ВИЧ матерями при вскармливании грудью. За период с 1987 по 2006 г. было зарегистрировано лишь 29 таких случаев, а с 2007 по 2017 г. при грудном вскармливании инфицировались 369 детей, в том числе в 2014 г. — 40, 2015 — 47, 2016 — 59, 2017 — 64. Причины, по которым ВИЧ-позитивные женщины кормят грудью разнообразны: преимущественно это поздняя диагностика ВИЧ-инфекции у матери, но в отдельных регионах может отмечаться отсутствие доступа к заменителям грудного молока для детей, рожденных от инфицированных ВИЧ матерей (например, в связи территориальной отдаленностью пункта выдачи

детского питания или дефицитом финансирования); чаще всего в регионах страны потребности таких детей в адаптированных смесях лишь частично финансируются за счет региональных программ. В отдельных регионах страны национальные традиции, обычаи и боязнь стигмы и дискриминации инфицированных ВИЧ матерей могут являться серьезным препятствием для исключительно искусственного вскармливания детей. Некоторый вклад в эту проблему может вносить и деятельность «СПИД-диссидентов». Все эти причины требуют отдельного, тщательного изучения и разработки действенных мер профилактики. Российские рекомендации по профилактике передачи ВИЧ от матери к ребенку предполагают возможность снижения риска передачи ВИЧ при грудном вскармливании (консультирование по методике вскармливания, антиретровирусная терапия матери и ребенку), однако эта тактика используется редко. В России принято использование заменителей грудного молока с рождения и как правило единственным рекомендуемым матерям методом профилактики в данном отношении является полный отказ от грудного вскармливания и прикладывания к груди. Однако, приведенные выше данные могут свидетельствовать о наличии части женщин, не придерживающихся рекомендаций врачей, далеко не во всех случаях матери не были информированы о своем диагнозе и риске передачи ВИЧ при грудном вскармливании.

От внедрения в практику профилактики передачи ВИЧ от матери к ребенку, раннего выявления и лечения детей с ВИЧ-инфекцией ожидается не только снижение числа детей с ВИЧ-инфекцией, но и увеличение общей ожидаемой продолжительности жизни всей когорты детей, рожденных женщинами с ВИЧ-инфекцией. Однако на практике смертность детей раннего возраста этой когорты пока остается выше общепопуляционной. По данным формы №61 в 2017 г. умерли 123 ребенка, из родившихся в том же году от ВИЧ-позитивных матерей. Если взять это количество за основу, хотя в этом случае неучтенными остаются дети в возрасте до 1 года, родившиеся в 2016 г., но умершие в 2017 г., младенческая смертность составит 8,2%, что в 1,5 раза выше общепопуляционной (5,5% в 2017 г.). Перинатальная смертность в РФ по данным Росстата в 2017 г. составила 7,4% на 1000 родившихся живыми и мертвыми, при этом в когорте детей, родившихся от ВИЧ-позитивных матерей — 13,6%, что почти в 2 раза выше общепопуляционного уровня.

Исходя из вышеизложенного, на пути к минимизации (элиминации) риска вертикальной передачи ВИЧ в РФ стоят несколько задач, которые требуется решить в ближайшее время: внедрение мер по привлечению беременных женщин с ВИЧ-инфекцией, особенно групп риска к наблюдению и лечению, «удержанию» в системе оказания помощи (консультирование, работа мультипрофессиональной команды специалистов); дообследование детей, имеющих неокончательный лабораторный результат на ВИЧ, широкое внедрение ранней диагностики ВИЧ-инфекции в первые 2 месяца жизни новорожденного; выявление факторов, влияющих на повышенную смертность детей раннего возраста, разработка и внедрение мер по профилактике повышенного риска перинатальной и младенческой смерти; профилактика ВИЧ-инфекции среди молодых женщин, в том числе путем расширения тестирования на ВИЧ и консультирования мужей и половых партнеров беременных женщин; оптимизация подходов к консультированию по вопросу грудного вскармливания и информирование женщин о том, как снизить риск передачи ВИЧ-инфекции при выбранном женщиной методе вскармливания, в том числе и назначением антиретровирусной терапии; совершенствование методов мониторинга и оценки эффективности программ по профилактике передачи ВИЧ от матери к ребенку.

В целом широкое внедрение в практику всего комплекса современных мер, направленных на профилактику вертикальной передачи ВИЧ, раннее выявление и лечение детей, оказавшихся инфицированными, позволит минимизировать вертикальный путь передачи ВИЧ, а также увеличит общую ожидаемую продолжительность жизни детей, рожденных женщинами с ВИЧ-инфекцией. Своевременный анализ проведенных мероприятий по снижению риска верти-

кальной передачи ВИЧ является эффективным инструментом для разработки актуальных направлений дальнейшей работы по улучшению ситуации в этой области.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Распоряжение Правительства РФ от 20.10.2016 № 2203-р «Об утверждении Государственной стратегии противодействия распространению ВИЧ-инфекции в Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу».
2. Blencowe H., Cousens S., Jassir F.B. et al. National, regional, and worldwide estimates of stillbirth rates in 2015, with trends from 2000: a systematic analysis. *Lancet Glob. Health*. 2016, 4(2): 98-108.
3. Global guidance on criteria and processes for validation: elimination of mother-to-child transmission of HIV and syphilis. Geneva, World Health Organization, 2017.
4. Miles to go closing gaps breaking barriers righting injustices. *Global AIDS update 2018*. Geneva, UNAIDS, 2018.
5. The United Nations Inter-agency Group for Child Mortality Estimation (UN IGME). Levels and trends in child mortality. Report 2017. New York, United Nations Children's Fund, 2017.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

Н.Д.Юшук<sup>1</sup>, И.В.Малоев<sup>2</sup>, О.Баатархуу<sup>3</sup>, Е.Д.Савилов<sup>4,5</sup>, С.И.Малоев<sup>2,5</sup>, Р.И.Расулов<sup>5</sup>, В.В.Дворниченко<sup>2</sup>, Т.Лхажва-Очир<sup>6</sup>, J.Amarsanaa<sup>7</sup>, T.Decaens<sup>8</sup>, P.N.Marche<sup>8</sup>

### КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ В ЭТНИЧЕСКИХ ГРУППАХ ЕВРОПЕОИДОВ И МОНГОЛОИДОВ, ПРОЖИВАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ СЕВЕРО-ВОСТОЧНОЙ АЗИИ

<sup>1</sup>Московский государственный медико-стоматологический университет, <sup>2</sup>Иркутский государственный медицинский университет, Россия; <sup>3</sup>Mongolian National University of Medical Sciences, Ulaanbaatar, Mongolia; <sup>4</sup>Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, <sup>5</sup>Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования, Россия; <sup>6</sup>National Cancer Centre of Mongolia; <sup>7</sup>Mongolian Association for the Study of Liver Diseases; <sup>8</sup>Institut pour l'Avancée des Biosciences, Grenoble, France

*Цель.* Определить клинико-эпидемиологические особенности гепатоцеллюлярной карциномы в этнических группах европеоидов и монголоидов, проживающих на территории Северо-Восточной Азии. *Материалы и методы.* Работа проводилась на сопредельных территориях Монголии и Азиатской части России (Иркутская область). В исследование были включены 300 больных гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК) европеоидной и монголоидной расы. Уровень альфа-фетопротеина (АФП) в сыворотке крови определяли хемилюминесцентным методом. *Результаты.* Многолетняя динамика заболеваемости гепатоцеллюлярной карциномой свидетельствует о более неблагоприятных тенденциях на территории Монголии относительно Иркутской области. В обеих группах преобладали пациенты мужского пола старше 60 лет. У больных из Монголии чаще в анамнезе жизни встречалась желтуха и случаи злоупотребления алкоголем. Из этиологических факторов в Монголии ГЦК чаще ассоциирована с вирусом гепатита В, чем в Азиатской части России. В то же время, у европеоидов ГЦК развивалась преимущественно на фоне цирроза печени. У больных ГЦК уровень АФП свыше 20 нг/мл существенно чаще наблюдался в этнической группе европеоидов, чем у монголоидов. *Заключение.* Монголия по уровню заболеваемости ГЦК относится к гиперэндемичным регионам мира. В этой стране среди факторов риска развития заболевания большую роль играет вирус гепатита В, что существенно отличает ее от Азиатской части России. С целью ранней диагностики ГЦК необходим поиск новых молекулярных маркеров или их комбинаций в связи с недостаточной диагностической эффективностью определения АФП.

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 25—31

Ключевые слова: гепатоцеллюлярная карцинома, вирусные гепатиты, факторы риска, альфа-фетопротеин, монголоиды, европеоиды

N.D.Yuschuk<sup>1</sup>, I.V.Malov<sup>2</sup>, O.Baatarkhuu<sup>3</sup>, E.D.Savilov<sup>4,5</sup>, S.I.Malov<sup>2,5</sup>, R.I.Rasulov<sup>5</sup>, V.V.Dvornichenko<sup>2</sup>, T.Lkhagva-Ochi<sup>6</sup>, J.Amarsanaa<sup>7</sup>, T.Decaens<sup>8</sup>, P.Marche<sup>8</sup>

## CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL MANIFESTATION OF HEPATOCELLULAR CARCINOMA IN PATIENTS BELONGING TO ETHNIC GROUPS OF CAUCASIANS AND ASIANS OF NORTH-EAST ASIA

<sup>1</sup>Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, <sup>2</sup>Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia; <sup>3</sup>Mongolian National University of Medical Sciences, Ulaanbaatar, Mongolia; <sup>4</sup>Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction, Irkutsk, <sup>5</sup>Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Russia; <sup>6</sup>National Cancer Centre of Mongolia; <sup>7</sup>Mongolian Association for the Study of Liver Diseases; <sup>8</sup>Institut pour l'Avancée des Biosciences, Grenoble, France

*Aim.* The current study is aimed at determining differences of epidemiological and clinical profiles associated with HCC in patients belonging to ethnic groups of Asians from Mongolia and Caucasians from Asian region of Russia. *Materials and methods.* The studies were carried out in the cross-border regions of Mongolia and Asian part of Russia (Irkutsk region). 300 patients with hepatocellular carcinoma (HCC) of the Caucasian and Mongolian races were enrolled in the study. The level of alpha-fetoprotein (AFP) in the serum was determined by the chemiluminescence technique. *Results.* The long-term dynamics of the HCC incidence shows more unfavourable trends in the territory of Mongolia compared to Irkutsk region. In both groups, male patients over 60 years of age predominated. Patients from Mongolia often have a history of jaundice and alcohol abuse. Out of the etiological factors, HCC is more often associated with the hepatitis B virus in Mongolia than in the Asian part of Russia. At the same time, in Caucasians, HCC develops primarily on the background of liver cirrhosis. In patients with HCC, AFP level higher than 20 ng / ml were significantly more frequent in the ethnic group of Caucasoids than in Mongoloids. *Conclusions.* Mongolia in terms of the incidence of HCC belongs to the hyperendemic regions of the world. In this country, among the risk factors for the development of the disease, hepatitis B virus plays a major role, which significantly differs from the Asian part of Russia. For the purpose of early diagnosis of HCC, it is necessary to search for new molecular markers or their combinations due to the insufficient diagnostic efficiency of AFP determination.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No.6, P. 25—31

Key words: hepatocellular carcinoma, viral hepatitis, risk factors, alpha-fetoprotein, Asians, Caucasians

## ВВЕДЕНИЕ

В 2016 году на 69 Всемирной ассамблее здравоохранения была принята резолюция, целью которой является существенное снижение заболеваемости вирусным гепатитом в мире к 2030 году вплоть до его полной элиминации. При построении национальных стратегий элиминации вирусного гепатита необходимо учитывать, что более 50% всех инфицированных на Земном шаре сосредоточено в странах Азиатско-Тихоокеанского региона [10]. Очевидно из-за этого в Азии, в том числе в азиатской части России, наблюдаются высокие показатели распространенности болезней, ассоциированных с исходами вирусных гепатитов: печеночная недостаточность, цирроз печени и гепатоцеллюлярная карцинома [12]. Среди всех онкологических заболеваний рак печени занимает пятое место по распространенности и первое место среди причин смерти больных с циррозом печени [13].

Заболеваемость гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК) в разных странах колеблется (в расчете на 100 тыс. населения) в широких пределах: от 1,7 в Северной Европе и Канаде до 30,0 в Китае, в котором регистрируется более половины всех случаев рака печени в мире [12]. К относительно благополучным территориям относится европейский регион, а к гиперэндемичным зонам — Юго-Восточная Азия и Африка [7].

На основании большого количества исследований, было установлено, что среди этиологических факторов наиболее значимыми для развития ГЦК являются вирусы парентеральных гепатитов В (HBV), D (HBD) и С (HCV), которые

можно обозначить как основные (первичные) факторы риска гепатоканцерогенеза [13]. В развивающихся странах наибольшую роль играют HBV и HCV, которые суммарно среди всех провоцирующих факторов канцерогенеза занимают 75-90 % [7, 15].

С учетом выраженного влияния указанных вирусов на развитие ГЦК, в настоящее время идет активный поиск специфических маркеров для выявления этого вида злокачественного образования. Одним из таких широко распространенных серологических маркеров оценки риска развития ГЦК является уровень альфа-фетопротеина (АФП) в крови больного. Его повышение более 20 нг/мл диктует необходимость клинико-инструментального обследования для исключения ГЦК, а превышение более 400-500 нг/мл позволяет с высокой степенью вероятности поставить соответствующий диагноз [9]. Тем не менее, диагностическая ценность этого онкомаркера ограничена недостаточной специфичностью и генетическими, в том числе расовыми, особенностями его синтеза в процессе онкогенеза. До настоящего времени эти вопросы не изучались в этнических группах населения, проживающего на территории Северо-Восточной Азии.

Наряду с вирусной этиологией в научной литературе обоснованы и другие менее значимые этиологические факторы гепатокарциогенеза: наследственные или приобретенные нарушения обмена веществ, злоупотребление алкоголем, первичные аутоиммунные поражения печени, воздействие экзогенных химических соединений, что свидетельствует о полиэтиологичности циррозов печени и ГЦК [13]. Например, что в России гепатоцеллюлярный рак помимо HCV (30%) и HBV (27,6%), ассоциирован с такими факторами риска как диабет и метаболические нарушения (17,4%), алкогольный стеатогепатит (8,7%) [1]. Однако на территории Азиатской части России и Монголии демографические показатели и эпидемиология ГЦК изучена недостаточно тщательно, а в сравнительном аспекте исследования этнических групп вообще не проводилось.

Цель работы: определить клинико-эпидемиологические особенности ГЦК в этнических группах европеоидов и монголоидов, проживающих на территории Северо-Восточной Азии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сравнительные клинико-эпидемиологические исследования проведены на двух крупных сопредельных территориях Монголии и Азиатской части России (Иркутская область).

Территории Иркутской области и Монголии характеризуются большой площадью и низкой плотностью населения. Иркутская область занимает площадь 775 тыс. км<sup>2</sup>, численность населения составляет 2,4 млн человек [4]. Монголия имеет площадь более 1570 тыс. км<sup>2</sup> и население в 2,75 млн человек, при этом плотность населения составляет всего 1,7 на квадратный километр и является одной из самых низких в мире [2]. Изучаемые территории сопоставимы по климатогеографическим и демографическим показателям, однако существенно отличаются по этническому составу. В Монголии представители монголоидов составляют достаточно однородную популяцию (96,0%) [2]. На территории сравнения (Иркутская область) преобладают европеоиды — 96,3% [4].

Эпидемиологические исследования проводились с 2000 по 2016 гг. Для оценки частоты встречаемости ГЦК были использованы данные Иркутского областного онкологического диспансера и Департамента здравоохранения исполнительного агентства Правительства Монголии.

Для сравнительного анализа клинических и лабораторных проявлений ГЦК использовали метод анкетирования и ретроспективный анализ медицинской документации. Всего были обследованы 300 больных ГЦК. Европеоидная раса была представлена 105 больными ГЦК из Иркутской области, европейской внешности и с отсутствием в семейном анамнезе смешанных браков. Монголоидная раса была представлена 195 монголами, проживающими в г. Улан-Баторе и в цен-

тральных аймаках Монголии. Протокол исследований и опроса выполнялся в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Информированное согласие было получено от всех больных. Количество употребляемого алкоголя и степень алкогольной зависимости оценивали путем анкетирования, используя шкалу Audit [6]. Регулярное употребление алкоголя расценивали при значении свыше 16 баллов по указанной шкале. Из маркеров вирусного гепатита С (ВГС) и гепатита В (ВГВ) определяли анти-НСV, HBsAg и anti-HBc. Диагноз ГЦК ставили с учетом критериев европейской ассоциации по изучению болезней печени (EASL) [9].

Сбор материала осуществлялся в Иркутском областном онкологическом диспансере и четырех медицинских учреждениях Монголии (Mongolian National University of Medical Sciences, National Cancer Center, General Hospital #3 of Ulaanbaatar City, National Center for Communicable Disease).

Уровень АФП в сыворотке крови определяли на автоматическом анализаторе Architect system I1000SR (USA, Abbott) хемилюминесцентным методом.

Статистическую обработку первичных материалов проводили с использованием общепринятых критериев статистики, включающих в себя сравнение двух выборок, оценку многолетнего движения заболеваемости и корреляционный анализ. Анализ эпидемиологических данных осуществлен путем расчета экстенсивных и интенсивных показателей. Интенсивные показатели (распространенность) были рассчитаны на 100 000 населения. Статистическая обработка результатов клинико-лабораторных данных была произведена с использованием программы STATISTICA 6.1 (StatSoft Inc., США). Для выявления достоверности различий показателей в сравниваемых группах использовался критерий Стьюдента и U-критерий Манна-Уитни. Уровень статистической значимости был принят при  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее выраженные различия в проявлениях заболеваемости ГЦК на территориях сравнения проявились в уровне заболеваемости. Средняя величина этого показателя в Монголии более чем в 10 раз превышает соответствующее значение в Иркутской области ( $57,5 \text{ ‰}/_{0000}$  и  $5,3 \text{ ‰}/_{0000}$  соответственно;  $p < 0,001$ ).

Многолетняя динамика сравниваемых показателей свидетельствует о более неблагоприятных тенденциях в развитии заболеваемости ГЦК на территории Монголии относительно Иркутской области.

Сравнительный анализ клинико-лабораторных показателей у больных ГЦК показал, что в обеих группах преобладали пациенты мужского пола старше 60 лет. У больных из Монголии чаще в анамнезе жизни встречалась желтуха и случаи злоупотребления алкоголем. Из этиологических факторов у 1/3 больных из Монголии ГЦК была ассоциирована с ВГВ, что значительно чаще, чем в Азиатской части России. В то же время, у европеоидов ГЦК развивалась преимущественно на фоне цирроза печени. Вероятно, с этим связана и большая частота в этой группе симптомов асцитизации в виде слабости и недомогания, а также более высокий средний уровень общего билирубина в сыворотке крови.

Сопоставление частоты повышения уровня АФП в клинических группах монголоидов и европеоидов с ГЦК представлено в табл. Повышение АФП свыше 20 нг/мл на фоне ГЦК существенно чаще наблюдалось в этнической группе европеоидов. Эта закономерность прослеживалась в группах пациентов с продвинутой стадией онкологического процесса, а также у больных без метастазирования опухоли. Возможно, на уровень АФП оказало влияние преобладание в группе европеоидов больных с циррозом печени, при котором наблюдается повышение уровня АФП даже без первичного рака печени [3]. Вместе с тем, независимо от этнической принадлежности в обеих группах уровень АФП был существенно выше при III-IV стадии заболевания, чем на раннем этапе развития опухоли. Кроме этого, в группе монголоидов при диссеминированном процессе с формированием отдаленных метастазов уровень АФП был выше, чем у пациентов без метастазирования.

**Частота выявления АФП>20 нг/мл в сыворотке крови больных ГЦК в этнических группах европеоидов и монголоидов в зависимости от клинических проявлений болезни**

Показатель	Монголоиды		Европеоиды		p
	n	АФП>20 нг/мл, n (M%±m)	n	АФП>20 нг/мл, n (M%±m)	
АФП	195	134 (68,7±3,3)	105	86(81,9±3,8)	<b>&lt;0,01</b>
Стадия TNM I-II	50	27 (54,0±7,1)	17	10(58,8±11,9)	>0,05
Стадия TNM III-IV	145	105 (72,4±3,7)	76	65(85,5±4,0)	<b>&lt;0,05</b>
pI (между стадиями)	<b>&lt;0,05</b>		<b>&lt;0,05</b>		
Наличие отдаленных метастазов	36	28 (77,8±6,9)	30	26(86,7±6,2)	>0,05
Без метастазов	159	99 (62,2±3,8)	75	56(74,6±5,0)	<b>&lt;0,05</b>
pI(между группами)	<b>&lt;0,05</b>		>0,05		
Наличие маркеров ВГВ	67	47(70,1±5,6)	18	15(83,3±8,8)	>0,05
Наличие маркеров ВГС	89	58(65,2±5,1)	46	36(78,3±6,1)	>0,05
pI(между маркерами)	>0,05		>0,05		

Клинико-эпидемиологический анализ ГЦК в этнических группах монголоидов и европеоидов выявил как однотипные тенденции, так и существенные различия, обусловленные расовыми особенностями и политикой в области здравоохранения в части профилактики парентеральных вирусных гепатитов. Сравнение многолетней заболеваемости ГЦК позволило установить, что ее показатели в Иркутской области не отличается от других регионов России, а в Монголии сопоставимы с другими странами Азии, которые относятся к гиперэндемичным территориям [9, 12].

Этнические особенности, присущие сравниваемым популяциям, определили выраженные различия в среднемноголетних значениях заболеваемости ГЦК, которые более чем в 10 раз были выше в Монголии по сравнению с Азиатской частью России. Оценка движения заболеваемости ГЦК в многолетней динамике показала близкие ее проявления в сравниваемых популяциях больных ( $r^2 = 0,81$ ;  $p < 0,01$ ). Однако средние абсолютного прироста и коэффициент регрессии свидетельствуют о более неблагоприятных тенденциях в развитии многолетней заболеваемости ГЦК у населения Монголии.

Как в Монголии, так и в Азиатской части России ГЦК чаще встречается у лиц мужского пола старше 60 лет. Преобладание мужчин вообще характерно для этой онкопатологии и варьирует в соотношении мужчины:женщины от 1,4:1 до 7:1 в зависимости от причинного фактора ГЦК. Обращает на себя внимание, что в Монголии сохраняется большой удельный вес ГЦК, ассоциированной с HBV. Вероятно, это связано с тем, что в России вакцинация против ВГВ осуществляется уже около 20 лет. За это время уровень заболеваемости острым вирусным гепатитом В снизился в 40 раз и в настоящее время составляет менее 1 случая на 100 000 населения. В Монголии всеобщая вакцинация против ВГВ началась на 5-7 лет позже, а накопившееся к этому времени большое количество больных с хроническими формами заболевания продолжает оставаться основной группой риска развития цирроза печени и ГЦК. Кроме этого, необходимо учитывать чрезвычайно высокую частоту ко-инфекции HBV и HDV в Монголии, достигающую 6,7% от всех больных хроническими вирусными гепатитами [14], что в 30 раз выше, чем в России [1]. Сочетание этих двух вирусных агентов при хроническом течении болезни признано самым агрессивным в плане развития ГЦК и сопровождается 30-кратным ростом риска, в сравнении с моноинфекцией HBV [13].

Преобладание HBV-инфекции в структуре факторов, провоцирующих ГЦК, повлияло и на частоту выявления цирроза печени у больных ГЦК из Монголии. Это связано с тем, что механизм канцерогенного действия HBV и HCV различен. Онкогенность HCV опосредована хроническим воспалительным процессом и развитием цирроза печени. Без цирроза печени ГЦК на фоне ВГС встречается крайне редко [12]. В отличие от этого при ВГВ ГЦК в 30% случаев развивается

и без цирроза за счет прямой интеграции ДНК вируса в геном инфицированной клетки [7].

Вопрос о значении генетических, в том числе расовых, факторов в предрасположенности к развитию ГЦК неоднократно поднимался в научной литературе, но до сих пор далек от своего решения [1, 12]. На расовом уровне еще в начале 80-х годов было установлено, что у представителей Asian ethnicities вероятность развития ГЦК выше, чем у европеоидов. По мнению P.Cole, к группам высокого риска по развитию ГЦК следует относить азиатов-мужчин в возрасте старше 40 лет и азиатов-женщин в возрасте старше 50 лет [8]. На американском континенте такая предрасположенность установлена в отношении латиноамериканцев по сравнению с евроамериканцами [13]. В Монголии уровень заболеваемости ГЦК сопоставим с другими территориями, населенными азиатами [5]. В этих странах на фоне снижения заболеваемости вирусными гепатитами сохраняется высокий уровень заболеваемости ГЦК за счет увеличения доли неинфекционных факторов риска ГЦК, в том числе болезней обмена веществ и образа жизни. Это указывает на генетическую предрасположенность к этой онкопатологии на национальном уровне, проявляющуюся под влиянием полиэтиологических факторов риска рака печени. Наличие нескольких факторов риска ГЦК обуславливает увеличение ее частоты, развитие опухоли в более раннем возрасте и быстрый рост опухолевой массы [13]. Все это в полной мере относится к сочетанию HBV и HCV, а также к неинфекционным факторам. Одним из таких факторов, установленных в настоящем исследовании, является злоупотребление алкоголем, которое значимо чаще наблюдается среди населения Монголии, чем России.

Настоящее исследование показало, что АФП как молекулярный маркер ГЦК менее эффективен у представителей монголоидной расы. Подобные тенденции выявлены и для популяции китайцев. По данным Parikh N.D. et al. в когортах больных ГЦК китайцев и американцев содержание АФП выше 100 нг/мл чаще встречалось у последних [11]. Установлено, что повышенный уровень АФП как у монголов, так и европеоидов чаще наблюдался на поздних стадиях болезни и при наличии отдаленных метастазов. Эти наблюдения позволяют критически оценить значение определения АФП для прогнозирования риска развития ГЦК на ранней стадии, когда оперативные методы лечения наиболее эффективны. В связи с этим, поиск новых более информативных молекулярных маркеров ГЦК остается актуальным, особенно в этнических группах, относящихся к монголоидной расе. В этом направлении, среди недавно открытых и изучаемых молекул определенные надежды возлагают на дез-γ-карбоксипротромбин, глипикан-3, антиген плоскоклеточного рака, трансформирующий фактор роста β1, циркулирующие в крови внеклеточные ДНК и микроРНК [4].

Таким образом, с целью ранней диагностики ГЦК необходим поиск новых молекулярных маркеров или их комбинаций, что особенно актуально для монголоидов в связи с недостаточной эффективностью определения АФП в этой этнической группе населения.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Федеральной целевой программы проведения исследований по приоритетным направлениям с участием научно-исследовательских организаций и университетов в рамках российско-французской Партнерской программы Юбера Кюрьена «Колмогоров», контракт № 14.616.21.0098: «Эволюция вирусных гепатитов в рак печени».*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бредер В.В., Косырев В.Ю., Кудашкин Н.Е., Лактионов К.К. Гепатоцеллюлярный рак в Российской Федерации как социальная и медицинская проблема. Медицинский совет. 2016, 10: 10-8.
2. Кручкин Ю.Н. Современная Монголия. Энциклопедический справочник. Улан-Батор, 2011.
3. Сергеев М.Н., Шевалдин А.Г., Рахманова А.Г., Слепцова С.С., Ляшенко Е.А., Шаройко В.В. Молекулярные маркеры гепатоцеллюлярной карциномы. Перспективы ранней диагностики. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессия. 2014, 6(3): 16-23.

4. Статистический бюллетень. Итоги всероссийской переписи населения 2010 года по Иркутской области. Иркутск: Иркутскстат, 2012.
5. Baatarxuu O., Kim D.Y., Bat-Ireedui P., Han K.H. Current situation of hepatocellular carcinoma in Mongolia. *Oncology*. 2011, 81 Suppl 1: 148-151.
6. Babor T., Higgins-Biddle J.C., Saunders J.B., Monteiro M.G. AUDIT — The Alcohol Use Disorders Identification Test: Guidelines for Use in Primary Health Care (2nd edn). Geneva: World Health Organization, 2001.
7. But D.Y., Lai C.L., Yuen M.F. Natural history of hepatitis-related hepatocellular carcinoma. *World J. Gastroenterol.* 2008, 14(11): 1652-1656.
8. Cole P., Morrison A.S. Basic issues in population screening for cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 1980, 64(5): 1263-1272.
9. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J. Hepatol.* 2018; 69(1): 182-236.
10. Global hepatitis report 2017. Geneva: World Health Organization, 2017.
11. Parikh N.D., Fu S., Rao H. et al. Risk assessment of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C in China and the USA. *Dig. Dis. Sci.* 2017, 62(11): 3243-3253.
12. Raza S.A., Clifford G.M., Franceschi S. Worldwide variation in the relative importance of hepatitis B and hepatitis C viruses in hepatocellular carcinoma: a systematic review. *British J. Cancer.* 2007, 96(7): 1127-1134.
13. Trad D., Bibani N., Sabbah M. et al. Known new and emerging risk factors of hepatocellular carcinoma (review). *Presse Med.* 2017, 46(11): 1000-1007.
14. Tsatsralt-Od B., Takahashi M., Nishizawa T. et al. Inoue J., Ulaankhuu D., Okamoto H. High prevalence of hepatitis B, C and delta virus infections among blood donors in Mongolia. *Arch. Virol.* 2005, 150(12): 2513-2528.
15. Yapali S., Tosun N. Epidemiology and viral risk factors for hepatocellular carcinoma in the Eastern Mediterranean countries. *Hepatoma Res.* 2018, 4: 24-34.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

*Н.А.Михайлова, А.А.Калошин, Е.М.Зими́на, А.В.Солдатенкова, А.В.Поддубиков*

## **ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕКОМБИНАНТНОЙ ВАКЦИНЫ СИНЕГНОЙНОЙ**

НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва

*Цель.* Оценка эффективности и безопасности трех экспериментальных серий рекомбинантной вакцины синегнойной. *Материалы и методы.* Препарат получен на основе рекомбинантных белков OprF и анатоксина, хроматографически очищенных на никель-сефарозе. В качестве адьюванта использовали гидроокись алюминия. Подлинность компонентов подтверждена с помощью электрофореза и иммуноблоттинга. Определение концентрации эндотоксинов в вакцине проводили в количественном хромогенном ЛАЛ-тесте. Аномальную токсичность, анафилактическую активность, реакцию гиперчувствительности замедленного типа проводили в соответствии с руководством по доклиническим исследованиям под редакцией А.Н. Миронова. Оценку иммуногенной активности проводили в опытах при двукратной иммунизации мышей с последующим заражением вирулентной культурой синегнойной палочки (штамм РА-103). *Результаты.* В результате изучения показателей качества трех серий рекомбинантной вакцины синегнойной подтверждены ее подлинность, стерильность, апиrogenность и нетоксичность. В опытах на животных вакцина не обладала аллергезирующими свойствами, показано, что она защищала мышей от синегнойной инфекции с индексами эффективности 3,0 и более. *Заключение.* Показана эффективность, безопасность и стандартность получения трех экспериментальных серий рекомбинантной вакцины, предназначенной для профилактики инфекций, вызываемых синегнойной палочкой.

Журн. микробиол, 2018, № 6, С. 31—37

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*, белок F наружной мембраны (OprF), анатоксин, рекомбинантная вакцина синегнойная

## PRECLINICAL STUDIES OF RECOMBINANT PSEUDOMONAS VACCINE

Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

*Aim.* Evaluation of the efficacy and safety of the three experimental lots of Recombinant Pseudomonas Vaccine. *Materials and methods.* The preparation contained the recombinant proteins OprF and toxoid that were purified by chromatography in nickel-sepharose. Aluminum hydroxide was used as an adjuvant. The authenticity of the vaccine components was confirmed by electrophoresis and immunoblotting. The concentration of endotoxin in the vaccine was determined by LAL test. The abnormal toxicity was evaluated in mice and cavy. The anaphylactic activity was evaluated in cavy. The delayed-type hypersensitivity reaction was evaluated in mice. Evaluation of the immunogenicity was carried out in an experiment with on double immunization of mice with following intraperitoneally infection by a live virulent culture of *P. aeruginosa* (PA-103 strain). *Results.* The authenticity of the vaccine, sterility, non-pyrogenicity and non-toxicity were confirmed after the studying of the quality indicators of the three lots of Recombinant Pseudomonas Vaccine. In animal experiments, the vaccine did not possess allergic properties and it was shown that it protected mice against Pseudomonas infection with Index of efficiency 3.0 and more. *Conclusion.* The efficacy, the safety, and the standardization of three experimental lots of the recombinant vaccine, which is intended to prevent infections caused by *P. aeruginosa*, have been shown.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 31—37

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, outer membrane protein F (OprF), toxoid, recombinant pseudomonas vaccine (RPV)

## ВВЕДЕНИЕ

Синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*) относится к условно патогенным грамотрицательным бактериям и является одним из основных возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний человека, причиняющих существенный социально-экономический ущерб во всех странах мира. Особенностью возбудителя является высокая устойчивость к различным факторам внешней среды и способность быстро вырабатывать устойчивость к применяемым антибактериальным препаратам [6, 11, 13]. Поэтому исследователи разных стран осуществляют разработку иммунобиологических лекарственных средств, предназначенных для решения проблемы синегнойной инфекции [1, 9, 10].

В ФГБНУ НИИВС имени И. И. Мечникова проводятся исследования с целью создания рекомбинантной вакцины для профилактики синегнойной инфекции. В качестве компонентов вакцины предложены рекомбинантная форма белка F наружной мембраны (OprF) [3] и рекомбинантный делеционный вариант экзотоксина А (анатоксин) [4]. Эти белки, содержащие дополнительную гистидиновую пептидную последовательность, синтезированы в клетках *Escherichia coli* и очищены методом аффинной хроматографии на никель-активированных сорбентах. Рекомбинантные белки-антигены, сорбированные на гидроокиси алюминия, обеспечивали защиту мышей от экспериментальной синегнойной инфекции, а их совместное введение животным приводило к аддитивному эффекту [5].

Полученные результаты послужили основанием для конструирования кандидатной рекомбинантной вакцины, оптимизации ее состава, разработки технологии получения, по которой произведены три экспериментальные серии. Для внедрения препарата в практику здравоохранения должны быть проведены доклинические и клинические исследования полученных трех экспериментальных серий, предусмотренные Федеральным законом «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010 N 61-ФЗ [2, 7].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования явились три экспериментальные серии рекомбинантной вакцины синегнойной (PBC): № 010617, № 020717 и № 030717. Вакцина сконструирована на основе рекомбинантного белка OprF [2] и рекомбинантного анатоксина [3], которые были синтезированы в клетках *Escherichia coli* и очищены в колонках с Ni-сефарозой (GE Healthcare, Швеция).

Подлинность рекомбинантных белков подтверждали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях по методу Лэммли и иммуноблоттинга, проводимых в соответствии с общепринятыми методиками [8, 12]. При иммуноблоттинге использовали кроличьи сыворотки крови против рекомбинантного белка OprF [3] и рекомбинантного анатоксина [4].

Стерильность препарата оценивали методом прямого посева по ОФС42-0066-07 на тиогликолевую и соево-казеиновую жидкие среды. Определение концентрации эндотоксинов в препаратах вакцины проводили в количественном хромогенном ЛАЛ-тесте по конечной точке по методу, указанному в ГФ XIII «ОФС Бактериальные эндотоксины» 42-0062-07 (Метод Е) [2]. Аномальную токсичность оценивали на мышах при внутрибрюшинном введении и морских свинках при подкожном введении. Анафилактическую активность исследовали на морских свинках, которым в течение трех дней препараты вводили подкожно, а затем на 21 сутки осуществляли внутривенное введение. Оценку реакции гиперчувствительности замедленного типа проводили на мышах, которым вводили PBC по одной прививочной дозе внутрибрюшинно трехкратно с интервалом в три суток. Через 7 суток после заключительной инъекции в подушечку одной из задних лап вводили одну прививочную дозу в объеме 0,05 мл, а во вторую лапу — 0,05 мл физиологического раствора. Уровень специфической воспалительной реакции оценивали через 24 часа по разнице в массе конечностей.

Для оценки иммуногенной активности мышам внутрибрюшинно вводили 1 дозу вакцины в объеме 0,5 мл с двухнедельным интервалом. Через 14 дней после курса иммунизации животных заражали живой вирулентной культурой *P. aeruginosa* (штамм PA-103), выращенной на агаризованной среде Хоттингера. ЛД<sub>50</sub> вычисляли по формуле Кербера в модификации Ашмарина — Воробьева.

Работа выполнена с использованием штаммов микроорганизмов ЦКП Коллекция НИИВС им.И.И.Мечникова.

Все работы с животными проводили в соответствии с положениями «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для получения серий рекомбинантной синегнойной вакцины были синтезированы по три серии рекомбинантного белка OprF и рекомбинантного анатоксина. Расчетная молекулярная масса рекомбинантного белка OprF составляла 38,9 кДа, а молекулярная масса рекомбинантного анатоксина — 65,8 кДа. При анализе методом электрофореза в полиакриламидном геле полученных серий рекомбинантного белка OprF определен белок размером около 40 кДа, а в сериях рекомбинантного анатоксина — размером около 65 кДа, что соответствовало расчетным параметрам рекомбинантных антигенов. Подлинность рекомбинантных белков оценивали по их специфическому взаимодействию с иммунными сыворотками к OprF [3] и к анатоксину [4]. Перед сведением оба компонента были подвергнуты стерилизующей фильтрации.

В результате сведения рекомбинантных белков и последующей сорбции на геле гидроокиси алюминия получены три серии PBC: № 010617, № 020717 и № 030717. В одной дозе которой в объеме 0,5 мл содержится 25 мкг рекомбинантного белка OprF, 50 мкг рекомбинантного анатоксина и 225 мкг гидроксида алюминия. Для всех серий подтверждена стерильность.

Определение количества эндотоксина в сериях вакцины проводили в хромогенном ЛАЛ-тесте по конечной точке. Препараты серий № 010617, № 020717 и № 030717 содержали: 35, 1,3 и 1,1 единиц эндотоксина (ЕЭ)/мл, соответственно (табл. 1).

При исследовании аномальной токсичности препаратов мышам вводили 0,5 мл вакцины (1 человеческая доза) внутривенно, а морским свинкам вводили подкожно по 1 мл вакцины (2 человеческие дозы). На каждую серию препарата использовали пять мышей и две морские свинки. Признаков интоксикации и снижения массы тела животных по сравнению с исходной не регистрировали. Ни у одной опытной морской свинки не развился некроз и/или абсцесс в месте введения. В конце опыта все экспериментальные животные были живы и прибавили в весе (табл. 2).

При исследовании анафилактической активности рекомбинантной вакцины, проводимом на морских свинках, формировали две опытные и две контрольные группы по десять особей в каждой. В течение трех дней животным вводили подкожно: животным первой контрольной группы физиологический раствор, животным второй контрольной и первой опытной группы — одну человеческую дозу (0,5 мл) РВС, животным второй опытной группы — десять человеческих доз (5 мл) РВС. Через 21 день после первой иммунизации животным контрольных групп вводили внутривенно физиологический раствор, а животным опытных групп — несорбированные рекомбинантные белки из расчета по три прививочные дозы антигенов на одну особь. При наблюдении за животными использовали следующую классификацию симптомов: А — повышение температуры тела более, чем на 1°C; Б — четко выраженные частые почесывания, единичные чиханья, понижение температуры тела; В — спастический кашель, боковое положение животного с выделением кала и мочи; Г — спазм дыхательных путей, конвульсивные прыжки, судороги и гибель животного, как правило, на 5 минуте. У большинства животных не наблюдали никаких реакций. Четко выраженные частые почесывания, единичные чиханья, повышение температуры тела наблюдали у половины животных, которым вводили десятикратную прививочную дозу. Все эти симптомы проходили в течение часа (табл. 3).

Для оценки реакции гиперчувствительности замедленного типа мышам трехкратно внутривенно с интервалом в трое суток вводили по одной дозе РВС, используя по десять мышей на каждую серию. Через 7 суток после заключительной инъекции в подушечку одной из задних лап вводили одну прививочную дозу РВС в объеме 0,05 мл. Во вторую лапу вводили физиологический раствор в том же объеме.

Таблица 1. Определение бактериальных эндотоксинов в рекомбинантной вакцине синегнойной (РВС)

Серия РВС	Разведение препарата	ОП при длине волны 405 нм	Содержание эндотоксина, ЕЭ/мл
№ 010617	1:10	1,383	>1,2
	1:100	0,825	0,35
	1:1000	0,161	0,01
	1:10000	0,080	Не опр.
	1:1000000	0,070	Не опр.
№ 020717	1:10000000	0,081	Не опр.
	1:10	0,392	0,13
	1:100	0,096	Не опр.
	1:1000	0,083	Не опр.
	1:10000	0,071	Не опр.
№ 030717	1:1000000	0,190	0,03
	1:10000000	0,074	Не опр.
	1:10	0,345	0,11
	1:100	0,106	Не опр.
	1:1000	0,079	Не опр.
	1:10000	0,099	Не опр.
	1:1000000	0,085	Не опр.
	1:10000000	0,078	Не опр.

Таблица 2. Результаты оценки токсичности экспериментальных серий вакцины рекомбинантной синегнойной (РВС)

Серия РВС	Масса животного, г (по 5 гол. на серию)		Масса морской свинки, г (по 2 гол. на серию)	
	начало опыта	через 7 дней	начало опыта	через 7 дней
№ 01062017	19,8	22,0	265	310
	19,5	22,1	260	309
	18,7	21,5		
	18,5	21,0		
№ 02072017	19,0	22,3		
	19,7	22,5	270	318
	19,7	22,4	262	312
	19,0	22,0		
№ 03072017	20,0	23,2		
	18,9	21,5		
	19,5	22,3	255	310
	19,0	22,2	263	316
Контрольные животные	19,6	22,8		
	18,4	22,0		
	19,1	21,8		
	19,2	22,0	260	310
	19,9	22,7	257	313
	18,9	22,5		
	18,6	21,8		
	19,4	22,2		

Таблица 3. Результаты оценки анафилактической активности экспериментальных серий вакцины рекомбинантной синегнойной (РВС)

Степень выраженности реакции	Количество особей			
	Трёхкратное с интервалом в 1 сутки подкожное введение препарата			
	физ. р-р	1 чел. доза РВС		10 чел. доз РВС
	Через 21 сут. после первой инъекции внутрив. введения физ. р-ра	Через 21 сут. после первой инъекции внутрив. введения 3 привив. доз РВС		
А	0	2	1	0
Б	0	2	0	5
В	0	0	0	0
Г	0	0	0	0
Отсутствие реакции	10	6	9	5

Результат регистрировали через 24 часа путем определения массы опытной и контрольной лап. Уровень специфической воспалительной реакции оценивали по разнице в массе конечностей. Индекс реакции выражали в процентах прироста массы лапки, в которую вводили вакцину, по отношению к массе контрольной лапки (табл. 4).

Защитные свойства препаратов экспериментальных серий вакцины изучали на мышах, которых иммунизировали внутрибрюшинно двукратно с двухнедельным интервалом. Через две недели после курса иммунизации животных заражали возрастающими дозами, с двукратным шагом, живой вирулентной культурой *P. aeguginosa* штамма РА-103 (от 6,25 до 100 млн микробных клеток (м.к.)). Индексы эффективности защитных свойств (отношение ЛД<sub>50</sub> иммунизированных животных к ЛД<sub>50</sub> контрольной группы) для трех серий соответствовали: 3,3; 3,0 и 3,3 (табл. 5).

Таблица 4. Результаты оценки гиперчувствительности замедленного типа у мышей на введение рекомбинантной синегнойной вакцины (РВС)

Серия РВС	Масса контрольной лапки, г	Масса опытной лапки, г	Индекс реакции, %
№ 01062017	0,13±0,004	0,16±0,008	18,9
№ 02072017	0,14±0,004	0,16±0,009	21,4
№ 03072017	0,14±0,004	0,16±0,006	19,3

Таблица 5. Результаты оценки иммуногенности экспериментальных серий вакцины рекомбинантной синегнойной (РВС)

Препарат	Доза заражения, млн м.к.	Количество мышей павших/выживших	ЛД <sub>50</sub> , млн м.к.	ИЭ
РВС, серия № 01062017	100	7/3	66	3,3
	50	2/8		
	25	2/8		
	12,5	0/10		
	6,25	0/10		
РВС, серия № 02072017	100	7/3	61,6	3
	50	3/7		
	25	2/8		
	12,5	0/10		
	6,25	0/10		
РВС, серия № 03072017	100	6/4	66	3,3
	50	3/7		
	25	1/9		
	12,5	1/9		
	6,25	0/10		
Контроль (интактные мыши)	50	10/0	20,3	—
	25	6/0		
	12,5	2/8		
	6,25	0/10		
	3,125	0/10		

При проведении исследований наработаны компоненты кандидатной вакцины: рекомбинантный белок OrgF и рекомбинантный анатоксин. Их подлинность подтверждена электрофорезом и иммуноблоттингом. В результате их очистки получены стерильные и иммуногенные препараты, которые вызывали защиту иммунизированных мышей (табл. 5). При получении РВС компоненты смешивались в следующей пропорции: 1 часть рекомбинантного белка OrgF и 2 части рекомбинантного анатоксина, к которым добавляли в качестве адьюванта гель гидроксида алюминия. Это оптимальное соотношение рекомбинантных антигенов в вакцине было подобрано в предыдущих исследованиях [5]. Всего получили три серии РВС, которые расфасованы и заложены на хранение.

Препараты рекомбинантных белков при синтезе в бактериальных клетках могут содержать токсические примеси продуцента. Поэтому важным этапом явилось подтверждение отсутствия таковых в вакцинных препаратах. Согласно «ОФС42-0062-07. Бактериальные эндотоксины» пороговая пирогенная доза для препаратов парентерального введения составляет 5 ЕЭ/кг. Исходя из предположения, что вес вакцинируемых пациентов не будет менее 20 кг, а объем вводимой вакцины составляет 0,5 мл, порог пирогенности для вакцины составляет 200 ЕЭ/мл. Таким образом, можно утверждать, что препараты рекомбинантных белков являются высокоочищенными от примеси эндотоксина, а опытные серии вакцины на их основе являлись апиrogenными. Экспериментально на мышах и морских свинках показано отсутствие аномальной токсичности препаратов. При исследовании анафилактической активности рекомбинантной вакцины выявлены слабо выраженные симптомы аллергической реакции при введении животным предполагаемых десяти человеческих доз вакцины. Эти симптомы проходили в течение часа. При оценке реакции гиперчувствительности замедленного типа в ответ на введение мышам рекомбинантной вакцины выявлено отсутствие выраженной реакции на препарат. При исследовании защитных свойств трех серий вакцины подтверждена их иммуногенность, что выражалось в выживаемости иммунизированных мышей с индексом эффективности не менее чем 3,0.

Таким образом, проведенные исследования подтвердили эффективность и безопасность препаратов трех экспериментальных серий рекомбинантной вакцины, предназначенной для профилактики инфекций, вызываемых синегнойной палочкой.

*Работа выполнена в соответствии с Государственным Контрактом от 28 апреля 2017 г. № 14.Н08.11.0135 в рамках ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» по теме «Доклинические исследования вакцины на основе рекомбинантных протективных антигенов, предназначенной для профилактики инфекций, вызываемых синегнойной палочкой».*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Благовидов Д.А., Костинов М.П., Симонова О.И. и др. Переносимость вакцины против *P. aeruginosa* у детей с муковисцидозом и врожденными пороками развития легких. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016, 2 (87):55-66.
2. Государственная фармакопея XIII РФ. М, 2015.
3. Калошин А.А., Гатыпова Е.В., Михайлова Н.А. Получение рекомбинантных форм белка F наружной мембраны *Pseudomonas aeruginosa* и исследование их иммуногенных свойств. Биотехнология. 2011, 2:74-84.
4. Калошин А.А., Исаков М.А., Михайлова Н.А., Вертиев Ю.В. Получение рекомбинантной атоксической формы экзотоксина А *Pseudomonas aeruginosa*. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012, 154(9):330-335.
5. Калошин А.А., Леонова Е.И., Солдатенкова А.В., Михайлова Н.А. Исследование протективных свойств комплекса рекомбинантного белка F наружной мембраны и рекомбинантного анатоксина *Pseudomonas aeruginosa*. Вестник Российской Академии Медицинских Наук. 2016, 71(1):5-10.
6. Лазарева А.В., Чеботарь И.В., Крыжановская О.А. и др. *Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия 2015, 17(3):170-186.
7. Миронов А.Н., Меркулов В.А., Бунатян Н.Д. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (Иммунобиологические препараты). Часть вторая. М., Издание ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 2013.
8. Остерман Л.Д. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот, 1981.
9. Doring G., Pier G.B. Vaccines and immunotherapy against *Pseudomonas aeruginosa*. Vaccine. 2008, 26(8):1011-1024.

10. Le Moigne V., Gaillard J.L., Herrmann J.L. Vaccine strategies against bacterial pathogens in cystic fibrosis patients. *Med. Mal. Infect.* 2016 Feb;46(1):4-9.
11. Ma J.G., An J.X. Deep sternal wound infection after cardiac surgery: a comparison of three different wound infection types and an analysis of antibiotic resistance. *J. Thorac. Dis.* 2018 Jan;10(1):377-387.
12. Sambrook J.F., Russell D.W. *Molecular Cloning*, 2001.
13. Zowalaty M.E., Thani A.A., Webster T.J. et al. *Pseudomonas aeruginosa*: arsenal of resistance mechanisms, decades of changing resistance profiles, and future antimicrobial therapies. *Future Microbiol.* 2015;10(10):1683-706.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

*И.В.Савельева, А.Н.Куличенко, В.Н.Савельев, Д.А.Ковалев, О.В.Васильева, А.М.Жиров, Е.И.Еременко, Е.И.Подопригора, Б.В.Бабенюшев, И.В.Кузнецова, Л.В.Гусева*

## **MLVA-ТИПИРОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ ГЕНЕТИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННЫХ *VIBRIO CHOLERAЕ* BIOTYPE *EL TOR*, ИЗОЛИРОВАННЫХ В РОССИИ И УКРАИНЕ В ПЕРИОД СЕДЬМОЙ ПАНДЕМИИ ХОЛЕРЫ**

Ставропольский противочумный институт

*Цель.* Провести в сравнительном аспекте MLVA-типирование генетически измененных холерных вибрионов биовара Эль Тор, выделенных от больных в период эпидемии (1994 г.) и вспышек (1993, 1998 гг.) в Дагестане, с изолятами в г. Мариуполе (Украина) в 1994—2011 гг., в Москве (2010, 2012 гг.), Индии (1964, 2006, 2007 гг.), Бангладеш (1991, 1994, 2001, 2004 гг.) и установить филогенетические связи между штаммами холерных вибрионов, изолированных в разные годы на данных территориях, выяснить источник их заноса. *Материалы и методы.* MLVA-типирование проводили в ПЦР по 5 вариабельным локусам 35 клинических штаммов генетически измененных *Vibrio cholerae* биотуре El Tor. Полученные ампликоны изучали в системе автоматического капиллярного электрофореза Experion («Bio Rad Laboratories», США). Для филогенетического анализа наряду с MLVA-генотипами 35 штаммов *Vibrio cholerae* из коллекции института использовали опубликованные генотипы штаммов, выделенных в Индии, Бангладеш, Гаити. *Результаты.* Исследуемые штаммы холерного вибриона отнесены к 21 MLVA-типам, подразделяющимся на 2 основные клады и 1 отдельную ветвь с клональными кластерами и субкластерами, каждый из которых содержит близкородственные штаммы геновариантов холерного вибриона, имеющих различную степень филогенетического родства — полную или частичную идентичность аллельных профилей пяти вариабельных локусов. Установлены источники заноса генетически измененных *Vibrio cholerae* биотуре El Tor в Россию и Украину из неблагополучных по холере Индии, Бангладеш, Азербайджана и стран Ближнего Востока. *Заключение.* Полученные данные свидетельствуют о полиморфизме MLVA-типов генетически измененных штаммов холерного вибриона биовара Эль Тор, эволюционно сформировавшихся в разные годы и вызвавших эпидемии или вспышки холеры на различных территориях в различные временные периоды течения седьмой пандемии холеры, а также позволяют предположить поликлональное происхождение геновариантов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор и источник их заноса на территорию Российской Федерации и Украины.

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 37—43

Ключевые слова: генетически измененные варианты холерного вибриона биовара Эль Тор, MLVA-типирование, источник заноса геновариантов в Россию и Украину, полиморфизм, поликлональное происхождение геновариантов

*I.V.Savelieva, A.N.Kulichenko, V.N.Saveliev, D.A.Kovalev, O.V.Vasilieva, A.M.Zhirov, E.I.Eremenko, E.I.Podoprighora, B.V.Babenyshv, I.V.Kuznetsova, L.V.Guseva*

## **MLVA-TYPING OF CLINICAL STAMPS OF GENETICALLY CHANGED *VIBRIO CHOLERAЕ* BIOTYPE *EL TOR* INSULATED IN RUSSIA AND UKRAINE IN THE PERIOD OF SEVENTH PANDEMIC CHOLERA**

Stavropol Research Institute for Plague Control, Russia

*Aim.* Conduct in a comparative aspect MLVA-typing of genetically altered cholera vibrio biovar *El Tor*, isolated from patients during the epidemic (1994) and outbreaks (1993, 1998) in Dagestan with isolates in Mariupol (Ukraine) in 1994-2011 in Moscow (2010, 2012), India (1964, 2006, 2007), Bangladesh 1991,

1994, 2001, 2004) and to establish phylogenetic connections between strains of cholera vibrios isolated in different years in these territories, to ascertain the source of their drift. *Materials and methods.* MLVA-typing was carried out in PCR at 5 variable loci of 35 clinical strains of genetically modified *Vibrio cholerae* byotype *El Tor*. The obtained amplicon was studied in the system of automatic capillary electrophoresis Experion («Bio Rad Laboratories», USA). For phylogenetic analysis, along with MLVA-genotypes, 35 strains of *Vibrio cholerae* from the Institute's collection used published genotypes of strains isolated in India, Bangladesh, Haiti. *Results.* The investigated strains of cholera vibrio are referred to 21 MLVA-types, divided into 2 main clades and 1 separate branch with clonal clusters and subclusters, each of which contains closely related strains of cholera vibrio genovariants having a different degree of phylogenetic relationship — full or partial identity of allelic profiles of five variable loci. The sources of drift of genetically modified *Vibrio cholerae* byotype *El Tor* to Russia and Ukraine from disadvantaged cholera of India, Bangladesh, Azerbaijan and the countries of the Middle East have been established. *Conclusion.* The obtained data testify to the polymorphism of MLVA-types of genetically altered strains of cholera vibrio of the biologist *El Tor*, evolved in different years and caused epidemics or outbreaks of cholera in different territories during different time periods of the course of the seventh cholera pandemic, and also suggest the polyclonal origin of the *Vibrio cholerae* biovar *El Tor* and the source of their drift to the territory of the Russian Federation and Ukraine.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 37—43

Key words: genetically modified *V. cholerae* biotype *El Tor*, MLVA-typing, source of drift of genovariants to Russia and Ukraine, polymorphism, polyclonal origin of the genovariants

## ВВЕДЕНИЕ

Геномная идентификация и типирование бактерий используются для решения задач в области таксономии, эпидемиологии, установления филогенетического родства, исследования механизмов эволюции. В настоящее время разработаны многочисленные методы типирования микроорганизмов, в том числе и *Vibrio cholerae*, отличающиеся по чувствительности, скорости проведения, сложности, воспроизводимости, трудоемкости и стоимости [7, 15, 18, 19]. Для типирования *Vibrio cholerae* широко используется метод MLVA (multilocus-variable tandem repeat analysis), предусматривающий сравнительный анализ количества варибельных тандемных повторов (VNTR — variable number of tandem repeats) в определенных локусах, расположенных на I и II хромосомах холерного вибриона [1, 10, 12].

Цель работы — провести MLVA-типирование генетически измененных холерных вибрионов биовара Эль Тор, выделенных от больных в период эпидемии (1994 г.) и вспышек (1993, 1998 гг.) холеры в Дагестане с изолятами в г. Мариуполе (Украина) в 1994–2011 гг., в Москве (2010, 2012 гг.), Индии (1964, 2006, 2007 гг.), Бангладеш (1991, 1994, 2001, 2004 гг.) и установить филогенетические связи между штаммами холерных вибрионов, изолированных в разные годы на данных территориях, выяснить источник их заноса на территорию Российской Федерации и Украины.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы 35 штаммов генетически измененных холерных вибрионов биовара Эль Тор, выделенных в Дагестане — от больных холерой в 1993 г. (5 штаммов), в 1994 г. (9 штаммов) и в 1998 г. (10 штаммов); 9 штаммов, выделенных в г. Мариуполе (Донецкая область, Украина) — 7 штаммов от человека (1994, 1995, 2011 гг.) и 2 из объектов окружающей среды: сточная вода холерного госпиталя (табл. 2, № 29), 1994 г., морская вода канала (табл. 2, № 27), 2011 г.); 2 штамма, выделенных в Москве от пассажиров авиарейса из Индии (2010, 2012 гг.). На момент выделения штаммы холерных вибрионов, идентифицированные в Дагестане и на Украине как типичный токсигенный биовар Эль Тор (*V. cholerae* O1, *El Tor*, *Ogawa*, *Hly* -, *ctxA*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>), впоследствии оказались генетически измененными (гибридными) вариантами холерного вибриона биовара Эль Тор, продуцирующими энтеротоксин СТ1, обладающие повышенной вирулентностью, что клинически выразилось в

преобладании тяжелых форм течения холеры [2, 4, 5, 13]. В качестве референтного использовали штамм *V.cholerae* O1, Inaba классического биовара № 569В, выделенный от больного в Пакистане в 1965 г.

Все штаммы холерных вибрионов получены из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора. Для культивирования бактерий использовали агар Хоттингера рН 7,8-8,0 и щелочной бульон.

Выделение бактериальной ДНК осуществляли в соответствии с инструкцией к набору Амплипрайм, «AmpliSens» (Россия). Полученную тотальную ДНК использовали для амплификации фрагментов генома изучаемых штаммов холерных вибрионов.

В качестве переменных участков генома *V.cholerae* использованы 5 докусов: VC0147, VC0436-7, VC01650 (I хромосома); VCA0171, VCA0283 (II хромосома) [6, 8, 10]. В ПЦР-амплификации использовали праймеры к этим локусам, изготовленные в соответствии с [8] в лаборатории биохимии ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора (табл. 1), получая по 5 ампликонов для каждого из 35 штаммов *V.cholerae*.

Амплификацию ДНК проводили в термоциклере («Терцик», Россия). Полученные ампликоны изучали в системе автоматического капиллярного электрофореза Exregion («Bio Rad Laboratories», США). Размеры ампликонов в п.н. переводили в цифровой код, соответствующий числу тамденных повторов, вычитая из размеров 2 праймеров и последовательностей между праймерами до области повторов с делением размера полученной области на размер единицы повтора. Для филогенетического анализа наряду с MLVA-генотипами 35 штаммов *V.cholerae* из коллекции института использовали опубликованные генотипы штаммов, выделенных в Индии, Бангладеш, а также определенный *in silico* MLVA-генотип штамма *V.cholerae* HC1037, выделенного на Гаити в 2014 году. Для построения филогенетического дерева применяли метод UPGMA в программе PHYLONIZ v.2.0. Варибельность VNTR-локусов оценивали по индексу разнообразия Хантера-Гастона (Hunter-Gaston discrimination, HGDI) [16].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения переменных участков генома *V. cholerae* по 5 локусам: VC0147, VC0436-7, VC01650 (I хромосома); VCA0171, VCA0283 (II хромосома) представлены в табл. 2, из данных которой следует, что 35 изученных генетически измененных штаммов холерных вибрионов биовара Эль Тор представлены 21 MLVA-типами. При этом 5 генетически измененных штаммов *V.cholerae* биовара Эль Тор, выделенные в Махачкале в 1993 г., имели 5 различных MLVA-генотипов (2, 3, 4, 5, 6). Штаммы геновариантов, выделенные в Дагестане в 1994 г., отнесены к 1, 7, 8, 9, 10 и 11 MLVA-типам, а выделенные в 1998 г. — к 12, 13, 14. Штаммы, выделенные в Украине (г. Мариуполь) в 1994 г., обладали MLVA-генотипами 17 и 18, в 1995 г. — 15, в 2011 г. — 15, 16 (вода канала) и 19 (два штамма). Выделенные в 2010 и 2012 гг. в Москве 2 штамма геновариантов холерного вибриона Эль Тор относились к 20 и 21 MLVA-типам. Референтный штамм *V. cholerae* Classical 569В имел 22 MLVA-тип.

Таблица 1. VNTR-локусы и последовательности праймеров, использованные в работе

Локус	Нуклеотидная последовательность мотива	Праймеры (5' — 3')
VC0147 (белок FtsY)	AACAGA	F: CCAAACCACTGCAACGGATA R: GCTGCTCGACCTGAGAGAGA
VC0436-7(межгенная область)	GACCCTA	F: CGTGGTACTAAGTTCCACGC R: CGTTTTTACCACGCTCCGCTTC
VC01650 (коллагеназа)	GATAATCCA	F: CTACCAAGCGGCGGTAAAGCTG R: TGGGCAACCTGCTGGTAGC
VCA0171(гипотетический белок)	TGCTGT	F: GCATCATCCACAGCGTTTGG R: GCTGAAGCCTTTCGCGATCC
VCA0283(гипотетический белок)	ACCAGA	F: CTTTCATCGGCAACAAGACA R: TTGCGCACAAATCTCTTTGA

Таблица 2. MLVA-профили генетически измененных штаммов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор (№№ 1-35, из коллекции института и №№ 36-46 из опубликованных в литературе)

№	Штамм	Место, год выделения	Аллель гена ctxB	Аллельные профили VC0147, VC0436-7, VC01650, VCA0171, VCA0283	MLVA- тип
1	64	Махачкала, 1994	ctxB 1	9,7,8,21,20	1
2	1045	Махачкала, 1993	ctxB 1	9,7,9,14,24	2
3	1308	Махачкала, 1993	ctxB 1	8,6,9,14,24	3
4	1726	Махачкала, 1993	ctxB 1	9,7,7,13,24	4
5	1020	Махачкала, 1993	ctxB 1	9,7,7,13,18	5
6	16241	Махачкала, 1993	ctxB 1	9,7,6,14,18	6
7	16265	Дагестан, с. Гергебиль, 1994	ctxB 1	9,7,7,14,18	7
8	17261	Дагестан, с. Маджалис, 1994	ctxB 1	8,7,7,14,19	8
9	17260	Дагестан, Акушинский р-н, 1994	ctxB 1	9,6,7,15,18	9
10	17280	Дагестан, Шамильский р-н, 1994	ctxB 1	9,6,7,15,18	9
11	17296	Дагестан, с. Унцукуль, 1994	ctxB 1	10,6,7,15,19	10
12	17307	Дагестан, Дахадаевский р-н, 1994	ctxB 1	10,6,7,15,19	10
13	17332	Дагестан, г. Махачкала, 1994	ctxB 1	9,7,8,15,19	11
14	17374	Дагестан, Ногайский р-н, 1994	ctxB 1	9,7,8,15,19	11
15	3D	Дагестан, г. Дербент, 1998	ctxB 1	8,6,8,13,25	12
16	6D	Дагестан, Дербентский р-н, 1998	ctxB 1	8,6,8,13,25	12
17	8D	Дагестан, Дербентский р-н, 1998	ctxB 1	8,6,8,13,19	13
18	13D	Дагестан, Дербентский р-н, 1998	ctxB 1	8,7,8,13,25	14
19	16D	Дагестан, Дербентский р-н, 1998	ctxB 1	8,7,8,13,25	14
20	17D	Дагестан, Дербентский р-н, 1998	ctxB 1	8,7,8,13,25	14
21	24D	Дагестан, Дербентский р-н, 1998	ctxB 1	8,7,8,13,25	14
22	33D	Дагестан, Хивский р-н, 1998	ctxB 1	8,7,8,13,25	14
23	39D	Дагестан, Хивский р-н, 1998	ctxB 1	8,7,8,13,25	14
24	41D	Дагестан, Хивский р-н, 1998	ctxB 1	8,7,8,13,25	14
25	12 K	<b>Мариуполь, 1995</b>	<b>ctxB 1</b>	8,3,6,13,19	15
26	31K	<b>Мариуполь, 2011</b>	<b>ctxB 7</b>	8,3,6,13,19	15
27	39K	<b>Мариуполь, 2011</b>	<b>ctxB 1</b>	9,3,6,13,22	16
28	43K	<b>Мариуполь, 1994</b>	<b>ctxB 1</b>	8,6,8,14,26	17
29	56K	<b>Мариуполь, 1994</b>	<b>ctxB 1</b>	8,6,8,14,26	17
30	80K	<b>Мариуполь, 1994</b>	<b>ctxB 1</b>	8,6,8,14,26	17
31	137K	<b>Мариуполь, 1994</b>	<b>ctxB 1</b>	9,6,8,14,25	18
32	239K	<b>Мариуполь, 2011</b>	<b>ctxB 1</b>	9,3,6,13,19	19
33	551K	<b>Мариуполь, 2011</b>	<b>ctxB 1</b>	9,3,6,13,19	19
34	6878M	Москва, 2010	ctxB 1	9,3,6,13,18	20
35	3266/80	Москва, 2012	ctxB 1	9,3,6,13,26	21
36	569B	Пакистан, 1965	ctxB 1	10,4,3,16,34	22
37	868	Индия, 1964	ctxB 1	8,6,8,14,35	23
38	178	Индия, 2006	ctxB 1	9,3,6,19,17	24
39	200	Индия, 2006	ctxB 1	9,3,6,22,19	25
40	236	Индия, 2007	ctxB 1	9,3,6,17,16	26
41	350	Индия, 2007	ctxB 1	10,6,7,15,19	10
42	AR32732	Бангладеш, 2004	ctxB 1	9,3,6,22,12	27
43	MQ1795	Бангладеш, 2001	ctxB 1	9,3,6,16,11	28
44	MJ1236	Бангладеш, 1994	ctxB 1	8,7,8,12,19	29
45	MG1 16926	Бангладеш, 1991	ctxB 1	8,7,8,14,23	30
46	HC1037	Гаити, 2014	ctxB 1	7,3,6,14,8	31

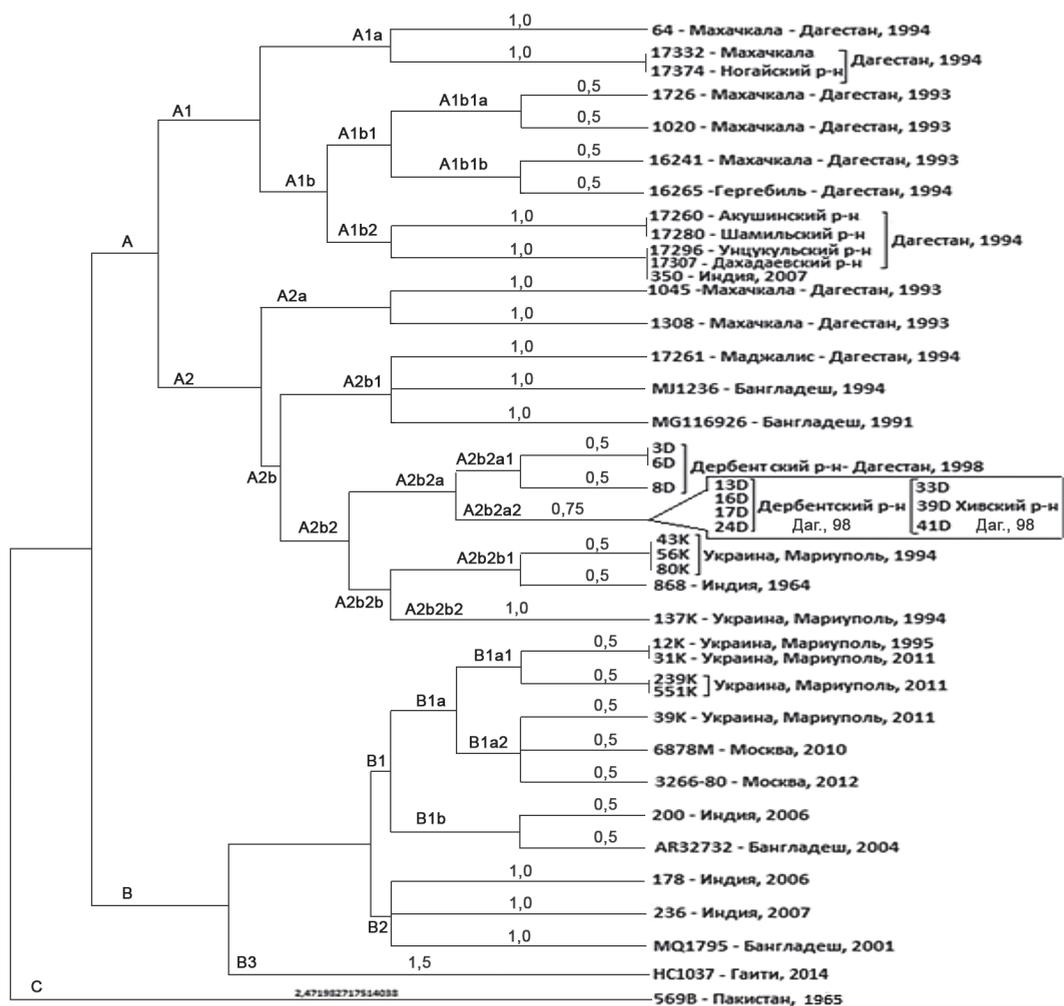
Исследования ДНК 35 штаммов геновариантов холерного вибриона показали, что для локусов I хромосомы характерно присутствие 5-6 аллелей, а локусы II хромосомы содержали 8 аллелей. На разный уровень полиморфизма сравниваемых локусов указывает индекс разнообразия Хантера-Гастона, который в наших исследованиях по всем 5 локусам был более 0,95. Для локусов I хромосомы HGDI составил 0,54-0,71, а для локусов II хромосомы — 0,44-0,83, что означает более высокий уровень стабильности первых трех хромосомных локусов с двумя другими, локализованными на II хромосоме. Полученные результаты согласуются с данными других исследователей [3, 6, 8, 14].

Анализ построенной дендрограммы на основе MLVA-типирования по 5 выше-названным локусам выявил деление всех штаммов на 2 основные клады — А и В, а также отдельную ветвь С, представленную единственным штаммом 569В классического биотипа, выделенным в Пакистане в 1965 году (рис.).

К основной кладе А принадлежали штаммы, выделенные в Дагестане в 1993, 1994 и 1998 годах и в Мариуполе в 1994 году. Дальнейшая детализация клады А разделяет ее на кластеры А1 (штаммы из Дагестана 1993 и 1994 гг.) и А2 (штаммы из Дагестана 1993, 1994 и 1998 гг., из Мариуполя 1994 г.). Кластер А1 включает субкластеры (СБ) А1а и А1б с субкластерами низшего ранга. СБ А1а объединяет два штамма с идентичным генотипом из Махачкалы и Ногайского р-на и отличающийся от них двумя локусами штамм 64 из Махачкалы (все выделены в 1994 г.).

СБ А1б1 следует считать клональным кластерным комплексом (ККК), генотипы которого отличались не более чем одним локусом, ввиду чего штаммы, выделенные в Махачкале в 1993 г., и штамм, выделенный в Гергебилье в 1994 г., имеют общего предшественника.

СБ А1б2 объединил штаммы, выделенные в четырех районах Дагестана в 1994 году и штамм из Индии №250, изолированный в 2007 году, генотип которого сов-



Филогенетическое древо на основе MLVA-типирования 46 штаммов холерных вибрионов биовара Эль Тор по 5 локусам: VC0147, VC0436-7, VC01650 (I хромосома); VCA0171, VCA0283 (II хромосома).

падал с генотипом штаммов 17296 (Унцукульский р-н) и 17307 (Дахадаевский р-н). Это дает основания предположить, что все штаммы кластера А1 имеют общее происхождение и могут быть связаны с заносом холеры из Индии.

Кластер А2 объединяет СБ А2а и А2б с дальнейшим подразделением последнего на А2b1, А2b2 и СБ низшего ранга. В СБ А2а входят два штамма из Махачкалы (1993 г.), имеющие отличия по двум VNTR-локусам. СБ А2b1 объединяет штаммы из Бангладеш (1991 и 1994 гг.) со штаммом из Маджалиса (Дагестан, 1994 г.), также отличающихся между собой по 2 локусам. СБ А2b2 включает два ККК — А2b2а и А2b2b1, внутри каждого из которых генотипы штаммов отличаются только одним локусом. В ККК А2b2а входили 7 штаммов из Дербентского р-на Дагестана и 3 штамма из Хивского района Дагестана, выделенные в 1998 году и имеющие общего предшественника. ККК А2b2b1 содержал три штамма, выделенные в Мариуполе (Украина, 1994 г.) и штамм *V.cholerae* 868 из Индии, выделенный в 1964 г. Близкое родство генетически измененных штаммов из Дагестана и Украины и штамма *V.cholerae* 868 биотуре El Tor, который, вероятно, не был генетически измененным, говорит о том, что вариабельность MLVA-генотипов не связана с перестройкой генома, определяющей возникновение гибридных вариантов биотипа El Tor. Еще один штамм, выделенный в Мариуполе в 1994 году, имел отличия в двух локусах от представителей ККК А2b2b1. В целом, относительно части штаммов из Дагестана, выделенных в 1993 и 1994 гг., можно предположить их происхождение из Бангладеш. Штаммы из Дагестана, выделенные в 1998 гг., и штаммы из Мариуполя (1994 г.) могут иметь индийское происхождение.

Основная клада В представлена кластерами В1, В2 и ветвью В3. Кластер В1 составляют два ККК, в один из которых входят штаммы, выделенные в Мариуполе (Украина) в 1995 и 2011 гг., Москве в 2010 и 2012 гг., а во второй — штаммы из Индии (2006 г.) и Бангладеш (2007 г.). Кластер В2 объединяет штаммы, выделенные в Бангладеш (2001 г.) и Индии (2006 и 2007 гг.). Такая кластеризация предполагает занос холеры в Россию и Украину из этих двух стран Южной Азии. К дихотомии В1-В2 примыкает ветвь В3, представленная одним штаммом из Гаити, что может подтверждать установленное происхождение холеры в Гаити из этого региона (Непал) [11].

Сказанное позволяет утверждать, что штаммы холерного вибриона, вызвавшие эпидемические вспышки холеры в Дагестане (1993, 1994, 1998), Украине (1994, 1995, 2011), занесены из Индии и Бангладеш, а также из стран Ближнего Востока и из Азербайджана, куда генетически измененные варианты холерного вибриона биовара Эль Тор были ранее занесены из Индии и Бангладеш. Основанием констатации этого факта является то, что аллельные профили вариабельных локусов возбудителя холеры Эль Тор (8, 7, 8, XX; 9, 3, 6, XX; 10, 6, 7, XX), изолированные в Дагестане и Украине, не отличались от таковых, циркулирующих в эти годы в Индии (штаммы №№ 178, 200, 236 с аллелями 9, 3, 6, XX; № 350 с аллелью 10, 6, 7, XX) и в Бангладеш (штаммы №№ AR 32732, MQ 1795 с аллелью 9, 3, 6, XX; №№ MJ1236, MG 116926 с аллелями 8, 7, 8, XX) [9, 10].

Полученные данные свидетельствуют о полиморфизме MLVA-типов генетически измененных штаммов холерного вибриона биовара Эльтор, эволюционно сформировавшихся в разные годы и вызвавших эпидемии или эпидемические вспышки холеры на различных территориях в различные временные периоды течения седьмой пандемии холеры, а также позволяют предполагать поликлональное происхождение генетически измененных вариантов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор, что согласуется с результатами других исследователей [6, 17].

MLVA-типирование позволяет определять клоны холерных вибрионов, формирующих очаги холеры на конкретных территориях в различные временные периоды течения эпидемии, выявлять новые клоны, свидетельствующие о продолжающихся завозах холеры и, возможно, устанавливать источники инфекции, что необходимо учитывать при осуществлении эпидемиологического надзора за холерой, обусловленной генетически измененными вариантами холерного вибриона биовара Эль Тор.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Мишанькин М.Б., Сучков И.Ю. Вариабельные тандемные повторы, выявленные при компьютерном анализе генома *Vibrio cholerae*. Биотехнология, 2001, 6:85-88.
2. Домашенко О.Н., Беломерыя Т.А., Мартынова Н.В., Дараген Г.М., Демкович О.О., Малахова Ю.В., Землянская Г.И., Попова Д.М. Холера в Приазовье. Журнал инфектологии, 2015, 7(2):2-97.
3. Мишанькин Б.Н., Романова Ю.М., Ломов Ю.М. *Vibrio cholerae* O139, выделенные от людей и из воды открытых водоемов: сравнительное генотипирование. Журн. микробиол. 2000, 3:3-7.
4. Савельев В.Н., Васильева О.В., Савельева И.В., Солодовников Б.В., Бабенышев Б.В., Грижебовский Г.М., Дорошенко И.Г. Ретроспективный анализ генотипов клинических штаммов холерного вибриона Эль Тор, выделенных на Кавказе в период седьмой пандемии холеры. Холера и патогенные для человека вибрионы. Ростов-на-Дону, 2010, 23:81-86.
5. Савельева И.В., Безсмертный В.Е., Савельев В.Н. Серологическая диагностика современной холеры с применением липосомального энтеротоксического диагностикума в реакции связывания комплемента. Инфекция и иммунитет. 2013, 3:286-287.
6. Смирнова Н.И., Кульшань Т.А., Краснов Я.М. MLVA-типирование клинических штаммов *Vibrio cholerae*, изолированных в разные периоды текущей пандемии холеры. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2015, 33(1):15-22.
7. Boerlin P., Bannerman E., Ischer F. et al. Typing *Listeria monocytogenes*: a comparison of random amplification of polymorphic DNA with five methods. Res. Microbiol. 1995, 146: 35-49.
8. Choi S.U., Lee J.H., Jeon Y.S. et al. Multilocus variable-number tandem repeat analysis of *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains harbouring classical toxin B. J. Med. Microbiol. 2010, 59(3):763-769.
9. Choi S.Y., Lee J.H., Kim E.J. et al. Classical RS1 and environmental RS1 elements in *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains harbouring a tandem repeat of CTX prophage: revisiting Mozambique in 2005. J. Med. Microbiol. 2010, 59(3):302-308.
10. Danin-Poleg Y., Cohen L.A., Gancz H. et al. *Vibrio cholerae* Strain Typing and Phylogenetic Study Based on Simple Sequence Repeats. J. Clin. Microbiol. 2007, 45(3):736-746.
11. Frerichs R.R., Keim P.S., Barraix R., Piarroux R. Nepalese origin of cholera epidemic in Haiti. Clin. Microbiol. Infect. 2012, 18:E158-E163.
12. Heidelberg J.F., Eisen J.A., Nelson W.C. et al. DNA sequence of both chromosomes of the cholera pathogen *Vibrio cholera*. Nature. 2000, 406:477-483.
13. Kuleshov K.V. et al. Comparative genomic analysis of two isolates of *Vibrio cholerae* O1 Ogawa El Tor isolated during outbreak in Mariupol in 2011. Infection, Genetics and Evolution. 2016, 44, October: 471-478.
14. Lain C., Octavia S., Reeves R.P., Lan R. Multilocus variable-number tandem repeat analysis of 7<sup>th</sup> pandemic *Vibrio cholerae*. BMC Microbiol. 2012, 12(82):1471-2180.
15. Olive D.M., Bean P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. J. Clin. Microbiol. 1999, 37:1661-1669.
16. Paul R. Hunter, Michael A. Huston. Numerical index of the Discriminatory Ability of Typing Systems: an Application of Simpson's index of Diversity. J. of Clinical Microbiology, 1988 Nov. 26(11):2465-2466.
17. Rashed S.M., Azman A.S., Alam M. et al. Genetic Variation of *Vibrio cholerae* O1 during Outbreaks, Bangladesh, 2010-2011. Emerg. Infect. Dis. 2014, 20 (1):54-60.
18. Van Belkum A., Struelens M., de Visser A. et al. Role of genomic typing in taxonomy, evolutionary genetics, and microbial epidemiology. Clin. Microbiol. Rev. 2001, 14:547-560.
19. Wiedmann M. Subtyping of bacterial food-borne pathogens. Nutr. Rev. 2002, 60:201-208.

## ОПЫТ РАССЛЕДОВАНИЯ КРУПНОЙ ВСПЫШКИ ТУЛЯРЕМИИ СРЕДИ НАСЕЛЕНИЯ Г. ХАНТЫ-МАНСИЙСК И ХАНТЫ-МАНСИЙСКОГО РАЙОНА В 2013 ГОДУ

<sup>1</sup>Центр гигиены и эпидемиологии в Ханты-Мансийском автономном округе — Югре, Ханты-Мансийск, <sup>2</sup>Управление Роспотребнадзора по Ханты-Мансийскому автономному округу — Югре, Ханты-Мансийск, <sup>3</sup>Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии

*Цель.* Опыт расследования крупной вспышки туляремии среди населения г. Ханты-Мансийск и Ханты-Мансийского района в 2013 году. *Материалы и методы.* Проанализированы материалы эпидемиологического мониторинга активности очагов туляремии в ХМАО-Югре за многолетний период, результаты лабораторных исследований биологических материалов и объектов окружающей среды на зараженность возбудителем туляремии при расследовании вспышки в 2013 году. *Результаты.* Проанализированы причины и особенности развития вспышки, противоэпидемические и профилактические мероприятия. Разработан алгоритм расследования вспышек туляремии и показана эффективность профилактических и противоэпидемических мероприятий по их ликвидации в напряженном природном очаге. *Заключение.* Мониторинг природных очагов туляремии подтверждает длительное сохранение их активности и жизнеспособности. Трансмиссивный характер вспышек обуславливает их масштабность и интенсивность, необходимость постоянных дезинсекционных и дератизационных мероприятий. Нашествие грызунов в населенные пункты можно считать прогностическим признаком ухудшения эпидемиологической ситуации и начинающейся вспышки, что позволяет заблаговременно предпринимать противоэпидемические мероприятия. Необходимо системное межведомственное взаимодействие (здравоохранение, органы исполнительной власти) для усиления внимания к профилактике и формирования у населения настороженности в отношении к проблеме туляремии.

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 44—48

Ключевые слова: туляремия, вспышка, Ханты-Мансийский округ

Н.А.Остапенко<sup>1</sup>, И.И.Козлова<sup>1</sup>, М.Г.Соловьева<sup>2</sup>, Т.Ф.Степанова<sup>3</sup>, В.В.Мефодьев<sup>3</sup>

## EXPERIENCE OF INVESTIGATION OF A LARGE OUTBREAK OF A TULAREMIA AMONG THE POPULATION OF KHANTY-MANSIYSK AND THE KHANTY-MANSIYSK REGION IN 2013

<sup>1</sup>Center of Hygiene and Epidemiology in the Khanty-Mansiysk Autonomous District, Khanty-Mansiysk; <sup>2</sup>Office of Rosпотребнадзор for the Khanty-Mansiysk Autonomous District, Khanty-Mansiysk; <sup>3</sup>Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Russia

*Aim.* The experience of investigating a major outbreak of tularemia among the population of Khanty-Mansiysk and Khanty-Mansiysk Region in 2013. *Materials and methods.* The materials of epidemiological monitoring of activity of foci of tularemia in KhMAO for a long period of time, the results of laboratory studies of biological materials and environmental objects on infection with tularemia pathogen during investigation of the outbreak in 2013 are analyzed. *Results.* The causes and features of the outbreak development, anti-epidemic and preventive measures were analyzed. An algorithm for investigating tularemia outbreaks has been developed and the effectiveness of preventive and antiepidemic measures for their elimination in a strained natural focus has been shown. *Conclusion.* Monitoring of natural foci of tularemia confirms the continued preservation of their activity and viability. The transmissive nature of outbreaks causes their scale and intensity, the need for permanent disinsection and deratization measures. The invasion of rodents into populated areas can be considered a predictive sign of the deterioration of the epidemiological situation and the onset of outbreak, which allows taking anti-epidemic measures in advance. Systemic interdepartmental interaction (health care, executive authorities) is needed to strengthen attention to prevention and build up a cautious attitude towards the problem of tularemia.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 44—48

Key words: tularemia, outbreak, Khanty-Mansiysk District

## ВВЕДЕНИЕ

В РФ наиболее активные природные очаги туляремии расположены в Центральном, Северо-Западном, Уральском и Сибирском ФО и приурочены к крупным водным системам [4, 7]. В эпидемиологическом проявлении туляремии существенную роль играют гидробиологические факторы [3]. Природные очаги туляремии представляют собой устойчивые паразитарные системы, сохраняющие потенциал в течение многих десятилетий [6, 9]. Ханты-Мансийский автономный округ (ХМАО-Югра) географически расположен в природном очаге туляремии пойменно-болотного типа, характеризующемся высокой активностью и стойкостью. Практически вся территория Югры является энзоотичной по туляремии. Природные очаги тяготеют к поймам рек Иртыш и Обь, которые сливаются в 20 км от Ханты-Мансийска. Исследователями выделены 2 ландшафтно-эпидемиологических района: Иртышско-пойменный и Обско-пойменный. Природные очаги на территории ХМАО сохраняют активность и жизнеспособность, несмотря на удлинившиеся периоды эпидемического благополучия. На территориях наиболее активных очагов расположены г. Ханты-Мансийск, Березовский, Ханты-Мансийский, Кондинский и Октябрьский районы. С конца 1950-х годов заболеваемость туляремией в округе имеет достоверную тенденцию к снижению, периоды между циклами эпидемического процесса удлинились с 3-4 лет до 20 лет (периодичность крупных вспышек — до 30 лет), максимальные показатели заболеваемости в периоды подъемов снизились в 2,8 раза. Ранее крупная вспышка туляремии в г. Ханты-Мансийске и Ханты-Мансийском районе произошла в 1983 г. [8].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализированы материалы эпидемиологического мониторинга активности очагов туляремии в ХМАО-Югре за многолетний период и результаты лабораторных исследований биологических материалов и объектов окружающей среды на зараженность возбудителем туляремии с использованием генотипирования туляремийного микроба [2] при расследовании вспышки в 2013 году. Разработан алгоритм расследования вспышек туляремии и показана эффективность профилактических и противоэпидемических мероприятий по их ликвидации в напряженном природном очаге.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первые упоминания о вспышках туляремии в очагах пойменно-болотного типа Югры относятся к 1927-1929 гг., в дальнейшем они регистрируются регулярно и ассоциируются с повышением численности водяных полевков и годами высоких паводков. Последняя крупная вспышка в г. Ханты-Мансийске и Ханты-Мансийском районе произошла в 2013 г.

В распространении возбудителя туляремии абсолютно доминирующим является трансмиссивный механизм передачи, переносчики — комары [5]. Исследования последних лет показали, что резервуаром возбудителя является не только водяная полевка, но и красная полевка и бурозубка. Как комары, так и грызуны обильно заселяют территорию Югры благодаря особенностям её гидрографии.

На территориях наиболее активных очагов туляремии расположены 5 муниципальных образований Югры (г. Ханты-Мансийск, Березовский, Ханты-Мансийский, Кондинский и Октябрьский районы). За последние 20 лет перед вспышкой 2013 г. зарегистрировано 34 случая туляремии в 6 муниципальных образованиях, в том числе 22 случая в райцентре Березово в 2007 г. В г. Ханты-Мансийске последний случай был выявлен в 2001 г. (за 12 лет до вспышки), в районе заболеваемость не регистрировалась [8].

В период с 25 июля по 23 сентября 2013 года (по датам регистрации — с 19 августа по 15 октября) в округе произошла трансмиссивная вспышка туляремии. Переносчиками послужили кровососущие комары рода *Aedes*, источниками — грызуны (красные полевки, бурозубки).

Природно-климатические особенности 2013 г.: жаркое лето, широкий разлив и длительное стояние воды привели к массовому вылету комаров и их необычайно высокой численности.

Эпизоотическая ситуация перед вспышкой: двухлетний период до начала вспышки характеризовался увеличением численности околотовных грызунов. В 2010-2011 гг. в городе наблюдалось необычное явление — нашествие водяной полевки, которая тысячами передвигалась через город.

Массовости вспышки способствовали: отсутствие у заболевших прививок против туляремии — 99,5% заболевших были непривиты; низкая активность населения в ходе проведения вакцинации, множество отказов, недопонимание роли вакцинации со стороны медицинской службы и органов власти; недостаточное проведение дератизационных обработок в природном очаге; неэффективное проведение мероприятий по борьбе с гнусом.

Длительность вспышки составила 89 дней. Массовая обращаемость наблюдалась в августе, достигла пика 26 августа (79 человек). С сентября началось постепенное снижение. В июле заболели 4 человека, в августе — 637, в сентябре — 327, в октябре — 1. Всего пострадали 1005 чел.

Эпицентром вспышки явился г. Ханты-Мансийск, в котором выявлены 955 больных. Также заболевания зарегистрированы в 10 населенных пунктах Ханты-Мансийского района, расположенных вдоль реки Оби на расстоянии до 100 км ниже и выше по течению от г. Ханты-Мансийска, всего выявлено 37 случаев. Зарегистрирован 1 случай на реке Иртыш в п. Горноправдинск, расположенном на расстоянии 100 км выше по течению от г. Ханты-Мансийска. Кроме того, заболели 10 вахтовиков с Приобского месторождения, расположенного в Нефтеюганском районе.

Первому заболевшему диагноз был установлен через 24 дня после обращения за медицинской помощью. Больной был госпитализирован 27 июля. Экстренное извещение направлено 19 августа, когда количество заболевших составляло уже 89 чел., обратившихся за медицинской помощью — 15 чел.

При клинико-эпидемиологическом исследовании больных туляремией нами выявлены факторы, определяющие трансмиссивный характер эпидемической вспышки в ХМАО — локализация входных ворот возбудителя и образование первичного поражения преимущественно на открытых участках тела (голень, стопа, шея, голова, кисть, предплечье).

Всем больным при обращении за медицинской помощью установлена средняя степень тяжести, ульцерогландулярная форма. Заболевание проявлялось повышением температуры от 38,0° С до 40,0° С, ознобом, слабостью, ломотой в теле. Несколько человек отмечали диарею и рвоту. Через 3—4 дня после начала лихорадки у всех больных отмечалось увеличение и болезненность паховых, подмышечных, подчелюстных или шейных лимфоузлов. У многих больных наблюдался гиперемизированный след от укуса, язвочка или вскрывшийся фурункул. Итоговая оценка качества диагностики туляремии основывалась на частоте расхождения в диагнозах, поставленных в поликлиническом звене или при поступлении в стационар, с окончательным диагнозом [1].

В результате исследований, проведенных ФБУН Государственным научным центром прикладной микробиологии и биотехнологии г. Оболенск (ГНЦ ПМБ), от 6 пациентов была выделена культура туляремийного микроба, принадлежащая к подвиду *holartica*, тот же возбудитель был выделен от 4 грызунов (красная полевка, бурозубка) — 16,7% от общего числа исследованных грызунов. Специфические антитела к туляремийному микробу были обнаружены у 43,6% исследованных грызунов (ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (Иркутский НИПЧИ). Лабораторией ФБУН Тюменского научно-исследовательского института краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора (ТНИИКИП) в 7 пулах из 10 исследованных комаров методом ПЦР был обнаружен туляремийный микроб. В воде открытых водоемов следов инфекционного материала не обнаружено (ГНЦ ПМБ) (табл.).

**Результаты бактериологических и серологических исследований биологического материала и объектов окружающей среды в ХМАО в 2013 г. во время эпидемической вспышки туляремии**

Объект	Кол-во проб	Положительный результат на туляремию	Метод	Лабораторная база
Вода	10	0	Бактериологический	ТНИИКИП, ГНЦ ПМБ
Грызуны	24	4 (16,7%)	Бактериологический	ГНЦ ПМБ
	8	0		ТНИИКИП
	297	176 (59,2%)	ИФА, РНГА	ТНИИКИП, ГНЦ ПМБ, Иркутский НИПЧИ
Комары	375	0	Бактериологический	ГНЦ ПМБ
	100	70%	ИФА	ТНИИКИП
Больные	7	6 (85,7%)	Бактериологический	ГНЦ ПМБ
Здоровые	546	162 (29,7%) (серо- негативных)	Серологический	Иркутский НИПЧИ

Основным направлением локализации вспышки была вакцинация. В окружной больнице работали 3 стационарных прививочных кабинета с 8-00 до 20-00 без выходных дней, была сформирована 41 прививочная бригада, к работе привлечены диспансеры и центр Анти-СПИД, 5 бригад из других муниципалитетов округа.

За 2 месяца в Ханты-Мансийске и Ханты-Мансийском районе было проведено 26 596 туляриновых проб, привиты 20 560 чел. Охват прививками подлежащего населения на момент окончания вспышки в Ханты-Мансийске составил 53,4%, в Ханты-Мансийском районе — 93,4%.

Учитывая трансмиссивный характер вспышки, были предприняты меры по снижению летающих форм кровососущих насекомых. Дезинсекция проводилась на территориях ДОУ, предприятий, мест массового отдыха за городом, всего было обработано 1555,37 га. Несмотря на проведенные мероприятия, укусы комарами продолжались вплоть до заморозков.

Дератизационные обработки в Ханты-Мансийске и районе проведены на площади 1700 га, в т.ч. барьерная дератизация по периметру города, обработаны места массового отдыха за пределами города, периметры садово-огородных кооперативов, адреса, в которых зафиксированы заражения людей, ДОУ, предприятия торговли и склады. В Ханты-Мансийском районе в августе дератизация проведена в 19 населенных пунктах, расположенных вдоль реки Обь. При контроле эффективности дератизационных мероприятий установлена низкая эффективность проводимых обработок.

В сентябре разработан и утвержден алгоритм проведения сплошной двукратной дератизации и однократной дезинсекции объектов на территории города Ханты-Мансийска. При проведении контроля эффективности сплошной дератизации, в ходе которой было обработано 187,398 га, повторно выявлена высокая численность грызунов (до 26 особей на 100 ловушко-сутки).

С целью информирования населения о методах и способах профилактики заражения напечатано 4000 листовок, которые были расклеены на афишных тумбах, остановках, в подъездах, с привлечением управляющих домовых компаний и участием работников ДПС раздавались населению. Проводилась работа в социальных сетях, на форуме г. Ханты-Мансийска.

С целью своевременного и адекватного прогнозирования сформирована зоологическая группа, систематизированы мониторинговые точки, сроки учетов численности носителей и прокормителей. Подписано соглашение с Сургутским государственным университетом по обмену зоологическим материалом и информацией о состоянии популяций грызунов в природных очагах туляремии.

Проводилась большая организационная работа по снижению численности прокормителей и грызунов, в 2017 г. проведено 6 этапов ларвицидных обработок. Создан реестр выделения возбудителя туляремии на территории ХМАО-Югры.

Анализируется динамика удельного веса положительных находок. В 2017 г. наблюдалось резкое обострение эпизоотической ситуации, которое подтверждается ростом положительных находок у грызунов, а также большим удельным весом находок РНК возбудителя туляремии в комарах.

После вспышки 2013 г. зарегистрирован еще один групповой очаг в Березовском районе, а также 3 спорадических случая в г. Нефтеюганске, Сургутском районе и Югорске.

Мониторинг природных очагов туляремии подтверждает длительное сохранение их активности и жизнеспособности. Трансмиссивный характер вспышек обуславливает их масштабность и интенсивность, необходимость постоянных дезинсекционных мероприятий. Резервуаром возбудителя являются водяная полевка, красная полевка и бурозубка, что требует постоянных дератизационных мероприятий. Риску заражения подвержены все группы населения, независимо от возраста и профессии, включая детей до 1 года, что характерно для очага пойменно-болотного типа. Нашествие грызунов в населенные пункты можно считать прогностическим признаком ухудшения эпидемиологической ситуации и начинающейся вспышки, что позволяет заблаговременно предпринимать противоэпидемические мероприятия. Необходимо системное межведомственное взаимодействие (здравоохранение, органы исполнительной власти) для усиления внимания к профилактике и формированию у населения настороженности в отношении к проблеме туляремии. Масштаб вспышки и комплексная межведомственная работа по ее локализации и ликвидации позволили сформировать в органах исполнительной власти, в лечебно-профилактических учреждениях и у населения настороженность, что обеспечит повышенное внимание к вопросам профилактики и предотвращения вспышек туляремии в дальнейшем.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кашуба Э.А., Дроздова Т.Г. Туляремия. Инфекционные болезни: национальное руководство. Под ред. Н.Д.Ющука, Н.Я.Венгерова. М., ГЭОТАР-Медиа, 2009.
2. Кормилицина М.И., Мещерякова М.С., Михайлов Т.В. Молекулярно-генетическая дифференциация штаммов *Francisella tularensis*, различающихся по таксономической принадлежности и вирулентности. Мол. генетика, микробиол., вирусол. 2013, 3:22-25.
3. Мазепа А.В. Гидробиологические факторы в эпидемиологии туляремии. Автореф. дис. канд. мед. наук. Иркутск, 2004.
4. Мещерякова И.С., Демидова Т.Н., Горшенко В.В., Добровольский А.А. Трансмиссивные эпидемические вспышки (групповые заболевания) туляремии в России в XXI веке. Дальневосточный журн. инфекц. патол. Хабаровский НИИЭМ. 2014, 25:53-55.
5. Мещерякова И.С., Добровольский А.А., Демидова Т.Н., Кормилицина М.И. Эпизоотическая и эпидемиологическая активность природных очагов туляремии в городе Ханты-Мансийске в 2013 г. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2014, 5(78):14-20.
6. Мещерякова И.С., Михайлова Т.Н., Демидова Т.Н., Кормилицина М.И. Эпизоотическая и эпидемическая активность природных очагов туляремии различных ландшафтно-эпидемиологических типов в период 2009-2014 гг. Мед. паразитол. и паразитар. болезни. 2016, 1:42-46.
7. Олсуфьев Н.Г., Дунаева Т.Н. Природная очаговость, эпидемиология и профилактика туляремии. М., Медицина, 1970.
8. Остапенко Н.А., Соловьева М.Г., Казачинин А.А., Козлова И.И., Файзуллина Н.М., Ежлова Е.Б. О вспышке туляремии среди населения Ханты-Мансийска и Ханты-Мансийского района в 2013 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2015, 2:28-42.
9. Попова А.Ю., Мефодьев В.В., Степанова Т.Ф., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Марченко А.Н. Эпидемиология и профилактика туляремии на эндемичных территориях России. Ижевск, ООО Принт-2, 2016.

## ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГРУППОВОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В УРАЛЬСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ И ЗАПАДНОЙ СИБИРИ В 2017 ГОДУ

Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций

*Цель.* Определение особенностей развития групповой заболеваемости энтеровирусной инфекцией (ЭВИ) на территориях Уральского федерального округа (УФО) и Западной Сибири в 2017 г. *Материалы и методы.* Проводился ретроспективный эпидемиологический анализ групповой заболеваемости ЭВИ по данным форм федерального статистического наблюдения и информации, предоставленной территориальными органами Роспотребнадзора. Индикация и идентификация энтеровирусов проводилась молекулярно-генетическими методами. *Результаты.* Был зарегистрирован 51 очаг групповой заболеваемости ЭВИ. Интенсивность и динамика формирования вспышек коррелирует с уровнем ( $r = 0,65$ ;  $p < 0,05$ ) и сезонной динамикой ( $r = 0,80$ ;  $p < 0,05$ ) спорадической заболеваемости ЭВИ на данной территории. Воздушно-капельный путь в качестве основного пути передачи был указан в 68,2% случаев, как дополнительный в 22,0%, а как единственный в 14,6%. Контактнo-бытовой путь как единственный был указан только в 9,8% очагов. Генотип этиологического агента удалось определить в 82,2% вспышек. В этиологической структуре доля энтеровирусов вида А составила 51,4% (Coxsackievirus A6 (CV-A6) — 43,2%), энтеровирусов вида В — 70,3% (Echovirus 30 (E30) — 48,6%). *Заключение.* В эпидемический процесс при групповой заболеваемости ЭВИ в УФО и Западной Сибири в 2017 г. преимущественно были вовлечены дети до 6 лет из детских дошкольных учреждений, где формировались небольшие и непродолжительные вспышки. В этиологической структуре групповой заболеваемости доминировали два генотипа энтеровирусов: E30 и CV-A6, что определяло преобладание в структуре клинических форм энтеровирусного менингита и экзантематозного поражения слизистых оболочек и кожи.

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 49—55

Ключевые слова: энтеровирус, эпидемиология, групповая заболеваемость, вспышка энтеровирусной инфекции

А.В.Алимов, А.В.Резайкин, Ю.Ю.Бурцева, П.С.Усольцева, С.В.Шарабрин

## EPIDEMIOLOGIC FEATURES OF CLUSTERED MORBIDITY CAUSED BY ENTEROVIRAL INFECTIONS IN THE URAL FEDERAL DISTRICT AND WESTERN SIBERIA IN 2017

Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, Russia

*Aim.* Delineation of epidemiologic features of clustered morbidity caused by enteroviral infections (EVI) in the Ural Federal District (UFD) and West Siberia in 2017. *Materials and methods.* Retrospective epidemiologic analysis of clustered EVI morbidity was performed with the data obtained from the standardized Federal statistical observation reports and the data provided by the regional Departments of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being (Rosпотребнадзор). Detection and identification of enteroviruses was carried out by molecular genetic methods. *Results.* Totally 51 focus of clustered EVI was registered. The incidence density and time course of outbreaks closely correlated with the general EVI incidence level ( $r = 0.65$ ;  $p < 0.05$ ) and seasonal variations ( $r = 0.80$ ;  $p < 0.05$ ) at the given territory. Droplet nuclei transmission was considered the main route of infection in 68.2% of cases, in 22.0% — as an accessory route, and in 14.6% — as an obligate route. Contact transmission via fomites was reported as an obligate route in 9.8% of outbreaks. In the etiological structure, the proportion of Enterovirus A species was 51.4% (Coxsackievirus A6 (CV-A6) — 43.2%), Enterovirus B species — 70.3% (Echovirus 30 (E30) — 48.6%). *Conclusion.* In 2017 the clustered morbidity caused by EVI in the UFD and Western Siberia involved mainly children under 6 years of age from preschool institutions, where outbreaks of low incidence density with short duration were observed. Two genotypes of enteroviruses (E30

and CV-A6) were prevalent in the etiological structure of the outbreaks, therefore determining predominant clinical forms of EVI: aseptic meningitis or hand, foot, and mouth disease.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 49–55

Key words: enterovirus, epidemiology, clustered morbidity, enterovirus infection outbreak

## ВВЕДЕНИЕ

В соответствии с действующей классификацией, неполиомиелитные энтеровирусы человека (НПЭВ) относятся к роду *Enterovirus* семейства *Picornaviridae* порядка *Picornavirales*, включают в себя более ста генотипов и, согласно современной классификации, основанной на молекулярно-генетических характеристиках, подразделены на четыре вида (A, B, C, D) [12].

В большинстве случаев инфицирование энтеровирусами приводит к развитию инаппарантной инфекции с кратковременным вирусоносительством, однако нередко развиваются и манифестные формы, клинические проявления которых крайне разнообразны и включают поражение практически любых органов и систем человека. Наиболее социально значимой клинической формой энтеровирусной инфекции (ЭВИ) является серозный энтеровирусный менингит (ЭВМ) [5, 6], однако в последние годы, в силу эпидемического распространения, стали актуальны клинические формы с экзантематозным поражением слизистых полости рта и кожи — герпангина, везикулярный стоматит, экзантема конечностей [8].

Актуальность проблемы ЭВИ также обусловлена возникновением локальных вспышек и эпидемических подъемов заболеваемости среди населения отдельных территорий [4, 7]. Групповая энтеровирусная заболеваемость регистрируется на всех континентах, независимо от уровня экономического развития, состояния гигиены и санитарии. Масштабы таких очагов с множественными случаями заболеваний могут варьировать от нескольких случаев в детском дошкольном учреждении до нескольких тысяч человек крупного мегаполиса [1].

По данным регионального Урало-Сибирского научно-методического центра по изучению энтеровирусных инфекций (ЕНМЦ ЭВИ) территории Уральского федерального округа (УФО) и Западной Сибири относятся к числу регионов с высоким уровнем заболеваемости. В последние годы наблюдается также значительный рост лабораторно подтвержденных случаев инфекционных заболеваний, связанных с НПЭВ [8].

Целью настоящей работы являлось определение особенностей развития групповой заболеваемости ЭВИ на территориях УФО и Западной Сибири.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе представлены результаты ретроспективного эпидемиологического анализа заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией на территориях, курируемых ЕНМЦ ЭВИ: Свердловская, Челябинская, Тюменская, Курганская, Омская, Томская, Новосибирская, Кемеровская области, Ханты-Мансийский автономный округ (ХМАО-Югра), Ямало-Ненецкий автономный округ (ЯНАО) и Алтайский край по итогам 2017 года. Информация для анализа получена из форм федерального статистического наблюдения №1 и №2 “Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях”, внеочередных донесений о групповой заболеваемости ЭВИ и актов “Эпидемиологических расследований очагов инфекционной (паразитарной) болезни с установлением причинно-следственной связи”, предоставленных территориальными органами Роспотребнадзора. При расчете относительных показателей была использована официальная информация о численности населения, предоставленная Федеральной службой государственной статистики.

Индикацию РНК энтеровирусов в пробах биологического материала проводили методом ОТ-ПЦР с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени с помощью диагностической тест-системы “АмплиСенс Enterovirus-FL” (Интерлабсервис, Москва). Генотипирование проводили методом сравнения после-

довательностей нуклеотидов двух участков структурной части генома (1A-1B и 1D), полученных в результате прямого автоматического секвенирования с помощью генетического анализатора Genetic Analyzer 3130 (Hitachi, Япония), с референсными последовательностями, представленными в международной базе генетических данных GenBank [9]. Всего в 259 образцах биологического материала от больных и носителей ЭВИ из 45 очагов групповой заболеваемости было генопитировано 193 штамма энтеровирусов. Для выравнивания и анализа нуклеотидных последовательностей использовали программное обеспечение MEGA 5.05 [11].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения SPSS Statistics v.20.0. Для сравнительного анализа количественных признаков использовали t-критерий Стьюдента и критерий Манна-Уитни для качественных признаков точный критерий Фишера. Для анализа зависимости между признаками были найдены коэффициенты корреляции Спирмена и рассчитан относительный риск (RR). Для всех сравнений ошибка первого рода устанавливалась равной 0,05. Нулевая гипотеза об отсутствии различий между группами отвергалась, если вероятность ошибки ( $p$ ) отклонить эту нулевую гипотезу не превышала 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эпидемиологическая ситуация по ЭВИ в УФО в 2017 году расценивалась, как крайне неблагоприятная. Всего по округу было зарегистрировано 6353 случая ЭВИ, средний показатель заболеваемости составил 51,6 случая на 100 тыс. населения, что превышает среднероссийский показатель (16,3 на 100 тыс. населения) в 3,2 раза. Наиболее высокие показатели заболеваемости были зарегистрированы в ХМАО-Югре — 99,0 случаев на 100 тыс. населения, что превышает средний по России показатель более, чем в 6 раз, в Тюменской области — 66,2 на 100 тыс. населения, в ЯНАО — 59,9 на 100 тыс. населения.

В Западной Сибири в 2017 году сложилась более благополучная эпидемиологическая ситуация по ЭВИ. Всего было зарегистрировано 1179 случаев ЭВИ, средний показатель заболеваемости составил 10,8 случая на 100 тыс. населения, что ниже среднероссийского показателя на 40%. Наиболее высокие показатели заболеваемости ЭВИ были зафиксированы в Томской и Омской областях — 29,6 на 100 тыс. населения и 21,3 на 100 тыс. населения соответственно.

Анализ помесечной динамики заболеваемости ЭВИ в 2017 г. на территориях УФО и Западной Сибири выявил выраженную летне-осеннюю сезонность. Подъем заболеваемости в большинстве регионов начался в июне — июле, максимальный уровень заболеваемости зафиксирован в августе — сентябре, а в октябре — ноябре на всех территориях наблюдалось достоверное снижение уровня заболеваемости, что характерно для ЭВИ [1, 4]. Общий индекс сезонности составил 5,1, коэффициент сезонности — 83,7%. Следует отметить, что на некоторых территориях с высоким уровнем заболеваемости (ХМАО-Югра, Тюменская область) среднемноголетний уровень заболеваемости был достоверно превышен уже в мае.

Анализ заболеваемости ЭВИ в разных возрастных группах показал, что максимальный уровень заболеваемости в 2017 г. пришелся на возрастную категорию 1-2 года (432,2 на 100 тыс. населения данной возрастной группы в УФО и 58,5 на 100 тыс. населения данной возрастной группы в Западной Сибири). На втором месте находилась возрастная группа детей 3 — 6 лет, где показатель заболеваемости в УФО составил 309,3, а в Западной Сибири — 58,1 на 100 тыс. населения данной возрастной группы. Третье место занимала возрастная категория до 1 года (208,9 на 100 тыс. населения данной возрастной группы в УФО и 30,2 на 100 тыс. населения данной возрастной группы в Западной Сибири). Максимальные показатели заболеваемости были зарегистрированы в возрастной категории детей 1-2 года в ХМАО-Югре (853,4 на 100 тыс. населения данной возрастной группы), Курганской области (583,9) и Свердловской области (506,1).

Анализ структуры клинических форм ЭВИ в УФО и Западной Сибири показал, что доля ЭВМ уменьшилась, а клинические формы без неврологической симптома-

тики, с поражением слизистых оболочек и кожи (везикулярный фарингит, везикулярный стоматит, экзантема конечностей, ОРВИ) набрали вес и в ряде курируемых территории стали доминирующими. В УФО доля ЭВМ уменьшилась, по сравнению с 2016 г., с 41,3% до 30,4%. Исключение составил только ХМАО-Югра, где доля ЭВМ увеличилась с 18,2% в 2016 г. до 27,4% в 2017 г. Наибольшее снижение доли ЭВМ зафиксировано в Свердловской (с 66,1% в 2016 г. до 24,0% в 2017г.) и Курганской (с 49,0% в 2016 г. до 14,5% в 2017 г.) областях. В Западной Сибири доля ЭВМ уменьшилась, по сравнению с 2016 г., с 65,3% до 57,8%. Наибольшее снижение доли ЭВМ зафиксировано в Кемеровской области (с 74,4% в 2016 г. до 23,1% в 2017г.) и Алтайском крае (с 90,0% в 2016г. до 29,0% в 2017г.).

По данным ЕНМЦ ЭВИ, в 2017 году на территориях УФО и Западной Сибири был зарегистрирован 51 очаг групповой заболеваемости ЭВИ, включая 44 очага (86,3%) в организованных коллективах, 2 семейно-квартирных очага (3,9%) и 5 (9,8%) эпидемических вспышек в населенных пунктах (в ХМАО-Югре 4 очага в городах Ханты-Мансийск, Сургут, Нижневартовск и Покачи; 1 очаг в селе Шатрово Курганской области). Вспышек в лечебно-профилактических учреждениях зарегистрировано не было. Среди очагов групповой заболеваемости, сформировавшихся в организованных коллективах, подавляющее большинство составили очаги в детских образовательных учреждениях (ДОУ) — 41 вспышка (93,2%). В ВУЗах и колледжах было зарегистрировано 3 вспышки (6,8%). По типу ДОУ очаги групповой заболеваемости распределились следующим образом: детские сады — 32 вспышки (78,0%), летние оздоровительные учреждения (ЛОУ) — 5 (12,2%), средние общеобразовательные школы — 4 (9,8%).

Вспышки ЭВИ были зафиксированы во всех регионах УФО и Западной Сибири за исключением Новосибирской области. Доля очагов групповой заболеваемости, зарегистрированных в УФО, составила 80,4%, а в Западной Сибири — 19,6% ( $p < 0,05$ ). Территориальное распределение очагов достоверно коррелирует с уровнем sporadic заболеваемости ЭВИ в регионах ( $r = 0,65$ ;  $p < 0,05$ ). Наибольшая доля вспышек была зарегистрирована в регионах с высокими показателями заболеваемости: ХМАО-Югра — 27,5% (заболеваемость 94,6 на 100 тыс. населения), Свердловская область — 21,6% (46,7 на 100 тыс. населения), Тюменская область — 13,7% (62,0 на 100 тыс. населения), напротив, в регионах с низким уровнем заболеваемости регистрировалось достоверно меньше очагов: Новосибирская область заболеваемость 8,5 на 100 тыс. населения, Кемеровская область — 4,4 на 100 тыс. населения, Алтайский край — 2,0 на 100 тыс. населения.

Внутригодовая динамика формирования очагов групповой заболеваемости ЭВИ достоверно коррелирует ( $r = 0,8$ ;  $p < 0,05$ ) с помесечной динамикой sporadic заболеваемости ЭВИ в регионе. Первые вспышки ЭВИ были зарегистрированы в мае в ХМАО и на территории Тюменской области среди воспитанников детских дошкольных учреждений и общеобразовательной школы. Основная доля вспышек была зарегистрирована в июле (25,5%) и августе (35,3%). Формирование детских коллективов в начале сентября существенно не повлияло на динамику групповой заболеваемости ЭВИ. Начиная с сентября, среднемесячное количество очагов стало значительно снижаться и составило в сентябре 11,8%, в октябре — 9,8%, в ноябре — 5,9%. Последние случаи групповой заболеваемости были зарегистрированы в ноябре в ХМАО-Югре среди населения крупных районных центров (г. Сургут и г. Нижневартовск) и на территории Алтайского края среди студентов колледжа. В декабре новых очагов ЭВИ зарегистрировано не было.

Во всех очагах групповой заболеваемости ЭВИ было зарегистрировано 1627 заболевших (1571 в УФО и 56 в Западной Сибири), что составило 21,6% от общего количества случаев ЭВИ в регионах. Самые масштабные эпидемические вспышки были зафиксированы среди населения городов ХМАО-Югры: г. Ханты-Мансийск (231 случай), г. Сургут (598 случаев) и г. Нижневартовск (402 случая). Эпидемический подъем заболеваемости в этих регионах наблюдался на протяжении всего эпидемического сезона с мая-июня по ноябрь.

Доля заболевших ЭВИ в организованных коллективах составила 19,4% (315 случаев), а в семейно-квартирных очагах — 3,6% (58 случаев). Средний индекс очаго-

вности для организованных коллективов составил 6,9 случая на очаг (детские сады — 7,1; школы — 4,8; ЛОУ — 8,0; ВУЗы и колледж — 5,0), а для семейно-квартирных очагов — 29,0 случая на очаг. Относительно высокий индекс очаговости для семейно-квартирных очагов можно объяснить их малым количеством (зарегистрировано всего 2 очага) и включением в данную категорию продолжительной (28 дней) вспышки среди больших семей мигрирующих групп населения (цыган). Продолжительность существования очага в организованном коллективе варьировала от 1 до 38 дней и в среднем составила для детского сада — 11 дней, средней образовательной школы — 4 дня, ЛОУ — 3 дня, ВУЗов и колледжа — 5 дней. Достоверно большую продолжительность существования очага в детском саду ( $p < 0,05$ ) можно объяснить высокой концентрацией наиболее восприимчивого к ЭВИ контингента (дети до 6 лет) и более тесным бытовым контактом детей между собой.

Основным механизмом передачи ЭВИ традиционно считается фекально-оральный механизм, реализуемый водным, алиментарным или контактно-бытовым путем. Аэрогенный механизм реализуется воздушно-капельным путем и считается дополнительным [1, 4, 10]. По данным актов эпидемиологических исследований эпидемических очагов воздушно-капельный путь в качестве основного пути передачи ЭВИ в очаге был указан в 68,2% случаев, а как дополнительный в 22,0%. Притом, в 14,6% очагов этот путь был указан как единственный. Контактно-бытовой путь как единственный был указан только в 9,8% очагов. Водный и алиментарный пути передачи инфекции присутствовали только в 1 эпизоде. Основными факторами передачи были названы воздух, предметы окружающей среды (игрушки, мебель) и кожа рук. Контаминация энтеровирусами факторов передачи была возможна как при фекальном загрязнении, так и при попадании выделений из носоглотки. Учитывая, что наиболее интенсивное выделение энтеровирусов в окружающую среду происходит в последние дни инкубационного периода и первые дни заболевания с фекалиями и выделениями из верхних дыхательных путей [7, 10], к главным факторам, способствующим формированию очага групповой заболеваемости, следует отнести тесный бытовой контакт в организованном коллективе и несвоевременное выявление и изоляцию больных.

Всего за 2017 г. в ЕНМЦ ЭВИ для исследования поступил биологический материал из 45 очагов. Определить генотип этиологического агента молекулярно-генетическим методом удалось в биологическом материале из 37 вспышек (82,2%). В биологическом материале из 31 очага (83,8%) были обнаружены энтеровирусы только одного генотипа, а в пробах из 6 вспышек (18,9%) присутствовали энтеровирусы двух и более генотипов. Достоверных различий в этиологической структуре групповой заболеваемости в УФО и в Западной Сибири не выявлено.

Энтеровирусы вида А: Coxsackievirus A6 (CV-A6), Enterovirus A71 (EV-A71) были обнаружены в 19 очагах (51,4%), а энтеровирусы вида В: Echovirus 30 (E30), 6 (E6), 9 (E9), 13 (E13), Coxsackievirus A9 (CV-A9) в 26 очагах (70,3%). Энтеровирусы видов С и D в материале обнаружены не были. Доминирующее положение в этиологической структуре занимали энтеровирусы E30 и CV-A6. В совокупности они были обнаружены в пробах из 32 очагов (86,5%). Другие генотипы встречались достоверно реже (E6 — 3 вспышки, EV-A71 — 3, E9 — 2, CV-A9 — 2, E13 — 1).

Всего энтеровирус E30 был выявлен в 18 очагах групповой заболеваемости (48,6%). В 15 случаях (83,3%) в виде единственного этиологического агента, а в 3 случаях в сочетании с вирусами CV-A6, E13, CV-A9 и E9. Филогенетический анализ показал, что все обнаруженные штаммы данного генотипа имеют близкое родство и относятся к субгенотипу «h», который в настоящее время имеет пандемическое распространение по всему миру и активно циркулирует в России, начиная с 2013-2015 гг. [2].

Энтеровирус CV-A6 был обнаружен в биологическом материале из 16 вспышек. В качестве единственного этиологического агента присутствовал в 12 эпизодах (75,0%). В 4 случаях присутствовал в сочетании с энтеровирусами EV-A71, E30, CV-A9 и E9. Филогенетический анализ показал, что все обнаруженные штаммы CV-A6 схожи по происхождению между собой и с недавно сформировавшимся пандемическим субгенотипом, активно циркулирующим в России, начиная с 2012 г. [3].

Известно, что клинические формы ЭВИ крайне разнообразны, при этом нередко наблюдаются их сочетания. Также установлено, что энтеровирусы разных генотипов способны вызывать схожие клинические формы ЭВИ, вместе с тем, один и тот же генотип энтеровируса может быть причиной заболеваний с разной клинической картиной [5, 6]. Анализ структуры клинических проявлений показал, что в 2017 г. на территориях УФО и Западной Сибири при групповой заболеваемости основными клиническими формами ЭВИ были ЭВМ и экзантематозные поражения слизистых оболочек и кожи (везикулярный фарингит (герпангина), везикулярный стоматит, экзантема ладоней и стоп. При локальных вспышках в 91,3% очагов у всех заболевших была зарегистрирована только одна клиническая форма ЭВИ. В 8,7% очагов у заболевших регистрировался ЭВМ и экзантематозная лихорадка. Среди локальных очагов с одной клинической формой доля очагов с ЭВМ составила 35,7%, доля очагов с поражением слизистых и кожи — 59,5%, другие клинические формы (ОКИ, ОРВИ) составили всего 4,8%.

Представленная структура клинических форм хорошо сочеталась с этиологической структурой групповой заболеваемости. Среди расшифрованных вспышек доля локальных очагов с одним этиологическим агентом составила 90,9%, притом наблюдалась тесная корреляция ( $r = 0,79$ ;  $p < 0,05$ ) определенного генотипа с клинической картиной. Энтеровирус CV-A6 достоверно чаще сочетался с экзантематозным поражением слизистых и кожи ( $RR = 5,5$   $p < 0,05$ ), а E30 достоверно чаще вызывал ЭВМ ( $RR = 3,1$   $p < 0,05$ ).

В силу масштабности и полиэтиологичности эпидемические подъёмы заболеваемости среди населения городов ХМАО-Югры отличались сочетанием различных клинических форм ЭВИ, однако, в силу доминирования одного из генотипов энтеровирусов на определенной территории, одна из клинических форм регистрировалась значительно чаще. В г.Ханты-Мансийске доля больных с герпангиной составила 56,3%, энтеровирусным везикулярным стоматитом — 12,5%, экзантематозной лихорадкой — 4,3%, ЭВМ — 5,6%, другими клиническими формами — 21,2%. Результаты генотипирования показали, что вспышка была преимущественно вызвана энтеровирусами CV-A6 (76,2% из генотипированных штаммов) и E30 (23,8%). В г. Нижневартовске среди зарегистрированных клинических форм преобладал ЭВМ — 74,4%, доля экзантематозных форм, ОКИ и ОРВИ составила 25,6%. В биологическом материале были обнаружены энтеровирусы E30 (88,9%) и CV-A9 (11,1%). В г. Сургут наиболее часто ЭВИ проявлялась в виде энтеровирусного везикулярного стоматита — 74,6% и герпангины — 12,9%. Доля ЭВМ составила — 10,5% случаев, другие формы встречались в 2,0% случаев. В биоматериале было обнаружено четыре генотипа энтеровирусов: CV-A6 (66,8%), E30 (16,6%), CV-A9 (8,3%) и E9 (8,3%).

Полученные данные позволяют утверждать о том, что вероятность развития ЭВИ с определенной клинической формой в значительной степени зависит от генотипа этиологического агента, а структура клинических форм ЭВИ на территории будет определяться соотношением циркулирующих генотипов.

Таким образом, при групповой заболеваемости ЭВИ в 2017 г. в УФО и Западной Сибири в эпидемический процесс преимущественно были вовлечены дети до 6 лет из детских дошкольных учреждений, где формировались небольшие и непродолжительные вспышки. В этиологической структуре групповой заболеваемости доминировали два генотипа энтеровирусов: E30 и CV-A6, что определяло преобладание в структуре клинических форм энтеровирусного менингита или экзантематозного поражения слизистых оболочек и кожи.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Амвросьева Т.В., Поклонская Н.В., Зуева В.Л., Богуш З.Ф., Дедюля К.Л., Лукашев А.Н. Энтеровирусные инфекции в республике Беларусь. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2014, 19(5): 37-43.
2. Голицына Л.Н., Зверев В.В., Парфенова О.В., Новикова Н.А. Эпидемические варианты непوليوмиелитных энтеровирусов в России. Медицинский альманах. 2015, 5(40): 136-140.

3. Голицына Л.Н., Фомина С.Г., Парфенова О.В., Калашникова Н.А., Новикова Н.А. Молекулярно-генетическая характеристика эпидемически значимых энтеровирусов вида А. Медицинский альманах. 2013, 2(26): 96-99.
4. Демина А.В., Маркович Н.А., Нетесов С.В. Энтеровирусы. Часть 1: история открытия, таксономия, строение генома, эпидемиология. Бюллетень СО РАМН. 2008, 1(129): 92-100.
5. Демина А.В., Нетесов С.В. Энтеровирусы. Часть 2. Энтеровирусные инфекции: многообразие клинических проявлений. Бюллетень СО РАМН. 2009, 6(140): 116-125.
6. Канаева О.И. Энтеровирусная инфекция: многообразие возбудителей и клинических форм. Инфекция и иммунитет. 2014, 4(1): 27-36.
7. Мартынова Г.П. Энтеровирусная (неполио) инфекция у детей. Сибирское медицинское обозрение. 2014, 3: 100-106.
8. Резайкин А.В., Бурцева Ю.Ю., Усольцева П.С., Шарабрин С.В., Алимов А.В. Энтеровирусная инфекция в Уральском федеральном округе и Западной Сибири в 2017 году (Информационный бюллетень за 2017 год). Екатеринбург, 2018.
9. Устюжанин А.В., Резайкин А.В., Снитковская Т.Э., Скрыбина С.В., Сабитов А.У., Хаматова Ю.Б., Сергеев А.Г. Анализ филогенетических связей энтеровирусов, выделенных от больных серозным менингитом в г. Екатеринбурге и Свердловской области в 2008 г. Уральский медицинский журнал. 2011, 13(91): 19-24.
10. Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции: Методические указания. М., Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.
11. Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. Briefings in Bioinformatics. 2004, 5: 150-163.
12. Zell R., Delwart E., Gorbalenya A.E. et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: Picornaviridae. J. Gen. Virol. 2017, 98(10): 2421-2422.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

*И.В.Хамитова<sup>1</sup>, Ю.В.Останкова<sup>1</sup>, А.Ю.Антипова<sup>1</sup>, А.В.Семенов<sup>1,2,3</sup>, И.Н.Лаврентьева<sup>1</sup>*

## **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТОВ ПАРВОВИРУСА В19, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА**

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, <sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П.Павлова, <sup>3</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

*Цель.* Генотипирование и молекулярно-генетическая характеристика парвовируса В19, циркулирующего на территории Северо-Западного федерального округа. *Материалы и методы.* В работе были использованы образцы сыворотки крови от 821 пациента с макуло-папулезной сыпью, поступившие в Санкт-Петербургский Региональный Центр по надзору за корью и краснухой в 2009-2017 гг., отрицательные по антителам IgM-корь и IgM-краснуха. В настоящем исследовании мы применили генотипирование на основе прямого секвенирования NS1/VP1 области генома парвовируса В19. *Результаты.* ДНК вируса выявлена у 59 (42,4%) серопозитивных больных. Для оценки гетерогенности изолятов были выбраны 14 образцов от пациентов из географически удаленных регионов СЗФО, разного возраста, вне зависимости от пола, с высокой вирусной нагрузкой ( $10^6$ — $10^7$  копий/мл). При филогенетическом анализе было показано, что во всех изолятах выявлен только генотип 1А. При этом нуклеотидные последовательности можно разделить на две подгруппы: 13 изолятов (92,8%) относились к подгруппе 1А2, один изолят к подгруппе 1А1. *Заключение.* Внедрение скрининга В19 от пациентов с лихорадкой/сыпью способно представить значимую информацию о распространенности парвовирусной инфекции в Российской Федерации. Выявление новых мутаций вируса и дальнейший анализ их возможных взаимосвязей с течением заболевания может помочь в разработке лекарств, а также в разработке эффективной вакцины против парвовируса В19.

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 55—61

Ключевые слова: парвовирус В19, генотипирование, секвенирование, молекулярная эпидемиология

## **MOLECULAR-GENETIC CHARACTERISTICS OF PARVOVIRUS B19 ISOLATES CIRCULATING IN THE NORTH-WESTERN FEDERAL DISTRICT**

<sup>1</sup>Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, <sup>2</sup>Pavlov State Medical University, <sup>3</sup>Mechnikov North-West State Medical University, Saint Petersburg, Russia

*Aim.* Genotyping and molecular genetic characteristics of parvovirus B19, circulating in the North-West Federal District. *Material and Methods.* The material of the study is based on serum samples from 821 patients with maculopapular rash negative for antibodies IgM-measles and IgM-rubella were received at the St. Petersburg Regional Center for Measles and Rubella Surveillance in 2009–2017. In the present study we used genotyping by direct sequencing of the NS1/VP1 region of Parvovirus B19 genome. *Results.* DNA of the virus was detected in 59 (42.4%) of seropositive patients. To assess the heterogeneity of isolates, 14 samples were selected from patients from geographically remote regions of the NWFO, of different ages, regardless of gender, with a high viral load ( $10^6$ – $10^7$  copies/ml). Based on the phylogenetic analysis of the isolates showed that only the genotype 1A was detected in all isolates. The nucleotide sequences can be divided into two subgroups: 13 isolates (92.8%) belong to the subgroup 1A2, one isolate to the subgroup 1A1. *Conclusion.* The introduction of B19 screening from patients with fever / rash can provide meaningful information on the prevalence of parvovirus infection in the Russian Federation. Identifying new mutations of the virus and further analysis of their possible relationships with the course of the mutation disease can help in the development of medicines, as well as in the development of an effective vaccine against the parvovirus B19.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 55–61

Key words: parvovirus B19, genotyping, sequencing, molecular epidemiology

### **ВВЕДЕНИЕ**

Парвовирус В19 (PVB19) — ДНК-содержащий вирус семейства Parvoviridae, рода Erythrovirus. Инфекция, вызванная PVB19, является антропонозной и убиквитарной. Отмечается высокая выявляемость IgG к парвовирусу В19 в крови разных групп населения на разных территориях в зависимости от возраста: от 2% до 20% у детей младше 5 лет, 15–40% у детей и подростков от 5 до 18 лет и от 40% до 80% у взрослого населения [5]. По некоторым данным среди пожилых людей более 85% серопозитивны по IgG к PVB19 [1].

Геном парвовируса В19 состоит из 5596 нуклеотидов, кодирующих неструктурный белок 1 (NS1), капсидный вирусный белок 1 (VP1) и капсидный вирусный белок 2 (VP2), Х-протеин. На основании филогенетического анализа фрагмента уникального участка NS1/VP1 разделяют три генотипа (1, 2 и 3) PVB19, нуклеотидная последовательность которых отличается на 13–14%. Генотипы 1 и 3 подразделяют на субгенотипы 1a и 1b и 3a и 3b, соответственно [12, 15]. Несколько лет назад было предложено разделить субгенотип 1A на подгруппы 1A1 и 1A2 [9]. При этом явных различий в клинических проявлениях и тяжести течения заболевания при инфицировании разными генотипами не выявлено [12]. Хотя в ряде работ представлены доказательства того, что некоторые осложнения могут быть связаны с определенными вирусными генотипами [11].

Для разных генотипов вируса характерно преимущественно географическое распределение. Так, генотипы 1 и 2 встречаются в Европе, США и других западных странах, тогда как генотип 3 циркулирует на территории Африки к югу от Сахары и Южной Америки [2, 11]. При этом парвовирус В19 генотипа 1 в настоящее время распространен повсеместно, о случаях обнаружении парвовируса В19 генотипа 3 во Франции, Греции, Великобритании сообщают в последние десятилетия, а генотип 2 регистрируют при ретроспективных молекулярно-генетических исследованиях материала, собранного до 1973 года [3, 6, 10, 12]. Последнее обстоятельство позволило

предположить, что PVB19 генотипа 2 перестал циркулировать, однако необходимы дальнейшие подтверждения этого.

Несмотря на то, что PVB19 является ДНК-содержащим вирусом, он демонстрирует высокую скорость нуклеотидных замен (скорость замещения до  $4 \times 10^{-4}$  замен на сайт в год), сравнимую со скоростью нуклеотидных замен, характерной для РНК-содержащих вирусов. Но при этом уровень гомологии с прототипными штаммами остается высоким [4, 10, 13]. Таким образом, в геноме PVB19 накапливаются мутации, которые могут иметь значительные последствия для появления новых генотипов, что может привести к появлению геновариантов с измененной вирулентностью или тканевым тропизмом, а в конечном итоге повлиять на развитие заболевания и передачу вируса. Что и было показано: генетическая дивергенция В19 может происходить двумя путями — динамическая замена штаммов и постепенные изменения, состоящие из накопления точечных мутаций [14].

Целью нашей работы было генотипирование и молекулярно-генетическая характеристика парвовируса В19, распространенного на территории Северо-Западного федерального округа.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были исследованы образцы крови от 821 пациента с макуло-папулезной сыпью, поступившие в Санкт-Петербургский Региональный Центр по надзору за корью и краснухой в 2009-2017 гг., отрицательные по антителам IgM-корь и IgM-краснуха.

Антитела к парвовирусу В19 класса IgM и IgG определяли методом ELISA с помощью тест-систем EUROIMMUN, Германия в соответствии с инструкцией производителя.

Нуклеиновые кислоты из плазмы крови выделяли с использованием набора «АмплиПрайм Рибо-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва). Для выделения ДНК парвовируса В19 использовали диагностический набор «АмплиСенс® Parvovirus В19-FL» производства ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва), в соответствии с инструкцией производителя. Для амплификации с дальнейшим секвенированием применяли специфические праймеры (Синтол, Россия). Подбор праймеров осуществлялся на основании литературных данных с помощью программы NCBI/Primer-BLAST согласно общепринятым рекомендациям.

Использовали перекрывающиеся пары праймеров, совместно фланкирующие фрагмент, включающий locus, который кодирует неструктурный белок NS1 и уникальную вариабельную область структурного белка VP1 (NS1 — VP1u) следующей структуры: ParvoB19 1F CAATTGTCACAGACACCAGTA; ParvoB19 2F CCCGCGCTCTAGTACGCCA; ParvoB19 1R ACTTAGCCAGTTGGCTATACCT; ParvoB19 2R TTGCGGGGGCCAGCTTGTA. Этот фрагмент наиболее полно характеризует филогенетическое положение изолятов парвовируса В19.

Секвенирующую реакцию проводили согласно инструкции к набору реагентов ABI PRISM BigDye Terminator v3.1. (Applied Biosystems, США), в трех повторях, на прямых и обратных праймерах. Для анализа продукта секвенирующей реакции очищенный осадок денатурировали в формамиде и помещали в генетический анализатор ABI Prism 3500 (Applied Biosystems, США).

Первичный анализ полученных в ходе секвенирования фрагментов проводили с помощью программы NCBI Blast в сравнении с нуклеотидными последовательностями, представленными в международной базе данных GenBank. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили в программе MEGA 7.0, используя алгоритм ClustalW [8]. Для построения филогенетических деревьев и последующего филогенетического анализа рассматривали расстояния между последовательностями методом присоединения соседей, позволяющим оптимизацию дерева в соответствии с критерием «сбалансированной минимальной эволюции» (Neighbor-joining), для оценки достоверности построенных деревьев проведен бутстреп (bootstrap) анализ для 500 повторов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Антитела к парвовирусу В19 класса IgM и IgG выявлены в 139 (16,9%) случаях. ДНК вируса выявлена у 59 (42,4%) серопозитивных больных, в 54 образцах вирусная нагрузка превышала  $10^4$  копий/мл.

Для оценки гетерогенности изолятов были выбраны 14 образцов от пациентов из географически удаленных регионов СЗФО, разного возраста, вне зависимости от пола, с высокой вирусной нагрузкой ( $10^6$ – $10^7$  копий/мл).

При филогенетическом анализе было показано, что во всех изолятах, проанализированных в этом исследовании, выявлен только генотип 1А. При этом нуклеотидные последовательности можно разделить на две подгруппы: 13 изолятов (92,8%) относились к подгруппе 1А2, один изолят к подгруппе 1А1. Филогенетические отношения между исследованными изолятами и референсными последовательностями представлены на рис.

Сравнение нуклеотидных последовательностей различных штаммов показало высокий уровень идентичности. При попарном сравнении нуклеотидная идентичность изолятов в подгруппе 1А2 варьировала от 98,3 до 100%.

При сравнении с референсными изолятами, загруженными в международной базе данных GenBank, в нуклеотидных последовательностях были обнаружены нуклеотидные мутации. Выявленные изменения нуклеотидных последовательностей в сравнении с референсными представлены в табл. 1.

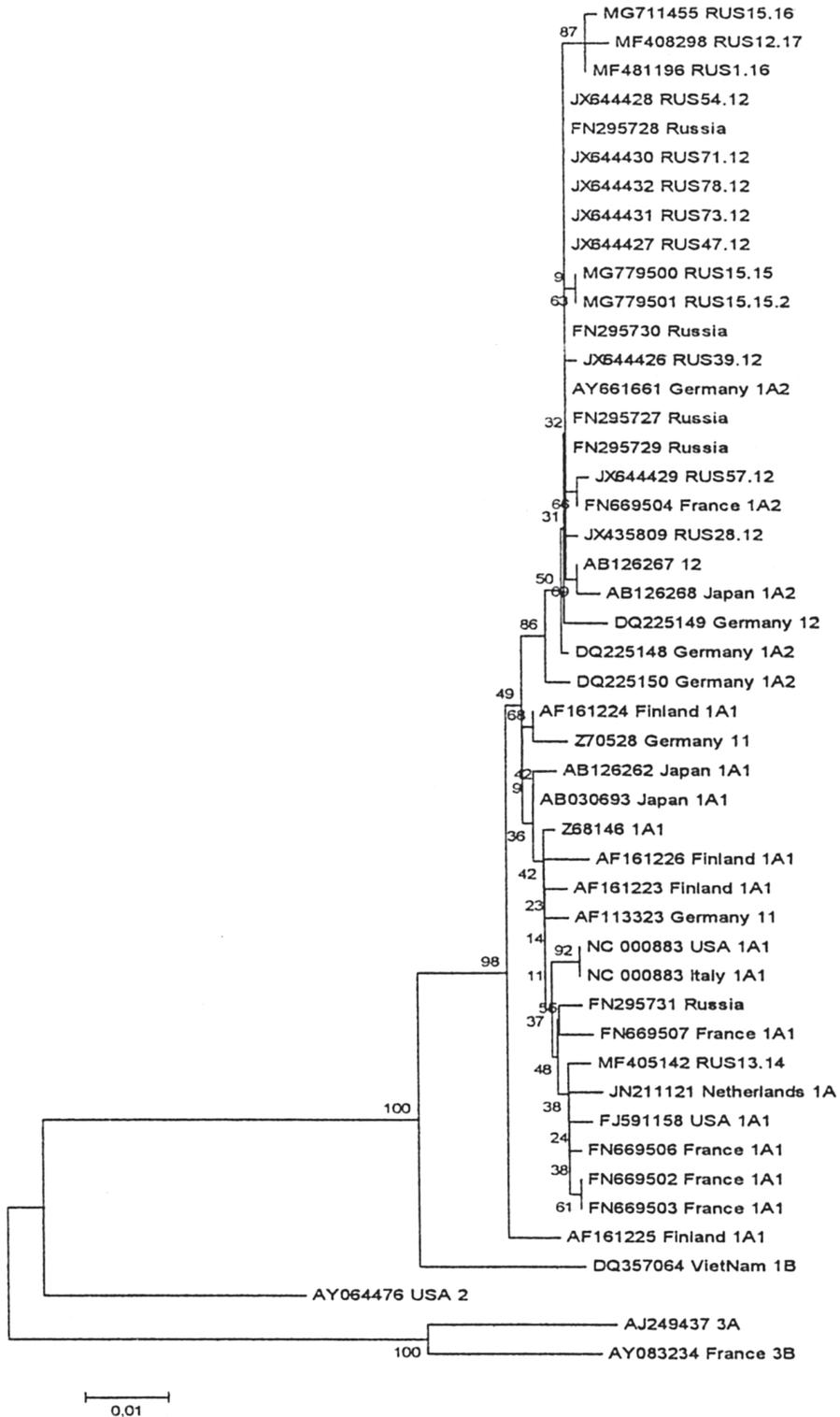
В обследуемом регионе гена NS1 были выявлены аминокислотные замены F554L в изолятах MF481196, MG711455, MF408298, JX644429 и F554S в изоляте MF405142 по сравнению с референсным изолятом NC\_000883. В гене VP1 также были выявлены аминокислотные замены, представленные в табл. 2.

Таблица 1. Мутационные замены в нуклеотидных последовательностях в сравнении с референсным изолятом NC\_000883

№ нуклеотида	2277	2278	2327	2423	2426	2471	2534	2600	2688	2691	2713	2754	2760	2778	2800	2820	2918	2944	2996
<b>Изолят</b>																			
NC_000883	T	T	A	G	G	C	G	G	G	A	C	T	C	T	C	T	A	A	A
JX644429	C								T						T				
RUS57.12																			
MF405142		C	G		A	T	A			G	G		T			C	G	G	
RUS13.14																			
MF481196	C			T				A											
RUS1.16																			
MG711455	C			T				A				C							
RUS15.16																			
MG779500										G									
RUS15.15																			
MG779501										G									
RUS15.15.2																			
MF408298	C			T				A						C					C
RUS12.17																			

Таблица 2. Мутационные замены в аминокислотных последовательностях гена VP1 в сравнении с референсным изолятом NC\_000883

Изоляты	Мутации					
	E14K	Q21H	V30L	S98N	D107N	Q124P
JX644429	Да	Да	Да	Да	Да	-
MF408298	Да	-	Да	Да	Да	Да
MF405142	Да	-	-	-	-	-
MG711455	Да	-	Да	Да	Да	-
MF481196	Да	-	Да	Да	Да	-
MG779501	Да	-	Да	Да	Да	-
MG779500	Да	-	Да	Да	Да	-



Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения между исследованными изолятами парвовируса В19, выделенными от пациентов, проживающих в Северо-Западном федеральном округе, в сравнении с представленными в международной базе данных GenBank референсными последовательностями.

Полученное нами абсолютное преобладание генотипа 1 в обследованной группе согласуется с результатами работ других исследователей, согласно которым генотип 1 является наиболее распространенным геновариантом РVВ19 в мире.

Последовательности, полученные в этом исследовании, тесно связаны с обнаруженными ранее. Так, изолят JX435809, полученный от пациента с сыпью и лихорадкой, характерных для кори и краснухи в 2011 году идентичен изоляту FN825874, выявленному в Витебске, Республика Беларусь, в 2007 году от пациента со схожими симптомами. Изоляты JX644426-JX644428, JX644430-JX644432, идентичны различным изолятам из Республики Беларусь, Германии, Люксембурга и Нидерландов. Изолят JX644429 сходен с описанным в Израиле изолятом FN295680. Изоляты MF405142, MG779500, MG779501 сходны с различными изолятами из Нидерландов и Эстонии, MF481196, MG711455, MF408298 с изолятом из Албании, однако в нуклеотидных последовательностях выявлены уникальные мутации, не представленные в последовательностях, загруженных в GenBank.

Таким образом, были выявлены изоляты, широко представленные по всему миру, а также изоляты, характерные для Северо-Запада Евразийского континента. Все эти случаи были обнаружены в 2010-2011 гг. среди наших пациентов и в 2005-2011 гг. в работах других исследовательских групп, что свидетельствует о продолжающейся вирусной циркуляции. Однако некоторый уровень кластеризации вирусов по годам может указывать на повторные вирусные ввозы или обновляющийся резервуар патогена. Изоляты, выявленные нами в 2014-2017 гг., продемонстрировали уникальные нуклеотидные и аминокислотные замены, не представленные ранее в международной базе GenBank, в том числе единственный изолят, полученный в 2014 году и относящийся к подгруппе В19 1А1. Учитывая, что белки анализируемого региона играют важную роль в репликации вирусной ДНК, вызывая нейтрализацию антител, отвечающих за элиминацию вируса, и индуцируют пожизненный иммунитет, необходимы дальнейшие исследования для выяснения значимости этих мутаций.

Внедрение скрининга В19 от пациентов с лихорадкой/сыпью способно предоставить значимую информацию о распространенности парвовирусной инфекции в Российской Федерации. Выявление новых мутаций вируса и дальнейший анализ их возможных взаимосвязей с течением заболевания мутаций может помочь в разработке лекарств, а также в разработке эффективной вакцины против парвовируса В19.

Систематическое применение молекулярной филогенетики при анализе изолятов парвовируса В19 будет способствовать пониманию эпидемиологии инфекционного процесса, выявлению особенностей распространения вируса и его геновариантов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Broliden K., Tolfvenstam T., Norbeck O. Clinical aspects of parvovirus B19 infection. *J. Intern. Med.* 2006, 260(4): 285-304.
2. Candotti D., Etiz N., Parsyan A. et al. Identification and characterization of persistent human erythrovirus infection in blood donor samples. *J. Virol.* 2004, 78: 2169-2178.
3. Cohen B.J., Gandhi J., Clewley J.P. Genetic variants of parvovirus B19 identified in the United Kingdom: implications for diagnostic testing. *J. Clin. Virol.* 2006, 36(2): 152-155.
4. Duffy S., Shackelton L.A., Holmes E.C. Rates of evolutionary change in viruses: patterns and determinants. *Nat. Rev. Genet.* 2008, 9: 267-276.
5. Gallinella G., Venturoli S., Manaresi E. et al. B19 virus genome diversity: epidemiological and clinical correlations. *J. Clin. Virol.* 2003, 28(1):1-13.
6. Hübschen J.M., Mihneva Z., Mentis A.F. et al. Phylogenetic analysis of human parvovirus B19 sequences from eleven different countries confirms the predominance of genotype 1 and suggests the spread of genotype 3b. *J. Clin. Microbiol.* 2009, 47(11): 3735-3738.
7. Kühl U., Lassner D., Pauschinger M. et al. Prevalence of erythrovirus genotypes in the myocardium of patients with dilated cardiomyopathy. *J. Med. Virol.* 2008, 80(7):1243-1251.
8. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution.* 2016, 33(7):1870-1874.
9. Molenaar-de Backer M.W., Lukashov V.V., van Binnendijk R.S. et al. Global co-existence of two evolutionary lineages of parvovirus B19 1a, different in genome-wide synonymous positions. *PLoS One.* 2012, 7(8): e43206.

10. Norja P., Hokynar K., Aaltonen L.M. et al. Bioportfolio: lifelong persistence of variant and prototypic erythrovirus DNA genomes in human tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006, 103(19):7450-7453.
11. Sanabani S., Neto W. K., Pereira J. et al. Sequence variability of human erythroviruses present in bone marrow of Brazilian patients with various parvovirus B19-related hematological symptoms. *J. Clin. Microbiol.* 2006, 44: 604-606.
12. Servant A., Laperche S., Lallemand F. et al. Genetic diversity within human erythroviruses: identification of three genotypes. *J. Virol.* 2002, 76: 9124-9134.
13. Shackelton L.A., Holmes E.C. Phylogenetic evidence for the rapid evolution of human B19 erythrovirus. *J. Virol.* 2006, 80: 3666-3669.
14. Suzuki M., Yoto Y., Ishikawa A. et al. Analysis of nucleotide sequences of human parvovirus B19 genome reveals two different modes of evolution, a gradual alteration and a sudden replacement: a retrospective study in Sapporo, Japan, from 1980 to 2008. *J. Virol.* 2009, 83:10975-10980.
15. Toan N.L., Duechting A., Kremsner P.G. et al. Phylogenetic analysis of human parvovirus B19, indicating two subgroups of genotype 1 in Vietnamese patients. *J. Gen. Virol.* 2006, 87: 2941-2949.

© Т.Ф.СТЕПАНОВА, 2018

*Т.Ф. Степанова*

## **ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВОГО ПОДХОДА К АНАЛИЗУ АКТИВНОСТИ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА И РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ ПРОФИЛАКТИКИ ПАРАЗИТАРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии

*Цель.* Оценка эффективности разработанного нового подхода к анализу активности эпидемического процесса и результативности профилактики паразитарных заболеваний, опирающегося на систему многоуровневого мониторинга. *Материалы и методы.* Проанализированы данные официального статистического наблюдения за 2010-2016 гг. по всем субъектам Российской Федерации. Для поиска закономерностей в больших объемах данных применена технология Data Mining. *Результаты.* Проведенный анализ позволил охарактеризовать активность эпидемического процесса паразитарных заболеваний на территории России. Применение методов математического моделирования позволило сформировать прогноз заболеваемости/пораженности по результатам санитарно-паразитологических исследований. Выявлены регионы, в которых недостаточное качество санитарно-паразитологических исследований привело к расхождениям фактической и предсказанной пораженности. *Выводы.* Проведенное исследование позволило установить, что разработанный подход эффективен для оценки активности эпидемического процесса и результативности профилактики паразитарных заболеваний, структурирования статистической информации по регионам и нозологиям, выявления тенденций заболеваемости, разработки региональных программ профилактики.

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 61—65

Ключевые слова: анализ активности эпидпроцесса, оценка результативности профилактики паразитарных болезней

*Т.Ф. Степанова*

## **EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF A NEW APPROACH TO THE ANALYSIS OF THE ACTIVITY OF THE EPIDEMIC PROCESS AND THE PERFORMANCE OF PREVENTION OF PARASITARY DISEASES**

Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Russia

*Aim.* Evaluate the effectiveness of the developed new approach to the analysis of the activity of the epidemic process and the effectiveness of the prevention of parasitic diseases, based on a multi-level monitoring system. *Materials and methods.* The data of official statistical observation for 2010-2016 are analyzed for all subjects of the Russian Federation. To search for the regularities in large volumes of data, Data Mining is used. *Results.* The analysis made it possible to characterize the activity of the epidemic process of parasitic

diseases in the territory of Russia. Application of methods of mathematical modeling allowed to form a prognosis of morbidity/affection by the results of sanitary-parasitological studies. The regions in which the inadequate quality of sanitary-parasitological studies led to discrepancies between actual and predicted lesions were identified. *Conclusion.* The conducted study made it possible to establish that the developed approach is effective for assessing the activity of the epidemic process and the effectiveness of preventing parasitic diseases, structuring statistical information by regions and nosologies, identifying trends in morbidity, and developing regional prevention programs.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 61—65

Key words: analysis of epidemiological process activity, evaluation of the effectiveness of parasitic diseases prevention

## ВВЕДЕНИЕ

В качестве Референс-центра по мониторингу за биогельминтозами Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии концентрирует свои усилия на оптимизации системы эпидемиологического надзора за паразитарными болезнями и управления эффективностью вторичной и третичной профилактики нежелательных клинических исходов у пациентов с такой патологией. В основу надзора при этом положен многоуровневый мониторинг и оценка эффективности противоэпидемических и профилактических мероприятий.

Совершенствование надзора и управления профилактикой паразитарных болезней в рамках системного подхода базируется на пяти парадигмах: социально-экологической концепции эпидемического процесса; учении о паразитарных системах; учении о предэпидемической диагностике; основах клинической эпидемиологии и принципах управления Total Quality Management.

Разработан и апробирован новый подход к эпиднадзору за паразитарными заболеваниями, выявлению территорий риска заражения и ключевых проблем, требующих корректирующих действий [2, 3], опирающийся на систему многоуровневого мониторинга, в том числе: изучение популяции паразита во внешней среде и в продуктах питания; изучение популяции хозяина (группы риска заражения); оценка факторов риска заражения в природной и социальной средах; оценка эффективности диагностических, лечебных, профилактических, противоэпидемических (медицинских, ветеринарных, санитарно-гигиенических и организационных) мероприятий; анализ заболеваемости и распространенности паразитарных болезней среди всего населения, отдельных его групп и территорий.

Цель настоящей работы — оценка эффективности указанного подхода к анализу активности эпидемического процесса и результативности профилактики паразитарных заболеваний.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализированы данные официально утвержденных федеральных и отраслевых статистических форм наблюдения за 2010-2016 гг. (формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях»; № 2-10, 2-11, 2-13, 2-15 «Сведения о деятельности лабораторий санитарно-гигиенического, микробиологического и паразитологического профиля федеральных бюджетных учреждений здравоохранения — Центров гигиены и эпидемиологии»). Статистически обработаны данные по диагностике паразитарных заболеваний в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений, полученные в рамках взаимодействия между Референс-центром по мониторингу за биогельминтозами и региональными Управлениями Роспотребнадзора.

Для поиска закономерностей в больших объемах данных применена технология Data Mining с арсеналом статистических методов: дескриптивный анализ и описание исходных данных, анализ связей (корреляционный регрессионный, дисперсионный), многомерный статистический анализ (компонентный, многомерный регрессионный, канонические корреляции и др.) [1, 4, 5]. Статистическая обработка выполнена

лицензионным программным обеспечением SPSS версия 22.0, предназначенным для научных исследований, отвечающих требованиям клинической эпидемиологии.

Рассчитаны показатели, характеризующие тенденции эпидемического процесса в течение длительного периода времени: среднемноголетние показатели паразитарной заболеваемости ( $^0/_{0000}$ ), охват населения копроовоскопическим обследованием (%), обеспеченность населения серологическими исследованиями ( $^0/_{00}$ ), обеспеченность населения санитарно-паразитологическими исследованиями объектов окружающей среды ( $^0/_{00}$ ), пораженность населения паразитарными болезнями ( $^0/_{00}$ ), частота обнаружения антител в сыворотке крови (%), уровень загрязнения объектов окружающей среды (%). Для оценки динамики показателей использовали темп прироста (убыли), выражаемый в процентах.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный анализ позволил охарактеризовать активность эпидемического процесса паразитарных заболеваний на территории России. Показано, что уровень общей паразитарной заболеваемости в Российской Федерации за последние 26 лет снизился с 1300 до 233 (в 5,6 раза), благодаря эффективной системе государственного санитарно-эпидемиологического надзора. Несмотря на эту положительную тенденцию, ситуация по биогельминтозам до сих пор остается сложной. В 2010–2016 гг. 98% всех случаев в структуре общей первичной паразитарной заболеваемости приходилось на пять нозоформ (энтеробиоз, лямблиоз, аскаридоз, описторхоз и дифиллоботриоз).

На основе суммарных нормированных z-значений показателей паразитарной заболеваемости за 2010–2016 гг. регионы РФ распределены по кластерам с высокой, средней, низкой активностью эпидемического процесса. Наиболее высокая активность эпидемического процесса регистрировалась в субъектах Уральского округа (за исключением Челябинской области) и на большинстве территорий Сибирского и Дальневосточного округов, на части территорий Приволжского, Северо-Западного, Северо-Кавказского округов. Самая низкая активность эпидемического процесса отмечалась в большинстве регионов Центрального и Южного округов.

Эколого-паразитологическое состояние среды обитания является одним из основных факторов в распространении паразитарных болезней среди населения. Результаты санитарно-паразитологических исследований играют существенную роль в оценке активности эпидемического процесса паразитозов, так как позволяют определить состояние одного из ключевых элементов — механизма передачи заразного начала — и создать условия для результативного проведения первичной профилактики. В целом по Российской Федерации за 2010–2016 гг. регистрировалось увеличение объемов санитарно-паразитологических исследований (СПИ) объектов окружающей среды (ОЭС), в среднем ежегодно уровень обеспеченности населения этими исследованиями увеличивался на 1,5%.

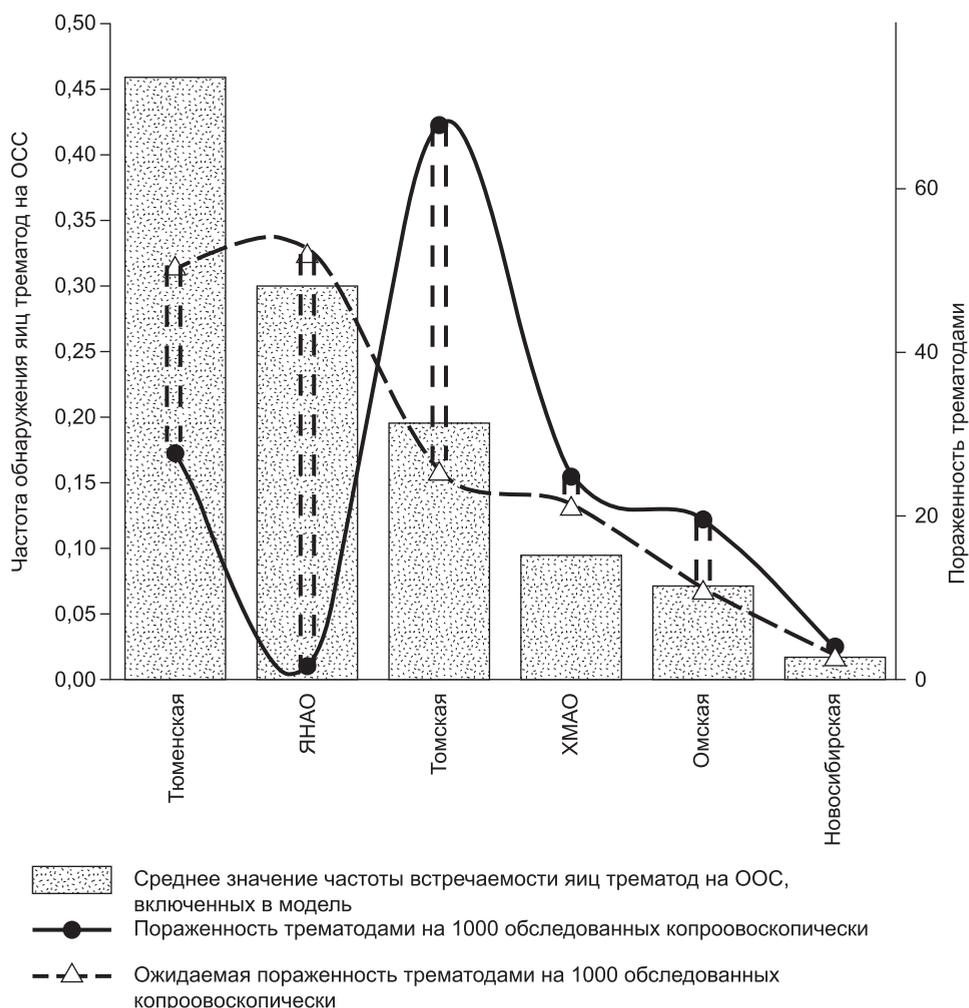
Структура обследованных объектов окружающей среды является одним из главных критериев, влияющих на результативность оценки активности эпидемического процесса паразитарных заболеваний. Более 77% всех СПИ в стране в 2010–2016 гг. приходилось на смывы. На долю проб песка и почвы в среднем приходилось 9,5%, и ежегодно этот показатель снижался в среднем на 1,3%. Удельный вес проб продовольственного сырья и пищевых продуктов также снижался ( $T_{пр} = -0,6\%$ ) и в среднем составлял 5,0%. Доля проб воды (5,9%) ежегодно увеличивалась на 2,3% в основном за счет роста процента исследований воды поверхностных водных объектов ( $T_{пр} = 4,7\%$ ) и плавательных бассейнов ( $T_{пр} = 7,7\%$ ), отмечалось снижение доли проб питьевой воды. Процент проб сточных вод и ила в среднем составил 1,6% и в 2010–2016 г. ежегодно увеличивался на 4,0%.

Количество проб, не соответствующих гигиеническим нормативам (НСГН), в 2010–2016 гг. снижалось с каждым периодом в среднем на 3,7%. Наибольшая частота встречаемости проб НСГН регистрировалась среди проб сточных вод и ила (3,01%) и прочих объектов (2,83%), в убывающем порядке — пробы почвы и песка (1,59%), водных экосистем (1,27%), продовольственного сырья и пищевых продуктов (0,77%),

воды плавательных бассейнов (0,42%), смывов (0,15%) и вод централизованного и нецентрализованного водоснабжения (0,14%).

78,6% всего паразитарного загрязнения объектов окружающей среды обеспечивали возбудители трех нозологий (аскаридоза, энтеробиоза и токсокароза).

Оценка степени детерминированной зависимости между результатами санитарно-паразитологических исследований объектов окружающей среды и уровнем пораженности и/или заболеваемости населения основными паразитарными болезнями позволила сформировать математическую модель прогноза заболеваемости/пораженности населения по данным санитарно-паразитологических исследований. По результатам идентифицированы регионы с существенными расхождениями фактической и предсказанной пораженности. На примере описторхоза показано, что наличие в регионе существенного расхождения между прогнозируемой и реальной пораженностью указывает на проблемы с качеством санитарно-паразитологических исследований: если реальная пораженность существенно выше предсказанной, то информация для предсказания недостаточна, необходимо корректировать объем и виды санитарно-паразитологического мониторинга на данной территории (рис.).



**Оценка детерминированной зависимости между интенсивностью загрязнения объектов окружающей среды яйцами трематод и уровнем пораженности описторхозом в 2010-2016 гг. на территории природного очага (по данным ФБУЗ).**

На территории Томской и Омской областей предсказанная пораженность была ниже фактической, следовательно, на этих территориях требуются корректирующие действия по улучшению качества санитарно-паразитологических исследований.

Генератором дисперсии регионов по регистрируемой заболеваемости служат особые причины, свойственные каждой территории. При этом устойчиво высокая либо стабильно низкая активность эпидемического процесса на отдельных территориях была характерна для большинства паразитарных заболеваний, имеющих разные механизмы заражения, поэтому объяснить синхронно проявляющуюся дисперсию у многих различных инвазий только особенностями взаимодействия паразита и хозяина было невозможно.

Реализуемый подход позволил установить, что уровень заболеваемости, с одной стороны, определяется активностью эпидемического процесса, измеряемого пораженностью населения, а с другой — уровнем охвата населения обследованием и качеством диагностики паразитарных инвазий. Взаимодействие этих факторов создает особые причины, которые на одних территориях обуславливают высокую заболеваемость, а на других — низкую. В ходе оценки детерминированной зависимости между уровнем пораженности, охватом обследованиями и первичной паразитарной заболеваемостью установлено, что, если охват населения обследованием на наличие возбудителей пяти основных паразитарных заболеваний не превышает 5000 эпизодов, а охват иммуноферментными исследованиями составляет 30 эпизодов на 100 тыс. жителей, то при средней пораженности населения (в пересчете на одну нозологию) не выше 2,5 случаев на 1000 обследованных уровень первичной заболеваемости (в пересчете на одну нозологию) будет составлять около 10 случаев на 100 тыс. жителей. Если охват обследованием увеличится до 25 000, а охват иммуноферментными исследованиями возрастет до 4000 на 100 тыс., то при пораженности населения не более 3,7 случаев на 1000 обследованных уровень заболеваемости вырастет в 5 раз и будет составлять (в пересчете на одну нозологию) 50 на 100 тыс. жителей. Таким образом, при одном и том же уровне реальной пораженности населения увеличение охвата обследованиями в 5 раз приводит к росту регистрируемой заболеваемости в 5 раз.

Установлено, что охват обследованием населения на гельминтозы от региона к региону сильно варьирует, при этом в 51% случаев эта дисперсия определялась неодинаковой результативностью работы местных поликлиник. Следовательно, главной особой причиной, определяющей разброс регионов по показателям первичной паразитарной заболеваемости, являлась не разная активность эпидемического процесса, а неодинаковая результативность работы их поликлиник.

Таким образом, проведенное исследование позволило установить, что разработанный подход эффективен для оценки активности эпидемического процесса и результативности профилактики паразитарных заболеваний. Он позволяет структурировать большой объем статистической информации по регионам и нозологиям в динамике, делать ее «прозрачной» и выявлять как общероссийские тенденции заболеваемости, так и ключевые проблемы для отдельных территорий и нозоформ, требующие корректирующих действий. Его применение способствует совершенствованию системы эпидемиологического надзора и управления профилактикой паразитарных болезней, разработке региональных программ профилактики и принятия управленческих решений.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Богатырев С., Симонова А. Введение в добычу данных (Data mining). <https://logic.pdmi.ras.ru/~yura/internet/01ia-seminar-note.pdf>. Дата обращения: 02.10.2017.
2. Степанова Т.Ф., Корначев А.С. Оценка результативности профилактики паразитарных заболеваний в Российской Федерации в 2010–2012 гг. Рекомендации по ее повышению: монография. Тюмень, Изд-во ТюмГУ, 2013.
3. Степанова Т.Ф., Корначев А.С. Подходы к совершенствованию системы надзора и управления эпидемическим процессом паразитарных заболеваний. Тюмень, Изд-во ТюмГУ, 2012.
4. Aggarwal Charu C. Data Mining. The Textbook. Springer International Publishing, 2015.
5. Han J., Kamber M., Pei J. Data Mining: Concepts and Techniques. Morgan Kaufmann Publishers, July 2011. Elsevier, 2012.

Д.В.Ульшина, Е.И.Еременко, Д.А.Ковалев, А.Г.Рязанова, И.В.Кузнецова, Л.Ю.Аксенова, О.В.Семенова, О.В.Бобрышева, Ю.В.Сирица, А.Н.Куличенко

## **ВЫЯВЛЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ МАСС-СПЕКТРОВ БЕЛКОВЫХ ЭКСТРАКТОВ СПОРОВОЙ И ВЕГЕТАТИВНОЙ ФОРМ ВОЗБУДИТЕЛЯ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ МЕТОДОМ ВРЕМЯПРОЛЕТНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ**

Ставропольский противочумный институт

*Цель.* Исследование особенностей белковых профилей споровой и вегетативной форм сибиреязвенного микроба методом MALDI-TOF MS с использованием ресурсов программы Mass-Up и комплекса пакетов для статистического программного обеспечения с открытым исходным кодом R. *Материалы и методы.* Споровая и вегетативная формы 32 штаммов *B. anthracis* из коллекции микроорганизмов Ставропольского противочумного института, в том числе 8 штаммов, выделенных при вспышке сибирской язвы на Ямале в 2016 году. Белковое профилирование проводили на MALDI-TOF масс-спектрометре Microflex «Bruker Daltonics». *Результаты.* Используемый альтернативный биоинформационно-статистический подход для анализа MALDI-TOF масс-спектров возбудителя сибирской язвы позволил дифференцировать споровую и вегетативную формы микроба на основании выявления соответствующих групп биомаркеров. *Заключение.* Проведено сравнение вегетативных и споровых клеток типичных и атипичных штаммов возбудителя сибирской язвы на основании данных MALDI-TOF MS. Экспериментально подтверждено, что белковые профили экстрактов культур сибиреязвенного микроба споровой и вегетативной форм существенно отличаются и это различие можно использовать для поиска потенциальных маркеров каждой из форм.

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 66—72

Ключевые слова: возбудитель сибирской язвы, масс-спектрометрия, белковое профилирование

*D.V.Ulshina, E.I.Eremenko, D.A.Kovalev, A.G.Ryazanova, I.V.Kuznetsova, L.Yu.Aksenova, O.V.Semenova, O.V.Bobrysheva, Yu.V.Siritsa, A.N.Kulichenko*

## **STUDY OF THE MASS-SPECTORS' FEATURES OF SPORES AND VEGETATIVE FORMS OF *BACILLUS ANTHRACIS* BY THE METHOD OF TIME OF FLIGHT MASS-SPECTROMETRY**

Stavropol Research Institute for Plague Control, Russia

*Aim.* Investigation of the features of the protein profiles of the spore and vegetative form of the anthrax microbe by the MALDI-TOF MS method using the resources of the Mass-Up program and the package for the statistical software with open source code R. *Materials and methods.* Spores and vegetative forms of 32 strains of *B. anthracis* from the collection of microorganisms of the Stavropol Research Institute for Plague Control, including 8 strains isolated from an outbreak of anthrax in Yamal in 2016. Protein profiling was carried out on the Microflex MALDI-TOF mass spectrometer «Bruker Daltonics». *Results.* The alternative bioinformational-statistical approach used to analyze the MALDI-TOF mass spectra of the causative agent of anthrax made it possible to differentiate the spores and vegetative forms of the microbe based on the identification of the corresponding groups of biomarkers. *Conclusion.* A comparison of vegetative and spore cells of typical and atypical strains of anthrax causative agent on the basis of MALDI-TOF MS data was made. It has been experimentally confirmed that the protein profiles of cultures of *Bacillus anthracis* of the spore and vegetative form differ significantly, and this difference can be used to search for potential markers of each of the forms.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 66—72

Key words: *Bacillus anthracis*, mass spectrometry, protein profiling

## **ВВЕДЕНИЕ**

Сибирская язва представляет проблему общественного здравоохранения и ветеринарии в силу малой предсказуемости нередких эпизоотических проявлений, часто сопровождающихся заболеваемостью людей. Возбудитель инфекции — *Bacillus anthracis* принадлежит к числу агентов биологического оружия и терроризма, высокий поража-

ющий потенциал которого хорошо известен [7, 9]. Поэтому быстрая и точная индикация и идентификация возбудителя сибирской язвы важна и требует совершенствования методов лабораторного исследования. Молекулярные методы с использованием специфичных генетических маркеров для идентификации микроорганизмов получили широкое распространение, с ними конкурирует по скорости и чувствительности масс-спектрометрический анализ биополимеров, в частности, белков с помощью времяпролетной масс-спектрометрии с лазерно-активируемой матричной десорбцией-ионизацией (MALDI-TOF MS). В настоящее время разработаны приборы, программное обеспечение и базы данных масс-спектров, позволяющие за короткое время с высокой точностью идентифицировать возбудители многих бактериальных инфекций, однако их использование для идентификации особо опасных патогенов затруднено отсутствием в открытом доступе баз данных масс-спектров этих микробов. Другим ограничением этого подхода является необходимость получения чистой вегетативной культуры возбудителя, что требует от одних до нескольких суток в зависимости от вида микроба. В клиническом материале возбудитель сибирской язвы, как правило, присутствует в форме вегетативных клеток, в материале из объектов окружающей среды, например, в почве — в споровой форме. Поскольку в разных фазах роста экспрессируются разные белки, качественные и количественные характеристики масс-спектров в большой степени зависят от того, в какой форме исследуется возбудитель. Тем не менее, по литературным данным, примерно в 50% препаратов вегетативных клеток бацилл группы *Bacillus cereus*, в которую входит *B. anthracis*, обнаруживаются интенсивные пики с массой, соответствующей малым кислоторастворимым белкам спор (SASP), среди которых пик с  $m/z$  6679 специфичен для возбудителя сибирской язвы [2, 8]. По данным ряда авторов специфичны для *B. anthracis* пики в спектрах споровых препаратов отличаются [3, 4, 6]. Различия могут быть связаны с существованием атипичных штаммов, отличающихся по ряду фенотипических и генетических свойств, к которым можно отнести аттенуированные вакцинные штаммы [1].

Оценка масс-спектров с целью идентификации бактерий и грибов методом MALDI-TOF MS проводится с использованием коммерческих платформ BioType<sup>®</sup> (Bruker Daltonics), SARAMIS Vitek-MS (Biomerieux) и Andromas (Andromas SAS). Кроме отсутствия в этих базах данных спектров возбудителей особо опасных инфекций (ООИ), еще одним недостатком этого подхода является недостаточная точность дифференциации близкородственных микроорганизмов [11]. Поэтому предпринимаются усилия, направленные на создание дополнительной библиотеки спектров на основе более совершенного статистического анализа с целью достижения однозначной дискриминации *B. anthracis* от близкородственных бацилл [10]. Описан и другой, достаточно сложный, подход для идентификации возбудителя сибирской язвы методом MALDI-TOF MS, не связанный с применением коммерческих информационных платформ, в котором анализ базы данных проводили на основе модели искусственных нейронных сетей [8].

Таким образом, существует потребность в разработке и применении для идентификации *B. anthracis* доступного и эффективного информационного алгоритма обработки данных MALDI-TOF MS. В связи с неоднозначностью сведений о характеристиках масс-спектров вегетативных и споровых клеток сибирезвездного микроба представляется также актуальным сравнение таковых у набора типичных и атипичных штаммов.

Цель работы — выявление особенностей белковых профилей споровой и вегетативной форм сибирезвездного микроба методом MALDI-TOF MS с использованием ресурсов программы Mass-Up и комплекса пакетов для статистического программного обеспечения с открытым исходным кодом R.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали споровую и вегетативную формы 32 штаммов *B. anthracis* из коллекции микроорганизмов Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора, в том числе 8 штаммов, выделенных при вспышке сибирской язвы на Ямале в 2016 году (табл.).

### Штаммы *Bacillus anthracis*, использованные в работе

Штамм	Дата выделения	Место выделения	canSNP-генотип	Плазмиды
Вирулентные штаммы				
13/39	24.12.1962	Дагестан	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
28/83	15.06.1967	Дагестан	A.Br.Aust94	pXO1 pXO2
30/86	11.08.1967	Дагестан	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
47/28	29.07.1968	Ингушетия	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
48/29	13.08.1968	Ингушетия	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
54/35	23.08.1968	Ингушетия	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
57/38	30.08.1968	Чеченская Р.	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
62/111	17.05.1968	Дагестан	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
71/171	28.01.1969	Сев. Осетия-Алания	A.Br.Aust94	pXO1 pXO2
73/42	20.09.1968	Сев. Осетия-Алания	A.Br.Aust94	pXO1 pXO2
527/141	02.09.1981	Калмыкия	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
611/76_91	13.09.1983	Сев. Осетия-Алания	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
619/42	29.07.1983	Чеченская Р.	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
759/79	16.09.1985	Волгоградская обл.	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
863/217	29.08.1987	Чеченская Р.	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
1020/11	25.07.1992	Карачаево-Черкессия	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
1258	27.09.2004	Ставропольский кр.	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
1265	27.10.2006	Сев. Осетия-Алания	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
1273	15.05.2009	Волгоградская обл.	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
1322	13.08.2013	Ставропольский кр.	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
1337/5875	13.08.2013	Ямало-ненецкий АО	V.Br.001/002	pXO1 pXO2
1339/24	27.07.2016	Ямало-ненецкий АО	V.Br.001/002	pXO1 pXO2
1340/26	27.07.2016	Ямало-ненецкий АО	V.Br.001/002	pXO1 pXO2
1342/12	29.07.2016	Ямало-ненецкий АО	V.Br.001/002	pXO1 pXO2
1345/27	06.07.2016	Ямало-ненецкий АО	V.Br.001/002	pXO1 pXO2
1346/29	08.07.2016	Ямало-ненецкий АО	V.Br.001/002	pXO1 pXO2
Вакцинные штаммы				
71/12	1883	Харьковский университет (Л.С. Ценковский)	A.Br.008/009	pXO1 pXO2
СТИ-1	1940	Санитарно-технический институт (Н.Н. Гинсбург)	A.Br.008/009	pXO1
СТИ-ПР	1985	НИИ противочумный Кавказа и Закавказья (Н.П. Буравцева и др.)	A.Br.008/009	pXO1
Вирулентные штаммы				
Sterne 34F2	1935	Onderstepoort Vet. Res. Inst., Pretoria (Max Sterne) Южно-Афр. Союз	A.Br.001/002	pXO1
55-ВНИИВиМ	1985	ВНИИВиМ (И.А. Бакуллов)	A.Br.008/009	pXO1
Ихтиман	1967	Болгария (Slavtchev R.S.)	не определен	pXO1

Питательные среды, реактивы: сверхчистая вода для масс-спектрометрии — хроматографии (Fluka, Германия), ацетонитрил, степень чистоты «для ВЭЖХ-МС» (Sigma-Aldrich, США), трифторуксусная кислота, > 99 % (Sigma-Aldrich, США),  $\alpha$ -циано-4-гидроксикоричная кислота, степень чистоты «для MALDI-MS» (Bruker Daltonics, Германия), Brain Heart Infusion Agar (BHIA) (Becton Dickinson, США), агар порошок микробиологический, бактериальный тест-стандарт МВТ для внутренней калибровки масс-спектрометра (Bruker Daltonics, Германия).

Вся работа с исследуемым материалом, подозрительным на зараженность микроорганизмами I-II групп патогенности, проводилась в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)».

Для исследования методом MALDI-TOF MS использовали 18 — 24 ч культуры *B. anthracis*, выращенные из отдельной колонии на пластинках BHIA при 37 °С. Для исследования спор *B. anthracis* использовали отмытые в дистиллированной

воде взвеси, полученные после 7-10 суток культивирования возбудителя на агаре Гладстона-Филдса. Суспендировали 1 микробиологическую петлю (№ 1) чистой вегетативной культуры в 300 — 500 мкл дистиллированной воды. При обеззараживании культур возбудителя сибирской язвы 20 мкл полученной взвеси вегетативной культуры или взвеси отмытых спор суспендировали в 80 мкл ТФК, выдерживая при комнатной температуре в течение 5 минут, затем центрифугировали в течение 30 мин при 13000 об/мин. Полученный супернатант переносили в ультрамикроцентрифужный PVDF фильтр с диаметром пор 0,22 мкм, центрифугировали в микроцентрифуге при 13000 об./мин в течение 20 мин.

Фильтрат из нижней части центрифужного ультрафильтра переносили в микропробирку типа Эппендорф и использовали для исследования. Верхнюю и нижнюю составляющие части центрифужного ультрафильтра помещали в дезраствор в соответствии с СП 1.3.3118-13. С полученным фильтратом работали как с обеззараженным материалом.

Обеззараженный образец в количестве 1 мкл помещали на пластину-мишень MS 96 spot Micro SCOUT Plate (Bruker Daltonics, Германия) и высушивали на воздухе. Затем на высушенный образец наносили 1 мкл матрицы, состоящей из  $\alpha$ -циано-4-гидроксикоричной кислоты в растворе, содержащем 500 мкл ацетонитрила, 475 мкл ультрачистой воды и 25 мкл трифторуксусной кислоты, и сушили на воздухе. Таким образом, достигалась гомогенность полученных образцов, что обеспечило высокую воспроизводимость (> 95%) при получении масс-спектров в автоматическом режиме.

Масс-спектры получали в линейном режиме на MALDI-TOF масс-спектрометре Microflex (Bruker Daltonics, Германия) при следующих параметрах: частота лазера 60 Гц, интенсивность лазера 10—50%, время задержки экстракции 110 нс P1E, напряжение первого источника ионов 19,4 kV, второго — 17,3 kV, напряжение фокусирующей линзы 8 kV, напряжение линейного детектора 2,500 kV, диапазон масс 2000—20000 Da. Внутреннюю калибровку ранее указанного диапазона проводили с использованием точных значений масс бактериального тест-стандарта MBT (Bruker Daltonics, Германия). Каждый масс-спектр генерировали из 500 лазерных выстрелов (10×50 лазерных выстрелов с разных позиций каждой капли мишени). Для управления масс-спектрометром, включая установку режимов работы и регистрации масс-спектров, использовали программный пакет flexControl v3.3.64 (Bruker Daltonics, Германия), для предварительной оценки интенсивности и разрешения пиков в спектре — flexAnalysis v 3.3.65. Формирование промежуточных таблиц проводили с использованием программных ресурсов пакета Microsoft Office 2010. Визуализацию и анализ полученных масс-спектров осуществляли с применением прикладных пакетов в статистическом программном обеспечении R (<https://cran.r-project.org/>) и Mass-Up (<http://sing.ei.uvigo.es>).

В качестве маркеров использовали сигналы, p-value которых было <0,05 (Randomization Test of Independence) на основании 10 000 повторений. Различия между выборками считали достоверными при p<0,05. Разделительную способность модели оценивали перекрестной валидацией.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе настоящего исследования были получены и исследованы масс-спектры 32 штаммов *B. anthracis*.

Необработанные масс-спектры для каждого анализируемого бактериального образца в формате исходного расширения преобразовывали, используя пакет для анализа данных спектрометрии MALDIquant, реализованный в среде R, представляющий альтернативу для интерпретации данных MALDI-TOF MS [5]. По итогам преобразований была построена бинарная матрица, учитывающая значение m/Z и интенсивность для каждого сигнала, на основании которой была проведена иерархическая кластеризация штаммов сибирезвездного микроба для двух форм.

Используемое ПО позволяет обнаруживать потенциальные биомаркеры, разрабатывать модели для автоматической классификации исследуемых культур на основании выявления различий в соответствующих спектрах.

Предварительная обработка масс-спектров заключалась в преобразовании интенсивности a.i. (square root method), сглаживании (метод Savitzky-Golay), коррекции базовой линии (метод SNIP), нормализации интенсивности пика (total ion current, TIC), при отношении сигнал-шум равное 3. Выравнивание значений m/Z сигналов проводили на основании пяти реплик каждого образца (intra-sample). В качестве дополнительного этапа фильтрации значимых сигналов от ложных все реплики каждого образца были слиты в единый «суммарный» спектр. Таким образом, из 320 спектров было получено по 32 преобразованных спектра, по одному на каждый образец для споровой, а также для вегетативной формы соответственно.

Воспроизводимость масс-профилей отдельных образцов культур *V. anthracis* была подтверждена серией повторных измерений. При проведении масс-спектрометрического анализа проб, хранившихся до 3 сут при температуре минут 18 °С, изменений основных характеристик сигналов масс-спектров не выявлено.

В данном исследовании мы экспериментально подтвердили предположение о том, что белковые профили экстрактов культур сибирезвездного микроба споровой и вегетативной формы существенно отличаются, и это различие можно использовать для поиска потенциальных маркеров каждой из форм.

Визуализация данных, основанная на использовании метода главных компонент (PCA, principal component analysis) (рис. 1) позволяет группировать анализируемые нами объекты с учетом следующих исходных признаков: отсутствие/присутствие, m/Z и интенсивность сигнала (3-мерное пространство первых трёх главных компонент). Этот метод является одновременно методом понижения размерности (количества измерений) данных. Построенные плоскости проектирования — трехмерный экран нами были расположены таким образом, чтобы обеспечить картину данных с наименьшими искажениями.

В результате применения метода главных компонент к данным MALDI-TOF MS была сформирована таблица, где каждый штамм возбудителя был охарактеризован по трем важным признакам, называемых главными компонентами. Полученная таблица преобразована в график, на котором каждый штамм *V. anthracis* представлен точкой, а вегетативная форма возбудителя (характеризующаяся близкими значениями главных компонент) расположена относительно споровой компактно и дискретно.

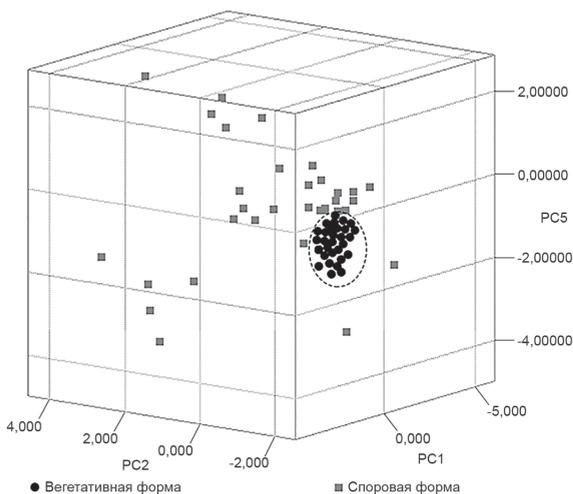


Рис. 1. Диаграмма распределения штаммов *V. anthracis* в вегетативной (маркеры внутри эллипса) и споровой формах по результатам анализа MS профилей методом PCA.

Использование 3D-моделирования средствами PCA для пространственной визуализации представителей *V. anthracis* на основании сходства/различия их белковых профилей имеет важное преимущество — распределение изучаемых объектов в трехмерном пространстве с возможностью динамического изменения угла обзора. В построенной системе координат между представителями штаммов возбудителя в вегетативной форме почти отсутствует дистанция, что привело к их объединению в «облако», напротив, для представителей споровой формы можно отметить рассредоточенность в пространстве. Полученное распределение в полной мере согласуется с результатом анализа с использованием интегрированных инструментов программного

пакета MALDI Biotурег и обусловлено, главным образом, существенно более высоким уровнем представительности и варибельности белковых профилей кислотных экстрактов споровых форм *V. anthracis* по сравнению с вегетативными.

В ходе анализа полученных результатов было показано, что к общим фрагментам для вегетативной и споровой формы можно отнести 6 пиков ( $m/Z \pm 5$  Da): 2229, 2285, 3348, 3590, 4033, 6444. Для вегетативной формы сибирезавенного микроба были определены следующие сигналы ( $m/Z \pm 5$  Da): 2011, 2482, 2600, 2728, 2859, 3149, 3188, 3263, 3320, 3433, 3557, 3652, 3691, 3901, 4210, 4623, 4759, 4829, 4884, 5204, 5460, 5634, 6278, 6378, 6524, 6869, 7116, 7384, 7802, 8088, 9227, 9659, 9755. В качестве аналитически значимых сигналов споровой формы *V. anthracis* выступали следующие фрагменты ( $m/Z \pm 5$  Da): 2024, 2131, 2354, **2503** [6], **2528** [4], 3116, 3376, 3679, 4055, 4086, 4397, 4791, **6698** [6], 6726, 6897, 7479, 9829.

Максимальное количество пиков отмечено при масс-спектрометрии вегетативных клеток — всего 39, из них характерных только для этой формы *V. anthracis* было 33. Анализ масс-спектров экстрактов спор позволил обнаружить 23 пика, из которых спороспецифичных было 17. Общие для вегетативной и споровой формы пики составляли небольшую долю: 6 от общего количества — 56 пиков.

По результатам масс-спектрометрии вегетативных и споровых форм штаммов возбудителя сибирской язвы проведен кластерный анализ (рис.2). В дендрограммах отчетливо видно разделение всех штаммов на две главные группы — А и В. Группы

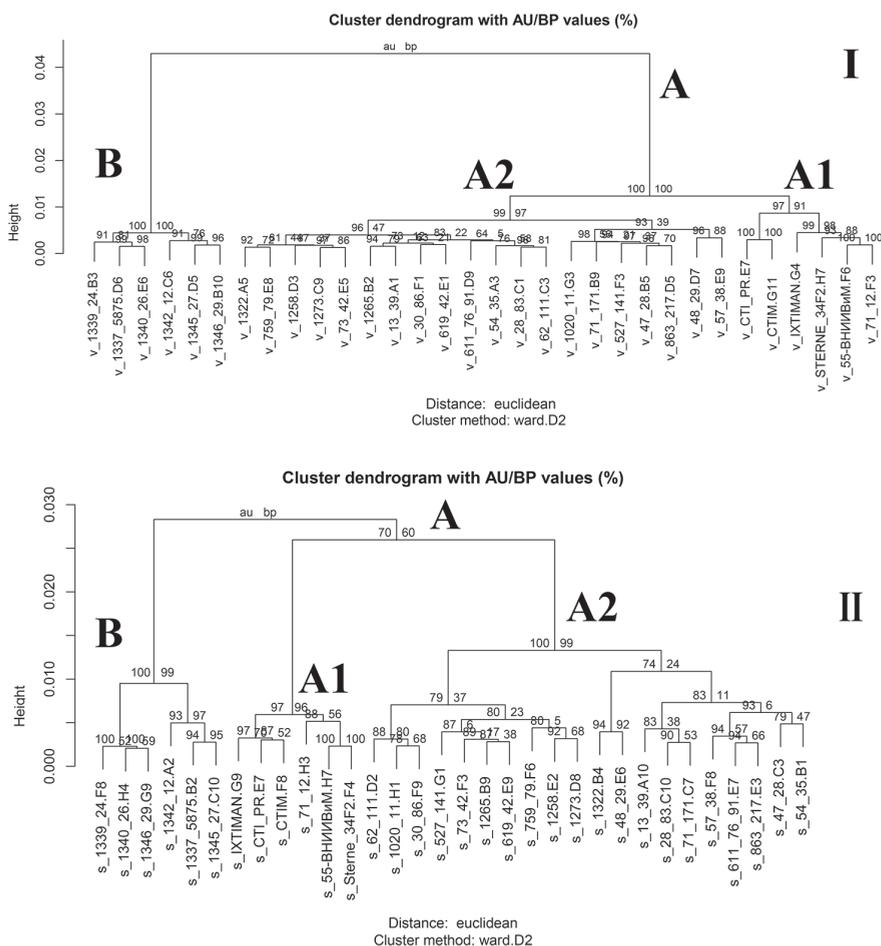


Рис. 2. Кластерный анализ результатов масс-спектрометрии вегетативных и споровых форм *Bacillus anthracis*. I — вегетативная форма, II — споровая форма.

В составляют выделенные от людей, оленей и из материала из окружающей среды в 2016 году на Ямале штаммы. Независимо от формы, это разделение соответствует наблюдаемому при филогенетическом анализе на основании SNP и MLVA генотипирования выделенных на территории Российской Федерации штаммов *B. anthracis*. Кроме того, примечательно выделение всех вакцинных штаммов в отдельную подгруппу A1 в составе главной группы А.

Таким образом, успешно применен новый биоинформационно-статистический подход для анализа MALDI-TOF масс-спектров возбудителя сибирской язвы, который позволил дифференцировать спорую и вегетативную формы микроба на основании выявления соответствующих групп биомаркеров. Кроме того, он обеспечивает достаточную внутривидовую дискриминирующую способность, подтверждаемую кластеризацией штаммов, соответствующей достигаемой при филогенетической оценке родства на основе генетического типирования.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Еременко Е.И., Рязанова А.Г., Цыганкова Е.А., Цыганкова О.И., Куличенко А.Н. Генотипические особенности штаммов *Bacillus anthracis* с разным проявлением признаков, ассоциированных с патогенностью. Проблемы особо опасных инфекций. 2010, 104:53-56.
2. Castanha E.R., Fox A., Fox K.F. Rapid discrimination of *Bacillus anthracis* from other members of the *B. cereus* group by mass and sequence of “intact” small acid soluble proteins (SASPs) using mass spectrometry. *J. Microbiol. Methods*. 2006, 67(2):230-240.
3. Dybwad M., van der Laaken A.L., Blatny J.M. et al. Rapid Identification of *Bacillus anthracis* Spores in Suspicious Powder Samples by Using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization—Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS). *Applied and Environmental Microbiology*. 2013, 79(17): 5372-5383.
4. Elhanany E., Barak R., Fisher M. et al. Detection of specific *Bacillus anthracis* spore biomarkers by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2001, 15(22):2210-2216.
5. Gibb S., Strimmer K. Mass spectrometry analysis using MALDIquant. *Statistical Analysis of Proteomics, Metabolomics, and Lipidomics Data Using Mass Spectrometry*. Springer. Cham. 2017:101-124.
6. Jeong Y.S., Lee J., Kim S.J. Discrimination of *Bacillus anthracis* Spores by Direct in-situ Analysis of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry. *Bull. Korean Chem. Soc.* 2013, 34(9):2635-2639.
7. Jernigan D.B., Raghunathan P.L., Bell B.P. et al. Investigation of Bioterrorism-Related Anthrax, United States, 2001: Epidemiologic Finding, *Emerging Infectious Diseases*. 2002, 8(10):1019-1028.
8. Lasch P., Beyer W., Nattermann H. et al. Identification of *Bacillus anthracis* by Using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization—Time of Flight Mass Spectrometry and Artificial Neural Networks. *Applied and Environmental Microbiology*. 2009: 7229-7242.
9. Meselson M., Guillemin J., Hugh-Jones M. et al. The Sverdlovsk anthrax outbreak of 1979. *Science*. 1994, 266(5188):1202-1208.
10. Pauker V.I., Thoma B.R., Grass G. et al. Improved discrimination of *Bacillus anthracis* from Closely Related Species in the *Bacillus cereus sensulato* Group based on MALDI-TOF Mass Spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 2018, doi: 10.1128/JCM.01900-17.
11. Theel E. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for the Identification of Bacterial and Yeast Isolates. *Communique Mayo Medical Laboratories*. January 2013.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

*Т.И.Твердохлебова<sup>1</sup>, О.С.Думбадзе<sup>1</sup>, Л.А.Ермакова<sup>1</sup>, Е.В.Ковалев<sup>2</sup>, А.В.Алешукина<sup>1</sup>, С.А.Нагорный<sup>1</sup>, К.Х.Болатчиев<sup>3</sup>, И.В.Хуторянина<sup>1</sup>*

## СИТУАЦИЯ ПО ЛАРВАЛЬНЫМ ГЕЛЬМИНТОЗАМ НА ЮГЕ РОССИИ И ОПТИМИЗАЦИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА НИМИ

<sup>1</sup>Ростовский-на-Дону НИИ микробиологии и паразитологии; <sup>2</sup>Управление Роспотребнадзора по Ростовской области, Ростов-на-Дону; <sup>3</sup>Управление Роспотребнадзора по Карачаево-Черкесской Республике, Черкесск

В статье представлены результаты деятельности Ростовского научно-исследовательского института микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора, направленной на изучение ситуации и оптимизацию эпидемиологического надзора за ларвальными гельминтозами, актуальными для

юга России: эхинококкозом, трихинеллезом, дирофиляриозом и токсокарозом. Внедрение усовершенствованной системы эпидемиологического надзора за трихинеллезом привело к отсутствию случаев заболевания населения Южного и Северо-Кавказского федеральных округов в 2017 году. Оптимизация профилактических мероприятий позволила снизить в 2017 году заболеваемость эхинококкозом населения в наиболее неблагоприятной территории по эхинококкозу — Республике Карачаево-Черкесия в 3 раза по сравнению с 2009 годом. Результаты санитарно-паразитологических исследований — важнейшей составляющей эпидемиологического надзора — свидетельствуют о наличии потенциального риска заражения населения возбудителями паразитозов через объекты окружающей среды юга России. Итогом деятельности сотрудников института совместно с органами и организациями Роспотребнадзора и других ведомств по совершенствованию эпидемиологического надзора явилась разработка за период 2013-2018 гг. 12 нормативных и методических документов по вопросам диагностики, эпидемиологического надзора и профилактики паразитарных заболеваний.

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 72—80

Ключевые слова: эпидемиологическая ситуация, эпидемиологический надзор, ларвальные гельминтозы, эхинококкоз, трихинеллез, дирофиляриоз, токсокароз

*T.I.Tverdokhlebova<sup>1</sup>, O.S.Dumbadze<sup>1</sup>, L.A.Ermakova<sup>1</sup>, E.V.Kovalev<sup>2</sup>, A.V.Aleshukina<sup>1</sup>, S.A.Nagorniy<sup>1</sup>, K.Kh.Bolatchiev<sup>3</sup>, I.V.Hutoryanina<sup>1</sup>*

## **SITUATION ON LARVAL HELMINTHOSIS IN THE SOUTH OF RUSSIA AND OPTIMIZATION OF EPIDEMIOLOGICAL SURVEILLANCE FOR THEM**

<sup>1</sup>Rostov-on-Don Research Institute of Microbiology and Parasitology; <sup>2</sup>Administration of Rospotrebnadzor of Rostov Region, Rostov-on-Don; <sup>3</sup>Administration of Rospotrebnadzor of Karachay-Cherkess Republic, Cherkessk, Russia

The article presents the results of the investigations of Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology of Rospotrebnadzor which are directed towards the optimization of epidemiological surveillance of the larval helminthes infestations which are actual for the South of Russia: echinococcosis, trichinosis, dirofilariosis and toxocarasis. The implementation of the improved system of epidemiological surveillance of trichinosis has led to the absence of this disease cases among the population of the South and North-Caucasian federal districts in 2017. The optimization of preventive measures allowed to reduce the echinococcosis morbidity of the population in 2017 in the most unfavourable for echinococcosis region — Republic of Karachay-Cherkessia — twice compared to 2009. The results of sanitary—parasitological investigations — the most important part of epidemiological surveillance — indicate the potential risk of the population's infestation with parasitic pathogens through the objects of the environment in the South of Russia. The work of the researchers of the Institute together with the organizations of Rospotrebnadzor and other departments on the improvement of epidemiological surveillance resulted in the development of 12 standard and methodical and informative and methodical documents for the period of 2013-2018.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 72—80

Key words: epidemic situation, epidemiological surveillance, larval helminthosis, echinococcosis, trichinosis, dirofilariosis, toxocarasis

Стремительно меняющиеся социально-экономические условия жизни населения увеличили многообразие стоящих перед эпидемиологической наукой и практикой задач, от успехов решения которых зависит сохранение здоровья нации [8]. Одной из таких задач является оптимизация системы эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными заболеваниями в различных регионах страны. Многочисленность видов паразитарных болезней, разнообразие путей и факторов их передачи указывают на необходимость постоянного совершенствования системы эпиднадзора с учетом местных природно-климатических условий жизни и хозяйственной деятельности населения [8, 11].

Несмотря на сохраняющуюся тенденцию к снижению выявления заболеваемости паразитарными заболеваниями, они продолжают занимать одно из ведущих мест в структуре инфекционной патологии. В 2017 году в Российской Федерации суммарно зарегистрировано 317 321 случаев паразитарных болезней, показатель заболеваемости составил 216,3 на 100 тыс. населения. В структуре паразитарных заболеваний

на долю гельминтозов традиционно приходится около 90% (в 2017 году — 86,0%). Среди них особая роль принадлежит ларвальным, или тканевым гельминтозам. К этой группе относятся гельминтозы, при которых основные патологические процессы реализуются не только в кишечнике человека, но и в различных органах и тканях (легкие, печень, мышцы, головной мозг и др.). Многообразные механизмы заражения и особенности клинических проявлений, обусловленные поражением различных органов и систем, объективные трудности лабораторной диагностики зачастую препятствуют своевременной диагностике, в том числе эпидемиологической, а также лечению этих инвазий, что может привести к развитию серьезных осложнений, а иногда и к смерти заболевшего. Это и ubicвитарное распространение, высокий риск потенциального заражения определяют их социальную и экономическую значимость [3, 4]. Приказами Роспотребнадзора № 88 от 17.03.2008 и № 1116 от 01.12.2017 г. на базе Ростовского НИИ микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора создан Референс-центр по мониторингу за ларвальными гельминтозами.

Среди ларвальных гельминтозов наиболее социально-значимым является эхинококкоз. Социально-экономическая значимость эхинококкоза обусловлена развитием необратимых осложнений, которые приводят к длительной утрате трудоспособности, инвалидизации и летальности, значительным числом резидуальных и рецидивных форм, требующих оказания высокотехнологичной хирургической помощи, в том числе при редких локализациях (эхинококкоз сердца, головного и спинного мозга и т.д.). В период 1995-2017 г. в Российской Федерации зарегистрировано более 10 000 случаев эхинококкоза человека. Анализ данных официальной статистической отчетности показал, что в последние годы заболеваемость населения данным гельминтозом увеличилась в сравнении с 1995 г. в 3-4 раза (от 0,1 в 1995 г. до 0,3-0,4 на 100 тыс. нас. в 2016-2017 гг.).

Наибольшее число случаев эхинококкоза стабильно регистрируется на территориях Северо-Кавказского и Приволжского федеральных округов, превышая в 2-3 раза среднефедеральный уровень. Среди субъектов Российской Федерации в ЮФО эхинококкоз наиболее часто регистрируется в Астраханской области и Республике Калмыкия. Высокие показатели заболеваемости эхинококкозом на территориях СКФО обеспечиваются, в первую очередь, за счет Республик Карачаево-Черкессия, Дагестан и Кабардино-Балкария, где структура населения в большей степени представлена жителями сельской местности, занятыми в сфере отгонного животноводства [2]. Особую тревогу вызывают высокие показатели заболеваемости данным гельминтозом детей на Северном Кавказе. Так, в Карачаево-Черкессии этот показатель выше среднероссийского в 8 раз, Республике Дагестан — в 6 раз, Кабардино-Балкарии — в 5 раз. С учетом длительности бессимптомного периода при данном гельминтозе высокие показатели заболеваемости детского населения территорий отражают степень эпидемической опасности природных и синантропных очагов инвазии.

Одним из составляющих элементов эпидемиологического надзора за эхинококкозом и другими ларвальными гельминтозами является сероэпидемиологический мониторинг. При обследовании 5194 условно здоровых лиц на территориях Ростовской и Астраханской областей, Краснодарского края, Республики Адыгея, Карачаево-Черкессии и Чечни с 2011 по 2017 гг. отмечено, что, в среднем, доля серопозитивных лиц составила 2,71%, варьируя от 0,57% в Чеченской Республике, до 5,75% в Астраханской области [5].

Пораженность эхинококкозом различных сельскохозяйственных животных (крупный и мелкий рогатый скот, свиньи) в разные годы колебалась на различных административных территориях Карачаево-Черкесской Республики от 0,78 до 19,6% [2]. Экстенсивность их инвазии не всегда коррелировала с показателями заболеваемости людей.

Анализ эпидемиологической и эпизоотологической ситуации в Карачаево-Черкесской Республике позволил определить круг задач первостепенной важности в деле организации и проведения противоэпидемических и профилактических мероприятий: Детальная разработка методики межведомственного взаимодействия органов исполнительной власти, здравоохранения, ветеринарной службы и органов и организаций Роспотребнадзора Республики с целью обеспечения более тесного

контакта в вопросах профилактики эхинококкоза. Активизация работы эхинококкового Центра, созданного на базе хирургического отделения Республиканской больницы в 2003 году. Активизация разъяснительной работы среди населения, направленной на повышение уровня его санитарной культуры и касающейся, прежде всего, строгого соблюдения правил уоя сельскохозяйственных животных и категорического запрета на использование ливера больных сельскохозяйственных животных в корм домашним и приотарным собакам. Тщательная обработка употребляемой в пищу плодовоовощной и растительной продукции. Строительство типовых убойных пунктов, скотомогильников. Дегельминтизация домашних и приотарных собак, отлов бродячих собак. Подготовка проекта методических указаний «Эпидемиологический надзор за эхинококкозами». Внедрение вышеперечисленного комплекса мероприятий привело к снижению в 2017 г. заболеваемости эхинококкозом населения Карачаево-Черкессии в 3 раза по сравнению с 2009 г.

Несмотря на положительную динамику эпидемиологической ситуации по однокамерному эхинококкозу вызывает тревогу появление случаев альвеококкоза (многокамерный эхинококкоз) на территории юга России, ранее свободной от данной инвазии. В октябре 2016 года на территории Республики Калмыкия был выявлен первый за многие десятилетия случай аутохтонного альвеококкоза печени у женщины 46 лет, что, по-видимому, обусловлено увеличением популяции красной лисицы (окончательного хозяина возбудителя) и что создает неблагоприятный прогноз по данной инвазии на территории юга России. При диагностике инвазии у данной больной мы использовали метод иммунного блоттинга, позволивший выявить белки, специфичные для многокамерного эхинококкоза. Полученные предварительные результаты свидетельствуют о специфичности данной реакции и необходимости ее дальнейшего изучения и применения. Результаты проведенных исследований по совершенствованию эпиднадзора за эхинококкозом на территориях юга России и других территориях легли в основу разработанных нами совместно с сотрудниками органов и организаций Роспотребнадзора ряда субъектов Российской Федерации МУ «Эпидемиологический надзор за эхинококкозами».

Не менее социально-значимым ларвальным гельминтозом является трихинеллез. За период 1995-2017 гг. в Российской Федерации зарегистрировано около 7500 случаев трихинеллеза. Показатель заболеваемости колебался в различные годы от 0,02 (2013 г.) до 0,7 на 100 тыс. нас. (1995-1996 гг.). В последние годы (2010-2017 гг.) в Российской Федерации, благодаря проводимым профилактическим и противоэпидемическим мероприятиям, он поддерживается на относительно низком уровне (0,02-0,15 на 100 тыс. нас.). В 2017 г. показатель заболеваемости данным гельминтозом составил 0,04 на 100 тыс. населения, что более чем в 2 раза ниже показателя 2016 г. Наиболее высокий уровень регистрировали в 2016-2017 гг. в Сибирском и Дальневосточном федеральных округах, на которые приходилось более 60% всех случаев инвазии. Максимальная заболеваемость по стране была отмечена в 2016 г. в Иркутской области (1,53 на 100 тыс. нас.).

Высокие показатели заболеваемости имели место на территориях, где широко развита промысловая и любительская охота на диких животных и в рационе питания жителей преобладали продукты охоты. Если 30-40 лет тому назад основным источником заражения трихинеллезом служило мясо домашней свиньи, то в последние годы значительно вырос удельный вес мяса диких животных. По данным Роспотребнадзора, мясо домашних животных как фактор заражения трихинеллезом людей составило в 2016 г. 48%, мясо диких животных (медведя, кабана, барсука) — 42% и мясо бродячих собак — 10%. За последние 10 лет трихинеллез, связанный с употреблением мяса собак (более 100 случаев), зарегистрирован в 9 субъектах Российской Федерации, в том числе Хабаровском крае, Амурской области, Еврейской автономной области.

До 2004 г. 30 % всех случаев заболевания трихинеллезом в Российской Федерации приходилось на долю Северного Кавказа. Сотрудниками ФБУН «Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, начиная с 80-х годов прошлого столетия, была изучена валидность трихинелл, паразитирующих у животных Северного Кавказа, факторы патогенности возбудителей инвазии, состояние имму-

нитета у больных и реконвалесцентов, особенности эпидемиологии инвазии в зависимости от социально-экономических преобразований в стране. Была усовершенствована иммунологическая диагностика трихинеллеза путем разработки технологии получения культурального (эксреторно-секреторного) антигена из мышечных личинок *Trichinella spiralis* и на его основе — трихинеллезного диагностикума. Изучена динамика выявления антигенов в различных биологических субстратах и экспериментально обоснована возможность разработки способов ранней иммунодиагностики трихинеллеза для выявления антигенов трихинелл. Изучена динамика формирования и длительность сохранения IgM, IgG, IgE у больных трихинеллезом в зависимости от тяжести течения болезни, источника инвазии, а также у реконвалесцентов. Показано, что антитела сохраняются у реконвалесцентов в течение 18 лет (период наблюдения).

Результаты сероэпидемиологических и патоморфологических исследований показали широкое распространение на юге России бессимптомных форм трихинеллеза и превышение истинного уровня заболеваемости населения региона над официально регистрируемым. На основании результатов иммунологического обследования лиц, употреблявших инвазированное мясо, но не заболевших, определено соотношение манифестных и бессимптомных форм трихинеллеза, которое составляет в Ростовской области 1:1,5, в Краснодарском крае — 1:2 и в Республике Северная Осетия-Алания — 1:8.

Впервые разработаны критерии оценки уровня эндемичности очагов трихинеллеза и предложены их классификация, разработаны критерии оценки степени эпидемической опасности территории Северного Кавказа и проведено ландшафтно-географическое районирование по данному гельминтозу. Выделены умеренно опасные, опасные и чрезвычайно опасные территории. Было установлено, что зараженность трихинеллами домашних свиней индивидуального сектора, являющихся основным источником заражения населения юга России, колебалась от 0,01% (Кабардино-Балкария, Ростовская область) до 1,4% (Северная Осетия-Алания) и была значительно выше таковой в государственном секторе (0,0033–0,034%). Высокая экстенсивность инвазии у свиней была отмечена в районах, расположенных в лесостепной и горнолесной ландшафтных зонах (4,6% и 6,3% в Дигорском районе республики Северная Осетия-Алания и Туапсинском районе Краснодарского края соответственно).

Показано, что важным звеном в эпизоотологической цепи трихинеллеза в эндемичных очагах являются, наряду с домашними свиньями, кошки, собаки и мышевидные грызуны, о чем свидетельствует высокая их инвазированность. Экстенсивность инвазии у кошек колебалась на различных территориях региона от 4,8% до 25,6%; собак — от 6,4% до 15,2%; крыс — от 2,0% до 4,8% и у мышевидных грызунов — от 1,3% до 3,2%. Высокая зараженность трихинеллами перечисленных видов животных дает основание рассматривать их как индикаторных при проведении эпизоотологической и эпидемиологической разведки на трихинеллез. Среди животных природного биоценоза горно-лесной зоны Краснодарского края трихинеллез был выявлен у бурых медведей в 83,3%; волков — 33,3%; шакалов — 22,7%; рыжих лисиц — 20,0%; енотовидных собак — 17,9%; диких котов — 12,5%; кабанов — 4,9%, что свидетельствует о высокой напряженности у них эпизоотического процесса [12, 13]. Проведенные исследования по изучению видового состава трихинелл, паразитирующих у диких и домашних животных Северного Кавказа, показали, что у них циркулирует, преимущественно, популяция капсулообразующего вида *T.spiralis* и именно она определяет особенности эпизоотического и эпидемического процессов на этой территории [13].

Итогом проведения исследований явилась разработка усовершенствованной системы эпидемиологического надзора за трихинеллезом на юге России, которая включает следующий комплекс мероприятий: разработку законодательных актов, показателей информационного обеспечения для проведения сероэпидемиологического и эпизоотологического мониторинга, алгоритма эпидемиологического обследования очага трихинеллеза и территории его выявления; эпидемиологическую диагностику на основании оценки уровня эндемичности очагов и степени эпидемической опасности территорий по данным анализа заболеваемости и сероэпидемиологического обследования населения; разработку профилактических мероприятий и оценку эпидемиологической и экономической эффективности проведенных мероприятий [13, 14].

Внедрение усовершенствованной системы эпидемиологического надзора за трихинеллезом на юге России привело к снижению заболеваемости населения Ростовской области, Краснодарского края и Республики Северная Осетия-Алания в 2010–2017 гг. в 10–50 и более раз по сравнению со среднегодовым показателем в 1995–2003 гг. В ЮФО и СКФО с 2011 по 2016 гг. регистрировалось всего по 2–6 случаев (0,01–0,04 на 100 тыс. нас.) инвазии. В 2017 г. на территориях округов не зарегистрировано ни одного случая трихинеллеза. По данным сероэпидемиологического обследования населения ряда территорий юга России также отмечено снижение доли серопозитивных лиц в 2010–2016 гг. в 5–10 раз по сравнению с 1985–1990 гг., которая находилась в пределах 0,2–0,7%. Система эпидемиологического надзора за трихинеллезом легла в основу разработанных совместно с органами и организациями Роспотребнадзора МУ 3.2.3163–14 «Эпидемиологический надзор за трихинеллезом».

Юг России является также и зоной устойчивого риска передачи возбудителей дирофиляриоза. По данным территориальных ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, в Российской Федерации за период с 1997 по 2017 гг. выявлено 1846 случаев дирофиляриоза. Наибольшее их число до 2015 г. отмечено в Ростовской (242 случая), Нижегородской (129), Волгоградской (93) областях и в г. Москве (54). В 19 субъектах России дирофиляриоз не регистрировался. В последние годы наблюдается тенденция снижения числа выявленных случаев дирофиляриоза в ранее традиционных для болезней южных регионах России (ЮФО и СКФО) и одновременный рост в зоне умеренного климата (ЦФО и ПФО). На наш взгляд, это обусловлено аномально жарким и сухим летом в южных регионах страны, начиная с 2010 г., что привело к значительному сокращению популяции комаров [1, 7, 9, 10, 17, 18]. Также в последние годы ряд авторов отмечает расширение ареала распространения дирофиляриоза в более северном направлении, вплоть до 55–57° градуса северной широты [9, 10, 19]. С 2014 г. дирофиляриоз включен в число заболеваний, подлежащих обязательной регистрации. Ежегодно в России регистрируется от 70 до 130 случаев инвазии. По данным официальной статистики, в 2017 г. в Российской Федерации было зарегистрировано 122 случая инвазии, из которых 18 — в ЮФО. В СКФО случаев дирофиляриоза зарегистрировано не было. В структуре больных с паразитарными инвазиями в клинике инфекционных и паразитарных болезней нашего института доля больных дирофиляриозом составляет в среднем 8%.

Неблагоприятная эпидемиологическая ситуация по дирофиляриозу обусловлена широкой миграцией домашних и служебных собак, в структуре гельминтозов которых данная инвазия в настоящее время занимает лидирующее место. Экстенсивность инвазии собак в Ростовской области достигала 22%, в Новгородской области — 18%, в Республике Крым — 6%. Если 15 лет назад у собак диагностировали, в основном, *Dirofilaria repens*, то в последние годы чаще выявляется *Dirofilaria immitis*. Так, при обследовании с помощью ПЦР 40 собак последовательности ДНК, соответствующие *D. repens*, обнаружены у 40% животных (16 особей), *D. immitis* — у 27,5% (11), ДНК обоих видов паразитов — у 32,5% [6, 7]. По данным энтомологического мониторинга зараженность комаров микрофиляриями на различных территориях Российской Федерации варьировала в разные годы от 0,01% до 13,6%. На территориях устойчивого риска передачи инвазии, в частности, в Ростовской области, среднепогодные показатели зараженности комаров рода *Aedes* составили 5,0%, *Culex* — 4%, *Anopheles* — 0,5% [6].

Сотрудниками института разработана технология получения очищенного соматического антигена из неполовозрелых самок *D. repens* и *D. immitis*. С помощью РОК анализа установлена их эффективность при диагностике дирофиляриоза методом ИФА с целью выявления IgG. Благодаря оснащению института высокотехнологичным оборудованием в рамках научного обеспечения мероприятий по повышению эффективности мониторинга за ларвальными гельминтозами впервые применен протеомный анализ (MALDI-TOF MS) для таксономической дифференциации нематод на примере дирофилярий и аскарид. Результаты исследования белкового профиля *D. immitis* и *D. repens* показали перспективность использования данного метода для диагностики дирофиляриоза. Полученные данные могут быть использованы для создания эталонных масс-спектров, что позволит проводить идентификацию не

только целых, но и поврежденных образцов гельминтов методом MALDI-TOF MS и в значительной степени упростить верификацию диагноза при минимальных материальных, временных и трудовых затратах [6, 17].

Данные по эпидемиологическому, эпизоотологическому и энтомологическому мониторингу за дирофиляриозом на юге России использованы нами и коллективом авторов при пересмотре МУ 4.1.3464-17 «Профилактика дирофиляриоза».

Актуальным для юга России является также и токсокароз — ларвальный гельминтоз, основным источником заражения которым служат, как при дирофиляриозе и эхинококкозе, животные семейства псовых. С начала официальной регистрации (1991 г.) отмечен рост уровня заболеваемости токсокарозом населения Российской Федерации от 0,03 в 1991 г. до 1,57 в 2017 г. Значительную часть заболевших составляют дети дошкольного возраста, страдающие геофагией. Анализ статистических данных по заболеваемости токсокарозом в субъектах Российской Федерации демонстрирует выраженную мозаичность, в том числе на территориях со сходными климатическими и ландшафтно-географическими условиями. В ряде субъектов токсокароз практически не регистрируется на протяжении нескольких лет. Это связано не с благополучной санитарно-эпидемиологической обстановкой по данному гельминтозу, а скорее всего — с неудовлетворительной его клинической и лабораторной диагностикой. Наиболее высокий уровень заболеваемости токсокарозом отмечен в Приволжском, Уральском и Сибирском федеральных округах, где имеет место превышение среднефедерального показателя в 2-3 и более раз.

В отличие от названных территорий среднесезонные показатели заболеваемости токсокарозом в ЮФО и СКФО за период 2006-2017 гг. составили 0,66 и 1,0 на 100 тыс. нас., что в 1,5-2 раза ниже такового в целом по Российской Федерации. Однако данный гельминтоз заслуживает особого внимания на юге России в связи с высокой контаминацией яйцами токсокар объектов окружающей среды за счет значительной пораженности данным гельминтозом собак (от 16 до 30%) и, как следствие, высокой серопозитивностью населения региона [16]. При сероэпидемиологическом обследовании на токсокароз жителей юга России доля позитивных лиц варьировала от 13,8% в Чеченской республике до 47% в Республике Адыгея, что свидетельствует о высокой степени контакта населения с возбудителем данного гельминтоза и дает основание предполагать, что истинный уровень заболеваемости на юге России значительно выше официально регистрируемого. Результаты сероэпидемиологического обследования населения территории юга России коррелируют с данными санитарно-паразитологических исследований почвы, сточных вод и их осадков, а также с пораженностью собак.

Санитарно-паразитологический мониторинг субстратов среды обитания человека показал, что доля контаминированных яйцами гельминтов проб почвы на различных территориях юга России колебалась от 16,7% в Республике Адыгея до 29,6% в Ростовской области. Частота обнаружения проб с яйцами рода *Toxocara* составила в среднем на юге России 53,8%, при этом на всех территориях выявлена значительная доля жизнеспособных яиц. В овограмме возбудителей гельминтозов, выявленных при исследовании проб почвы, яйца токсокар значительно преобладают, составляя 56,9%. Особое эпидемиологическое значение в распространении токсокароза среди населения имеет загрязненная инвазионными яйцами токсокар почва рекреационных зон городов [15, 16].

Одним из основных источников обсеменения почвы яйцами токсокар и других гельминтов являются домашние собаки при несоблюдении правил их содержания, бесконтрольном выгуле и отсутствии дезинвазии их экскрементов. При этом ведущая роль в качестве источника токсокароза принадлежит безнадзорным животным.

Важным фактором контаминации объектов окружающей среды яйцами токсокар являются неочищенные сточные воды очистных сооружений канализации (ОСК) и их осадки. Результаты санитарно-паразитологического исследования сточных вод канализации позволяют дать оценку эколого-эпидемической опасности селитебных территорий в отношении токсокароза. В спектре выявленных возбудителей гельминтозов и протозоозов в сточных водах ОСК и их осадках также преобладали яйца токсокар: от 35% в Карачаево-Черкесской Республике до 53% в Ростовской области. Следствием

интенсивного загрязнения жизнеспособными яйцами токсокар объектов окружающей среды является высокий уровень серопозитивности условно здорового населения.

Результаты проведенных нами исследований по токсокарозу на юге России и других территориях учтены при подготовке проекта пересмотра МУ «Профилактика токсокароза». Всего за последние 5 лет разработано совместно с сотрудниками других учреждений Роспотребнадзора и ведомств 12 нормативных и методических документов по вопросам диагностики, эпидемиологического надзора и профилактики паразитарных заболеваний. Одним из важнейших критериев оценки ситуации по паразитозам является экономический компонент. По нашим ориентировочным расчетам, только в 2014 г. прямые государственные затраты (с учетом средств ОМС) и только на оказание специализированной стационарной медицинской помощи больным эхинококкозом, трихинеллезом и токсокарозом в масштабах страны составили 171 266 202, 08 руб. [4]. Анализ данной информации позволит эффективно определять потребности и разрабатывать необходимые организованные комплексные мероприятия в области оказания лечебно-диагностической и профилактической помощи для обеспечения соответствующего уровня санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев Г.В., Ананичева М.Д., Анисимов О.А. и др. Второй оценочный доклад Росгидромета об изменении климата и их последствиях на территории Российской Федерации. М., Ростгидромет, 2014.
2. Болатчиев К.Х., Ермакова Л.А., Твердохлебова Т.И., Цекапибзева Ф.К. Особенности эпидемиологии и клиники гидатидозного эхинококкоза в Карачаево-Черкесской Республике. Цитокины и воспаление. 2014, 3(13):77-78.
3. Думбадзе О.С., Твердохлебова Т.И. Социально-экономическая значимость кишечных гельминтозов в Российской Федерации. Мед. паразитол. 2018, 1: 3-7.
4. Думбадзе О.С., Шишканова Л.В. Социально-экономическая значимость ларвальных гельминтозов. Актуальные проблемы безопасности и анализа риска здоровью населения при воздействии факторов среды обитания. М., 2016, 1:69-72.
5. Ермакова Л.А., Твердохлебова Т.И., Пшеничная Н.Ю. Диагностическая значимость иммуноферментного анализа при ларвальных гельминтозах (трихинеллез, эхинококкоз, токсокароз). Профилактическая и клиническая медицина. 2012, 3 (44): 59-63.
6. Криворотова Е.Ю. Биологические аспекты диروفилариоза в ряде субъектов Российской Федерации. Дис. канд. биол. наук. М., 2015.
7. Нагорный С.А., Ермакова Л.А., Криворотова Е.Ю. Особенности эпидемиологии и эпизоотологии диروفилариоза в городе Ростове-на-Дону и Ростовской области. Мед. паразитол. 2012, 4: 46-48.
8. Попова А.Ю. Стратегические приоритеты Российской Федерации в области экологии с позиции сохранения здоровья нации. Здоровье населения и среда обитания. 2014, 2 (251): 4-7.
9. Росоловский А.П., Пьяных В.А., Игнатьева В.И., Матина О.Н., Шевчук Е.А., Данилова Е.П., Твердохлебова Т.И., Нагорный С.А., Ермакова Л.А., Криворотова Е.Ю. Диروفилариоз в Новгородской области. Мед. паразитол. 2013, 1: 34-35.
10. Сергиев В.П., Супряга В.Г., Дарченкова Н.Н., Жукова Л.А., Иванова Т.Н. Диروفилариоз человека в России. Российский паразитологический журнал. 2012, 4: 60-64.
11. Степанова Т.Ф., Корначев А.С. Подходы к совершенствованию систем надзора и управления эпидемическим процессом паразитарных заболеваний. Тюмень, Изд-во ТюмГУ, 2012.
12. Твердохлебова Т.И. Трихинеллез на юге России: эпидемиология, диагностика и профилактика в современных социально-экономических условиях. Дис. докт. мед. наук. М., 2007.
13. Твердохлебова Т.И., Попов М.А., Васерин Ю.И., Сапунов А.Я., Нагорный С.А., Думбадзе О.С., Романенко Н.А., Ермакова Л.А. Трихинеллез на Северном Кавказе. Ростов-на-Дону, Книга, 2006.
14. Твердохлебова Т.И., Яговкин Э.А. Состояние и перспективы развития технологического направления в области диагностики и терапии паразитарных болезней. Мед. паразитол. 2014, 1: 3-6.
15. Хроменкова Е.П., Димидова Л.Л., Твердохлебова Т.И., Упырев А.В., Хуторянина И.В. Структура эпидемиологической значимости объектов окружающей среды в санитарной паразитологии. Здоровье населения и среда обитания. 2015, 7 (268): 46-49.
16. Шишканова Л.В. Токсокароз на юге России: эпизоотологическая, санитарно-паразитологическая и сероэпидемиологическая характеристика. Дис. канд. биол. наук. М., 2011.
17. Ermakova L.A., Nagorny S.A., Krivorotova E.Y. *Dirofilaria repens* in the Russian Federation: current epidemiology, diagnosis, and treatment from a federal reference center perspective. Int. Journal of Infectious Diseases. 2014, 23: 47-52.

18. Ilyasov B., Kartashev V., Bastrikov N. et al. Thirty cases of human subcutaneous dirofilariasis reported in Rostov-on-Don (Southwestern Russian Federation). *Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica*. 2015,33(4):233-7.
19. Kartashev V., Afonin A., González-Miguel J. et al. Regional warming and emerging vector-borne zoonotic dirofilariasis in the Russian Federation, Ukraine, and other post-soviet states from 1981 to 2011 and projection by 2030. *Biomed Res. Int.* 2014; 2014: 858936. DOI: 10.1155/2014/858936.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

*А.Г.Драгомерецкая<sup>1</sup>, О.Е.Троценко<sup>1</sup>, Л.А.Бebenина<sup>1</sup>, О.П.Курганова<sup>2</sup>, М.Е.Игнатьева<sup>3</sup>, Т.А.Зайцева<sup>4</sup>, П.В.Копылов<sup>5</sup>, Д.В.Маслов<sup>6</sup>, Н.И.Жданова<sup>7</sup>, А.А.Рубцова<sup>8</sup>, О.А.Фунтусова<sup>9</sup>, И.Ю.Феделеши<sup>10</sup>*

## **ЦИСТНЫЙ ЭХИНОКОККОЗ В ДАЛЬНЕВОСТОЧНОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ**

<sup>1</sup>Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии; Управление Роспотребнадзора: <sup>2</sup>по Амурской области, Благовещенск-на-Амуре; <sup>3</sup>по Республике Саха (Якутия), Якутск; <sup>4</sup>по Хабаровскому краю, Хабаровск; <sup>5</sup>по Еврейской АО, Биробиджан; <sup>6</sup>по Приморскому краю, Владивосток; <sup>7</sup>по Камчатскому краю, Петропавловск-Камчатский; <sup>8</sup>по Магаданской области, Магадан; <sup>9</sup>по Сахалинской области, Южно-Сахалинск; <sup>10</sup>по Чукотскому АО, Анадырь

*Цель.* Анализ современной эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по цистному (гидатидозному) эхинококкозу в субъектах Дальневосточного федерального округа Российской Федерации. *Материалы и методы.* В работе были использованы материалы Управлений Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» субъектов ДФО за 2013–2017 гг. *Результаты.* В 2013–2017 гг. случаи заболевания были зарегистрированы на территории 7 из 9 субъектов ДФО, в большинстве из которых заболеваемость носит спорадический характер. На территории Еврейской автономной области и Камчатского края за пятилетний период случаи эхинококкоза не были зарегистрированы. Ежегодно заболевание регистрируется в Чукотском автономном округе, Республике Саха (Якутия) и Приморском крае. При этом показатели заболеваемости в ЧАО и Якутии существенно превышают среднероссийские. Летальных исходов цистного эхинококкоза в ДФО за анализируемый период не зарегистрировано. *Заключение.* На административных территориях с регистрацией случаев цистного эхинококкоза рекомендовано проведение скрининговых сероэпидемиологических обследований населения различных возрастных групп и по профессиональной принадлежности.

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 80–85

Ключевые слова: цистный эхинококкоз, *Echinococcus granulosus*, Дальневосточный федеральный округ, очаги заболевания, дефинитивные и промежуточные хозяева, сельскохозяйственные животные

*A.G.Dragomeretskaya<sup>1</sup>, O.E.Trotsenko<sup>1</sup>, L.A.Bebenina<sup>1</sup>, O.P.Kurganova<sup>2</sup>, M.E.Ignateva<sup>3</sup>, T.A.Zaitseva<sup>4</sup>, P.V.Kopylov<sup>5</sup>, D.V.Maslov<sup>6</sup>, N.I.Zhdanova<sup>7</sup>, A.A.Rubtsova<sup>8</sup>, O.A.Funtusova<sup>9</sup>, I.Yu.Fedelesh<sup>10</sup>*

## **CYSTIC ECHINOCOCCOSIS IN THE FAR EASTERN FEDERAL DISTRICT: CURRENT STATE OF THE PROBLEM**

<sup>1</sup>Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology; Administrations of Rosпотребнадзор: <sup>2</sup>Amur region, Blagoveschchensk; <sup>3</sup>Republic Sakha (Yakutia), Yakutsk; <sup>4</sup>Khabarovsk region, Khabarovsk; <sup>5</sup>Jewish Autonomous district, Birobidzhan; <sup>6</sup>Primorsky region, Vladivostok; <sup>7</sup>Kamchatka region, Petropavlovsk-Kamchatskiy; <sup>8</sup>Magadan region, Magadan; <sup>9</sup>Sakhalin region, Yuzhno-Sakhalinsk; <sup>10</sup>Chukotka Autonomous district, Anadyr, Russia

*Aim.* To analyze current epidemiological and epizootological situation on cystic (hydatidiform) echinococcosis in constituent entities of the Far Eastern Federal District (FEFD) of the Russian Federation. *Materials and methods.* Data of the administrations of the Federal service for surveillance on consumers rights protection and human wellbeing as well as data of the FБИH «Center of hygiene and epidemiology» located in different constituent territories of the FEFD during 2013–2017 was used. A review of scientific papers concerning the topic of the current article was performed. *Results.* Mainly sporadic cases of the

disease were registered in 7 out of 9 constituent entities of the FEFD during the 2013-2017. The Jewish Autonomous district and Kamchatka region were free of the echinococcosis during the 5-year observation period. Echinococcosis cases were registered annually in the Chukotka Autonomous district, Republic Sakha (Yakutia) and Primorsky region. Herewith, the incidence rates in Chukotka Autonomous district and Republic Sakha (Yakutia) notably exceeded the national average. No fatal outcomes due to cystic echinococcosis in the FEFD were registered. *Conclusion.* Implementation of immunoepidemiological surveillance of the population of different age groups and professions is recommended on the constituent entities with registered cases of cystic echinococcosis.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 80—85

Key words: cystic echinococcosis, *Echinococcus granulosus*, Far Eastern Federal District, natural foci, definitive and intermediate hosts, farm animals

## ВВЕДЕНИЕ

Эхинококкоз цистный — биогельминтоз, вызываемый паразитированием в тканях и органах человека личиночной стадии цестоды *Echinococcus granulosus*. Жизненный цикл *E. granulosus* проходит со сменой двух хозяев — окончательного (дефинитивного) и промежуточного. Окончательными хозяевами *E. granulosus* на территории Российской Федерации являются плотоядные семейства псовых (волк, собака, шакал и др.). В их тонком кишечнике паразитирует половозрелая форма гельминта. Окончательные хозяева заражаются при поедании пораженных органов промежуточных хозяев, которыми являются до 70 видов млекопитающих отряда парнокопытных.

Передача возбудителя инвазии человеку возможна при контакте с зараженными собаками; при выделке шкур диких плотоядных животных; при стрижке и обработке шерсти овец, загрязненной почвой, содержащей яйца паразита; при сборе и употреблении дикоросов; при использовании сырой воды из водоисточников, загрязненных фекалиями дефинитивных хозяев [13].

Медико-социальная значимость цистного эхинококкоза определяется его широким распространением, тяжелым клиническим течением с множественными поражениями различных органов, приводящими к длительной потере трудоспособности, инвалидизации и летальным исходам.

По данным Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, эпидемиологическая ситуация по эхинококкозам в РФ остается сложной. Ежегодно в стране регистрируется более 500 случаев эхинококкозов. За 25-летний период заболеваемость возросла в 3 раза — с 0,1 в 1991 году до 0,3 случаев на 100 тысяч населения в 2015 году [7].

Дальневосточный федеральный округ (ДФО), включающий 9 субъектов: Чукотский автономный округ (ЧАО), Республика Саха (Якутия), Магаданская область, Камчатский край, Хабаровский край, Приморский край, Еврейская автономная область (ЕАО), Амурская область, Сахалинская область обладает уникальными природными ресурсами. Традиционные для Дальнего Востока отрасли хозяйства — оленеводство, охота, пушное звероводство — развиты практически во всех субъектах региона. Большая часть территорий ДФО (ЧАО, Якутия, Магаданская область, Камчатский край) относится к районам Крайнего Севера и характеризуется суровым климатом. На территории округа обитают разнообразные виды ценных промысловых животных, в том числе дефинитивных и промежуточных хозяев *E. granulosus*: волк, песец, лось и др. В разные годы были выявлены высокие показатели инвазированности отдельных видов животных, что свидетельствует об активной циркуляции возбудителя на территории округа.

Цель настоящей работы — анализ современной эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по цистному (гидатидозному) эхинококкозу в субъектах ДФО РФ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен ретроспективный анализ заболеваемости населения цистным эхинококкозом по данным Федерального государственного статистического наблюдения №№ 1,2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях»; материалов

государственных докладов «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения» за 2013-2017 гг.; материалов, предоставленных Управлениями Роспотребнадзора субъектов ДФО по запросу ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 2013-2017 гг. случаи заболевания были зарегистрированы на территории 7 из 9 субъектов ДФО, в большинстве из которых заболеваемость носит спорадический характер. На территории Еврейской автономной области и Камчатского края за пятилетний период случаи эхинококкоза не были зарегистрированы. Ежегодно случаи заболевания регистрируются в ЧАО, Якутии и Приморском крае. При этом средние многолетние показатели заболеваемости в ЧАО и Якутии существенно превышают среднероссийские в 13,2 и 2,4 раза соответственно [7]. Летальных исходов цистного эхинококкоза в ДФО за анализируемый период не зарегистрировано.

В 2013-2017 гг. в ЧАО было зарегистрировано 12 случаев заболеваний, в том числе в Анадырском районе 4 случая, Билибинском районе 6 случаев и городском округе Эгвекинот 2 случая, в основном, среди сельских жителей, относящихся к представителям коренных малочисленных народов Севера (КМНС). Минимальное число случаев было зарегистрировано в 2017 году (1 случай, показатель на 100 тыс. населения составил 1,99). Максимальное число случаев было зарегистрировано в 2016 году (4 случая, показатель на 100 тыс. населения — 7,94).

За последние пять лет (2013-2017 гг.) в 20 из 34 административных районов Республики Саха (Якутия) и г. Якутске было зарегистрировано 42 случая цистного эхинококкоза. Наиболее неблагоприятная ситуация наблюдается в Олёкминском, Кобяйском, Верхневилуйском, Намском районах. В указанный период показатели заболеваемости составили от 1,26 до 0,21 на 100 тыс. населения (от 12 случаев в 2013 и 2014 гг. до 2 случаев в 2017 году). При этом наибольшее число случаев было отмечено в Олёкминском районе и г. Якутске.

В Приморском крае случаи эхинококкоза регистрируются ежегодно. В период 2013-2017 гг. зарегистрировано 8 случаев эхинококкоза, в том числе 5 завозных. Так, в 2013 году зарегистрирован 1 завозной случай у девочки 8 лет, проживающей в г. Уссурийске. По-видимому, инвазирование произошло при контакте с дворовой собакой и сельскохозяйственными животными по месту предыдущего проживания (г. Оша, Киргизстан). В 2015 году был зарегистрирован 1 случай эхинококкоза, при котором заражение, вероятно, произошло в период проживания в Башкирской республике, в пригороде г. Уфа. Еще 2 случая из одного семейного очага были зарегистрированы в 2015 году, наиболее вероятно, инвазирование указанных лиц имело место при сборе дикоросов и охотничьем промысле в Амурской области. В 2016 году был зарегистрирован 1 случай у жителя г. Владивостока, заражение которого, возможно, произошло при тесном контакте с сельскохозяйственными животными и сторожевыми собаками на территории пригорода г. Бухары (республика Узбекистан). При эпидемиологическом расследовании 3 случаев эхинококкоза (по 1 случаю эхинококкоза в 2014, 2015 и 2017 гг.) было установлено, что заражение произошло на территории Тернейского (2 случая) и Чугуевского (1 случай) районов Приморского края. Заболевшие указывали на тесный контакт с собаками, охотничий промысел и сбор дикоросов на территории лесного фонда.

За пятилетний период наблюдения в Хабаровском крае случаи заболевания населения регистрировались ежегодно, за исключением 2015 года. Всего было зарегистрировано 7 случаев эхинококкоза, 4 из них — в г. Хабаровске и по 1 случаю — в г. Комсомольске-на-Амуре, Охотском и Хабаровском районах. Показатели заболеваемости составляли от 0,22 на 100 тыс. населения (3 случая) в 2013 году до 0,07 на 100 тыс. населения (по 1 случаю) в 2014 и 2016 гг.

В Амурской области за период 2013-2017 гг. было зарегистрировано 4 случая эхинококкоза. Из них 3 случая было зарегистрировано в г. Благовещенске в 2017 году (показатель заболеваемости составил 0,37 на 100 тыс. населения) и 1 случай в г. Свободном в 2014 году (показатель заболеваемости составил 0,12 на 100 тыс. насе-

ления). Необходимо отметить, что в 1980-1981 гг. было проведено серологическое обследование 213 жителей Селемджинского и Тындинского районов Амурской области с использованием реакции латекс-агглютинации. Антитела к антигенам *E.granulosus* были выявлены у 7 обследованных ( $3,2 \pm 1,20\%$ ) [5]. Единственный за исследуемый период случай заболевания человека в Магаданской области был зарегистрирован в г. Магадане в 2014 году (0,99 на 100 тыс. населения). В Сахалинской области случай заболевания человека цистным эхинококкозом был зарегистрирован в 2013 году в Невельском районе области (0,2 на 100 тыс. населения). В Камчатском крае в 2004 году был зарегистрирован единичный, завозной из Республики Узбекистан, случай цистного эхинококкоза (заболеваемость составила 0,3 случая на 100 тыс. населения). С 2005 года случаи эхинококкоза среди населения Камчатского края не регистрировались. Важно отметить, что в 2001 году в Камчатском крае при серологическом обследовании населения в рамках федеральной целевой программы «Дети Севера» было выявлено 5,7% серопозитивных к *E.granulosus* лиц, частота выявления антител у детей составила 4,9% [10].

Последний случай заболевания цистным эхинококкозом среди населения ЕАО был зарегистрирован в 2002 году. При этом, инвазированность *E.granulosus* сельскохозяйственных животных свидетельствует о циркуляции возбудителя на территории области. Также необходимо отметить, что в 2007-2017 гг. в результате проведения ветеринарно-санитарной экспертизы туш домашних северных оленей ларвоцисты *E.granulosus* были обнаружены в 3 из 3652 случаев ( $0,08 \pm 0,05\%$ ) в Камчатском крае, в 10315 из 180 342 случаев ( $5,7 \pm 0,05\%$ ) в ЧАО и 100% случаев (33 туши) в Якутии при локализации ларвоцист паразита в легких и печени.

Выявленная инвазированность сельскохозяйственных животных свидетельствует об обсемененности онкосферами *E.granulosus* объектов окружающей среды (почвы, воды и кормов) в местах их выпаса и содержания. Очевидно, что источником фекального загрязнения в данном случае являются хозяйственно полезные и бродячие собаки, заражение которых происходит при поедании отходов убоя сельскохозяйственных животных. При исследовании кишечников собак, проведенном в 2007-2017 гг. в Республике Саха (Якутия), взрослые особи *E.granulosus* были обнаружены у 8 из 146 854 исследованных животных ( $0,005 \pm 0,001\%$ ).

Необходимо отметить, что на территории двух из 9 субъектов округа (Амурская и Магаданская области) случаи выявления *E.granulosus* у диких и сельскохозяйственных животных в 2007-2017 гг. не были зарегистрированы. В последние годы пораженность эхинококками сельскохозяйственных животных (КРС, МРС, домашних свиней) также не выявлена в Республике Саха (Якутия) и Камчатском крае. В ЧАО разведение КРС, МРС и домашних свиней не ведется ввиду суровых климатических условий.

На большинстве территорий ДФО сохраняется традиционный образ жизни КМНС. Их традиции и быт непосредственно связаны с оленеводством, охотой, сбором лекарственных растений и других дикоросов на территории лесного фонда. В последние годы увеличивается число оленеводческих хозяйств.

Значительная доля населения ДФО занята промысловой охотой, в том числе пушным промыслом, который включает в себя добычу животных с последующей выделкой шкур. Одним из массовых видов природопользования является сбор и переработка дикорастущих лекарственных растений. Заготовкой ягод, грибов и других дикоросов для личного потребления или осуществления коммерческой деятельности занимается значительная часть жителей. Большая часть населения имеет личные подсобные хозяйства, в которых содержатся КРС, МРС и хозяйственно полезные собаки (ездовые, оленегонные, охотничьи и другие). Особые условия их выращивания и кормления обуславливают постоянный тесный контакт собаки и человека и, соответственно, увеличивают риск заражения [8]. Все это создает благоприятные условия для активной циркуляции возбудителя *E.granulosus* на территории округа.

Анализ данных литературы показал, что в таежных очагах циркуляция возбудителя происходит по схеме «волк — лось — волк». В эту циркуляцию может включаться охотничья собака. Собаки заражаются от добытых парнокопытных во время охоты на них,

когда охотник после разделки туши скармливает собакам легкие и печень. В тундровых очагах возбудитель циркулирует по схеме «полярный волк — дикие (домашние) северные олени — полярный волк». В районах с развитым животноводством возбудитель циркулирует по схеме «собака — крупный (мелкий) рогатый скот — собака» [4].

В разные годы на территории каждого из субъектов ДФО инвазия *E. granulosus* выявлялась у диких или сельскохозяйственных животных [1, 2, 4, 6, 9, 11, 12]. Так, в конце XIX века А.Н.Семенов и С.А.Грюнер опубликовали данные о широком распространении заболевания среди северных оленей на полуострове Камчатка. В 1941 году В.П.Афанасьев выявил эхинококкоз у песцов о. Беринга [9]. В результате исследований, проведенных Л.И.Синовичем в Карагинском и Быстринском районах Камчатского края, цестоды были выявлены в ходе дегельминтизации у двух из 60 обследованных собак (3,3%) [11]. И.Ф.Домнич сообщила о выявлении *E. granulosus* у представителей семейства *Canidae* на территории Магаданской области [2]. Л.Г.Чернышовой (1996) при изучении пораженности дефинитивных и промежуточных хозяев *E. granulosus* на территории Хабаровского края была выявлена пораженность 20,8% собак, 45,2% волков и 83,4% лосей. Наиболее высокие показатели пораженности дефинитивных и промежуточных хозяев были зарегистрированы в северной части края: у волков — 75,8%, у собак — 26,4% у лосей — до 90% [12].

Однако в последние годы (2007-2017 гг.) ларвоцисты паразита не обнаруживались при проведении ветеринарно-санитарной экспертизы в Амурской, Магаданской и Сахалинской областях. При этом случаи заболевания людей за этот период были зарегистрированы. В то же время, при отсутствии регистрируемой заболеваемости населения в ЕАО с 2003 года и в Камчатском крае с 2005 года, инвазия *E. granulosus* у животных на территории данных субъектов выявляется. Сложившаяся ситуация, вероятно, свидетельствует об отсутствии настороженности медицинских работников в отношении цистного эхинококкоза среди населения на большинстве территорий округа и недостаточном объеме плановых обследований контингентов групп риска. Отсутствие положительных находок при проведении ветеринарно-санитарной экспертизы туш сельскохозяйственных животных может быть обусловлено снижением числа исследуемых проб внутренних органов, где локализуются ларвоцисты *E. granulosus*. Ветеринарно-санитарная экспертиза диких животных на подавляющем большинстве территорий ДФО не проводится.

На административных территориях с регистрацией случаев цистного эхинококкоза рекомендовано проведение скрининговых сероэпидемиологических обследований населения различных возрастных групп и профессиональной принадлежности. По результатам исследований необходимо проводить оценку эпидемиологической ситуации и определение групп риска в отношении цистного эхинококкоза на каждой конкретной территории.

Лица, у которых были выявлены антитела к антигенам *E. granulosus*, подлежат постановке на диспансерный учет и динамическому наблюдению.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Григорьев И.И. Гельминты и гельминтозы домашних оленей горно-таежной зоны Якутии. Вестник КрасГАУ. 2015, 3: 162-166.
2. Домнич И.Ф. Гельминтофауна наземных млекопитающих Магаданской области (фауна, жизненные циклы, экология). Автореф. дисс. канд. биол. наук. Магадан, 1985.
3. Доронин-Доргелинский Е.А., Сивкова Т.Н. Организация профилактики и борьбы с цистным эхинококкозом на территории Российской Федерации. Вестник Воронежского аграрного университета. 2017, 3: 67-74.
4. Исаков С.И. Эхинококкоз и альвеококкоз животных в Якутской-Саха ССР: Автореф. дисс. докт. вет. наук. М., 1991.
5. Кикоть В.И., Трускова Г.М. Серологическое обследование населения на эхинококкозы в районах проживания народностей севера. Респ. сб. научных трудов «Гельминтозы человека». Л., 1983.
6. Медико-экологический атлас Хабаровского края и Еврейской автономной области. Хабаровск: ФГУП «488 Военно-картографическая фабрика» МО РФ, 2005.
7. О заболеваемости эхинококкозом и альвеококкозом в Российской Федерации: Письмо Роспотребнадзора от 20.06.2016 г. №01/7782-16-27.

8. Официальный портал полномочного представителя Президента Российской Федерации в Дальневосточном федеральном округе [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.dfo.gov.ru/trutnev/?page=8> (дата обращения 02.08.2018).
9. Посохов П.С., Троп И.Е. Становление и развитие медицинской гельминтологии на Дальнем Востоке России. В сб. Профилактика инфекционных заболеваний на рубеже XXI века. Хабаровск, 2001.
10. Романенко Н.А., Посохов П.С., Трускова Г.М., Молчанов О.В., Паршина Е.А., Козырева Т.Г., Семенова Т.А. Гельминтозы Востока и Севера России (этиология, клиника, диагностика, лечение, профилактика). Библиотека инфекционной патологии. Хабаровск, ДВГМУ, 2005.
11. Синович Л.И. Особенности краевой гельминтологии советского Дальнего Востока. Дис. канд. мед. наук. Хабаровск, 1967.
12. Чернышова Л.Г., Кикоть В.И., Трускова Г.М. Особенности эпидемиологии эхинококкоза в Дальневосточном регионе и влияние антропогенных факторов на эпидемический процесс. В сб. Эпидемиологический надзор за эхинококкозами. М., 1989.
13. Эхинококкозы: методы исследований, лечения, профилактики. Под. ред. Л.С.Яроцкого. М., 1990.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

*С.В.Балахонov<sup>1</sup>, Л.В.Щучинов<sup>2</sup>, А.И.Мищенко<sup>4</sup>, А.Н.Матросов<sup>3</sup>, А.В.Денисов<sup>4</sup>, Е.Н.Рождественский<sup>4</sup>, В.М.Корзун<sup>1</sup>, С.А.Косилко<sup>1</sup>, С.Л.Тагызова<sup>2</sup>, В.П.Топорков<sup>3</sup>, Н.В.Попов<sup>3</sup>, С.А.Шербакова<sup>3</sup>, В.В.Кутырев<sup>3</sup>*

## **ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ, ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ В ЦЕЛЯХ СНИЖЕНИЯ РИСКА ОСЛОЖНЕНИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ЧУМЕ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ АЛТАЙ**

<sup>1</sup>Иркутский научно-исследовательский противочумный институт; <sup>2</sup>Управление Роспотребнадзора по Республике Алтай, Горно-Алтайск; <sup>3</sup>Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов; <sup>4</sup>Алтайская противочумная станция, Горно-Алтайск

Цель работы — анализ и оценка эффективности противоэпидемических, профилактических мероприятий по снижению риска заражения чумой населения и предотвращения выноса этой болезни за пределы Республики Алтай. Анализ проведен по материалам практических и научно-исследовательских учреждений Роспотребнадзора. В связи с возникновением трех эпидемических очагов чумы среди местного населения в Горно-Алтайском природном очаге, где источником инфекции явился алтайский сурок, был проведен комплекс организационных, противоэпидемических, профилактических мероприятий по их локализации и ликвидации, а также минимизации риска антропогенного распространения чумы на территории Республики Алтай и вынос ее из эндемичного региона. Взаимодействие служб и ведомств в проведении организационных, противоэпидемических, профилактических мероприятий в Кош-Агачском районе создало необходимые условия для локализации и ликвидации эпидемических очагов чумы в кратчайшие сроки, не допустило распространение болезни по антропогенному пути и выноса ее за пределы энзоотичной территории.

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 85—94

Ключевые слова: Горно-Алтайский высокогорный природный очаг, противоэпидемические и профилактические мероприятия, чума

*S.V.Balakhonov<sup>1</sup>, L.V.Schuchinov<sup>2</sup>, A.I.Mischenko<sup>4</sup>, A.N.Matrosov<sup>3</sup>, A.V.Denisov<sup>4</sup>, E.N.Rozhdestvensky<sup>4</sup>, V.M.Korzun<sup>1</sup>, S.A.Kosilko<sup>1</sup>, S.L.Tagyzova<sup>2</sup>, V.P.Toporkov<sup>3</sup>, N.V.Popov<sup>3</sup>, S.A.Scherbakova<sup>3</sup>, V.V.Kutyrev<sup>3</sup>*

## **ORGANIZATION OF PREVENTIVE, ANTI-EPIDEMIC ACTIONS TO DECREASE RISKS OF EPIDEMIC SITUATION COMPLICATIONS FOR PLAGUE IN REPUBLIC ALTAI**

<sup>1</sup>Irkutsk Research Institute for Plague Control; <sup>2</sup>Administration of Rospotrebnadzor in Republic Altai, Gorno-Altai; <sup>3</sup>Russian Research Institute for Plague Control «Microbe», Saratov; <sup>4</sup>Altai Station for Plague Control, Gorno-Altai, Russia

Aim — analysis and evaluation of efficiency of anti-epidemic, preventive actions for decrease of plague infection risk for the population and prevention of this illness export outside the Republic Altai limits. Analysis was performed by the data of practical and research Establishments of Rospotrebnadzor. Due

to occurrence of three epidemic plague foci in local population in Gorno-Altai natural focus where the infection source was an Altai marmot, the complex of organizational, anti-epidemic, preventive actions was performed for its localization and liquidation and also minimization of risk of anthropogenous plague distribution in Republic Altai and its exportation from the endemic region. Interaction of the Services and Departments in realization of organizational, anti-epidemic, preventive actions in Kosh-Agach district created the necessary conditions for localization, liquidation of the epidemic plague foci in the shortest terms, prevented the illness distribution by the anthropogenous way and its exportation outside the limits of the enzootic territory.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 85—94

Key words: Gorno-Altai high-mountainous natural focus, anti-epidemic and preventive actions, plague

Для Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы с момента его обнаружения (1961 г.) характерна высокая эпизоотическая активность, которая сохраняется и в настоящее время [1, 2, 3]. До 2012 г. здесь циркулировал чумной микроб алтайского подвида *Yersinia pestis altaica*, обладающий избирательной вирулентностью. В связи с этим, а также сохранением эпидемиологического благополучия в условиях высокой эпизоотической активности в популяции монгольской пищухи, эпидемический потенциал этой части очага считался невысоким [4—6]. В 2012 г. от трупа длиннохвостого суслика впервые выделен высоковирулентный возбудитель чумы основного подвида *Y. pestis pestis* [7]. Интенсивные эпизоотические проявления в поселениях серого сурка, обусловленные чумным микробом основного подвида, регистрируются с 2014 г. [8, 9]. В 2014, 2015 и 2016 гг. в очаге выявлено три случая заболевания людей бубонной формой чумы, связанные с заражением при разделке тушек серого (алтайского) сурка [10, 11].

Выявление эпизоотий чумы в поселениях серого сурка, вызванных основным подвидом возбудителя, и регистрация эпидемической активности этой части очага являлись признаками высокого и реализующегося эпидемического потенциала, что характеризовало изменение статуса Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы. В настоящее время на его территории одновременно циркулирует возбудитель двух подвидов. Основным носителем чумного микроба алтайского подвида является монгольская пищуха, а основного — серый сурок. Очаг располагается в границах Кош-Агачского района Республики Алтай и занимает территорию 11597 км<sup>2</sup>. Население Кош-Агачского района — 18765 человек. Относительная плотность населения 0,94 человека на 1 км<sup>2</sup>. Национальный состав: 54,1% — казахи, 39,7% — алтайцы, 4,7% — русские. Основное занятие местного населения — отгонное животноводство. Распределение населения по территории неравномерное. Крупные поселки располагаются в Чуйской степи на высоте от 1800 до 2000 м над ур. м., стоянки животноводов — по долинам горных рек и ручьев на высоте от 1800 до 2700 м над ур. м. В пределах энзоотичной по чуме территории проживают около 17 000 человек. Многочисленные природные, археологические и этнографические достопримечательности, расположенные на территории района, делают это место весьма привлекательным для туристов, в т.ч. иностранных, а также охотников, рыбаков. Ежегодно в сезон высокой эпидемической опасности (апрель—сентябрь) энзоотичную по чуме территорию посещают 18—20 тыс. человек.

Цель работы — анализ и оценка эффективности противоэпидемических, санитарно-профилактических мероприятий по снижению риска заражения чумой населения и предотвращению выноса этой болезни за пределы Республики Алтай.

Эпидемиологический анализ проведен по данным отчетной документации и материалам Управления Роспотребнадзора по Республике Алтай, Министерства здравоохранения Республики Алтай, Алтайской ПЧС, РосНИПЧИ «Микроб» и Иркутского НИПЧИ. Эпизоотологическое обследование в очаге осуществлялось с апреля по октябрь, его лабораторное обеспечение проводилось на базе Ташантинского сезонного эпидотряда и стационарной лаборатории Алтайской ПЧС. Ежегодно обследовалась территория около 9000 км<sup>2</sup>. В апреле—октябре силами специальных эпидемиологических групп в составе эпидемиологов и зоологов, совместно с представителями местной администрации сельских поселений Кош-Агачского района, осуществлялись объез-

ды территории с целью эпизоотологического обследования поселений носителей, посещения стоянок животноводов и проведения информационно-разъяснительной работы с населением. В работе использовалась электронная «Интерактивная карта по управлению оздоровительными мероприятиями в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы», разработанная на основе ГИС-технологий специалистами Алтайской противочумной станции, РосНИПЧИ «Микроб» и Иркутского НИПЧИ.

Планирование противоэпидемических, профилактических мероприятий, определение их объёмов и направленности осуществлялось в соответствии с Законом РФ № 52 от 30.03.1999 г. «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения (с изменениями от 30.12.2001 г., 10.01, 30.06.2003 г.) и действующими Санитарно-эпидемиологическим правилам «Профилактика чумы» (СП 3.1.7.3465-17), Методическими указаниями «Организация и проведение эпидемиологического надзора в природных очагах чумы на территории Российской Федерации» (МУ 3.1.3.2355-08) и другими нормативно-методическими документами, предусматривающими мероприятия в природных очагах чумы

Через два года после обнаружения возбудителя чумы основного подвида на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага в сентябре 2014 г. зарегистрирован первый случай заболевания человека бубонной формой чумы. Для ликвидации эпидемического очага потребовалось проведение большого объема организационных, противоэпидемических и профилактических мероприятий как на уровне муниципального образования Кош-Агачский район, так и на территории Республики Алтай в целом. В локализации и ликвидации эпидемического очага чумы приняли участие органы исполнительной власти Республики Алтай, Управление Роспотребнадзора по Республике Алтай, Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Алтай, Министерство здравоохранения Республики Алтай, Алтайская ПЧС Роспотребнадзора, Республиканский комитет ветеринарии во взаимодействии с Иркутским НИПЧИ и при участии РосНИПЧИ «Микроб». Основным документом, регулирующим взаимодействие служб и ведомств при локализации и ликвидации эпидемического очага, являлся «Комплексный план мероприятий по санитарной охране территории от заноса и распространения инфекционных болезней, вызывающих чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения и предотвращения распространения чумы из её природного очага на территории Кош-Агачского района на 2014-2018 годы», утвержденный распоряжением Главы Администрации муниципального образования «Кош-Агачский район» № 120 от 18.04.2014 г. Дополнительно к нему подготовлены и реализованы следующие документы: Постановление Главного государственного санитарного врача по Республике Алтай от 18.03.2014 г. № 6 «О проведении профилактических мероприятий в природном очаге чумы в Кош-Агачском районе в 2014 г.»; Приказ Министра здравоохранения Республики Алтай от 17.06.2014 г. №144 «О проведении мероприятий по развёртыванию госпиталей на случай возникновения особо опасных инфекций и эпидемий инфекционных заболеваний в Республике Алтай». На заседании санитарно-противоэпидемической комиссии (СПК) Кош-Агачского района 14.09.2014 г. утвержден «План по локализации и ликвидации эпидемического очага чумы в с. Мухор-Тархата». Для минимизации риска новых случаев заражения чумой в природе и обеспечения оперативного принятия управленческих решений подготовлены: Распоряжения Администрации МО «Кош-Агачский район» от 17.09.2014 г. № 299/1 «О запрете охоты на сурков на эпизоотических участках» и №299/2 «О запрещении выпаса верблюдов, вывоза сена и фуража и других санитарно-опасных грузов с эпизоотических по чуме участков»; Постановление Главного государственного санитарного врача по Республике Алтай от 19.09.2014 г. № 18 «О проведении дополнительных профилактических мероприятий в природном очаге чумы в Кош-Агачском районе»; Распоряжение Администрации МО «Кош-Агачский район» от 22.09.2014 г. №305 «О проведении дополнительной профилактической вакцинации населения Кош-Агачского района против чумы». Результатом эффективного взаимодействия всех служб и ведомств явилась локализация и ликвидация в кратчайшие сроки эпидемического очага бубонной чумы.

В связи с прогнозируемой в весенне-летний сезон 2015 г. высокой эпизоотической активностью в поселениях серого сурка и обусловленный этим риск заражения человека чумой заблаговременно был подготовлен «Комплексный план по санитарной охране территории Республики Алтай на 2015-2017 гг.», утверждённый 13.05.2015 г. Главой Правительства Республики Алтай.

На фоне высокой эпизоотической активности в поселения носителя чумы, относящегося к промысловым видам, крайне сложно исключить спорадические случаи заражения человека. Несмотря на проводимый в 2015 г. комплекс обследовательских и профилактических мероприятий в августе этого года, в с. Кызыл-Таш зарегистрирован новый случай заболевания человека чумой. Для локализации и ликвидации эпидемического очага специалистами Алтайской ПЧС, Управления Роспотребнадзора по Республике Алтай совместно с органами исполнительной власти муниципального и республиканского уровня, медицинской службой республики подготовлен «План мероприятий по локализации и ликвидации очага бубонной чумы в селе Кызыл-Таш Кош-Агачского района Республики Алтай», который принят 15 августа 2015 г. на заседании СПЭК Кош-Агачского района и утвержден 17.08.2015 г. республиканской СПЭК. Для координации действий на заседании республиканской СПЭК 17 августа утвержден состав Республиканского штаба, основной задачей которого стало обеспечение взаимодействия заинтересованных служб по вопросам предупреждения распространения чумы, проведения профилактических и противоэпидемических мероприятий в Кош-Агачском районе, что позволило к 24.08.2015 г. ликвидировать эпидемический очаг чумы.

Для снижения риска заражения чумой населения Кош-Агачского района, по поручению Министерства здравоохранения Республики Алтай специалистами ФКУЗ «Алтайская противочумная станция», ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Алтай», Комитета ветеринарии и ветеринарной инспекции Республики Алтай, Иркутского НИПЧИ была разработана «Республиканская целевая программа по снижению рисков возникновения эпидемических осложнений на территории Горно-Алтайского природного очага чумы на 2016-2018 годы», которая реализуется в настоящее время.

Несмотря на проведенные масштабные профилактические, противоэпидемические мероприятия избежать третьего случая заболевания чумой человека в Горно-Алтайском природном очаге не удалось: 12 июля 2016 г. в районную больницу в с. Кош-Агач был доставлен 10-летний мальчик с подозрением на бубонную форму чумы. Заражение произошло при разделке тушки серого сурка через поврежденную кожу на большом пальце левой руки. Впоследствии диагноз был подтвержден результатами лабораторных исследований. В связи с возникновением эпидемического очага чумы, на внеочередном заседании СПЭК при администрации Кош-Агачского муниципального образования 13 июля 2016 г. принят «План мероприятий по локализации и ликвидации очага чумы в с. Мухор-Тархата, животноводческой стоянке в урочище Ирбисту Кош-Агачского района Республики Алтай», определены первоочередные противоэпидемические, профилактические мероприятия по минимизации риска возникновения новых случаев заражения человека чумой, недопущения антропонозного распространения болезни и предотвращения вывоза ее за пределы Кош-Агачского района.

Высокая эпизоотическая активность Горно-Алтайского природного очага чумы, обусловленная циркуляцией возбудителя чумы основного подвида в поселениях серого сурка, возникновение спорадических случаев заболевания чумой среди населения Кош-Агачского района Республики Алтай и необходимость эффективного внутриведомственного и межведомственного взаимодействия противочумных учреждений по оздоровлению Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы продиктовали необходимость разработки соответствующего комплексного плана мероприятий. Такой план был подготовлен специалистами Алтайской ПЧС, Управления Роспотребнадзора по Республике Алтай, Иркутского НИПЧИ, РосНИПЧИ «Микроб», Ставропольского НИПЧИ, Противочумного центра и утвержден Руководителем Роспотребнадзора. В зависимости от текущей эпидемиологической ситуации план ежегодно корректируется.

Мероприятия, представленные ниже, выполнялись в рамках комплексного плана и других нормативно-правовых документов федерального, республиканского, муниципального уровня на территории Кош-Агачского района.

За период наблюдения за очагом (1961–2017 гг.) из полевого материала было выделено 2550 культур возбудителя чумы двух подвидов: 2419 — *Y. p. altaica* и 131 — *Y. p. pestis*. Основное количество штаммов изолировано от переносчиков, среди которых доминируют изоляты от блох — 2068 (81,1%), вшей — 11 (0,4%), иксодовых клещей — 13 (0,5%), собранных из шерсти, нор и гнезд мелких млекопитающих. Один штамм выделен из субстрата гнезда монгольской пищухи. Всего 457 (17,9%) культур чумного микроба выделено от носителей. Начиная с 2012 г. среди изолятов преобладают штаммы чумного микроба основного подвида — 131 из 219, которые, как правило, были выделены от серого сурка и его эктопаразитов — 117 (55 от зверьков, 45 от блох, 8 от вшей и 9 от клещей, собранных из шерсти). Кроме того, штаммы основного подвида были изолированы от длиннохвостого суслика (3), его блох (6) и вшей (2), а также от степного хоря (1), от блох с монгольской пищухи (1), от блох из входов нор (1).

Результаты эпизоотологического мониторинга Горно-Алтайского природного очага свидетельствуют о высокой эпизоотической активности на его территории. Необходимо отметить, что основная доля штаммов возбудителя чумы основного подвида изолирована из остатков стола хищных птиц, трупов сурков и снятых с них эктопаразитов (99 штаммов, 75,6% от общего их числа), что указывает на высокую информативность исследования этого полевого материала в 2012–2017 гг.

Численность серого сурка с 2012 по 2017 гг. в среднем по очагу составила 0,7 жилых бутанов на 1 га и находилась на среднемноголетнем уровне. При этом высокая плотность наблюдалась в высокогорье (2500–2900 м над ур. м.) — 2,0–4,3 жилых бутана на 1 га. В то же время, в поясе горных степей на высотах 2100–2400 м над ур. м., где отмечались эпизоотические проявления в 2015–2017 гг., численность резко снизилась — встречались только единичные особи. На данный момент культуры чумного микроба начали выявлять в альпийской зоне (2500–2600 м над ур. м.), где плотность сурка оставалась еще высокой.

В указанный период в очаге наблюдалась депрессия численности монгольской пищухи — основного носителя возбудителя чумы алтайского подвида. Если в 2010–2014 гг. плотность нор от весны к осени в среднем возрастала от 7,2 до 9,2 жилых колоний на 1 га, то в 2015–2017 гг. она сократилась до 3,1–4,5 кол./га соответственно. Численность длиннохвостого суслика, обитающего в горных степях и альпийских лугах на высотах от 1800 до 2900 м над ур. м., остается относительно стабильной. Поселения его преимущественно ленточные, плотность зверьков в последние 5 лет часто превышает средние многолетние значения и варьирует от 3,6 до 8,6 особей на 1 га. Из мышевидных грызунов повсеместно обитает плоскочерепная полевка, численность которой варьирует по годам и сезонам в больших пределах в зависимости от урожая растительности высокогорий. Средняя многолетняя численность этого вида в природных биотопах весной составляет 8,6, осенью — 22,5 % попадания в давилки. Эта полевка охотно селится в стоянках животноводов: весной здесь ее численность составляет 3,6, осенью — 6,7 %. Домовая мышь является фоновым синантропным видом, серая крыса в населенных пунктах отсутствует. Численность домовый мыши в населенных пунктах весной в среднем составляет 2,9, осенью — 3,4 %.

Численность переносчиков — блох, вшей и иксодовых клещей в очаге в 2014–2017 гг. была достаточно высокой. Средний за год индекс обилия (ИО) блох за рассматриваемый период на сурках составил 1,4; на монгольской пищухе — 8,6; на длиннохвостом суслике — 1,8, при отсутствии выраженной миграции блох во входы нор в высокогорьях норовый ИО в среднем — 0,08, изменяясь в диапазоне от 0,02 до 0,16. Блох в жилье человека не зарегистрировано. Плотность блох в целом по очагу в смешанных поселениях оценивается величиной 176 блох на 1 га.

С учетом, что все случаи заболевания человека чумой возникли при незаконной охоте на сурка, в 2017 г. была организована целенаправленная профилактическая работа в отношении контингентов высокого риска заражения чумой, смысл которой заключался в анкетировании «лиц риска», разъяснении важнейших мер про-

филактики чумы и, особенно, мер, направленных на недопущение браконьерского промысла серого сурка и ответственности лиц, нарушающих это положение. Данная работа выполнялась силами оперативной группы в составе: специалистов противочумных учреждений, представителей исполнительной власти, охотнадзора и МВД. Основной задачей этой группы было посещение в эпидзначимый сезон животноводческих стоянок на эпизоотической территории, проведение бесед и инструктажа, анкетирование животноводов, членов их семей и других лиц, относящихся к контингентам высокого эпидемиологического риска по вопросам профилактики чумы, информирование об административной и уголовной ответственности в случае браконьерского промысла сурков. Анкетированием было охвачено 47 животноводческих стоянок из 57 стоянок летнего типа (82,4%). На фоне этой работы в 2017 г. новые случаи заболевания человека чумой не были зарегистрированы.

В рамках обеспечения эпидемиологического благополучия на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы и информационной поддержки при принятии управленческих решений в 2016 г. специалистами РосНИПЧИ «Микроб», Иркутского НИПЧИ, Алтайской ПЧС совместно с Управлением Роспотребнадзора по Республике Алтай на основе геоинформационных технологий создана «Интерактивная карта по управлению оздоровительными мероприятиями в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы». Эта ГИС на электронной основе позволяла специалистам вносить изменения эпизоотолого-эпидемической ситуации в режиме реального времени, что существенно сокращало время реагирования на ее изменение. Она использовалась для обобщения, систематизации и визуализации эпидемиологических и эпизоотологических данных, необходимых для проведения эпидемиологического районирования. Выделение участков с разным уровнем риска инфицирования населения чумой способствовало более эффективному использованию наличных сил и средств для обеспечения эпидемиологического благополучия.

Своевременность организации и проведения в оптимальном объеме противоэпидемических мероприятий в эпидемическом очаге чумы играет ключевую роль в предотвращении распространения болезни за его пределы. Поэтому способность медицинских работников выявлять больных с подозрением на эту инфекционную болезнь на всех этапах оказания медицинской помощи населению и оперативно реагировать на эпидемическую угрозу имеют существенное значение. Это невозможно без подготовки специалистов медицинских учреждений по вопросам клиники, эпидемиологии и профилактики чумы, организации первичных противоэпидемических мероприятий в эпидемическом очаге этой болезни. Формы обучения медицинских работников могут быть как теоретическими (лекции, семинары), так и практическими (инструктажи, тренировочные занятия). Наилучшим методом отработки практических навыков по локализации и ликвидации эпидемических очагов чумы и оценке готовности специалистов различных ведомств и учреждений, участвующих в организации и проведении противоэпидемических мероприятий, являются межведомственные тренировочные учения с вводом условного «больного чумой». В период с 2013 по 2017 г. проведены 60 семинарских и 370 тренировочных занятий по чуме, на которых подготовлены 950 медицинских работников.

Медицинское обеспечение населения Кош-Агачского района осуществляется Центральной районной больницей на 94 койко-мест, одной участковой больницей на 10 коек, шестью сельскими врачебными амбулаториями, семью фельдшерско-акушерскими пунктами. В автомобильном пункте пропуска через Государственную границу в с. Ташанта на постоянной основе действует санитарно-контрольный пункт Управления Роспотребнадзора. Комплексная оценка готовности этих медицинских и противоэпидемических организаций к проведению противоэпидемических мероприятий при выявлении больного с подозрением на чуму показала, что ее уровень для большинства учреждений удовлетворительный и колеблется в диапазоне от 76 до 95 по 100 балльной шкале (МУ 3.4.1030-01). В то же время, результаты этой оценки указывают на слабую теоретическую подготовку медперсонала по клинике, диагностике и профилактике опасных инфекционных болезней и недостаточности практических навыков в проведении первичных противоэпидемических мероприятий при выявлении больных,

подозрительных на такое заболевание (пользование защитной одеждой, забор материала от больных и др.). С другой стороны, все больные чумой были своевременно выявлены и госпитализированы, контактировавшие изолированы, что свидетельствует о высокой настороженности медицинских работников Кош-Агачского района.

На случай возникновения эпидемического осложнения по чуме предусмотрено на базе инфекционного отделения Кош-Агачской районной больницы развертывание специализированного госпиталя на 8 коек. Под провизорный госпиталь на 20 коек запланировано перепрофилирование терапевтического отделения. Предусмотрено поэтапное наращивание мощности специализированного госпиталя в зависимости от количества выявленных больных чумой. Изолятор на 13 койко-мест для лиц, контактировавших с больным, будет развернут в помещении гостиницы при районной больнице. При необходимости в гостинице Администрации Кош-Агачского района предусмотрено помещение для размещения восьми контактировавших. При большем количестве лиц, контактировавших с больным, предусмотрен дополнительный изолятор на 20 койко-мест на базе школы-интерната одного из близ расположенных сёл. При введении карантина планируется развернуть обсерватор на 30 коек для выезжающих из эпидемического очага.

На случай выявления больного с подозрением на опасное инфекционное заболевание в ходе санитарно-карантинного досмотра пассажиров в пункте пропуска через Государственную границу «Ташанта» предусмотрен специально оборудованный изолятор в помещении СКП.

Эпидемиологическая ситуация на территории Кош-Агачского района, связанная с проникновением в поселениях алтайского сурка — возбудителя чумы основного подвида и заражения людей от этого носителя, потребовала существенного увеличения объема противочумной вакцинации. В 2013 г. количество вакцинированных составило 809 человек, в 2014 г. — 1857, в 2015 г. — 4163, в 2016 г. — 17877 человек. В 2017 г. в Республике Алтай провакцинированы 18 001 человек, в том числе в Кош-Агачском районе — 16 688; в 2018 г. — 18 074, в том числе в Кош-Агачском районе — 16 454 человека. Учитывая особенности формирования иммунного ответа на введение живой чумной вакцины и необходимость достижения максимальной напряженности специфического иммунитета к эпидемически опасному сезону года, вакцинацию проводили в апреле-мае, завершая ее к концу первой декады июня. Для обеспечения максимального охвата населения Кош-Агачского района профилактическими прививками против чумы издано Постановление Главного санитарного врача Республики Алтай, в соответствии с которым вакцинации подлежали все жители, исключая детей до 2 лет (670), беременных и кормящих женщин (550), лиц, имеющих постоянные медотводы (380), прописанных, но фактически не проживающих в районе (1804), и отказников (55). Охват вакцинацией населения района в 2017 г. составил 89 %. Добиться таких результатов удалось благодаря значительной организационно-разъяснительной работе и проведению вакцинации в три этапа. На первом этапе вакцинировали жителей районного центра и близлежащих поселков (до 15.04.2017 г.), на втором — отдаленных и труднодоступных поселений (до 25.04.2017 г.), на третьем, завершающем (до 10.06.2017 г.) — студентов, учащихся, прибывающих на каникулы, лиц, имевших временные медицинские отводы, и другие категории граждан.

В связи с возникновением эпизоотий чумы в поселениях серого сурка существенно возросла опасность заражения верблюдов, выпасавшихся на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага. Численность бактрианов в Кош-Агачском районе за последние 5 лет колебалась от 340 до 410 голов. Все животные в целях профилактики нападения клещей ежегодно обрабатывались акарицидным препаратом «Ивермек» системного действия. Ежегодно во взаимодействии с БУ «Комитет ветеринарии с Госветинспекцией Кош-Агачской районной станции по борьбе с болезнями животных» специалисты Алтайской ПЧС готовили от 60 до 80 ветеринарных работников. Подготовку проводили в форме бесед, лекций, семинарских и тренировочных занятий. Отлаженное взаимодействие учреждений Роспотребнадзора с ветеринарной службой обеспечило эпизоотологическое благополучие сельскохозяйственных животных на очаговой территории.

Наиболее радикальными мерами при проведении профилактических работ являются дезинсекция и дератизация [12—14]. Высокая эпизоотическая активность и эпидемические осложнения определяли тактику, содержание, объемы и дислокацию работ. Основное внимание акцентировалось на борьбе с переносчиками возбудителя чумы. В 2014—2017 гг. объемы истребительных мероприятий на территории очага значительно возросли. Все они проводились по типу экстренных мероприятий. В зависимости от обстановки ежегодно объемы полевой дезинсекции варьировали от 18,4 до 43,5 км<sup>2</sup>, поселковой дезинсекции — от 6,6 до 75,2 тыс. м<sup>2</sup>. При этом создавались защитные (барьерные) зоны радиусом до 500 м вокруг всех зимних и летних стоянок животноводов, расположенных на эпизоотических участках. Эффективность полевых обработок с помощью пиретроидных дустов составляла в среднем 96,7 %, в населенных пунктах — приближалась к 100 % (при учетах на клеевые листы и по результатам очеса синантропных зверьков). При проведении барьерных обработок вокруг стоянок животноводов численность норových блох снижалась в 20—40 раз. При этом пулецидный эффект устойчиво сохранялся в течение 3 месяцев (сроки наблюдений). Дезинсекция в строениях проводилась влажным методом, в помещениях незаселенных стоянок животноводов — порошковидным.

Полевая дератизация с помощью химических средств не проводилась. На всех обследуемых стоянках животноводов, располагающихся на эпизоотических участках, зверьки отлавливались орудиями лова на стандартную приманку. Дератизация в населенных пунктах осуществлялась с помощью готовых брикетированных или зерновых приманок на основе антикоагулянтов 1 и 2 поколений: 0,005 % бромациолона, 0,02 % трифенацина. Техническая эффективность полевой дератизации приближалась к 100 %.

Учитывая эпидемиологическое значение серого сурка, который послужил источником заражения человека чумой на территории Кош-Агачского района Республики Алтай, на законодательной основе была запрещена любая охота на него. Для снижения риска заражения введено ограничение на посещение эпизоотических участков постоянным и временным населением в летний период, отменены туристические маршруты, проходящие по этой территории, запрещены выпас верблюдов на участках выявленных эпизоотий, кошение и вывоз сена с этих территорий. Организация и контроль за выполнением этих мероприятий осуществлялись органами исполнительной власти, сотрудниками полиции, охотничьей инспекции. На сотрудников полиции были возложены охрана медицинских учреждений, патрулирование на дорогах, объезды неблагополучных по чуме территорий, досмотры транспортных средств.

Комплекс санитарно-гигиенических и санитарно-технических мероприятий включал в себя уборку и очистку территорий населенных пунктов всех типов, благоустройство полигонов твердых бытовых отходов, ликвидацию несанкционированных свалок мусора, уничтожение остожий, зарослей сорной растительности, регулирование численности бродячих собак, соблюдение технологий при эксплуатации гидросооружений и др. Эта работа занимает достаточно важное место среди санитарно-профилактических и противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение вовлечения в эпизоотический процесс синантропных грызунов и минимизацию связанных с этим эпидемических рисков.

Информационно-разъяснительная работа среди населения является важнейшим разделом профилактики чумы. Именно недоработки в этой сфере привели к заражению людей чумой. Работа осуществлялась в форме лекций, выступлений по радио, телевидению, на сходах жителей сельских поселений, в школах, бесед с животноводами на стоянках, публикаций статей в местных средствах печати, анкетирования населения, распространения листовок и буклетов по чуме, выставлением предупреждающих плакатов на эпидемически опасных участках. К этой работе привлекали ветеранские организации, учителей, музейных работников, почтальонов, охотинспекторов, экологов, священнослужителей и др. В районном центре с. Кош-Агач в летний период на двух интерактивных экранах: в фойе ЦРБ и на центральной улице проводилась демонстрация видеофильма о чуме и ее профилактике. Всего в 2014–2017 гг. было прочитано 113 лекций населению, распространено 14 275 листовок и буклетов, проведено 6547 бесед. Общее число охваченных санитарно-просветительной работой составило около 20 тыс. человек.

Эффективность этой работы была подтверждена результатами опроса населения, проведенного эпидгруппой в период с июня по сентябрь 2017 г. При анкетировании 1650 человек жителей Кош-Агачского района установлено, что население знает об опасности заражения чумой в регионе, основные признаки заболевания, положительно относится к вакцинации, проведению дезинсекции и дератизации. Большинство опрошенных (91%) осведомлены о роли сурков в заражении человека чумой. О значении блох как переносчиков возбудителя чумы знают 77% опрошенных, о запрете охоты на сурков известно 89 %, но лишь 61% готовы сотрудничать с правоохранительными органами по пресечению браконьерского промысла алтайского сурка. Эти данные свидетельствуют о необходимости усиления санитарно-просветительной работы с людьми по вопросам ответственности за нарушение запрета и ограничений на охоту, затратах на лечение больных и проведение профилактических мероприятий.

На основании прогноза эпизоотической активности Горно-Алтайского высокогорного очага чумы на ближайшие годы и с учетом данных об активных эпизоотических проявлениях чумы в монгольской части Сайлюгемского очага можно ожидать сохранение эпидемиологической напряженности по чуме. В этой связи, необходимо дальнейшее совершенствование эпидемиологического надзора за этой опасной инфекционной болезнью и проведение всего комплекса мероприятий, направленных на обеспечение эпидемиологического благополучия населения в регионе и за его пределами.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Балахонов С.В., Афанасьев М.В., Шестопалов М.Ю., Остяк А.С., Витязева С.А., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Денисов А.В., Ивженко Н.И., Рождественский Е.Н., Висков Е.Н., Фомина Л.А. Первый случай выделения *Yersinia pestis* subsp. *pestis* в Алтайском горном природном очаге чумы. Сообщение 1. Микробиологическая характеристика, молекулярно-генетическая и масс-спектрометрическая идентификация изолята. Проблемы особо опасных инфекций. 2013, 1(115): 60-65.
2. Балахонов С.В., Корзун В.М., Косилко С.А., Михайлов Е.П., Щучинов Л.В., Мищенко А.И., Зарубин И.В., Рождественский Е.Н., Денисов А.В. Актуальные аспекты обеспечения эпидемиологического благополучия по чуме населения Республики Алтай. 2016а; 4(89):4-7.
3. Балахонов С.В., Корзун В.М. (ред.). Горно-Алтайский природный очаг чумы: Ретроспективный анализ, эпизоотологический мониторинг, современное состояние. Новосибирск, Наука-Центр, 2014.
4. Балахонов С.В., Попова А.Ю., Мищенко А.И., Михайлов Е.П., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х., Щучинов Л.В., Зарубин И.В., Семенова Ж.И., Маденова Н.М., Дюсенбаев Д.К., Ярыгина М.Б., Чипанин Е.В., Косилко С.А., Носков А.К., Корзун В.М. Случай заболевания человека чумой в Кош-Агачском районе республики Алтай в 2015 г. Сообщение 1. Клинико-эпидемиологические и эпизоотологические аспекты. 2016, 1:55-60.
5. Голубинский Е.П., Жовтый И.Ф., Лемешева Л.Б. О чуме в Сибири. Иркутск, изд-во Иркутского ун-та, 1987.
6. Корзун В.М., Балахонов С.В., Косилко С.А., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Чипанин Е.В., Базарова Г.Х., Ярыгина М.Б., Абибулаев Д.Э., Шефер В.В. Особенности эпизоотической и эпидемической активности Горно-Алтайского природного очага чумы в 2012-2016 годах. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2017, 1(92):36-38.
7. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Щучинов Л.В., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х., Денисов А.В., Шарова И.Н., Попов Н.В., Кузнецов А.А. Заболевание человека чумой в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге в 2014 г. Сообщение 1. Эпидемиологические и эпизоотологические особенности проявлений чумы в Горно-Алтайском высокогорном (Сайлюгемском) природном очаге чумы. Проблемы особо опасных инфекций. 2014, 4:9-16.
8. Матросов А.Н., Кузнецов А.А., Князева Т.В., Вержуцкий Д.Б., Никитин А.Я., Немченко Л.С., Григорьев М.П., Левченко Б.И., Бобенко О.А., Газиева А.Ю., Коротков В.Б. Современная концепция контроля численности носителей и переносчиков чумы на территории Российской Федерации. Проблемы особо опасных инфекций. 2012, 2(112):16-20.
9. Матросов А.Н., Щучинов Л.В., Денисов А.В., Мищенко А.И., Рождественский Е.Н., Слудский А.А., Раздорский А.С., Михайлов Е.П., Шарова И.Н., Поршаков А.М., Кузнецов А.А., Попов Н.В., Чипанин Е.В., Корзун В.М., Токмакова Е.Г., Балахонов С.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В., Макин А.А., Архипов Г.С. Профилактические мероприятия в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы в 2016 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2016, 4:25-32.
10. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В. (ред.). Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М., Медицина, 2004.

11. Попова А.Ю., Кутырев В.В., Балахонов С.В., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Щучинов Л.В., Попов Н.В., Косилко С.А., Дубровина В.И., Корзун В.М., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Бугоркова С.А., Ерошенко Г.А., Краснов Я.М., Топорков В.П., Слудский А.А., Раздорский А.С., Матросов А.Н., Поршаков А.М., Лопатин А.А., Щербакова С.А. Координация мероприятий противочумных учреждений Роспотребнадзора по оздоровлению Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в 2016 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2016, 4:5-10.
12. Солдаткин И.С., Руденчик Ю.В., Попов Н.В., Куклев Е.В., Кузнецов А.А., Матросов А.Н. Паспортизация природных очагов чумы на территории стран СНГ (картографические материалы). Деп. в ВИНТИ. № 129-В 00. 24.01.2000. Саратов, 2000.
13. Шестопалов Н.В. Дезинфектология и дезинфекционное дело — основа неспецифической профилактики инфекционных болезней. Журн. микробиол. 2013, 1:105-108.
14. Щучинов Л.В. Проблемы организации противоэпидемических мероприятий в природном очаге чумы. Национальные приоритеты России. 2016, 4(22):68-71.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

*К.В.Жуков, А.В.Топорков, Д.В.Викторов*

## **ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ И СОВРЕМЕННАЯ ЭВОЛЮЦИЯ ГЛОБАЛЬНО РАСПРОСТРАНЯЮЩИХСЯ АРБОВИРУСОВ**

Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт

Более 100 видов арбовирусов способны вызывать заболевания у людей. Арбовирусные инфекции привлекают особое внимание во всем мире в связи с их широким распространением, многообразием и тяжестью клинического течения. Постоянно увеличивается число новых, ранее неизвестных арбовирусов, патогенных для человека и животных. В последнее 30-летие арбовирусные инфекционные болезни, передающиеся комарами, обозначились как существенная угроза общественному здоровью, о чем свидетельствует целый ряд крупных вспышек в различных регионах мира. В данной статье рассмотрены современная эпидемическая обстановка, основные факторы, способствующие расширению территорий с эпидемическими проявлениями и риски, связанные с распространением ряда актуальных арбовирусных лихорадок, передаваемых комарами, таких как лихорадка денге, чикунгунья, Зика и Западного Нила.

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 94—102

Ключевые слова: арбовирусные инфекции, лихорадка денге, лихорадка Западного Нила, лихорадка Зика, лихорадка чикунгунья

*K.V.Zhukov, A.V.Toporkov, D.V.Viktorov*

## **EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS AND MODERN EVOLUTION OF GLOBALLY SPREADING ARBOVIRUSES**

Volgograd Research Institute for Plague Control, Russia

More than 100 species of arboviruses can cause diseases in humans. Arbovirus infections attract attention of medical specialist around the world due to their wide distribution, diversity and severity of the clinical course. The number of new arboviruses, which are pathogenic for humans and animals, is constantly increasing. In the last 30 years arbovirus infectious diseases have become a significant threat to public health. There are many large-scale outbreaks in various regions of the world every year. This article examines the current epidemic status, the main factors contributing to the expansion of areas with epidemic manifestations and the risks associated with the spread of a arbovirus transmitted by mosquitoes, such as dengue, chikungunya, Zika and the West Nile.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 94—102

Key words: arbovirus infections, dengue fever, West Nile fever, Zika fever, chikungunya fever

По данным специалистов Всемирной организации здравоохранения от заболеваний, передающихся комарами, ежегодно погибают около 750 000 человек, а реальное число заболевших может достигать десятков миллионов человек. Немалая доля в этой статистике принадлежит арбовирусным инфекциям. Эти инфекции не раз

привлекали к себе особое внимание со стороны медицинских специалистов всего мира. Ярким примером чему могут послужить недавние вспышки лихорадки Зика в Бразилии и других странах Панамериканского региона, квалифицированные ВОЗ как чрезвычайные ситуации в области здравоохранения.

В последние три десятилетия получили широкое распространение инфекции, вызванные вирусом Зика (ZIKV), вирусом Западного Нила (WNV), различными серотипами вируса денге 1-4 (DENV1-4), вирусом чикунгунья (CHIKV). Они быстро распространяются и захватывают обширные, ранее эндемичные территории, представляя собой существенную угрозу общественному здоровью.

Лихорадка денге широко распространена в тропических регионах мира. Для каждого из эволюционно сформировавшихся 4 различных серотипов вируса денге (1, 2, 3 и 4 типы) характерно ежегодное расширение ареала распространения в мире. Основными переносчиками являются комары рода *Aedes*, в частности, *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* [19]. По данным Панамериканской организации здравоохранения (ПАОЗ) в настоящее время заболеваемость лихорадкой денге регистрируется в 51 стране региона. За последние 3 года выявлено около 200 тыс. случаев заболевания. В число наиболее пострадавших стран входят Мексика, Никарагуа, Колумбия, Перу, Парагвай, Бразилия и Доминиканская Республика. Эпидемические проявления лихорадки денге наблюдаются также в странах Южной, Юго-Восточной Азии и Западно-Тихоокеанского региона. В период 2016-2018 гг. было выявлено почти 1,5 млн случаев заболевания. Высокий уровень заболеваемости лихорадкой денге регистрируется в Малайзии, на Филиппинах, во Вьетнаме, в Шри-Ланке, Индии.

Хотя в последние годы наблюдается тенденция снижения количества случаев заболевания лихорадкой денге в мире, формирование высокого уровня заболеваемости происходит именно за счет новых территорий. Так, в 2016 г. всего было зарегистрировано около 2,5 млн случаев с подозрением на заболевание лихорадкой денге, в 2017 г. — около 1,9 млн случаев, на середину 2018 г. — зарегистрировано около 380 тыс. случаев с подозрением. Причем, в 2016 году основная масса заболевших была выявлена в странах Панамериканского региона, когда в странах Азиатского и Тихоокеанского регионов это значение составляло примерно 300 тыс. В 2017 году ситуация изменилась, 1,5 млн случаев с подозрением на инфицирование вирусом денге были зарегистрированы уже в странах Азиатского и Тихоокеанского регионов, в то время как в Панамериканском регионе эта цифра составила около 500 тыс. случаев. К середине 2018 года в странах Панамериканского региона зарегистрировано 294 009 случаев с подозрением на инфицирование вирусом денге. В странах Азиатского и Тихоокеанского регионов выявлено 105 037 случаев с подозрением.

Аналогично вирусу денге, основными переносчиками вируса чикунгунья, имеющими эпидемиологическое значение, являются комары *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus*, с которыми связан эпидемический, «городской» цикл передачи вируса от человека к человеку [37]. Эпидемические проявления лихорадки чикунгунья сейчас охватывают более чем 60 стран Азии, Африки и Америки. По данным ПАОЗ за последние два года в странах Панамериканского региона зарегистрировано более 60 тыс. случаев заболевания, на территориях Южной и Юго-Восточной Азии — более 250 тыс. случаев. В период 2017-2018 гг. в ряде стран Панамериканского региона зарегистрировано около 63 тыс. случаев с подозрением на заболевание, подтверждены лабораторно 21 тыс. случаев, из которых 13 летальных. На середину 2018 года заболеваемость лихорадкой чикунгунья отмечается в Бразилии, Коста-Рике, Сальвадоре, Мексике, Парагвае. За период 2016-2018 гг. в странах Южной и Юго-Восточной Азии случаи заболевания лихорадкой чикунгунья регистрируются в Индии (около 150 тыс. случаев заболевания) и Пакистане (около 5 тыс. случаев).

В Средиземноморском регионе случаи заболевания лихорадкой чикунгунья, вследствие локальной передачи вируса, зарегистрированы во Франции и Италии в 2017 году. По данным Министерства здравоохранения Италии выявлено 428 случаев заболевания в регионе Лацио, Центральная Италия, а также регионах Эмилия — Романья, Марке и Калабрия (из них — 238 лабораторно подтверждены). По данным Министерства здравоохранения Франции выявлено 17 случаев в регионе Прованс, из

них 15 подтверждены лабораторно. В 2018 году в Африканском регионе эпидемические осложнения наблюдаются в Кении, выявлено около 1 500 случаев заболевания, 50 из них подтверждены лабораторно.

Передача вируса лихорадки Зика происходит в основном при укусах комаров рода *Aedes*; основной переносчик — *Aedes aegypti* [22]. Помимо передачи комарами, зафиксирована внутриутробная передача вируса плоду, передача вируса при незащищенном половом контакте, инфицирование вирусом при переливании крови и лабораторное заражение [42]. Теоретически передача вирусов может осуществляться через грудное молоко и при трансплантации органов [1].

В настоящее время локальная передача вируса Зика отмечается на территориях Северной и Южной Америки, Африки, Юго-Восточной Азии, Тихоокеанского регионов. С 2016 по 2018 гг. в странах Панамериканского региона общее число случаев заболевания лихорадкой Зика составляет более 591 тыс., из них — более 226 тыс. случаев подтверждено лабораторно. Наиболее высокая заболеваемость наблюдается в Бразилии, Колумбии, Мартинике, Сальвадоре, Гондурасе, Венесуэле и ряде других стран региона. На протяжении 2016–2017 гг. заболеваемость лихорадкой Зика отмечалась в некоторых странах Южной и Юго-Восточной Азии, в частности, в Сингапуре (509 случаев), Вьетнаме (265 случаев), Таиланде (713 случаев), Филиппинах (57 случаев) и Малайзии (8 случаев). Один случай заболевания лихорадкой Зика был зарегистрирован в Сингапуре в 2018 году.

Лихорадка Западного Нила (ЛЗН) имеет самое широкое распространение в мире из упомянутых выше арбовирусов. Заболевание распространено на территории Африканского, Североамериканского, Европейского регионов, в том числе и в Российской Федерации. Основным переносчиком заболевания являются комары рода *Culex* [25]. На территории Североамериканского региона случаи заболевания регистрируются в США и Канаде. Самый высокий уровень заболеваемости за последние годы отмечен в США. По данным Центра по контролю и профилактике заболеваний (CDC) в 2017 г. в США зарегистрировано более 2 тыс. случаев заболевания ЛЗН среди населения, около 1300 (67%) случаев протекали в нейроинвазивной форме. На середину 2018 г. на территории США зарегистрировано 39 случаев заболевания населения ЛЗН, в т.ч. 23 (59%) нейроинвазивной формы, 1 летальный.

По данным Агентства общественного здравоохранения Канады на конец 2017 г. на территории Канады зарегистрировано 222 случая заболевания. По данным Европейского CDC в 2017 г. на территории региона было зарегистрировано 287 случаев заболевания ЛЗН в 11 странах: Австрия, Болгария, Венгрия, Греция, Израиль, Италия, Румыния, Сербия, Хорватия, Турция и Франция. В 2018 г. в странах ЕС (в Греции, Италии, Сербии, Венгрии и Румынии) зарегистрировано 43 случая заболевания ЛЗН.

На территории Российской Федерации заболеваемость ЛЗН регистрируется ежегодно, всего с 1997 по 2017 г. зарегистрировано 2519 случаев заболевания, из них около 80% зарегистрировано на очаговых по ЛЗН территориях Нижнего Поволжья. Самые крупные вспышки наблюдались в 1999 году (475 случаев), 2010 (524 случая) и в 2012 (447 случаев). Учитывая это, можно сделать вывод о цикличности возникновения крупных вспышек с периодичностью в 10–11 лет. Уровень заболеваемости последних лет соответствует значениям, наблюдаемым в межэпидемический период. В 2017 г. зарегистрировано 12 случаев заболевания ЛЗН. По состоянию на середину 2018 г. года в Российской Федерации зарегистрировано 11 случаев. Важно добавить, что сохраняется тенденция распространения возбудителя на северные территории страны, а маркеры вируса Западного Нила выявляются в 64 субъектах.

Эволюционные молекулярно-генетические преобразования генома возбудителей характеризуются формированием набора клонов, содержащих спонтанные мутации, из которых отбираются наиболее адаптированные к конкретному виду резервуара, переносчика, климату окружающей среды и другим условиям.

Передача вирусов членистоногими является продуктом специфических вирус-векторных взаимодействий. При инфицировании в организме комара образуются различные гаплотипы вируса, характерные для определенного органа насекомого, с максимальным разнообразием квазивидов в слюнных железах. При этом наибольшее

количество вариантов возникает во время попадания вирусов в новые виды переносчиков. Преимущество получает клон, способный к быстрой и эффективной репликации в организме переносчика при данных температурных условиях и не обладающий фатальной вирулентностью для насекомого [17]. Скорость возникновения новых квазивидов возрастает в несколько раз в эпидемическом цикле, при этом отбор клонов идет в направлении повышения инвазивности и вирулентности [17, 32].

Для этих вирусов характерно два цикла передачи: энзоотический и эпидемический, включающие чередование репликации у восприимчивых позвоночных и беспозвоночных хозяев. При этом вспышки лихорадок денге, чикунгунья и Зика обусловлены эпидемическим циклом передачи вирусов, где человек сам является резервуаром, а основные синантропные переносчики, комары видов *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus*, способны к множественному инфицированию. Наоборот, для лихорадки Западного Нила характерен энзоотический цикл передачи возбудителя, где к основным резервуарам относятся перелетные и синантропные птицы, к переносчикам орнитофильные комары родов *Culex*, *Anopheles* и *Aedes*. Человек является по сути «случайным» и на сегодня «тупиковым» звеном.

На современном этапе эволюции вирус денге существует как чрезвычайно разнообразная популяция эпидемических и энзоотических вариантов четырех серотипов. Для каждого из эволюционно сформировавшихся приблизительно 1000-2000 лет назад 4 различных серотипов вируса денге (DENV) (1, 2, 3 и 4 типы) характерно расширение ареала распространения в мире [27]; многие тропические и субтропические регионы Старого и Нового Света в настоящее время гиперэндемичны одновременно по нескольким серотипам вируса, что усиливает риски проявлений тяжелых геморрагических форм болезни. Предполагается, что эпидемические штаммы DENV-1, DENV-2 и DENV-4 возникли независимо друг от друга из различных энзоотических вариантов, а не единственного вируса предшественника. Несмотря на то, что пока нет четких данных об исходном энзоотическом варианте DENV-3, данный «городской» серотип также, как предполагается, сформировался из собственного предшественника [29].

Различия в геномах между штаммами энзоотического и эпидемического типа составляют порядка 19-20% и коррелируют с различиями в антигенной структуре вирусов. Например, в геноме природных штаммов DENV-2 найдены уникальные последовательности, отсутствующие у вариантов DENV-2, циркулирующих в «городском», эпидемическом цикле [14].

Штаммы вируса внутри различных серотипов генетически различаются также в зависимости от их географической принадлежности. Очевидно, что при распространении на новые территории преимущества имеют определенные генетические линии, адаптированные к определенным климатическим условиям, переносчикам, резервуарам [27]. Мутационные изменения в геномах вирусов денге, приводящие к их более эффективной репликации в организме хозяина, как правило, затрагивают последовательности генов белков оболочки, кодирующих потенциальные мишени Т- и В-лимфоцитов. Это особенно характерно для эпидемически значимых вариантов DENV-1 и DENV-3 [31, 39]. Как и для других флавивирусов, для DENV характерны также замены в структуре генов NS2B и NS5 (РНК-зависимая РНК-полимераза), приводящие к более высокому темпу появления нуклеотидных замен в геноме в целом. Следствием этого, как предполагается, является генерация множества генетических вариантов, некоторые из которых могут иметь селективные преимущества и будут лучше адаптированы в конкретных условиях [31].

Так, при анализе изолятов DENV-2 было установлено, что мутация E-390 в структуре белка оболочки, усилившая его способность к трансмиссивной передаче, стабильно закрепилась у эпидемически более значимых всемирного (cosmopolitan) и двух азиатских генотипов, вместе с тем, у предкового лесного (sylvatic) варианта DENV-2 свидетельств позитивного отбора по данной мутации не отмечено. Для большинства эпидемических изолятов азиатско-американского генотипа DENV-2 характерна мутация замены аланина на валин (A811V) в гене NS5 [35]. Роль геномных рекомбинаций в молекулярной эволюции арбовирусов, в целом, остается пока малоизученной. Следы рекомбинационных событий в вирусных геномах многие

авторы рассматривают как результат интенсивных адаптационных процессов к новым для вируса условиям, в частности, адаптаций к различным переносчикам. У вируса денге описаны достаточно редкие рекомбинации внутри серотипов DENV-1, DENV-2 и DENV-3. Вместе с тем, даже несмотря на неоднократно наблюдаемые факты коинфекции различными серотипами DENV, межсеротипическая геномная рекомбинация DENV достоверно установлена пока не была [8, 9, 11, 12].

Современный этап эволюции вируса чикунгунья (CHIKV) связан с появлением вариантов, более адаптированных к тем или иным видам переносчиков. Следует подчеркнуть важное значение исследований по выявлению мутационных изменений вируса, появление которых может привести к возрастанию его инфекционности в отношении различных видов позвоночных и комаров. Считается установленным, что приобретение CHIKV специфических мутаций в генах протеинов оболочки E1 и E2 обусловило адаптацию к комарам рода *Aedes*. Доказано, в частности, что мутации E1-K211E и E2-V264A повышают инфекционность вируса в отношении *Ae. aegypti* [30, 36, 40].

Глобальное расширение ареала CHIKV началось с момента появления вируса на территориях восточного побережья Африки на рубеже 2000-х годов, откуда он далее распространился по всему Индоокеанскому региону. Во время этого процесса вирус приобрел несколько специфических мутаций E1-T98A, E1-A226V и E2-L210Q, как предполагается, связанных, в том числе, с эффективной репликацией в *Ae. albopictus*. Высказывается мнение, что это способствовало дальнейшему расширению распространения восточно-центрально-южноафриканской линии вируса и привело к возможности реализации непродолжительной по времени локальной передачи CHIKV на новых для него «северных» территориях, в частности, в регионах Европейского Средиземноморья (побережье Италии, Франции), где плотность популяций *Ae. albopictus* высока [36].

Первоначально занесенные в регион Карибского бассейна на рубеже 2013 г. штаммы CHIKV не несли адаптивную мутацию A226V; данная замена в белке оболочки также не отмечалась и у последующих изолятов вируса из Северной и Южной Америки. В ходе эволюции американской линии CHIKV вирус приобрел изменения в структуре генов РНК-полимеразы (NSP4-A481D) и белка оболочки (E1-K211T и E1-K211E), определивших его повышенную адаптивность к *Ae. aegypti*. К другим вариантам адаптивных мутаций в структуре гена белка оболочки относят замены E1-M407L, E1-T98A, E2-A103T, обнаруженные в бразильских изолятах CHIKV [30, 36, 40, 47].

Филогенетический анализ демонстрирует группирование нуклеотидных последовательностей геномов вируса Зика на три генетические линии (генотипа): африканский генотип 1, африканский генотип 2 и азиатский генотип. Уникальной характеристикой вируса Зика является высокая частота обмена гомологичными участками генома. По-видимому, в период времени между концом 1940-х и серединой 2000-х гг. ZIKV претерпевал многочисленные рекомбинации в процессе адаптации к различным переносчикам, в частности, к различным видам *Aedes* [28, 43].

Данные сравнительной геномики указывают на то, что все представители азиатского генотипа вируса произошли от предкового штамма, попавшего на территорию Юго-Восточной Азии в конце 1960-х гг. Штаммы ZIKV, распространившиеся в 2015-2016 гг. на территориях Американского региона, филогенетически наиболее близки полинезийским штаммам 2013 года; степень гомологии их геномов составляла 99,7-99,9% [7, 16, 46].

В настоящее время очевидно, что достаточно быстрыми темпами идет формирование отдельных генетических групп (генотипов) внутри Панамериканского кластера вируса (латиноамериканский, центральноамериканский, североамериканский), а также современного Юго-Восточноазиатского варианта вируса. Необходимо отметить, что все актуальные геноварианты вируса Зика способны вызывать заболевание и связанные с ним патологии [28, 38, 43, 46]. Как установлено, темп накопления генетических изменений у штаммов вируса Зика, циркулирующих в эпидемическом, «городском» цикле, существенно превышает показатели изменчивости штаммов вируса в условиях энзоотической передачи. Считается, что накопление нуклеотидных замен (темпы мутаций) в геноме вируса Зика в энзоотическом цикле происходит в среднем с частотой от 0,99 до

1,06 на 1000 нуклеотидов в год, что является одним из самых высоких показателей среди флавивирусов. В случае передачи вируса в цикле «человек — комар — человек» темп накопления нуклеотидных замен более чем в 10 раз превышает показатели мутационных изменений в штаммах, циркулирующих в «диком» цикле [7, 16, 18, 38].

Участком генома ZIKV, обладающим наибольшей вариабельностью как среди африканского, так и среди азиатского генотипа, является ген мембранного протеина ргМ. На данный белок приходится около 10% всех выявленных аминокислотных замен в протеинах ZIKV. Определенные типы мутаций, в частности, замену серин-аспарагин в положении 139 последовательности ргМ связывают с повышенной тропностью ZIKV к клеткам нервной ткани позвоночных [21, 23, 46]

Также установлено, что мутация замены аланин-валин в позиции 188 белка NS1 вируса ведет к его более высокой инфекционности в отношении *Ae. aegypti*. Данный тип мутации характерен практически для всех штаммов американского кластера ZIKV [45].

Вирус Западного Нила обладает выраженной генетической неоднородностью. На сегодняшний день выделяют до девяти различных генотипов WNV. Наибольшее эпидемиологическое значение имеют штаммы вируса 1 и 2 генотипов.

Первый генотип вируса распространен по всему миру и представлен двумя отдельными кладами. Клада 1a включает в себя штаммы, выделенные в Европе (в том числе в Астраханской, Волгоградской областях, а также в Ставропольском крае РФ), Африке, Северной и Южной Америке. Масштабные вспышки заболеваний людей с поражением ЦНС были вызваны именно представителями данной клады. Клада 1b, также известная как вирус Кунджин, распространена в Океании. Неврологические заболевания, вызванные данными вариантами вируса, крайне редки [2—4, 33]. Штаммы 2 генотипа WNV до 2004 г. выделяли исключительно на территории Африки, однако позже их обнаружили в Венгрии, Греции, Италии и России. Вторым генотипом было принято считать менее патогенным, чем первый, до тех пор, пока он не стал причиной крупных эпидемиологических вспышек в Южной Африке и Европе (в том числе в Российской Федерации в 2010 — 2012 гг.), а также крупных эпизоотий среди птиц [3, 24, 32].

Помимо первого и второго, существуют и менее распространенные генотипы WNV. Генотип 3, также известный как вирус Рабенсбург, был выделен в Чешской Республике. Генотип 4 выделяли на территории России от комаров *Uranotaenia unguiculata* и *Anopheles hyrcanus*, озерных лягушек *Rana ridibunda*. Генотип 5 был обнаружен на территории Индии (некоторые авторы относят его к отдельному варианту 1 генотипа, 1c). В отдельный генотип 6 предложено выделить штаммы WNV, описанные в Испании [6, 10, 32, 33]. Вирус Каутанго изначально считали самостоятельным видом, но на сегодняшний день принято относить его к отдельному 7 генотипу WNV. Его штаммы были выделены из клещей и грызунов, что не является характерным для прочих генотипов вируса. Кроме того, на мышинои модели показано, что вирус Каутанго более вирулентен, чем штаммы, принадлежащие к генотипу 1a. Имеются также сведения о внутрилабораторном заражении вирусом Каутанго в Сенегале, однако его способность вызывать заболевание у людей нуждается в дополнительном подтверждении. Ряд авторов сообщают также о существовании 8 и 9 генотипов WNV. Предполагаемый 8 генотип был выделен из комаров *Culex perfuscus* в Сенегале, генотип 9 — из комаров *Uranotaenia unguiculata* в Австралии [13, 15, 33]. Филогенетические данные указывают на то, что общий предок всех известных на сегодняшний день генотипов WNV циркулировал на территории Африки на рубеже XVI-XVII в.

Расширяющееся распространение 1 и 2 генотипов WNV дало возможность наблюдать адаптивную эволюцию вируса, попадающего в новую среду. Большинство из современных эпидемиологических штаммов WNV несут N-связанный сайт гликозилирования в последовательности белка оболочки E. Установлено, что E-гликозилированные варианты проявляют большую нейроинвазивность. Кроме того, гликозилирование белка E также имеет значение в обеспечении более высоких темпов репликации вируса в организме переносчиков. По крайней мере, утрата гликозилирования в эксперименте приводит к существенному снижению эффективности вирусной репликации в комарах *Culex pipiens* и *Culex tarsalis* [15, 17, 26].

Капсидный белок С является одним из ведущих факторов патогенности WNV, индуцирующим Casp-зависимый апоптоз в эукариотических клетках. Апоптоз-ин-

дуцирующий сигнал локализован в С-концевом участке капсидного белка. Как установлено, аминокислотные замены в данном регионе протеина могут приводить к существенному возрастанию вирулентности вируса [15, 26, 32]. Возрастание вирулентности WNV в ходе его распространения в Северной Америке связывают также с появлением мутации T249P в белке геликазы NS3. Сформировавшиеся в настоящее время на территории Североамериканского континента новые эпидемически значимые варианты 1a генотипа — WN02-WN06 — несут аминокислотные замены в структуре белка оболочки E, способствующие, как предполагается, возрастанию скорости репликации вируса в переносчиках *Culex* spp. [17].

Существует целый комплекс факторов, формирующих риски, связанные с дальнейшим распространением и проявлениями рассмотренных выше лихорадок. Риски, связанные с современными эволюционными преобразованиями возбудителей, определяют возрастающую вероятность появления вариантов вирусов, лучше адаптированных к новым для них условиям. Данная проблема уже обозначена в отношении вирусов денге и чикунгунья, отдельные генетические варианты которых эффективно реплицируются в *Aedes albopictus* и способны реализовать циклы локальной передачи в подходящих климатических условиях, в частности, в регионах Европейского Средиземноморья.

Возрастающий риск дальнейшего распространения обозначенных вирусных лихорадок связан также с расширением ареала основных переносчиков. Наряду с упомянутыми *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus*, на новые для них территории успешно проникают и закрепляются такие виды, как *Ae. japonicus* и *Ae. koreicus*, появление которых уже отмечено на территории ряда стран Европейского региона и в Российской Федерации, в районах Причерноморского региона и дальневосточного Приморья.

Проблема глобального распространения основных переносчиков усиливается растущей и распространяющейся резистентностью их к основным группам препаратов, используемым для инсектицидных обработок. Исследования распространенности в популяциях видов *Aedes* мутаций, определяющих устойчивость к пиретроидам, фосфоорганическим соединениям и другим препаратам, показывают, что отдельные типы резистентности имеют уже практически глобальное распространение [41]. Упомянутые выше риски усиливаются целым комплексом абиотических, биотических и социально-экономических факторов, также носящих в последнее время глобальный характер. Среди них — рост населения и возрастающие темпы урбанизации, изменения популяционной структуры населения, отражающиеся в увеличении доли групп старших возрастов и числа лиц со сниженным иммунитетом, рост глобального и регионального миграционного и пассажиропотоков, глобальные и региональные изменения климата, изменения среды обитания, связанные с хозяйственной деятельностью. Эпидемиологические риски, связанные с распространением обозначенных арбовирусных лихорадок для Российской Федерации, в первую очередь, связаны с появлением больных, инфицированных на эндемичных или неблагополучных территориях, или с завозом инфицированных вирусами переносчиков транспортными средствами международного сообщения. С учетом того, что комары *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* являются компетентными переносчиками для вирусов Зика, денге и чикунгунья, необходимо учитывать возможность проникновения на территорию Российской Федерации одновременно нескольких арбовирусных лихорадок. Актуальными остаются риски инфицирования от больного с вирусемией при медицинских манипуляциях, риски передачи вируса ребенку от инфицированной матери внутриутробно, инфицирования при половом контакте.

Наличие потенциальных переносчиков арбовирусных лихорадок на территории Черноморского побережья Кавказа, к югу от г. Туапсе и до г. Батуми, и возможность их укоренения на Крымском полуострове свидетельствует о потенциальной возможности возникновения эпидемических осложнений. Однако, локальная передача вируса в цикле «человек-комар-человек» маловероятна. Это подтверждают сведения о низкой численности популяций комаров *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* и относительно неблагоприятных для неё климатических факторах (среднесуточные температуры не ниже 25С° в течение большей части года, высокая влажность). Более того, формирования очагов других тропических флавивирусных лихорадок, переносчиками воз-

будителей которых являются комары рода *Aedes* тех же видов, в настоящее время на территории Российской Федерации не отмечено. Вирус Западного Нила уже циркулирует в умеренных широтах, широком круге локально мигрирующих и перелетных видов орнитофауны, комарах рода *Culex*. Стоит отметить, что быстрые геномные изменения, позволившие использовать большое число видов в качестве хозяев, неизбежно приведут к еще большему расширению ареала в северном направлении.

Понимание тенденции эволюционных изменений геномов вирусов и их хозяев, резервуаров и переносчиков необходимо для укрепления системы санитарной охраны территории для предотвращения их заноса и распространения. Кроме того, необходимо и далее проводить и совершенствовать подходы к мониторингу за арбовирусными лихорадками, ростом населения, степенью урбанизации, увеличением доли групп старших возрастов и числа лиц со сниженным иммунитетом, ростом глобального и регионального миграционного и пассажиропотоков, глобальными и региональными изменениями климата. В Российской Федерации разработан и реализуется план, направленный на противодействие распространению болезней, вызываемых арбовирусами. Он предусматривает реализацию комплекса мер по санитарной охране территории, совершенствованию лабораторной диагностики и дезинсекционных мероприятий, организации действенного энтомологического мониторинга и контроля. Успешная реализация этого комплекса профилактических мероприятий требует дальнейшего усиления межведомственного взаимодействия в области изучения эпидемиологических, экологических и молекулярно-генетических аспектов природной очаговости актуальных для территории РФ вирусных лихорадок, передаваемых комарами, оценки рисков для населения РФ, внедрения в практику современных технологий мониторинга и контроля за переносчиками трансмиссивных инфекционных болезней.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Топорков А.В., Викторов Д.В., Смелянский В.П., Жуков К.В., Бородай Н.В., Шпак И.М., Куличенко А.Н., Михеев В.Н., Малеев В.В., Шипулин А.Г. Лихорадка Зика: состояние проблемы на современном этапе. Проблемы особо опасных инфекций. 2016, 1:5-12.
2. Путинцева Е.В., Смелянский В.П., Пак В.А., Бородай Н.В., Жуков К.В., Мананков В.В., Погасий Н.И., Ткаченко Г.А., Лемасова Л.В., Леденева М.Л., Пакскина Н.Д., Викторов Д.В., Антонов В.А. Эпидемическая ситуация по лихорадке Западного Нила в 2014 г. в мире и на территории Российской Федерации и прогноз ее развития в 2015 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2015, 1:36-41.
3. Путинцева Е.В., Липницкий А.В., Алексеев В.В., Смелянский В.П., Антонов В.А., Мананков В.В., Погасий Н.И., Злепко А.В., Чайка А.Н., Крючкова Т.П., Савченко С.Т., Жуков К.В. Распространение лихорадки Западного Нила в мире и Российской Федерации в 2010 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2011, 1(107):38-41.
4. Al-Jabi S.W. Global research trends in West Nile virus from 1943 to 2016: a bibliometric analysis. *Globalization and Health*. 2017, 13:55.
5. Allison R. McMullen, Fiona J. May, Li Li et al. Evolution of New Genotype of West Nile Virus in North America. *Emerging Infectious Diseases*. 2011, 17(5):785-793.
6. Barzon L., Papa A., Lavezzo E. et al. Phylogenetic characterization of Central/Southern European lineage 2 West Nile virus: Analysis of human outbreaks in Italy and Greece, 2013-2014. *Clinical Microbiology and Infection*. 2015, 21(12):1122.
7. Beaver J.T., Lelutiu N., Habib R. et al. Evolution of two major Zika virus lineages: Implications for pathology, immune response, and vaccine development. *Frontiers in Immunology*. 2018, 9:1640.
8. Blaney J.E., Johnson D. H., Firestone C.-Y. et al. Chemical Mutagenesis of Dengue Virus Type 4 Yields Mutant Viruses Which Are Temperature Sensitive in Vero Cells or Human Liver Cells and Attenuated in Mice. *J. Virol.* 2001, 75(20):9731-9740.
9. Bray M., Men R., Tokimatsu I. et al. Genetic Determinants Responsible for Acquisition of Dengue Type 2 Virus Mouse Neurovirulence. *J. Virol.* 1998, 72(2):1647-1651.
10. Chancey C., Grinev A., Volkova E. et al. The global ecology and epidemiology of West Nile virus. *Biomed Res. Int.* 2015, 2015:376230.
11. Chao D.-Y., King C.-C., Wang W.-K. et al. Strategically examining the full-genome of dengue virus type 3 in clinical isolates reveals its mutation spectra. *Virology Journal*. 2005, 2:72.
12. Chungue E., Cassar O., Drouet M.T. et al. Molecular epidemiology of dengue-1 and dengue-4 viruses. *J. Gen. Virol.* 1995, 76:1877-1884.
13. David S., Abraham A.M. Epidemiological and clinical aspects on West Nile virus, a globally emerging pathogen. *Infect. Dis.* 2016, 48(8):571-586.
14. Dwivedi V.D., Tripathi I.P., Tripathi R.C. et al. Genomics, proteomics and evolution of dengue virus. *Brief. Funct. Genomics*. 2017, 16(4):217-227.

15. Gamou F., Nicholas D.P., Martin F. et al. Biological and phylogenetic characteristics of West African lineages of West Nile virus. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2017, 8:1-23.
16. Gong Z., Xu X., Han G.-Z. The Diversification of Zika Virus: Are There Two Distinct Lineages? *Genome Biology and Evolution*. 2017, 9(11):2940-2945.
17. Grubaugh N.D., G.D. Ebel. Dynamics of West Nile virus evolution in mosquito vectors. *PMC*. 2017, 1:1-13.
18. Grubaugh N.D., Faria N.R., Andersen K.G. et al. Genomic Insights into Zika Virus Emergence and Spread. *Cell*. 2018, 172(6):1160-1162.
19. Hesse R.R. Dengue Virus Evolution and Virulence Models. *Clin. Infect. Dis*. 2007, 44(11):1462-1466.
20. Kawano H., Rostapshov V., Rosen L. et al. Genetic Determinants of Dengue Type 4 Virus Neurovirulence for Mice. *Journal of Virology*. 1993, 67(11):6567-6575.
21. Ling Yuan, Xing-Yao Huang, Zhong-Yu Liu et al. A single mutation in the prM protein of Zika virus contributes to fetal microcephaly. *Science*. 2017, 7120:1-9.
22. Liu Z., Zhou T., Lai Z. et al. Competence of *Aedes aegypti*, *Ae. albopictus*, and *Culex quinquefasciatus* mosquitoes as Zika virus vectors, China. *Emerg. Infect. Dis*. 2017, 23(7):1085-1091.
23. Logan I.S. ZIKA — How fast does this virus mutate? *Sci. Press Zool. Res*. 2016, 37(2):110-115.
24. Mann B.R., McMullen A.R., Swetnam D.M. et al. Molecular Epidemiology and Evolution of West Nile Virus in North America. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2013, 10(10):5111-5129.
25. McLean R.G., Ubico S.R., Docherty D.E. et al. West Nile Virus Transmission and Ecology in Birds. *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 2006, 951(1):54-57.
26. McMullen A.R., Albayrak H., May F.J. et al. Molecular evolution of lineage 2 West Nile virus. *The Journal of General Virology*. 2013, 94(2):318-325.
27. Messina J.P., Brady O.J., Scott T.W. et al. Global spread of dengue virus types: mapping the 70 year history. *Trends Microbiol*. 2014, 22:138-146.
28. Metsky H.C., Matranga C.B., Wohl S. et al. Zika virus evolution and spread in the Americas. *Nature*. 2017, 546(7658):411-415.
29. Nishiura H., Halstead S.B. Natural History of Dengue Virus (DENV)—1 and DENV-4 Infections: Reanalysis of Classic Studies. *J. Infect. Dis*. 2007, 195(7):1007-1015.
30. Parvez M.K., Parveen S. Evolution and Emergence of Pathogenic Viruses: Past, Present, and Future. *Intervirology*. 2017, 60(2):1-7.
31. Perry J.W., Chen Y., Speliotes E. et al. Functional Analysis of the Dengue Virus Genome Using An Insertional Mutagenesis Screen. *J. Virol*. 2018, 92:7.
32. Pesko K.N., Ebel G.D. West Nile virus population genetics and evolution. *Infection, genetics and evolution. Journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*. 2012, 12(2):181-190.
33. Petpole J.H., Compton B.W., Leimgruber P. et al. Modeling movement of West Nile virus in the Western hemisphere. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2006, 6:128-139.
34. Pryor M.J., Azzola L., Wright P.J. et al. Histidine 39 in the dengue virus type 2 M protein has an important role in virus assembly. *J. Gen. Virol*. 2004, 85(12):30-36.
35. Roehrig J.T., Butrapet S., Liss N.M. et al. Mutation of the dengue virus type 2 envelope protein heparan sulfate binding sites or the domain III lateral ridge blocks replication in Vero cells prior to membrane fusion. *Virology*. 2013, 441(2):114-125.
36. Sahadeo N.S.D., Allicock O.M., Salazar P.M.D. Understanding the evolution and spread of chikungunya virus in the Americas using complete genome sequences. *Virus Evol*. 2017, 3(1):1-10.
37. Schwameis M., Buchtele N., Wadowski P.P. Chikungunya vaccines in development. *Hum. Vaccines Immunother*. 2016, 12(3):716-731.
38. Srean G., Mongkolsapaya J. Evolution of neurovirulent Zika virus. *Science*. 2017, 358(6365):863-864.
39. Sessions O.M., Wilm A., Kamaraj U.S. et al. Analysis of Dengue Virus Genetic Diversity during Human and Mosquito Infection Reveals Genetic Constraints. *Neglected Tropical Diseases*. 2015, 9(9):37-41.
40. Shi J., Su Z., Fan Z. et al. Extensive evolution analysis of the global chikungunya virus strains revealed the origination of CHIKV epidemics in Pakistan in 2016. *Virol. Sin*. 2017, 32(6):520-532.
41. Vontas J., Kioulos E., Pavlidi N. et al. Insecticide resistance in the major dengue vectors *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. *Pestic. Biochem. Physiol*. 2012, 104(2):126-131.
42. Vorou R. Zika virus, vectors, reservoirs, amplifying hosts, and their potential to spread worldwide: What we know and what we should investigate urgently. *Int. J. Infect. Dis*. 2016, 48:85-90.
43. Wang L., Valderramos G., Wu A. et al. Commentary From Mosquitos to Humans: Genetic Evolution of Zika Virus. *Virus. Cell host & microbe*. 2016, 19(5):561-565.
44. Xia H., Luo H., Shan C. et al. An evolutionary NS1 mutation enhances Zika virus evasion of host interferon induction. *Nature Communications*. 2018, 9:1-13.
45. Yokoyama S., Starmer W.T. Possible Roles of New Mutations Shared by Asian and American Zika Viruses. *Molecular Biology and Evolution*. 2017, 34(3):525-534.
46. Zeller H., Bortel W.V., Sudre B. Chikungunya: Its History in Africa and Asia and Its Spread to New Regions in 2013—2014. *J. Infect. Dis*. 2016, 214(5):436-440.
47. Zhang C., Mammen M.P., Chinnawirotpisan P. et al. Structure and age of genetic diversity of dengue virus type 2 in Thailand. *J. Gen. Virol*. 2006, 87(4):873-883.

## **МЕЛИОИДОЗ И САП: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ И АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА**

Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт

*Burkholderia pseudomallei* и *Burkholderia mallei* являются этиологическими агентами особо опасных инфекций животных и людей, сапа и мелиоидоза и отнесены к потенциальным агентам биотерроризма. Проявления заболеваний варьируются от острой септицемии до хронической инфекции, поражаются любые органы и ткани, лечение требует длительных внутривенных и пероральных курсов антибиотиков. Зона эндемичности сапа и мелиоидоза охватывает значительные регионы мира, возрастает число случаев завоза инфекции в страны умеренных широт. Для Российской Федерации сап и мелиоидоз являются «забытой» и «неизвестной» инфекциями, и в настоящем обзоре представлены современные данные об их распространении в мире, эпидемиологических аспектах и особенностях лабораторной диагностики.

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 103—109

Ключевые слова: мелиоидоз, сап, *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia mallei*, сепсис, завоз инфекции

*I.B.Zakharova, A.V.Toporkov, D.V.Viktorov*

## **MELIOIDOSIS AND GLANDERS: CURRENT STATE AND ACTUAL ISSUES OF EPIDEMIOLOGICAL SURVEILLANCE**

Volgograd Research Institute for Plague Control, Russia

*Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei* are etiologic agents of glanders and melioidosis, the particularly dangerous infections of animals and humans, and are attributed to potential agents of bioterrorism. The manifestation of diseases ranges from acute septicemia to chronic infection, any organs and tissues are affected, and treatment requires long intravenous and oral antibiotic courses. The endemic zone of glanders and melioidosis covers spacious regions in the world, and the number of imported cases to temperate regions is constantly increasing. For the Russian Federation, glanders and melioidosis are «forgotten» and «unknown» infections, and this review presents current data on their distribution in the world, epidemiological aspects, and laboratory diagnosis features.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 103—109

Key words: melioidosis, glanders, *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia mallei*, sepsis, imported cases

Мелиоидоз и сап — инфекционные заболевания людей и животных с высокой летальностью, вызываемые *Burkholderia pseudomallei* и *Burkholderia mallei*, соответственно. Для обоих заболеваний характерен первичный или вторичный сепсис и множественные абсцессы внутренних органов. *B. pseudomallei* по своей природе сапрофит и его естественная среда обитания — тропические и субтропические почвы и стоячие воды [35], а также ризосфера и надземные части растений [20]. *B. mallei* является облигатным паразитом, не способным размножаться вне организма теплокровного хозяина [10]. *B. mallei* и *B. pseudomallei* филогенетически очень близки, более того, предполагают, что *B. mallei* эволюционировал в строгий патоген из *B. pseudomallei* путем редукции генома под воздействием селективного давления в организме млекопитающих [1].

Оба микроорганизма способны паразитировать внутриклеточно, что в сочетании с их необычайно высокой естественной резистентностью к большинству антибиотиков обуславливает сложность антибактериальной терапии вызываемых ими заболеваний. Для обеих инфекций до настоящего времени не разработаны средства специфической профилактики, а аэрогенное заражение, как правило, ведет к фатальному исходу, в связи с чем возбудители мелиоидоза и сапа относятся ко второй группе патогенных для человека микроорганизмов. Высокая вирулентность возбудителей, низкая инфицирующая доза, возможность доставки инфекционных агентов в форме аэрозоля определили включение *B. mallei* и *B. pseudomallei* в категорию «В» потенциальных средств биотерроризма [2, 15, 18].

Сап — высококонтагиозное зооантропонозное инфекционное заболевание, поражающее в естественных условиях преимущественно непарнокопытных (лошади, ослы, мулы, верблюды), а также представителей семейств кошачьих, псовых и медведей. Резервуаром и основным источником инфекции для человека являются больные животные с острыми формами болезни. При хронической и субклинической формах возбудитель выделяется с испражнениями, слюной, молоком, контаминируя внешнюю среду, в которой возбудитель может сохраняться при высокой влажности и отсутствии прямой инсоляции до 5 недель, в подсохших выделениях и воде до 3 месяцев, что также создает риск инфицирования как животных, так и людей [12, 21, 36]. Люди к сапу высоковосприимчивы, заражение человека чаще происходит контактным путем, реже алиментарным и аэрогенно. Заболевание носит, как правило, профессиональный характер у лиц, работающих с животными, также не исключена передача инфекции от человека к человеку [33].

Описаны четыре клинические формы сапа: острая локализованная инфекция, легочная, септическая и хроническая, а также их сочетания [34]. Кроме того, выделяют латентную (субклиническую) форму [10]. Инкубационный период варьирует от 1 суток до 12 недель. Симптомы острой локализованной инфекции проявляются в интервале от одного до пяти дней после заражения и без соответствующей терапии осложняются развитием сепсиса в течение двух недель. Первичный сепсис и сапная пневмония развиваются быстро с высокой летальностью в интервале 10-30 дней после заражения.

Локализованные инфекции характеризуются узелками, абсцессами и язвами на слизистых оболочках, коже или подкожной жировой клетчатке в месте инокуляции. Узелковые конкреции твердые, белого или серого цвета с казеозным или кальцинированным центром, окружены областями воспаления. При назальной локализации образуются узелки и глубокие язвы с серозными или кровоточащими выделениями. Поражения сопровождаются лихорадкой, отеком и воспалением регионарных лимфатических узлов. Распространение инфекции сопровождается появлением папулезной или пустулезной сыпи и приводит к колонизации внутренних органов с образованием множественных дискретных абсцессов печени, селезенки, легких, подкожных тканей и мышц [17]. Легочная форма может быть первичной при аэрогенном заражении или вторичной при гематогенном распространении инфекции с развитием септического шока и, как следствие, высокой смертности [36]. Летальность при легочной форме сапа составляет 90-95% при отсутствии или неадекватной терапии и 40 % при лечении; при септицемии — превышает 95% без лечения и 50% при лечении; для кожной формы сапа, без лечения приобретающей системный характер, смертность составляет 90-95% и 50% при надлежащем лечении. Для хронической формы смертность может составлять 50%, несмотря на лечение [28].

Анализ задокументированных восьми случаев лабораторного заражения сапом в США в 40-х годах прошлого века выявил временное (от нескольких дней до двух месяцев) субъективное и объективное улучшение состояния при остром сапе, по крайней мере, у половины пациентов, получавших лечение сульфаниламидами, в течение определенного периода времени после первой и до второй волны симптомов [33]. Лечение последнего описанного случая сапа показало неэффективность применения цефалоспоринов первого поколения, а также кларитромицина, курсы которых были проведены, исходя из ошибочных данных идентификации выделенной культуры автоматическим анализатором как *Pseudomonas* spp. После определения вида возбудителя как *B. mallei* генодиагностическими методами была использована схема лечения, включающая имипенем и доксициклин внутривенно в течение месяца с последующим пероральным приемом азитромицина и доксициклина в течение 6 месяцев, после чего состояние пациента значительно улучшилось [31].

В развитых странах Европы, Северной Америки и в СССР сап был ликвидирован уже к середине XX века. В настоящее время болезнь встречается в ряде регионов Африки, Азии, Ближнего и Среднего Востока, Центральной и Южной Америки и охватывает территории 23 стран мира [3, 10], среди которых сопредельные с Россией Монголия, Турция, Иран, Китай [5].

В последние 15 лет наблюдается тенденция к увеличению числа вспышек сапа среди породистых лошадей и других сельскохозяйственных и диких животных в Азии (Турция, Иран, Ирак, Ливан, Сирия, ОАЭ, Кувейт, Бахрейн, Монголия, Индия, Пакистан), Африке (Эфиопия) и Центральной и Латинской Америке (Мексика, Бразилия) [5]. В Российской Федерации были отмечены вспышки сапа лошадей в 2007 и 2013 гг. в Читинской области [25]. В 2000 г. в США был зарегистрирован случай заболевания сапом человека, вызванный внутрилабораторным заражением [31], в 2017 г. произошло заражение фермера от больной лошади в Бразилии (ProMED-mail, archiveno. 20170824.5272067) [5]. В связи с этим, в настоящее время сап отнесен к «возвращающимся инфекциям» [16, 21].

Причиной всех современных зарегистрированных завозных случаев сапа животных в Европе и Северной Америке являлся импорт инфицированных особей. В 2006 г. завозной случай сапа был зарегистрирован в Германии (импортированная лошадь, место заражения установить не удалось) [14], в 2011 г. — в Швейцарии (импорт лошадей из Ливана), в 2015 г. — в США (импорт осла из Мексики) [5]. В 2015 г. в Германии зарегистрирован случай заболевания сапом у местной лошади, причем источник инфекции установлен не был, предполагаемо, имел место контакт с животными, импортированными из Южной Америки [13]. Эти факты показывают, что на фоне возрастающего уровня международной торговли и перевозок породистых лошадей потенциальный риск завоза сапа в свободные от этой инфекции регионы получает реальные подтверждения. В странах, где сап был искоренен многие десятилетия назад, ветеринарные службы не имеют настороженности в отношении данного заболевания, и случаи заражения местного поголовья животных могут быть своевременно не распознаны, что создает опасность заражения людей и реинтродукции инфекции.

В ряде сопредельных с Россией стран и в странах — торговых партнерах РФ ежегодно фиксируются случаи и вспышки сапа животных. Согласно правилам проведения лабораторных исследований при осуществлении ветеринарного контроля на таможенной границе Евразийского экономического союза, регламентированными методами контроля инфицированности животных сапом являются: тест «малеиновая проба», РСК, РА с сапным антигеном. Однако, описаны факты недостаточной надежности перечисленных тестов, часто показывающих ложно негативный результат, что позже было установлено при вскрытии и методом ПЦР [13, 14]. В связи с этим, перечень регламентированных средств контроля целесообразно дополнить быстрыми и более точными генодиагностическими методами.

Полиморфизм клинических проявлений заболевания мелиоидозом настолько велик, что даже в эндемичных регионах поставить диагноз на основании клинической картины крайне проблематично, дифференциация между мелиоидозом и другими острыми и хроническими бактериальными инфекциями часто невозможна. Больным нередко диагностируют вирусные лихорадки, туберкулез, онкологические и другие заболевания. Смертность при мелиоидозе зависит от многих факторов (инфицирующей дозы и свойств штамма, общего состояния организма, своевременной диагностики и лечения) и варьирует от 90% при отсутствии или неадекватной терапии, в случаях септического шока до 80% даже при соответствующем лечении, до практически нулевой при вовремя диагностированных кожных формах. Средние показатели смертности варьируют от 10% при доступности надлежащей интенсивной терапии до 50% в регионах с недостаточно развитой системой здравоохранения [8, 35]. Инкубационный период заболевания варьирует в пределах 21 суток, однако при высокой инфицирующей дозе может составлять даже менее суток. Описаны случаи латентной инфекции, длившейся несколько десятков лет. Лечение мелиоидоза состоит из интенсивной фазы, длящейся 10-14 дней — цефтазидим или карбапенемы внутривенно в максимальных дозировках, затем 3-6 месяцев эрадикации возбудителя одним из следующих препаратов: триметоприм/сульфаметоксазол, доксицилин или амоксициллин/клавуланат, при этом частота рецидивов составляет примерно 5% [8].

В последние годы показано, что границы распространения *V. pseudomallei* значительно шире традиционно считавшихся эндемичными по мелиоидозу Юго-Восточной Азии и Северной Австралии и охватывают тропические и субтропические

области Южной и Юго-Восточной Азии, Западной и Центральной Африки, Южной и Центральной Америки, а также Северо-Восточной Австралии [22].

В естественных условиях источниками инфекции, прежде всего, являются почва и вода. Известны случаи заражения людей от больных животных [7]. В перечень животных, подверженных инфекции, обусловленной *B. pseudomallei*, входят более чем 50 видов тепло- и холоднокровных животных (наземные и водные млекопитающие, сумчатые, птицы, рептилии и рыбы, в том числе домашние и сельскохозяйственные животные), которые выделяют возбудитель с экскрементами, контаминируя внешнюю среду. Основными механизмами передачи мелиоидоза являются инокуляция, аэрогенный и алиментарный пути заражения [8]. Традиционно считалось, что заражение людей связано преимущественно с проникновением возбудителя через поврежденные кожные покровы. К настоящему времени показано, что во время природных катаклизмов, сопровождаемых ураганскими ветрами или цунами, преобладающим путем заражения становится ингаляционный [8, 24], также значительную роль играют алиментарный путь заражения, в том числе с грудным молоком [32]. Описаны случаи половой [8], а также нозокомиальной передачи мелиоидоза [9]. Среди факторов риска заражения мелиоидозом самым распространенными являются сахарный диабет (у 23-60% заболевших), хронический алкоголизм (в 12-39% случаев), хронические заболевания легких, почек (до 27% случаев), талассемия (7%), онкологические заболевания (<5%) и терапия глюкокортикоидами (<5%) [35].

В целом, заболеваемость мелиоидозом в мире имеет тенденцию к повышению. Согласно опубликованным в 2016 г. результатам прогнозно-аналитических исследований специалистов ряда исследовательских центров, современная заболеваемость мелиоидозом в мире может быть оценена на уровне 430 000 случаев в год при уровне смертности достигающем 58%, что превышает смертность от туберкулеза (15%), лептоспироза (6%) и лихорадки денге (2,5%) [23].

В последние годы интерес к мелиоидозу возрос и из-за регулярного завоза инфекции больными людьми или с инфицированными животными в страны умеренных широт [5, 11]. Впервые такие случаи были зарегистрированы в США среди ветеранов войны во Вьетнаме. В середине 70-х годов прошлого века вспышка мелиоидоза среди животных парижского зоопарка привела к гибели двух людей, большого количества животных, а также обширному загрязнению окружающей среды возбудителем, который, несмотря на проведенную дезинфекцию, сохранялся в пораженной почве в течение многих лет [8]. Источник заражения достоверно определен не был, вместе с тем, анализ сведений, размещенных в базе данных *Burkholderia pseudomallei* MLST database (<https://pubmlst.org/bpseudomallei/>) показал, что штаммы, выделенные во Франции от животных и из внешней среды в период вспышки (1976-1978 гг.), представлены, как минимум, четырьмя сиквенс-типами: ST1, ST57, ST82 и ST27. Кроме того, в PubMLST представлены еще два французских изолята из почвы и воды, для которых отсутствуют данные по году выделения, относящиеся к ST 347 и ST 348, что свидетельствует в пользу неоднократного завоза возбудителя и возможности его выживания во внешней среде на широтах выше 30 параллелей.

На основании филогеографической реконструкции происхождения и путей распространения *B. pseudomallei* считается, что в исторической перспективе центральную роль в глобальном распространении мелиоидоза сыграл антропогенный фактор [30]. Наиболее правдоподобным объяснением передачи *B. pseudomallei* между континентами является завоз контаминированных возбудителем почвы и воды, или инфицированных животных, или растений [6]. Данные филогеномного анализа показали наибольшую вероятность, что *B. pseudomallei* имеет австралийское происхождение, а на территорию Юго-Восточной Азии она была занесена во время последнего ледникового периода. Африканские штаммы возбудителя намного моложе, чем австралийские и азиатские, и обладают генетическими особенностями, свидетельствующими об их азиатских корнях. Предполагается, что крупномасштабная трансатлантическая работоторговля в XV–XIX столетиях и стала причиной распространения *B. pseudomallei* из Африки в Америку [6, 30].

Уже в современное время произошла обратная передача возбудителя из Юго-Восточной Азии в Северную Австралию [26]. В 2005 году в г. Дарвине (Северная тер-

ритория Австралии) зарегистрирован первый случай мелиоидоза, вызванный штаммом генотипа ST-562, ранее штаммы данного сиквенс-типа выделяли только в Китае и на Тайване. Клинические случаи мелиоидоза на гиперэндемичной территории окрестностей г. Дарвин внимательно отслеживаются с 1989 года, и ретроспективное исследование показало, что ранее не было случаев заболеваний, вызванных штаммами этого сиквенс-типа, а филогенетический анализ подтвердил азиатское происхождение этого клона [26, 27]. И хотя точный способ интродукции азиатского штамма в окрестности Дарвина неизвестен, данный пример демонстрирует относительную легкость межконтинентальной передачи *B. pseudomallei* в современный период, когда глобальная торговля и массовые миграции людей стали обычным явлением.

За последние 15 лет значительно увеличилось число лабораторно подтвержденных случаев мелиоидоза в странах умеренного климата, подавляющее большинство из которых являются завозными. Только для троих заболевших в США отсутствует история посещений эндемичных регионов [4]. Так, по данным N. Saidani et al. за 1986-2002 годы зафиксировано только 22 случая, среди которых подавляющее большинство (85,7%) имели начало в традиционно эндемичной Юго-Восточной Азии и были отмечены первые случаи заражения на территориях, ранее эндемичными не считавшимися: по одному случаю из Шри Ланка, Бангладеш, Индии, Карибских островов и Сьерра Леоне [29]. Тогда как за период 2003—2017 гг. зарегистрировано 120 случаев, что в 5,5 раза больше по сравнению с предшествующим аналогичным периодом. Смертность среди заболевших путешественников составила около 17%. Расширилась также и география регионов инфицирования: страны Юго-Восточной Азии по-прежнему преобладают по количеству заразившихся туристов (62,5%), впервые зарегистрированы случаи инфицирования в Китае, Мексике, странах Карибского бассейна и Южной Америки, в Восточной Африке и на Мадагаскаре, а также в Океании.

Не вызывает сомнения, что существенное увеличение числа регистрируемых в разных странах мира случаев мелиоидоза связано не только с расширением ареала возбудителя в мире, но и с возросшей настороженностью в отношении этой инфекции и хорошо налаженной в развитых странах лабораторной службой. Согласно рекомендациям, разработанным в итоге обсуждения проблем лабораторной диагностики на 7 Всемирном конгрессе по мелиоидозу (Бангкок, Таиланд, 2013), диагноз «мелиоидоз» следует рассматривать для каждого пациента с сепсисом, имеющего в эпидемиологическом анамнезе посещение эндемичных регионов, причем независимо от срока давности [19]. Поскольку клинические проявления заболевания весьма разнообразны и установление диагноза на основании их анализа весьма затруднительно, ключевую роль в диагностике инфекции имеют результаты лабораторных исследований.

Лабораторная диагностика заболевания сочетает применение разнообразных методов анализа фенотипических и молекулярно-генетических особенностей возбудителя. Стандартная схема лабораторной диагностики мелиоидоза и сапа, принятая в Российской Федерации (МУ 4.2.2787-10, МУ 4.2.2831-11), предусматривает проведение ускоренной диагностики, направленной на выявление специфических антигенов и ДНК возбудителей, а также определение специфических антител в крови пациентов и выделение культуры с последующим определением видовой принадлежности.

Быстрая и точная идентификация бактериальных изолятов является фундаментальной задачей лабораторной диагностики, решение которой обеспечивает представление об этиологии инфекционного заболевания и, как следствие, адекватно назначенное лечение. В настоящее время диагностическим стандартом сапа и мелиоидоза у людей и животных продолжает оставаться выделение чистой культуры, вопреки установленному факту низкой вероятности ее выделения (60,2%) [23]. Кроме того, наиболее распространенные варианты колоний в R-форме имеют вид, нетипичный для грамотрицательных бактерий, вследствие чего *B. pseudomallei* часто может быть принят за постороннюю микрофлору и остаться нераспознанным. Соответственно, диагностические проблемы бактериологически неподтвержденных случаев остаются нерешенными. Также необходимо принимать во внимание, что ни одна из существующих систем биохимической идентификации не дифференцирует *B. pseudomallei* и филогенетически близкую *B. thailandensis*, значительно менее

патогенную для млекопитающих. Кроме того, описаны случаи ошибочной идентификации возбудителя мелиоидоза как *B. seracía*, *Pseudomonas* spp., *Comamonas testosteroni* [37]. Процент корректно идентифицированных штаммов возбудителя мелиоидоза для систем API 20 NE и Vitek 2 GN является сопоставимым и составляет в среднем 87 и 86%, соответственно. Также при постановке диагноза следует учитывать, что результаты серологической диагностики мелиоидоза не являются однозначными в связи с возможным отсутствием сероконверсии при тяжелых формах инфекции (в 30% случаев), иммунологические методы, направленные на выявление антигена возбудителя не обладают достаточной специфичностью, а диагностическая чувствительность культурального метода не превышает 60%, что определяет решающую роль в лабораторной диагностике этой инфекции молекулярно-генетических методов, при обязательном учете данных эпидемиологического анамнеза.

Для нашей страны мелиоидоз является экзотической инфекцией, признаки которой незнакомы клиницистам и персоналу клинических лабораторий. Не исключено, что именно по этой причине в России официально не зарегистрировано ни одного случая мелиоидоза. Тем не менее, в связи с развитием международного туризма, в том числе и экологического, возрастает вероятность завоза в Россию самых разных экзотических инфекций, в частности мелиоидоза. В связи с вышеизложенным, в отношении мелиоидоза и сапа обоснованы следующие основные эпидемиологические риски: завоз в РФ инфекции с животными, имеющими субклинические формы заболеваний; появление больных, заразившихся на эндемичных территориях; также следует учитывать преднамеренное использование возбудителей в целях биотерроризма. Осуществление мониторинга за появлением заболеваний мелиоидозом и сапом на территории РФ требует организации эффективного взаимодействия между медицинскими учреждениями и учреждениями, осуществляющими функции санитарно-эпидемиологического и ветеринарного надзора. Рекомендуется акцентировать внимание всех заинтересованных служб и специалистов на случаях возникновения тяжелых инфекционных заболеваний у лиц, посещавших или длительно находившихся на эндемичных по мелиоидозу и сапу территориях. Врачам общей медицинской сети и врачам-инфекционистам, сталкивающимся со случаями тяжело протекающих инфекций с неустановленной этиологией у лиц с настораживающим эпиданамнезом, для уточнения и окончательной постановки диагноза рекомендуется направлять материал от больных (кровь, мокроту, мочу, мазки из зева, язва), а также неидентифицированные при первичном лабораторном исследовании культуры в специализированные центры диагностики, в частности, референс-центр по мониторингу за возбудителями мелиоидоза и сапа (ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский институт Роспотребнадзора).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Мелиоидоз и сап. Под ред. Топоркова А. В. Волга-пресс, Волгоград, 2016.
2. Онищенко Г.Г., Топорков А.В., Липницкий А.В., Викторов Д.В. Проблемы противодействия биологическому терроризму на современном этапе. Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. 2016, 1 (14): 24-31.
3. Al-Ani F.K., Roberson J. Glanders in horses: a review of the literature. *Veterinarski Arh.* 2007, 77:203-218.
4. Benoit T.J., Blaney D.D., Doker T.J. et al. A review of melioidosis cases in the Americas. *The American journal of tropical medicine and hygiene.* 2015, 93(6): 1134-1139.
5. Berger S. *Melioidosis and Glanders: Global Status: 2018 edition.* GIDEON Informatics, Inc, Los Angeles, California, USA. 2018.
6. Chewapreecha C., Holden M.T., Vehkala M. et al. Global and regional dissemination and evolution of *Burkholderia pseudomallei*. *Nature microbiology.* 2017, 2(4):16263.
7. Choy J.L., Mayo M., Janmaat A. Animal melioidosis in Australia. *Acta tropica.* 2000, 74(2-3):153-158.
8. Currie B.J. *Melioidosis: evolving concepts in epidemiology, pathogenesis, and treatment.* Thieme Medical Publishers. 2015, 36(1):111-125.
9. Douglas M.W., Lum G., Roy J. et al. Epidemiology of community acquired and nosocomial bloodstream infections in tropical Australia: a 12 month prospective study. *Trop Medicine International Health.* 2004, 9(7):795-804.
10. Dvorak G.D., Spickler A.R. Glanders. *Journal of the American Veterinary Medical Association.* 2008, 233(4): 570-577.

11. Elschner M.C., Hnizdo J., Stamm I. Isolation of the highly pathogenic and zoonotic agent *Burkholderia pseudomallei* from a pet green Iguana in Prague, Czech Republic. *BMC veterinary research*. 2014, 10(1): 283.
12. Elschner M.C., Neubauer H., Sprague L.D. The Resurrection of Glanders in a new Epidemiological Scenario: A Beneficiary of «Global Change». *Current Clinical Microbiology Reports*. 2017, 4(1): 54-60.
13. Elschner M., Liebler-Tenorio E., Brüggemann M. et al. Re-appearance of glanders into Western Europe: clinical, laboratory and pathological findings in a German horse. *OIE Bulletin report about recent glanders case in a free region*. 2016, 1:76-9.
14. Elschner M.C., Klaus C.U., Liebler-Tenorio E. et al. *Burkholderia mallei* infection in a horse imported from Brazil. *Educ Equine Vet. Educ*. 2009, 21(3):147-50.
15. Gilad J., Harary I., Dushnitsky T. et al. *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei* as bioterrorism agents: national aspects of emergency preparedness. *IMAJ-RAMAT GAN*. 2007, 9: 499-503.
16. Go P.C., Sansthan A. Glanders-A re-emerging Zoonotic disease. *J. Biol. Sci*. 2014, 14:38-51.
17. Gregory B.C., Waag D.M. Glanders. In: *Medical aspects of biological warfare*. 2007, 121: 146.
18. Guilhot A., Bricaire F., Bossi P. Glanders, melioidosis and biowarfare. *Presse medicale (Paris, France: 1983)*. 2005, 34(2 Pt 2): 185-188.
19. Hoffmaster A.R., Au Coin D., Baccam P. et al. Melioidosis diagnostic workshop, 2013. *Emerging infectious diseases*. 2015, 21(2). DOI: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2102.141045>.
20. Kaestli M., Schmid M., Mayo M. Out of the ground: aerial and exotic habitats of the melioidosis bacterium *Burkholderia pseudomallei* in grasses in Australia *Environmental microbiology*. 2012, 14(8):2058-2070.
21. Khan I., Wieler L.H., Melzer F. et al. Glanders in animals: a review on epidemiology, clinical presentation, diagnosis and countermeasures. *Transboundary and emerging diseases*. 2013, 60 (3): 204-221.
22. Limmathurotsakul D., Golding N., Dance D.A. et al. Predicted global distribution of *Burkholderia pseudomallei* and burden of melioidosis. *Nature microbiology*. 2016, 1(1):15008 <http://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2015.8>.
23. Limmathurotsakul D., Jansen K., Arayawichanont A. et al. Defining the true sensitivity of culture for the diagnosis of melioidosis using Bayesian latent class models. *PloS one*. 2010, 5(8):e12485.
24. Lo T.J., Ang L.W., James L. et al. Melioidosis in a tropical city state, Singapore *Emerging infectious diseases*. 2009, 15(10):1645.
25. OIE. World Animal Health Information Database (WAHIS) Interface (2018) [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation).
26. Price E.P., Sarovich D.S., Smith E.J. et al. Unprecedented melioidosis cases in northern Australia caused by an Asian *Burkholderia pseudomallei* strain identified by using large-scale comparative genomics. *Applied and environmental microbiology*. 2016, 82(3):954-963.
27. Price E.P., Smith M.L., Paxinos E.E. et al. Whole-genome sequences of *Burkholderia pseudomallei* isolates exhibiting decreased meropenem susceptibility. *Genome announcements*. 2017, 5(14):e00053-17.
28. Rega P.P. CBRNE — Glanders and melioidosis. *eMedicine (online)*. 2015. Available at: <http://emedicine.medscape.com/article/830235-overview>.
29. Saidani N., Griffiths K., Million M. et al. Melioidosis as a travel-associated infection: case report and review of the literature. *Travel medicine and infectious disease*. 2015, 13(5):367-381.
30. Sarovich D.S., Garin B., De Smet B. et al. Phylogenomic analysis reveals an Asian origin for African *Burkholderia pseudomallei* and further supports melioidosis endemicity in Africa. *MSphere*. 2016, 1(2): e00089-15.
31. Srinivasan A., Kraus C.N., Deshazer D. et al. Glanders in a military research microbiologist. *New England Journal of Medicine*. 2001, 345(4): 256-258.
32. Thatrimontrichai A., Maneenil G. Neonatal melioidosis: systematic review of the literature *The Pediatric infectious disease journal*. 2012, 31(11):1195-97.
33. Van Zandt K.E., Greer M.T., Gelhaus H.C. Glanders: an overview of infection in humans. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2013, 8:131. doi:10.1186/1750-1172-8-131.
34. Waag D.M., DeShazer D. Glanders: new insights into an old disease. In: Lindler L.E., Lebeda F.J., Korch G.W. eds. *Biological weapons defense: infectious diseases and counter bioterrorism*. Totowa, NJ: Humana Press, 2004.
35. Wiersinga W.J., Virk H.S., Torres A.G. et al. Melioidosis. *Nature reviews Disease primers*. 2018, 4:17107.
36. Wittig M.B., Wohlsein P., Hagen R.M. et al. Glanders — a comprehensive review. *DTW. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*. 2006, 113(9):323-330.
37. Zakharova I.B., Lopasteyskaya Y.A., Toporkov A.V., Viktorov D.V. Influence of Biochemical Features of *Burkholderia pseudomallei* Strains on Identification Reliability by Vitek 2 System. *Journal of global infectious diseases*. 2018, 10(1): 7-10.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПРЕБИОТИЧЕСКИХ, ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ФУКОЗЫ И ЕЕ ВЛИЯНИЯ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ

<sup>1</sup>Воронежский государственный университет инженерных технологий, <sup>2</sup>Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко; <sup>3</sup>НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова, Москва

*Цель.* Исследование влияния фукозы в рационе питания на микрофлору ЖКТ опытных животных с экспериментальным дисбиозом, гуморальные факторы неспецифического иммунитета, а также степень фукозилирования ооцитов и долю способных к оплодотворению яйцеклеток. *Материалы и методы.* Пребиотические свойства фукозы изучали путем анализа просветной микрофлоры опытных мышей на фоне экспериментального дисбиоза. Исследование факторов неспецифического иммунитета проводили после иммунизации мышей по уровню антителообразования в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа. Степень фукозилирования ооцитов оценивали по интенсивности их свечения при микроскопировании яйцеклеток опытных мышей на флуоресцентном микроскопе. *Результаты.* Применение фукозы во всех испытанных дозах приводило к восстановлению состава и численности микрофлоры ЖКТ. Для коррекции дисбиоза оптимальной являлась концентрация фукозы 0,02% от массы тела опытных животных. Включение фукозы в диету опытных животных в дозировке 0,008 % от массы тела обеспечивало самый высокий уровень иммунного ответа. При добавлении в рацион мышей фукозы в дозировке 0,008 % наблюдалось увеличение степени фукозилирования ооцитов, доли способных к оплодотворению яйцеклеток. *Заключение.* Установлена бифидогенная и лактогенная активность фукозы. Показана способность фукозы стимулировать повышение уровня антител в сыворотке крови. Выявлена тенденция положительного влияния фукозы в рационе мышей на степень фукозилирования ооцитов.

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 110—114

Ключевые слова: фукоза, пребиотики, иммунитет, ооцит, фукозилирование

## INVESTIGATION OF PREBIOTIC, IMMUNOSTIMULATING PROPERTIES OF FUCOSE AND ITS EFFECT ON REPRODUCTIVE FUNCTION

<sup>1</sup>Voronezh State University of Engineering Technologies, <sup>2</sup>Burdenko Voronezh State Medical University; <sup>3</sup>Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

*Aim.* Investigation of the effect of fucose in the diet on the gastrointestinal microflora of experimental animals with experimental dysbiosis, the humoral factors of nonspecific immunity, as well as the degree of fucosylation of oocytes and the proportion of oocytes that can be fertilized. *Materials and methods.* Prebiotic properties of fucose were studied by analyzing the luminal microflora of experimental mice against the background of experimental dysbiosis. Investigation of factors of nonspecific immunity was carried out after immunization of mice according to the level of antibody formation in blood serum by the method of enzyme immunoassay. The degree of fucosylation of oocytes was assessed by the intensity of their luminescence upon microscopy of oocytes of experimental mice on a fluorescent microscope. *Results.* The use of fucose in all tested doses led to the restoration of the composition and quantity of the gastrointestinal microflora. For the correction of dysbiosis, the optimal concentration of fucose was 0.02% of the body weight of the experimental animals. Inclusion of fucose in a diet of experimental animals in the amount of 0.008% to the body weight provided the highest level of immune response. The degree of fucosylation of oocytes, the proportion of oocytes capable of fertilization was increased when fucose were introduced in the amount of 0.008% to the body weight of the mice. *Conclusion.* Bifidogenic and lactogenic activity of fucose is established. The ability of fucose to stimulate an increase in the level of antibodies in in blood serum is shown. The tendency of positive effect of fucose in the diet of mice on the degree of fucosylation of oocytes was revealed.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 110—114

Key words: fucose, prebiotics, immunity, oocyte, fucosylation

## ВВЕДЕНИЕ

В последние годы большое внимание привлекают процессы фукозилирования биомолекул, указывающие на фундаментальную роль фукозы в различных биологических процессах. L-фукоза входит в состав многих гликанов, гликопротеинов и гликолипидов, в том числе олигосахаридных структур клеточных мембран. Молекула фукозы присутствует в антигенах групп крови АВН и в некоторых олигосахаридных структурах, принадлежащих к антигенам Льюиса [8]. Фукоза играет важную роль во многих физиологических процессах, таких как эмбриогенез, апоптоз, передача нейронов, адгезия лейкоцитов, оплодотворение, развитие плода [8]. Рассматривается возможность использования фукозы в качестве биомаркера при различных заболеваниях, в том числе раке молочной железы [6]. Известно также, что фукоза является незаменимым углеводным компонентом иммуноглобулинов и лектинов, участвует в реакциях высокоспецифичных белок-белковых взаимодействий [7], межклеточного узнавания, процессах онтогенеза и клеточной дифференциации [9]. Учитывая, что микрофлора ЖКТ участвует в стимуляции локального иммунитета [1, 4], актуальным является исследование пребиотических свойств фукозы. Имеются данные о том, что бифидобактерии способны к росту и развитию на средах с фукозой в качестве единственного источника углевода [2], однако пребиотическая активность фукозы *in vivo* изучена недостаточно.

Имеются сведения о том, что фукоза непосредственно участвует и в репродуктивных процессах. Многие исследователи отмечают важную роль фукозилирования ооцитов в процессах оплодотворения у позвоночных. Установлено, что остатки фукозы сконцентрированы на поверхности яйцеклетки и непосредственно участвуют в распознавании и адгезии сперматозоида к оболочке ооцита за счет фукозидазы, локализованной на акросоме [5, 10, 11].

Цель работы — исследование влияния фукозы на микрофлору желудочно-кишечного тракта опытных животных с экспериментальным дисбиозом, гуморальные факторы неспецифического иммунитета, а также степень фукозилирования ооцитов и долю способных к оплодотворению яйцеклеток.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пребиотические свойства фукозы в опытах *in vivo* изучали на белых беспородных мышах массой 16-18 г при пероральном введении возрастающих доз препарата (0,01%, 0,02% и 0,04% от массы тела) в течение 14 суток на фоне экспериментального дисбиоза. Экспериментальный дисбиоз индуцировали введением опытным мышам антибиотика доксицилина гидрохлорида (ОАО «Белмедпрепараты», Беларусь) в количестве 0,01% от массы тела в течение 7 дней.

Просветную микрофлору анализировали по 3 пробам асептически взятых фекальных масс от 5 мышей через 7 и 14 дней эксперимента. Состав микрофлоры кишечника опытных животных проводили по общепринятой методике [3]. Выделение бактерий из патологического материала и идентификацию штаммов проводили с использованием соответствующих стандартных дифференциально-диагностических сред (кровяной агар, агар Клиглера, среда Кларка, фенилаланиновый агар, МРС-4, среда Сабуро, среда Плоскирева, среда Симмонса, среда с лизином, среда Эндо, среда Блаурокка).

Факторы неспецифического иммунитета изучали путем определения уровня антителообразования в сыворотке крови мышей после их иммунизации. В эксперименте использовали 4 группы мышей-самцов линии NMRI массой 22-27 г по 6 особей в каждой. Мыши опытных групп вместо воды получали фукозу, растворенную в воде в концентрациях, обеспечивающих ежедневное потребление фукозы в количествах 40, 80 и 160 мкг/г массы тела, исходя из того факта, что мышь выпивает в среднем 2 мл воды в день. Раствор фукозы получали мыши опытных групп за 7 дней до первичной иммунизации и далее на протяжении 28 дней в течение всего эксперимента. Мыши контрольной группы получали только воду. В эксперименте использовали классическую схему иммунизации, при которой введение антигена проводилось с полным и неполным адьювантом в два этапа. Мыши были иммунизированы внутрибрюшинно карбоангидразой, выделенной из эритроцитов быка («AbD

Serotec», США), в количестве 50 мкг на особь. Первая иммунизация была проведена с полным адьювантом Фрейнда («Sigma», США), при этом объем смеси антиген-адьювант составлял 0,5 мл на одно животное. Вторая иммунизация проводилась через 14 дней после первой с неполным адьювантом Фрейнда («Sigma», США). Для определения вторичного иммунного ответа через 14 дней после вторичной иммунизации карбоангидразой производили декапитацию мышей и собранную кровь центрифугировали на малой скорости в течение 10 мин. В полученной сыворотке определяли концентрацию антител с помощью иммуноферментного анализа. В лунки 96-луночного планшета наносили антиген (карбоангидразу) по 10 мкг на лунку в 100 мкл 50 мМ карбонатного буфера (рН 9,6) и выдерживали в течение ночи при температуре 4 °С. После добавления блокирующего буфера (смесь 0,05% Твин 20, 5% сухого молока в фосфатно-солевом буфере) инкубировали в течение 1 часа при температуре 37 °С. Сыворотки крови разного разведения (от 1:100 до 1:50000) в количестве 100 мкл вносили в каждую лунку, после 3 часов инкубации добавляли по 100 мкл конъюгированных с биотином антител козы («StressGen Biotechnologies», Канада) и инкубировали при температуре 37 °С в течение 1 ч. После инкубации с вторичными антителами в лунку вносили конъюгат стрептавидина с пероксидазой хрена («Имтек», Россия) и по 100 мкл зеленого красителя АВТС («Sigma», США) в 0,05 М цитратном буфере (рН 5,0) с 0,01% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и оставляли при комнатной температуре для развития окраски (10–40 мин). Для остановки реакции использовали 1,5 мМ NaN<sub>3</sub> в 50 мМ цитратном буфере (рН 5,0). Оптическую плотность измеряли при 405 нм на планшетном спектрофотометре Titertek Multiscan MCC/340 («Flow Laboratories», Финляндия).

Степень фукозилирования ооцитов определяли у 2 групп мышей-самок линии NMRI массой 22–27 г по 4 особи. Мыши опытной группы получали вместо воды раствор фукозы в концентрации, обеспечивающей ежедневное потребление фукозы в количестве 80 мкг/г массы тела, учитывая, что мышь выпивает в среднем 2 мл воды в день. Мыши получали фукозу в течение 30 дней перед выделением яйцеклеток. Затем у них вызывали суперовуляцию путем инъекции сыворотки жеребых кобыл подкожно в дозировке 0,2 мл/мышь, через 48 часов — хорионического гонадотропина внутривбрюшинно в дозировке 0,2 мл/мышь. Через 24 часа неоплодотворенные яйцеклетки выделяли промыванием яйцеводов физиологическим раствором и инкубировали в течение 1 часа в 0,3% растворе лектина *Ulex europaeus* («Sigma», США), конъюгированного с FITC (флуоресцин, максимум поглощения при  $\lambda=494$  нм, максимум эмиссии при  $\lambda=521$  нм). Яйцеклетки отмывали физиологическим раствором и микроскопировали на флуоресцентном микроскопе при длине волны  $\lambda=494$  нм. Степень фукозилирования мембраны ооцита оценивали по интенсивности свечения. Математическую обработку полученных микрофотографий для оценки интенсивности свечения проводили с помощью пакета программ TLC-manager 4.0.1.

В работе представлены средние результаты серии экспериментов, достоверность которых обеспечивалась трехкратным и пятикратным повторением опытов с одновременным контролем ошибок измерения, обеспечивающим 95% точности по статистическим критериям. Полученные данные обрабатывали с использованием стандартных статистических методов с помощью критерия Стьюдента в программе «Statistica 9.0».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Была исследована пребиотическая активность фукозы в опытах *in vivo* у опытных животных на фоне индуцированного дисбиоза. Исследование нормофлоры мышей показало наличие *Escherichia coli*, *Bifidobacterium bifidum* и *Lactobacillus acidophilus* в количестве 10<sup>6</sup>, 10<sup>3</sup> и 10<sup>10</sup> КОЕ/см<sup>3</sup> соответственно. После введения антибиотика в течение 7 дней у мышей наблюдалась элиминация нормальной микрофлоры и контаминация кишечника условно патогенной микрофлорой. Содержание *L. acidophilus* в фекалиях снизилось до 10<sup>3</sup> КОЕ/г, *B. bifidum* не обнаруживались совсем, а количество *E. coli* повысилось до 10<sup>8</sup> КОЕ/см<sup>3</sup>.

Результаты исследования микрофлоры мышей после коррекции экспериментального дисбиоза с помощью фукозы представлены в табл. Применение фукозы во всех испытанных дозах приводило к увеличению количества бифидобактерий и

молочнокислых бактерий уже на 7 сутки после введения, что свидетельствует о ее пребиотическом действии. Оптимальной концентрацией фукозы, достаточной для коррекции дисбиоза, можно считать 0,02% к массе тела опытных животных.

Фукоза является незаменимым углеводным компонентом иммуноглобулинов, выполняя роль терминального сахара в полисахаридной цепи гликопротеинов. Есть основания полагать, что при отсутствии в плазме крови минорных сахаров возможно нарушение синтеза углеводных цепей иммуноглобулинов, и соответственно, снижение их активности. Изучение влияния различных концентраций фукозы на процесс антителообразования у мышей показало, что количество антител в опытных группах, получавших фукозу в дозировке 80 мкг/г и 40 мкг/г, было выше по сравнению с контролем. Повышение дозировки фукозы до 160 мкг/г не приводило к статистически достоверному изменению уровня антителообразования относительно контроля. Включение фукозы в рацион опытных животных в дозировке 80 мкг/г массы тела обеспечивало самый высокий уровень антител в плазме крови у опытных мышей, а следовательно, приводило к положительному изменению их иммунного статуса.

Известно, что в состав гликопротеинов оболочки яйцеклетки входит значительное количество фукозы, которая непосредственно участвует в распознавании и адгезии сперматозоида, при ее недостатке могут возникать нарушения в процессе формирования яйцеклеток и их оплодотворения. Было исследовано влияние фукозы в рационе опытных мышей на процесс фукозилирования ооцитов. У мышей опытной группы наблюдалось увеличение интенсивности свечения яйцеклеток относительно контроля, что связано с большим количеством фукозы в оболочке ооцита. Яйцеклетки опытных мышей отличались большей степенью фукозилирования (53,2%), и в них наблюдалось более равномерное распределение молекул фукозы по поверхности ооцита, в то время как у контрольной группы животных (степень фукозилирования — 46,8%) отмечены неоднородности в структуре оболочек ооцитов. Для мышей опытной группы установлено увеличение доли способных к оплодотворению яйцеклеток с 25 до 75%, а также количества детенышей в помете в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой (9±1 и 6±1 соответственно). Таким образом, введение в рацион мышей фукозы в дозировке 80 мкг/г массы тела способствовало увеличению степени фукозилирования ооцитов, доли способных к оплодотворению яйцеклеток и увеличению количества детенышей в помете, что говорит о положительном влиянии фукозы на репродуктивную функцию млекопитающих.

На основании полученных результатов можно заключить, что фукоза способствует восстановлению состава и численности нормальной микрофлоры опытных животных, что говорит о ее пребиотическом действии; способность фукозы стимулировать повышение уровня антител свидетельствует об иммуноотропных свойствах углевода. Увеличение доли способных к оплодотворению яйцеклеток и степени фукозилирования ооцита при введении в рацион опытных животных фукозы косвенно свидетельствует о положительном влиянии фукозы на репродуктивную функцию опытных животных.

*Работа выполнена в рамках гранта Российского научного фонда (проект № 17-76-10059).*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ардатская М.Д., Бельмер С.В., Добрица В.П., Захаренко С.М., Лазебник Л.Б., Минушкин О.Н., Орешко Л.С., Ситкин С.И., Ткаченко Е.И., Суворов А.Н., Хавкин А.И., Шендеров Б.А. Дисбиоз (дисбактериоз) кишечника: современное состояние проблемы, комплексная диагностика и лечебная коррекция. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2015, 5 (117): 13-50.

## Влияние фукозы на микрофлору мышей на фоне дисбактериоза

Микроорганизмы	Содержание микроорганизмов в пробах, КОЕ/г фекалий		
	Дозировка фукозы, % от массы тела опытных мышей		
	0,01	0,02	0,04
контрольное время — 7 суток			
<i>E.coli lac<sup>+</sup></i>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>
<i>Bifidobacterium spp.</i>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 <sup>10</sup>	10 <sup>11</sup>	10 <sup>11</sup>
контрольное время — 14 суток			
<i>E.coli lac<sup>+</sup></i>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>
<i>Bifidobacterium spp.</i>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Lactobacillus spp.</i>	10 <sup>10</sup>	10 <sup>11</sup>	10 <sup>11</sup>

2. Санина Т.В., Кирьянова С.В., Черемушкина И.В., Корнеева О.С. Исследование бифидогенной активности фукозы и ее полимеров. Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2011, 1: 141-143.
3. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Микрофлора человека и животных и её функции. М., ГРАНТЬ, 1998.
4. Шендеров Б.А. Роль питания и кишечной микрофлоры в поддержании нутритивного гомеостаза человека. Вестник восстановительной медицины. 2008, 1: 12-13.
5. Inra J., Concetta V., Daniela de C. et al. Drosophila sperm surface alpha-L-fucosidase interacts with the egg coats through its core fucose residues. *Insect. Biochem. Mol. Biol.* 2015, 63: 133-143. doi: 10.1016/j.ibmb.2015.06.011.
6. Listinsky J.J., Siegal G.P., Listinsky C.M. The emerging importance of alpha-L-fucose in human breast cancer: a review. *Am. J. Transl. Res.* 2011, 3 (4): 292-322.
7. Luther K.B. Role of unusual O-glycans in intercellular signaling. *International Journal of Biochemistry Cell Biology.* 2009, 41: 1011-1024.
8. Orczyk-Pawliłowicz M. The role of fucosylation of glycoconjugates in health and disease. *Postepy Hig. Med. Dosw. (Online).* 2007, 61: 240-252.
9. Park D., Ryu K.S., Choi D. et al. Characterization and role of fucosemutarotase in mammalian cells. *Glycobiology.* 2007, 17 (9): 955-962.
10. Romero-Aguirregomezcorta J., Mat6s C., Coy P.  $\alpha$ -L-fucosidase enhances capacitation-associated events in porcine spermatozoa. *Vet. J.* 2015, 203 (1): 109-114. doi: 10.1016/j.tvjl.2014.11.006.
11. Venditti J.J., Swann J.M., Bean B.S. Hamster sperm-associated alpha-L-fucosidase functions during fertilization. *Biol. Reprod.* 2010, 82 (3): 572-579. doi: 10.1095/biolreprod.109.076695.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

*А.С.Оксанич, А.А.Никонова, В.В.Зверев*

## **РЕКОМБИНАНТНЫЕ АНТИТЕЛА В ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ: ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ**

НИИ вакцин и сывороток имени И.И.Мечникова, Москва

За последние 20 лет было разработано более 60 рекомбинантных моноклональных антител (МкАт) для лечения различных заболеваний. Более 30 препаратов антител разрешены к применению в терапии, включая большую группу препаратов против онкологических заболеваний. Также МкАт используют в трансплантологии, для лечения сердечно-сосудистых, аутоиммунных и, в редких случаях, инфекционных заболеваний. Несмотря на то, что от вирусных заболеваний ежегодно гибнут десятки миллионов людей, в настоящее время разрешен всего один препарат на основе рекомбинантных антител для профилактики РСВ у детей. В обзоре основное внимание уделяется подходам к созданию терапевтических МкАт против вирусных инфекций, примерам терапии вирусных инфекций рекомбинантными антителами и проблемам разработки таких методов лечения.

*Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 114—123*

Ключевые слова: рекомбинантные антитела, вирусные инфекции, иммуноглобулин, терапия

*А.С.Оксанич, А.А.Никонова, В.В.Зверев*

## **RECOMBINANT ANTIBODIES IN ANTI-VIRAL THERAPY: ACHIEVEMENTS AND PERSPECTIVES**

Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

More than 60 recombinant monoclonal antibodies (mAbs) have been developed for the treatment of various diseases in the last 20 years. About 30 antibody preparations are approved for use in therapy, including large group of drugs against cancer. In addition, mAbs are used in transplantation, for the treatment of cardiovascular, autoimmune and, in rare cases, infectious diseases. Despite the fact that tens millions of people die every year from viral diseases, only one drug based on recombinant antibodies for the prevention of RSV in children is currently allowed. This review focuses on approaches to generate therapeutic mAbs to fight viral infection, examples of mAb therapies for viral infections, and the challenges of developing such therapies.

*Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 114—123*

Key words: recombinant antibodies, viral infections, immunoglobulin, therapy

Применение антител (Ат) в терапии вирусных инфекций началось еще в начале XX века, когда для лечения больного использовали сыворотку от выздоровевшего от той же инфекции донора. Постепенно сывороточные препараты стали замещаться на очищенный иммуноглобулин из пулированной донорской сыворотки, так называемый внутривенный иммуноглобулин (ВВИГ).

Несмотря на успехи как от сывороточной терапии, так и от применения ВВИГ, никакого существенного прогресса в использовании антител для терапии инфекций не было достигнуто, до тех пор, пока в 1975 году не была разработана моноклональная технология, позволяющая выделять от иммунизированных мышей моноклональные антитела (МкАт) нужной специфичности. До середины 80 годов XX века были разработаны несколько эффективных методов выделения МкАт, активных в отношении вирусов человеческого и животного происхождения. Одним из таких методов стал фаговый дисплей, принцип действия которого заключается в использовании антигена для так называемого пэннинга библиотек антител, построенных из генов вариабельных областей тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина от неиммунных, вакцинированных или естественно инфицированных людей. В этом методе библиотеки антител представлены антигену через дисплей на фагах, бактериях, дрожжах или клетках млекопитающих [37]. В других методах антитела клонируются из одиночных В-клеток периферической крови или плазматических В-клеток, изолированных от вакцинированных или естественно инфицированных животных или людей. МкАт также получают из иммунных сывороток используя подходы, которые комбинируют методы протеомики и обратной генетики [12]. Недавно пары тяжелой и легкой цепей были собраны на основе метода глубокого секвенирования репертуара генов IgG В-клеток [24]. В настоящем обзоре основное внимание уделяется подходам к созданию терапевтических МкАт против вирусных инфекций, примерам терапии МкАт от вирусных инфекций и проблемам разработки таких методов лечения.

### **Моноклональные антитела против вирусных инфекций**

*Респираторно-синцитиальный вирус (РСВ).* В 1998 году FDA одобрил препарат Паливизумаб (Synagis) для профилактики РСВ-инфекции у детей. Паливизумаб представляет собой гуманизированное МкАт, которое связывается с F-гликопротеином РСВ. Другой препарат — Мотавизумаб — производное Паливизумаба, в десять раз более активно связывается с F-гликопротеином, чем Паливизумаб [25]. В клинических испытаниях у реципиентов Мотавизумаба наблюдали 26% снижение случаев госпитализации от РСВ-инфекции по сравнению с получателями Паливизумаба. У амбулаторных пациентов, получающих в качестве терапии Мотавизумаб, РСВ в нижних дыхательных путях детектировали на 50 % реже, чем у реципиентов Паливизумаба [11]. В испытаниях фазы 1 препарата антител против РСВ пролонгированного действия, известного как Мотавизумаб-УТЕ (Мотавизумаб с аминокислотными заменами в Fc-фрагменте МкАт M252Y/S254T/T256E [УТЕ]) на здоровых добровольцах, было показано, что клиренс Мотавизумаба-УТЕ был значительно ниже (71-86 %), а период полувыведения увеличивался в 2-4 раза, по сравнению с немодифицированным препаратом Мотавизумаба. Эффективная концентрация Мотавизумаба-УТЕ сохранялась в сыворотке в течение 240 дней, что подтверждалось нейтрализующей активностью РСВ, в сравнении с 90-дневным периодом для Мотавизумаба [33]. Несмотря на положительные характеристики Мотавизумаба и Мотавизумаба-УТЕ эти препараты не были одобрены для клинического применения.

MEDI8897, рекомбинантный человеческий IgG1, выделенный из В-клеток донора и нацеленный на функциональный тример F-белка в оболочке РСВ (prefusion). Препарат нейтрализует как А, так и В штаммы РСВ и более чем в 50 раз эффективен, чем Паливизумаб. MEDI8897 был разработан с введением замены УТЕ в области Fc-фрагмента Ат для удлинения периода полувыведения. В исследовании фазы 1 средний период полувыведения MEDI8897 составлял от 85 до 117 дней в группах исследования дозировки, а профиль безопасности MEDI8897 был аналогичен плацебо. MEDI8897 в настоящее время находится в фазе 2b и исследуется на недоношенных новорожденных

детях [17]. Антитело ALX-0171 представляет собой однодоменное верблюжье антитело или наноантитело, нацеленное на F-белок РСВ. Из-за небольшого размера наноантитела, ALX-0171 тестируется в фазе 2 как терапевтическое Ат для ингаляций у младенцев (в возрасте от 1 до 24 месяцев), которые были госпитализированы с инфекцией РСВ [10].

*Цитомегаловирусная инфекция.* Классическая терапия взрослых от ЦМВ-инфекции осуществляется противовирусными препаратами, такими как ганцикловир, фоскарнет и цидофовир. Первичная инфекция у женщин во время беременности является фактором риска для врожденной ЦМВ-инфекции. Для ее лечения возможно применение иммуноглобулинов, но препараты поликлональных противовирусных иммуноглобулинов имеют серьезные ограничения. Их трудно стандартизировать, и они не достаточно эффективны. Напротив, МкАт, направленные на ключевые эпитопы вирусов, должны обеспечивать преимущество в эффективности. Многочисленные МкАт против ЦМВ, которые были разработаны ранее, сейчас находятся на разных стадиях доклинических и клинических испытаний [16].

Подавляющее большинство антител, вырабатываемых против ЦМВ, нацелены против антигена gB. Антитела, направленные только против gB, часто не обладают достаточной нейтрализующей способностью, чтобы контролировать ЦМВ-инфекцию и его реактивацию. Недавние исследования показали, что пентамерный gH-комплекс является основной мишенью для нейтрализующих антивирусных Ат [27]. Использование комбинации МкАт имеет несколько преимуществ, включая повышенную эффективность и снижение развития вирусной резистентности. По меньшей мере два препарата антител против ЦМВ, проходящие клинические испытания, представляют собой комбинации двух МкАт.

Разрабатываемый препарат CSJ148 (Novartis) представляет собой смесь Ат LJP538, которое связывается с вирусным протеином gB, и LJP539, которое связывается с вирусным пентамерным комплексом gH. Оба антитела были изолированы из В-клеток, иммортализованных вирусом Эпштейна-Барр, от доноров, иммунных к ЦМВ. Результаты клинических испытаний показывают, что CSJ148 и его компоненты безопасны, хорошо переносятся и имеют фармакокинетику свойственную для иммуноглобулина человека [29].

Препарат RG7667 (Genentech) — это комбинация двух рекомбинантных МкАт: MCMV5322A и MCMV3068A. MCMV5322A представляет собой высокоаффинный вариант МкАт MSL-109, которое связывается с нейтрализующим вирус эпитопом gH/gL ЦМВ. MSL-109 — это человеческое МкАт, изолированное из клеток селезенки серопозитивного к ЦМВ пациента. Другой компонент RG7667, МкАт MCMV3068A, связывает пентамерный комплекс gH. MCMV3068A выделили из гибридомы мыши и затем гуманизировали [20].

RG7667 разработан компанией Genentech для профилактики ЦМВ-инфекции во внутриутробном периоде, а также у реципиентов трансплантата органов и гемопоэтических стволовых клеток. Исследования RG7667 в фазе I показали, что они безопасны, хорошо переносятся и имеют удовлетворительный профиль фармакокинетики и иммуногенности. Результаты исследований поддерживают дальнейшую разработку RG7667 в качестве средства для профилактики и лечения ЦМВ-инфекции. В исследовании фазы 2 у реципиентов почки с высоким риском заболевания ЦМВ RG7667 хорошо переносился, снижал частоту ЦМВ-инфекции в пределах 12 и 24 недель после трансплантации. Было выявлено лишь несколько случаев заболевания ЦМВ по сравнению с плацебо [21].

*Инфекция, вызванная вирусами гриппа.* В результате быстрого развития подходов для выделения антител и инженерных технологий, пассивная иммунизация нейтрализующими антителами становится все более перспективным подходом к решению проблемы угрозы здоровью населения при пандемии гриппа.

Так, МкАт МНАА4549А, было клонировано из одиночного плазмобласта, выделенного от донора, привитого от гриппа. МкАт связывает высококонсервативный эпитоп на стебле гемагглютинина (ГА) вируса гриппа А и блокирует ГА-зависимое мембранное слияние в эндосоме и способно нейтрализовать все известные штаммы вируса гриппа А человека. В двух клинических испытаниях фазы I МНАА4549А бы-

ла продемонстрирована безопасность и хорошая переносимость при однократной внутривенной дозе препарата в количестве 10800 мг. МкАт демонстрировал линейную фармакокинетику в сыворотке, сопоставимую с фармакокинетикой человеческого IgG1 и не взаимодействовал с известными эндогенными мишенями у людей. МНАА4549А в настоящее время находится в фазе 2 клинических испытаний, в котором оценивается эффективность препарата при лечении пациентов, госпитализированных с тяжелой формой вируса гриппа А [15].

Другое Ат — VIS410 — представляет собой рекомбинантное человеческое МкАт класса IgG1, которое нацелено на область стебля ГА вируса гриппа А. МкАт связывается с 1 и 2 подтипом ГА вирусов гриппа А. Профилактическое введение VIS410 приводило к полной защите мышей от развития острого респираторного дистресс-синдрома и летального заболевания вирусом гриппа А (H7N9) [6]. В фазе 1 клинического испытания VIS410 была продемонстрирована его безопасность. Препарат оказывал влияние на вирус как в сыворотке крови, так и в верхних дыхательных путях. Эти результаты подтверждают перспективу его применения в качестве терапевтического или профилактического средства против гриппа А. VIS410 в настоящее время находится в исследовании фазы 2а, предназначенном для оценки безопасности и переносимости антител у пациентов с неосложненным гриппом.

МкАт CR6261 было изолировано из комбинаторных библиотек, которые были созданы из IgM(+) В-клеток человека в период сезонной вакцинации против гриппа. МкАт CR6261 нейтрализует вирус, блокируя конформационные перегруппировки, связанные с мембранным слиянием, распознает высококонсервативную спиральную область на стебле ГА1 и ГА2 [18]. Антитело защищает мышей при использовании до и после заражения летальной дозой H5N1 или H1N1. CR6261 в настоящее время находится в фазе 2 клинических испытаний.

МкАт CR8020, человеческое МкАт, обладает широкой нейтрализующей активностью против большинства вирусов гриппа А, включая H3N2 и H7N7, которые вызывают тяжелые заболевания у человека. CR8020 было выделено из В-клетки донора, вакцинированного против вируса гриппа. Структурные анализы показывают, что МкАт CR8020 нацелено на фрагменты ГА, которые склонны к антигенному дрейфу. Важно отметить, что CR8020 взаимодействовало даже с мутантными формами ГА вируса H7N9 в период недавних вспышек [36].

МкАт TCN-032 было выделено из IgG(+) В-клетки здорового человека, распознает ранее неизвестный конформационный эпитоп в эктодомене матричного белка M2e, эта область связывания высококонсервативна в вирусах гриппа А и присутствует почти во всех выявленных до сих пор штаммах, включая высокопатогенные вирусы, которые заражают в основном птиц и свиней. TCN-032 защищало мышей от летальных доз вирусов гриппа H5N1 или H1N1. Фаза 1 клинических исследований показала, что TCN-032 является безопасным, без каких-либо проявлений иммунного обострения на основе экспрессии цитокинов сыворотки. Данное МкАт может обеспечить немедленный иммунитет и терапевтическое преимущество при инфекции гриппа А без проявления устойчивости вируса [32].

*ВИЧ.* Несмотря на многолетние интенсивные усилия, эффективная вакцина против ВИЧ до настоящего времени не разработана. Благодаря достижениям в выявлении широконейтрализующих антител из одиночных В-клеток от инфицированных ВИЧ, антитела против этого вируса становятся одним из подходов как для профилактического, так и терапевтического лечения ВИЧ-инфекции и СПИД. Ряд широконейтрализующих антител к ВИЧ-1 в настоящее время находятся на разных стадиях клинических исследований. Большинство МкАт против ВИЧ, например VRC01, 3BNC117, 10-1074 и 4E10, в клинических испытаниях нейтрализуют вирус в основном за счет взаимодействия с консервативными вирусными эпитопами. Но существуют и другие подходы, например, МкАт Pro140 тестируется для лечения ВИЧ-инфекции за счет блокирования рецептора CCR5, который часто используется вирусом как ко-рецептор при заражении CD4-клеток [23].

VRC01 представляет собой нейтрализующее МкАт против ВИЧ-1, выделенное из В-клеток ВИЧ-инфицированного пациента. Оно направлено против сайта свя-

звания ВИЧ-1 на поверхности CD4-клеток и способно нейтрализовать различные штаммы ВИЧ-1. Исследование фазы 1 показало, что антитело является безопасным и демонстрирует ожидаемый период полураспада и фармакокинетику человеческого IgG. VRC01 было протестировано в двух открытых тестах на безопасность, побочные эффекты, фармакокинетические свойства и антивирусную активность у лиц с ВИЧ-инфекцией, которые подвергались прерыванию антиретровирусной терапии. МкАт несколько задерживало подъем титра вируса в плазме крови по сравнению со среднестатистическим контролем, но не подавляло репликацию вируса на протяжении длительного периода. Антитело было протестировано в многочисленных тестах 2 фазы клинических испытаний [5].

Человеческое антитело 3BNC117, которое взаимодействует с гликопротеином gp120 ВИЧ, было выделено из одиночных В-клеток пациента с высоким титром широконейтрализующих антител. Антитела 3BNC117 блокировали инфекцию и подавляли вирусную репликацию у макаков, инфицированных вирусом R5-тропного обезьянье-человеческого иммунодефицита (SHIV)-AD8, который эмулирует многие патогенные и иммуногенные свойства ВИЧ-1 при заражении им обезьян. В фазе 1 клинических исследований 3BNC117 была продемонстрирована его безопасность и эффективность в снижении вирусной нагрузки ВИЧ-1. В исследовании фазы 2а 3BNC117 подавляло вирусную репликацию у людей во время прерывания лечения. Антитело оказывает сильное избирательное давление на ВИЧ-1, выходящее из латентных резервуаров во время прерывания терапии у людей. В дополнение к подавлению вирусной репликации у ВИЧ-1 инфицированных 3BNC117 усиливало гуморальный иммунитет к ВИЧ-1. МкАт 3BNC117 также тестируют в сочетании со схожим по функциям широконейтрализующим антителом 10-1074 при лечении ВИЧ-1 инфекции [34,35].

Антитела, которые распознают высококонсервативную проксимальную внешнюю область мембраны в эктодомене стебля gp41 ВИЧ, такие как 4E10, 2F5 и 2G12, были протестированы в исследованиях фазы 1/2 у пациентов с высокоактивной антиретровирусной терапией, где наблюдалось значительное подавление вируса при острой и ранней инфекции ВИЧ-1. В дополнение к антителам, непосредственно нацеленным на вирусные антигены для профилактики и лечения инфекции ВИЧ-1, также разрабатываются антитела, нацеленные на рецепторы хозяина, такие как CCR5 и CD4 рецептор. Например, гуманизированное IgG4 МкАт Pro140, нацеленное на рецептор CCR5, было протестировано в клинических испытаниях. Оно проявляло пролонгированную противовирусную активность и, как правило, хорошо переносилось пациентами [22]. Другой препарат, Ибализумаб (iMab), представляет собой гуманизированное МкАт, которое связывается с конформационным эпитопом на CD4-клетках и блокирует проникновение ВИЧ-1 в клетку, в настоящее время АТ проходит клинические испытания. В другом исследовании были сконструированы биспецифические АТ, которые сочетали ингибирующую активность Ибализумаба с анти-gp120 широконейтрализующим АТ для пассивной иммунизации и профилактики ВИЧ-1 инфекции [28].

*Вирус гепатита С.* В настоящее время разработаны и тестируются в фазе 1 и 2 клинических испытаний четыре МкАт против вируса гепатита С (ВГС). Они предназначены как для терапии хронической инфекции, так и для профилактики реинфицирования печени после трансплантации. Исследования МкАт MBL-HCV1 (MassBiologics) в фазе 2 были начаты в 2010 году, это единственное антитело из 4, направленное на нейтрализацию ВГС, остальные МкАт нацелены на клеточные белки. Опытная группа получала 11 инфузий по 50 мг/кг MBL-HCV1 или плацебо внутривенно с тремя инфузиями в день трансплантации, однократную инфузию в дни с 1 по 7 и еще одну инфузию на 14 день после трансплантации печени. MBL-HCV1 хорошо переносился пациентами и уменьшал вирусную нагрузку в течение периода от 7 до 28 дней [13].

*Эбола и Марбург.* Вспышка эпидемии Эбола в Западной Африке в период между 2014 и 2015 годами затронула 28652 человека и привела к более чем 11325 смертельным исходам. Уроки, извлеченные из эпидемии с такой высокой смертностью, способствовали к развитию новых мер борьбы против подобных инфекционных заболеваний, в том числе использование МкАт. Например, экспериментальный коктейль из МкАт — ZMapp — получил специальное одобрение для использования во время быстро разви-

вающейся эпидемии лихорадки. ZMapp представляет собой комбинацию из трех МкАт (с13С6, с2G4, с4G7), оптимизированных из двух предыдущих коктейлей антител (ZMab и MB-0033). ZMapp показал эффективную защиту на модели макак резусов [30].

В России также давно ведутся работы по получению гуманизированных антител против Эболы, в 2006 году был зарегистрирован патент по их получению, но эти антитела так и не дошли до стадии клинических испытаний [3]. В работе Паниной А.А. с соавторами описан метод получения трех химерных антител против EBOV GP (GPE118, GPE325 и GPE534), которые схожи по эпитопной специфичности с препаратом ZMapp и показали высокую нейтрализующую активность [2].

Лихорадку Марбург вызывают два схожих типа вируса — Марбург и Равн, принадлежащие к семейству Филовирусов. Они находятся в тесном родстве с вирусом Эбола и вызывают аналогичную с ним тяжелую геморрагическую лихорадку со схожими симптомами и показателями смертности (зачастую выше 50 %). Эффективного лечения лихорадки Марбург в настоящее время не существует. Научный коллектив из Университетов Вандербильта и Техаса с коллегами из других научных центров ранее описал ряд препаратов МкАт к вирусному гликопротеину, выделенных от переболевших инфекцией людей.

На первой стадии исследования ученые вводили антитела MR78-N и MR191-N зараженным летальными дозами вирусов Марбург и Равн морской свинкам на четвертый день после контакта с вирусом (до сих пор ни один экспериментальный препарат на производил эффекта при введении позже, чем на третий день после заражения). Первый препарат предотвратил смерть 60 % животных от вируса Марбург и 100 % — от вируса Равн. Второй препарат обеспечил 100 % выживаемость вне зависимости от типа вируса. Все животные из контрольной группы, получившие плацебо, пали к 10 дню эксперимента.

В следующей серии экспериментов с макаками-резусами использовалось антитело MR191-N. Животным, зараженным летальными дозами вирусов Марбург и Равн, препарат вводили дважды: на пятый и восьмой день после введения вируса. В результате выжили 80 % обезьян, зараженных вирусом Марбург, и 100 % — вирусом Равн. Введение антитела на четвертый день после контакта с вирусом Марбург спасало всех животных. В контрольной группе все макаки пали к 8 (Марбург) и 10 (Равн) дню после заражения. В обоих экспериментах к 7-10 дню от момента введения вируса МкАт MR191-N снижало вирусную нагрузку в крови до неопределяемого уровня [26].

*Зика.* Вспышка инфекции, вызванной вирусом Зика в 2015-2016 годах и ее связь с врожденными аномалиями, подтолкнули научную общественность к разработке препаратов против новых инфекционных заболеваний. Подобно борьбе с вирусом Эбола и другими вирусными инфекциями, разработка вакцин является главным приоритетом для защиты населения от вируса Зика, но в качестве варианта лечения этого заболевания также предлагаются терапевтические препараты на основе антител. Например, два антитела, выделенные от одного пациента и демонстрирующие высокую нейтрализующую активность *in vitro* против вируса Зика, обеспечивали защиту мышей от заболевания *in vivo* после контакта с вирусом. Структурные исследования показали, что Z23 и Z3L1 связываются с третичными эпитопами оболочки в доменах I, II или III, что указывает на потенциальные мишени для специфической терапии вируса Зика [38].

*Клещевой энцефалит.* К сентябрю 2017 года в Российской Федерации было зарегистрировано 488 тысяч обращений по поводу присасывания клещей, из которых у 1695 человек был диагностирован клещевой энцефалит (КЭ). В связи с тяжестью возможных последствий заболевания вирусом для данной инфекции, разработана вакцина и препарат человеческого иммуноглобулина. Но ввиду проблем с сырьевой базой для производства иммуноглобулина и различными рисками его введения, российскими учеными из Института химической биологии и фундаментальной медицины (ИХБФМ) СО РАН было разработано химерное антитело против КЭ, получившее название «Энцемаб», которое прошло доклинические испытания и оказалось нетоксичным, не вызвало иммунологических реакций даже в 100-кратной дозировке относительно рекомендуемой. Что важно — при введении антитела мышам не наблюдалось антителозависимого усиления инфекции (АЗУ).

*Вирус денге.* Денге является самым распространенным в мире инфекционным заболеванием, переносчиком которого являются комары, по разным оценкам, ежегодно вирусом денге заражается около 390 миллионов человек. Тяжелая лихорадка денге, связанная с заражением различными штаммами вируса, характеризуется высокой проницаемостью сосудов, кровотечением из слизистой оболочки и желудочно-кишечного тракта, синдромом денге шока и острой почечной недостаточностью. Тяжелые симптомы денге чаще всего проявляются после вiremии, поэтому антитела, применяемые для пассивной иммунотерапии, должны быть использованы как можно раньше до появления симптомов, чтобы избежать размножения вируса в организме. К сожалению, нет четких прогностических показателей, по которым можно было бы судить о том, как тяжело будет протекать заболевание лихорадкой денге у конкретного индивидуума. В то же время, антитела к денге при суб-нейтрализующих концентрациях могут усилить поглощение вируса денге таким образом, что у пациента резко усугубятся симптомы заболевания, вплоть до летального исхода (АЗУ) [19]. Поэтому разработка вакцин против лихорадки денге находится в центре внимания исследователей. До сих пор всего одна вакцина была одобрена для применения, CYD-TDV (Dengvaxia, Sanofi Pasteur), но она является недостаточно эффективной, так как ее применение было рекомендовано для лиц уже переболевших диким типом вируса. В связи с этим, необходимы более эффективные вакцины против денге. МкАт против лихорадки, полученные ранее, могут быть полезны при определении лучших целевых эпитопов вируса, что важно при разработке новых вакцин.

Как известно Ат против вируса денге в высокой концентрации могут усилить инфекцию (АЗУ). Следовательно, терапевтические антитела должны быть сконструированы таким образом, чтобы взаимодействие антител с Fc $\gamma$ R рецепторами на поверхности макрофагов не происходило, таким образом предотвращая АЗУ. Например, мутация N297A в Fc-фрагменте МкАт D23-1G7C2-IgG1 была введена для уменьшения аффинности Fc-области IgG1 для рецептора Fc $\gamma$ R, что приводило к заметному снижению АЗУ в исследованиях *in vitro* [31]. В другом исследовании для предотвращения связывания с рецепторами Fc $\gamma$ R в область Fc-фрагмента IgG1 МкАт, нейтрализующих денге, и нацеленных на различные эпитопы четырех серотипов вируса денге, была введена мутация LALA (L234A-L235A). Вариант LALA не вызывал АЗУ и нейтрализовал вирус денге *in vitro* и *in vivo* в качестве постконтактной терапии на модели летальной инфекции мышей [8].

*Вирус Западного Нила.* Для терапии инфекции, вызванной вирусом Западного Нила (ВЗН), компанией MacroGenics было разработано гуманизированное антитело MGAWN1. Это МкАт нейтрализовало вирус за счет связывания с III доменом поверхностного гликопротеина. MGAWN1 было протестировано в рандомизированном, двойном слепом, плацебо-контролируемом тесте в фазе 2 клинических испытаний на пациентах старше 18 лет с признаками и симптоматикой острой нейроинвазивной формой ВЗН, а также у лиц с лабораторно подтвержденной лихорадкой, вызванной ВЗН [7].

*Бешенство.* Бешенство встречается во всем мире и в большинстве случаев заканчивается смертельным исходом, когда клинические симптомы заболевания уже развились. Бешенство предотвратимо, если постконтактная профилактика (ПКП) проводится до появления клинических симптомов. ПКП состоит из тщательной очистки раны с последующим немедленным введением иммуноглобулина против бешенства вместе с полным курсом вакцинации от бешенства. Было подсчитано, что из-за неграмотности населения и отсутствия иммуноглобулина против бешенства и вакцин, в мире насчитывается около 59000 смертей ежегодно от собак, зараженных вирусом бешенства, в основном это распространено в Азии и Африке. Поскольку доступ к человеческому антирабическому иммуноглобулину или лошадиной иммунной антисыворотке часто ограничен, целесообразно разрабатывать высокоактивные нейтрализующие МкАт для замены существующих иммуноглобулинов. Препарат CL184 представляет собой смесь двух человеческих МкАт: CR57 и CR4098. МкАт CR57 было выделено из В-клеток, трансформированных вирусом Эпштейна-Барр, от человека, вакцинированного инактивированным вирусом бешенства, и связывается с гликопротеином вируса. МкАт CR4098 распознает эпитоп

гликопротеина, не перекрывающийся с МкАт CR57, оно было выделено из библиотек антител, полученных на основе фагового дисплея, из мононуклеаров периферической крови людей, вакцинированных от бешенства [4]. CL184 был проверен в нескольких клинических исследованиях фазы 1/2 на безопасность и эффективность. Гуманизированное МкАт 17С7, также известное как RAB1, которое было получено от трансгенных мышей, секретирующих человеческий иммуноглобулин, является другим сильным нейтрализующим МкАт против вируса бешенства, который был протестирован в нескольких клинических испытаниях в Индии [39].

Два антитела с высокой активностью и реакцией широкого спектра действия, RVC20 и RVC58, были выделены из иммортализованных В-клеток вакцинированных доноров. RVC20 и RVC58, продемонстрировали нейтрализующую активность в отношении 35 штаммов вируса бешенства *in vitro*. Кроме того, они показали более высокую эффективность и спектр действия по сравнению с антителами, находящимися на клинических испытаниях, включая CR57, CR4098 и RAB1 [14].

В 2012 году ООО «ВНЦМДЛ» был выдан патент на гуманизированное антитело, полученное из мышинового МкАт 1С5, которое взаимодействует с гликопротеином вируса бешенства как минимум 33 штаммов, включая как вакцинный штамм Внуково-32, так и дикие штаммы, встречающиеся на территории России, а также штаммы из Центральной Европы, Украины, США и Африки. МкАт обладает вируснейтрализующей активностью порядка  $10^7$  LD<sub>50</sub> как по отношению к вакцинному штамму Внуково-32, так и по отношению к диким штаммам вируса, тогда как аналогичный показатель для коммерческого лошадиного иммуноглобулина составляет  $6,6 \cdot 10^2$  LD<sub>50</sub>. МкАт также обладает 100 % лечебным действием: мыши, зараженные летальными дозами вируса (8-10 LD<sub>50</sub>), выживали без развития симптомов бешенства, если в течение 48 часов после заражения им был введен препарат на основе антитела 1С5 [1].

### **Перспективы**

Для профилактического использования против вирусных инфекций на данный момент одобрено только одно МкАт против РСВ — Паливизумаб (Synagis). Несколько главных проблем мешают прогрессу противовирусных МкАт. Одной из ключевых является относительно небольшой рынок препаратов антител против вирусных заболеваний и потенциально более высокая стоимость производства рекомбинантных антител, по сравнению с низкомолекулярными противовирусными препаратами.

Другой важной проблемой является конкуренция МкАт с другими формами лечения и профилактики. Вакцины часто по-прежнему являются наилучшим подходом в борьбе с вирусными инфекциями, часто с выгодами пожизненного иммунитета. Даже после того, как были разработаны и доказаны эффективные методики лечения МкАт, их широкое применение может быть нецелесообразным из-за высоких затрат на производство по сравнению с другими контрамерами против заболевания. Одним из способов решения проблемы высокой стоимости терапии МкАт является снижение себестоимости продукции. Например, производство МкАт в форме одноцепочечных переменных фрагментов Ат (scFv) или Fab, или в форме верблужьих наноантител позволяет относительно недорого получать их в прокариотических системах экспрессии в большом количестве [9]. А например, массовая профилактика бешенства у животных, в частности у собак, позволит значительно снизить издержки на разработку новых препаратов от бешенства и профилактики и лечения этого заболевания у людей [40].

Третья ключевая проблема — особенности патологии, эпидемиологии и иммунологии вирусных инфекций. Зачастую особенности инфекции подсказывают стратегию терапии. Например, понятно, почему в клинических испытаниях не используются МкАт против денге и почему вакцинация является предпочтительным методом борьбы с гриппом. При лихорадке денге и гриппе симптомы часто появляются после пика виремии, поэтому антитело, применяемое для пассивной иммунотерапии, должно быть использовано до появления симптомов как можно раньше, чтобы избежать виремии. Одним из возможных решений является сочетание терапевтических антител и быстрого диагностического теста у постели больного для оказания медицинской помощи. Диагностика может быть использована как для выявления

пациентов с инфекцией, так и больных с восприимчивостью к тяжелым формам заболевания, для которых пассивная иммунотерапия препаратами антител наиболее актуальна. Наконец, вирусы могут иметь особенности, которые препятствуют использованию длительного лечения одним препаратом, например, из-за большого количества штаммов, быстрой эволюции или мутации вируса, неизученных механизмов развития инфекции и ускользания вирусов от иммунного ответа.

Как обсуждалось выше, внесение изменений в Fc-фрагмент Ат приводит к увеличению периода полувыведения терапевтических антител, например, МкАт Мотавизумаб-УТЕ к РСВ, или для предотвращения АЗУ при лечении денге за счет снижения связывания с рецептором FcγR макрофагов. Взаимодействия Fc-домена Ат с различными рецепторами предоставляют дополнительные возможности для дизайна Ат с целью оптимизации их терапевтической эффективности.

Пассивная иммунизация антителами для профилактики и лечения вирусных инфекций проста в управлении, но высокая стоимость терапии МкАт является препятствием для профилактического применения антител для ВИЧ и вируса гриппа внутри большой популяции, особенно в странах с низким уровнем жизни.

Таким образом, целый ряд разработок, а также многочисленные клинические исследования и повышенный интерес фармацевтических компаний демонстрируют широкие перспективы использования препаратов на основе МкАт для терапии и профилактики вирусных инфекций различной природы, в том числе особо опасных.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ 17-15-01525.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Беневоленский С.В., Зацепин С.С., Клячко Е.В. и др. Гуманизированные антигенсвязывающие фрагменты (Fab) против вируса бешенства, изолированный фрагмент ДНК, кодирующий Fab против вируса бешенства, клетка дрожжей, трансформированная фрагментом ДНК, и способ получения Fab против вируса бешенства с использованием дрожжей. Патент RU 2440412. Опубликовано 20.01.2012.
2. Панина А.А., Деметьева И.Г., Алиев Т.К. и др. Рекомбинантные антитела к гликопротеину вируса Эбола. Acta Naturae. 2017, 9 (4):87-95.
3. Шингарова Л.Н., Тикунова Н.В., Юн Т.Э. и др. Рекомбинантная плазмидная днк pCL1, кодирующая полипептид со свойствами легкой цепи антитела человека против вируса Эбола, рекомбинантная плазмидная днк pCH1, кодирующая полипептид со свойствами тяжелой цепи указанного антитела, и их применение. Патент RU 2285043. Опубликовано: 10.10.2006.
4. Bakker A.B., Marissen W.E., Kramer R.A. et al. Novel human monoclonal antibody combination effectively neutralizing natural rabies virus variants and individual in vitro escape mutants. J. Virol. 2005, 79(14): 9062-9068.
5. Bar K.J., Sneller M.C., Harrison L.J. et al. Effect of HIV Antibody VRC01 on Viral Rebound after Treatment Interruption. N Engl J Med. 2016; 375(21): 2037-2050.
6. Baranovich T., Jones J.C., Russier M. et al. The Hemagglutinin Stem-Binding Monoclonal Antibody VIS410 Controls Influenza Virus-Induced Acute Respiratory Distress Syndrome. Antimicrob Agents Chemother. 2016, 60(4): 2118-2131.
7. Beigel J.H., Nordstrom J.L., Pillemer S.R. et al. Safety and pharmacokinetics of single intravenous dose of MGAWN1, a novel monoclonal antibody to West Nile virus. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(6): 2431-2436.
8. Beltramello M., Williams K.L., Simmons C.P. et al. The human immune response to Dengue virus is dominated by highly cross-reactive antibodies endowed with neutralizing and enhancing activity. Cell Host Microbe. 2010; 8(3): 271-283.
9. Both L., Banyard A.C., van Dolleweerd C. et al. Monoclonal antibodies for prophylactic and therapeutic use against viral infections. Vaccine. 2013, 31(12): 1553-1559.
10. Broadbent L., Groves H., Shields M.D. et al. Respiratory syncytial virus, an ongoing medical dilemma: an expert commentary on respiratory syncytial virus prophylactic and therapeutic pharmaceuticals currently in clinical trials. Influenza Other Respir. Viruses. 2015, 9(4): 169-178.
11. Carbonell-Estrany X., Simxes E.A., Dagan R. et al. Motavizumab for prophylaxis of respiratory syncytial virus in high-risk children: a noninferiority trial. Pediatrics. 2010, 125(1): e35-51.
12. Cheung W.C., Beausoleil S.A., Zhang X. et al. A proteomics approach for the identification and cloning of monoclonal antibodies from serum. Nat Biotechnol. 2012,30(5): 447-452.
13. Chung R.T., Gordon F.D., Curry M.P., et al. Human Monoclonal Antibody MBL-HCV1 Delays HCV Viral Rebound Following Liver Transplantation: A Randomized Controlled Study. Am. J. Transplant. 2013, 13(4): 1047-1054.

14. De Benedictis P., Minola A., Rota Nodari E. et al. Development of broad-spectrum human monoclonal antibodies for rabies post-exposure prophylaxis. *EMBO Mol. Med.* 2016, 8(4): 407-421.
15. Deng R., Lee A.P., Maia M. et al. Pharmacokinetics of MHAA4549A, an Anti-Influenza A Monoclonal Antibody, in Healthy Subjects Challenged with Influenza A Virus in a Phase IIa Randomized Trial. *Clin. Pharmacokinet.* 2018, 57(3): 367-377.
16. Dole K., Segal F.P., Feire A. et al. A First-in-Human Study To Assess the Safety and Pharmacokinetics of Monoclonal Antibodies against Human Cytomegalovirus in Healthy Volunteers. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2016, 60(5): 2881-2887.
17. Domachowski J.B., Khan A.A., Esser M.T. et al. Safety, Tolerability and Pharmacokinetics of MEDI8897, an Extended Half-life Single-dose Respiratory Syncytial Virus Prefusion F-targeting Monoclonal Antibody Administered as a Single Dose to Healthy Preterm Infants. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2018, 37(9): 886-892.
18. Ekiert D.C., Bhabha G., Elsliger M.A. et al. Antibody recognition of a highly conserved influenza virus epitope. *Science.* 2009, 324(5924): 246-251.
19. Fibriansah G., Lok S.M. The development of therapeutic antibodies against dengue virus. *Antiviral. Res.* 2016, 128: 7-19.
20. Ishida J.H., Burgess T., Derby M.A. et al. Phase 1 Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study of RG7667, an Anticytomegalovirus Combination Monoclonal Antibody Therapy, in Healthy Adults. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2015, 59(8): 4919-4929.
21. Ishida J.H., Patel A., Mehta A.K. et al. Phase 2 Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of RG7667, a Combination Monoclonal Antibody, for Prevention of Cytomegalovirus Infection in High-Risk Kidney Transplant Recipients. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2017, 61(2): e01794-16.
22. Jacobson J.M., Lalezari J.P., Thompson M.A. et al. Phase 2a study of the CCR5 monoclonal antibody PRO 140 administered intravenously to HIV-infected adults. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2010, 54(10): 4137-4142.
23. Klein F., Mouquet H., Dosenovic P. et al. Antibodies in HIV-1 vaccine development and therapy. *Science.* 2013, 341(6151): 1199-1204.
24. McDaniel J.R., DeKosky B.J., Tanno H. et al. Ultra-high-throughput sequencing of the immune receptor repertoire from millions of lymphocytes. *Nat Protoc.* 2016;11(3): 429-442.
25. Mejias A., Ramilo O. New options in the treatment of respiratory syncytial virus disease. *J Infect.* 2015; 71 Suppl 1: S80-87.
26. Mire C.E., Geisbert J.B., Borisevich V. et al. Therapeutic treatment of Marburg and Ravn virus infection in nonhuman primates with a human monoclonal antibody. *Sci. Transl. Med.* 2017, 9(384).
27. Ohlin M., Söderberg-Nauclér C. Human antibody technology and the development of antibodies against cytomegalovirus. *Mol. Immunol.* 2015, 67(2 Pt A): 153-170.
28. Pace C.S., Song R., Ochsenauber C. et al. Bispecific antibodies directed to CD4 domain 2 and HIV envelope exhibit exceptional breadth and picomolar potency against HIV-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013, 110(33): 13540-13545.
29. Patel H.D., Nikitin P., Gesner T. et al. In Vitro Characterization of Human Cytomegalovirus-Targeting Therapeutic Monoclonal Antibodies LJP538 and LJP539. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2016, 60(8): 4961-4971.
30. Qiu X., Wong G., Audet J. et al. Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. *Nature.* 2014, 514(7520): 47-53.
31. Ramadhany R., Hirai I., Sasaki T. et al. Antibody with an engineered Fc region as a therapeutic agent against dengue virus infection. *Antiviral Res.* 2015, 124: 61-68.
32. Ramos E.L., Mitcham J.L., Koller T.D. et al. Efficacy and safety of treatment with an anti-m2e monoclonal antibody in experimental human influenza. *J. Infect. Dis.* 2015, 211(7): 1038-1044.
33. Robbie G.J., Criste R., Dall'acqua W.F. et al. A novel investigational Fc-modified humanized monoclonal antibody, motavizumab-YTE, has an extended half-life in healthy adults. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2013, 57(12): 6147-6153.
34. Schoofs T., Klein F., Braunschweig M. et al. HIV-1 therapy with monoclonal antibody 3BNC117 elicits host immune responses against HIV-1. *Science.* 2016, 352(6288): 997-1001.
35. Shingai M., Nishimura Y., Klein F. et al. Antibody-mediated immunotherapy of macaques chronically infected with SHIV suppresses viraemia. *Nature.* 2013; 503(7475): 277-280.
36. Tharakaraman K., Subramanian V., Cain D. et al. Broadly neutralizing influenza hemagglutinin stem-specific antibody CR8020 targets residues that are prone to escape due to host selection pressure. *Cell. Host. Microbe.* 2014, 15(5): 644-651.
37. Therapeutic monoclonal antibodies: from the bench to the clinic. [Edited by] Zhiqiang An. 2009 John Wiley & Sons, Inc.: 189-307.
38. Wang Q., Yang H., Liu X. et al. Molecular determinants of human neutralizing antibodies isolated from a patient infected with Zika virus. *Sci. Transl. Med.* 2016, 8(369): 369ra179.
39. Wang Y., Rowley K.J., Booth B.J. et al. G glycoprotein amino acid residues required for human monoclonal antibody RAB1 neutralization are conserved in rabies virus street isolates. *Antiviral. Res.* 2011, 91(2): 187-194.
40. Welburn S.C., Coleman P.G., Zinsstag J. Rabies Control: Could Innovative Financing Break the Deadlock? *Front. Vet. Sci.* 2017, 4: 32.

© С.В.ЧЕРКАСОВ, Е.А.СЕЛИВАНОВА, 2018

*С.В.Черкасов, Е.А.Селиванова*

### **ИТОГИ IX РОССИЙСКОЙ НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «ПЕРСИСТЕНЦИЯ И СИМБИОЗ МИКРООРГАНИЗМОВ»**

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 124–126

25–27 сентября 2018 г. в г. Оренбурге состоялась очередная IX Российская научная конференция с международным участием «Персистенция и симбиоз микроорганизмов», организаторами которой явились Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН и Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Конференция была поддержана Оренбургским научным центром УрО РАН, Уральским отделением Российской академии наук, Отделением физиологических наук РАН, Всероссийским научно-практическим обществом эпидемиологов, микробиологов и паразитологов, Межрегиональным микробиологическим обществом. В работе конференции приняли участие более 100 ведущих ученых-микробиологов, специалистов клинической медицины из Москвы, Иркутска, Екатеринбурга, Челябинска, Твери, Тюмени, Санкт-Петербурга, Казани, Оренбурга, Ярославля, Уфы, Перми, Курска, а также из Казахстана. Были заслушаны 7 пленарных и 38 секционных докладов, представлены 17 стендовых сообщений. Все доклады были условно разделены по направлениям:

1. Симбиотические взаимодействия нормофлоры и хозяина
2. Перспективы использования новых биопрепаратов
3. Инфектологические механизмы симбиотических взаимодействий
4. Медико-биологические аспекты природных симбиозов.

Активно обсуждались вопросы инфектологии в рамках ассоциативного симбиоза — от фундаментальных исследований до прикладных разработок. Большое внимание, традиционно, было уделено расшифровке биологической роли представителей нормофлоры в регуляции гомеостаза организма. Изучено участие бифидофлоры в регуляции кишечного гомеостаза человека, основанное на формировании функциональных групп бифидобактерий, через цитокиновый баланс, межмикробное распознавание и поддержание барьерной функции энтероцитов. Продемонстрирована возможность отбора эффективных пробиотических штаммов с высокой биосовместимостью на основе феномена межмикробного распознавания «свой-чужой» с использованием бифидобактерий для тестирования ассоциативной микрофлоры. Показано, как защита биотопа во многом определяется результатами взаимодействия хозяина и комменсалов на таких примерах, как значительное усиление антимикробного потенциала пероксидпродуцирующих лактобацилл влагалища под действием пероксидаз макроорганизма или снижение устойчивости патогенного микробного сообщества влагалища к антимикробным веществам при интродукции представителей нормофлоры.

В докладах было продемонстрировано, что таксономическое разнообразие микрофлоры тела человека значительно шире, чем это оценивалось ранее, и что существуют большие возможности для описания новых, ранее не изученных таксонов.

Были показаны значительные перспективы практического использования микроорганизмов, выделенных из кишечника для решения задач биотехнологии, в частности, в качестве продуцентов антимикробных пептидов, деэмульгаторов, деструкторов ксенобиотиков.

Относительно новым направлением в рамках конференции стало исследование роли микроорганизмов в развитии неинфекционной патологии: артериальной гипертензии, атеросклероза, ожирения, диабета 2 типа, заболеваний почек, бронхиальной астмы. Обсуждалась взаимосвязь микробного консорциума и окситоцина как возможных регуляторов социального поведения детей с расстройствами аутистического спектра.

При рассмотрении факторов персистенции бактерий и их генетических детерминант, молекулярных механизмов действия, а также их роли в развитии эндогенных бактериальных инфекций, формировании бактерионосительства, хронизации воспалительных процессов, развитии послеоперационных воспалительных осложнений, в том числе и нозокомиальных, в очередной раз была затронута острая проблема нарастающей микробной антибиотикорезистентности. Обсуждались функциональные свойства лейкоцитарного катионного протеина, антимикробных пептидов из тромбоцитов. Были продемонстрированы возможности их использования для подавления персистентных свойств и повышения чувствительности патогенных микроорганизмов к антагонистическим активным веществам нормофлоры. Было уделено внимание прикладным вопросам диагностики инфекционно-воспалительных заболеваний, в частности, использованию метода FISH в диагностике сепсиса и для оценки тяжести септических состояний больных.

Ряд исследований был посвящен иммунорегуляторным механизмам поддержания микробного гомеостаза. В рамках обсуждения механизмов «акцептивного иммунитета», феномена толерантности, как ключевого механизма кишечного гомеостаза, особое внимание было уделено иммунорегуляторному влиянию микробиоты в толстом кишечнике, осуществляющемуся посредством цитокинов и различных метаболитов, из которых наиболее значимыми являются короткоцепочные жирные кислоты. Учитывая роль цитокинового профиля толстого кишечника в механизмах селекции микроорганизмов, колонизации, влиянии на проницаемость кишечного барьера, апоптоза, транслокации кишечных микросимбионтов, в развитии воспалительных и аутоиммунных процессов, его необходимо учитывать как при отборе пробиотических штаммов, так и при оценке риска развития воспалительных и аутоиммунных заболеваний кишечника. Наряду с синтезом цитокиноподобных продуктов, было отмечено, что бактерии различных видов способны изменять секрецию цитокинов нейтрофилами, при этом вариабельность стимуляции и ингибирования связана с видом микроорганизмов. Показано, что вероятность развития перинатального листериоза, одной из самых тяжелых форм заболевания, связана со способностью штамма *L. monocytogenes* колонизировать кишечник (Пейеровские бляшки), при этом продемонстрировано, что вклад фактора инвазии интерналина В в колонизацию кишечника связан с его способностью модулировать иммунный ответ.

В рамках медико-биологической секции были рассмотрены эволюционные, экофизиологические и биотехнологические аспекты формирования симбиотических систем на примере альго-бактериальных ассоциаций. Активно обсуждалась проблема массового поражения и гибели эндемичных байкальских губок в результате патологических изменений в составе симбионтов, которая в дальнейшем может иметь катастрофические последствия для всей экосистемы озера Байкал. Ряд докладов был посвящен анализу разнообразия и структуры микробных сообществ в водоемах Южного Урала и Поволжья, литоральных ваннах Кандалакшского залива Белого моря в зависимости от уровня минерализации. Были затронуты проблемы выживания и длительного сохранения потенциально патогенных микроорганизмов в водоемах с повышенной соленостью и методы их детекции. Представлены сведения о новых бактериальных консорциумах, эффективно деградирующих углеводороды авиационного топлива.

Активное научное общение происходило и в рамках стендовой сессии, где были представлены доклады молодых ученых. В целом, постерная сессия отражала тематическое разнообразие и многоплановость исследований, объединенных общей проблемой изучением персистенции и симбиоза микроорганизмов.

В заключение конференции был проведен круглый стол «Актуальные вопросы инфекционной симбиологии». Труды участников конференции опубликованы в тематическом номере «Журнала микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии» № 4 за 2018 г. и Бюллетене Оренбургского научного центра.

По итогам конференции принято решение:

1. Одобрить изучение проблемы персистенции микроорганизмов как способа существования симбиотических систем про- и эукариот, про- и прокариот устойчивых к воздействию стрессорных факторов для решения актуальных научных проблем в микробиологии, экологии, медицине, биотехнологии.

2. Рекомендовать систематическое обсуждение различных аспектов проблемы персистенции микроорганизмов и ассоциативного симбиоза с целью обмена научной информацией и дальнейшей координации ведущихся исследований.

3. Провести следующую конференцию «Персистенция и симбиоз микроорганизмов» в г. Оренбурге в 2021 г.

*Конференция организована при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-015-20028) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 007-02-2018-645/1).*

---

## СОДЕРЖАНИЕ (CONTENTS)

<i>Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Михеева И.В.</i> Реализация программы иммунизации в Российской Федерации на современном этапе: вызовы, возможности, перспективы . . . . .	3
<i>Ropova A. Yu., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Mikheeva I.V.</i> Implementation of the program of immunization in the Russian Federation at the present stage: challenges, opportunities, prospects	
<i>Плавинский С.Л., Ладная Н.Н., Зайцева Е.Е., Баринова А.Н.</i> Пораженность ВИЧ-инфекцией среди уязвимых групп населения в России — результаты интегрированного биоповеденческого исследования в 2017 г. . . . .	10
<i>Plavinskii S.L., Ladnaya N.N., Zaytseva E.E., Barinova A.N.</i> HIV prevalence among vulnerable groups in Russia — results of an integrated bio-behavioral survey	
<i>Козырина Н.В., Ладная Н.Н., Нарсия Р.С.</i> Пути элиминации вертикальной передачи ВИЧ-инфекции . . . . .	18
<i>Kozyrina N.V., Ladnaya N.N., Narsia R.S.</i> Ways to elimination of mother-to-child transmission of HIV	
<i>Ющук Н.Д., Малов И.В., Ваатаркхуу О., Савилов Е.Д., Малов С.И., Расулов Р.И., Дворниченко В.В., Lkhagva-Ochir T., Amarsanaa J., Decaens T., Marche P.N.</i> Клинико-эпидемиологические проявления гепатоцеллюлярной карциномы в этнических группах европеоидов и монголоидов, проживающих на территории Северо-Восточной Азии . . . . .	25
<i>Yuschuk N.D., Malov I.V., Baatarkhuu O., Savilov E.D., Malov S.I., Rasulov R.I., Dvornichenko V.V., Lkhagva-Ochir T., Amarsanaa J., Decaens T., Marche P.</i> Clinical and epidemiological manifestation of hepatocellular carcinoma in patients belonging to ethnic groups of caucasians and asians of North-East Asia	
<i>Михайлова Н.А., Калошин А.А., Зими́на Е.М., Солдатенкова А.В., Поддубиков А.В.</i> Доклинические исследования рекомбинантной вакцины синегнойной . . . . .	31
<i>Mihailova N.A., Kaloshin A.A., Zimina E.M., Soldatenkova A.V., Poddubikov A.V.</i> Preclinical studies of Recombinant <i>Pseudomonas</i> Vaccine	
<i>Савельева И.В., Куличенко А.Н., Савельев В.Н., Ковалев Д.А., Васильева О.В., Жиров А.М., Еременко Е.И., Подопригора Е.И., Бабенышев Б.В., Кузнецова И.В., Гусева Л.В.</i> MLVA-типирование клинических штаммов генетически измененных <i>Vibrio cholerae</i> биотуре El Tor, изолированных в России и Украине в период седьмой пандемии холеры. . . . .	37
<i>Savelieva I.V., Kulichenko A.N., Saveliev V.N., Kovalev D.A., Vasilieva O.V., Zhiron A.M., Eremenko E.I., Podoprigora E.I., Babenyshv B.V., Kuznetsova I.V., Guseva L.V.</i> MLVA-typing of clinical stamps of genetically changed <i>Vibrio cholerae</i> biotype EL TOR insulated in Russia and Ukraine in the period of seventh pandemic cholera	
<i>Останенко Н.А., Козлова И.И., Соловьёва М.Г., Степанова Т.Ф., Мefодьев В.В.</i> Опыт расследования крупной вспышки туляремии среди населения г. Ханты-Мансийск и Ханты-Мансийского района в 2013 году . . . . .	44
<i>Ostapenko N.A., Kozlova I.I., Solovieva M.G., Stepanova T.F., Mefodiev V.V.</i> Experience of investigation of a large outbreak of a tularemia among the population of Khanty-Mansiysk and the Khanty-Mansiysk region in 2013	
<i>Алимов А.В., Резайкин А.В., Бурцева Ю.Ю., Усолтцева П.С., Шарабрин С.В.</i> Эпидемиологические особенности групповой заболеваемости энтеровирусной инфекцией в Уральском федеральном округе и Западной Сибири в 2017 году . . . . .	49
<i>Alimov A.V., Rezaikin A.V., Burtseva Yu.Yu., Usoltseva P.S., Sharabrin S.V.</i> Epidemiologic features of clustered morbidity caused by enteroviral infections in the Ural Federal District and Western Siberia in 2017	
<i>Хамитова И.В., Останкова Ю.В., Антипова А.Ю., Семенов А.В., Лаврентьева И.Н.</i> Молекулярно-генетическая характеристика изолятов парвовируса В19, циркулирующих на территории Северо-Западного федерального округа . . . . .	55
<i>Khamitova I.V., Ostankova Yu.V., Antipova A.Yu., Semenov A.V., Lavrentieva I.N.</i> Molecular-genetic characteristics of parvovirus B19 isolates circulating in the North-Western Federal District	
<i>Степанова Т.Ф.</i> Оценка эффективности нового подхода к анализу активности эпидемического процесса и результативности профилактики паразитарных заболеваний . . . . .	61
<i>Stepanova T.F.</i> Evaluation of the efficiency of a new approach to the analysis of the activity of the epidemic process and the performance of prevention of parasitary diseases	

<i>Ульшина Д.В., Еременко Е.И., Ковалев Д.А., Рязанова А.Г., Кузнецова И.В., Аксенова Л.Ю., Семенова О.В., Бобрышева О.В., Сирица Ю.В., Куличенко А.Н.</i> Выявление особенностей масс-спектров белковых экстрактов споровой и вегетативной форм возбудителя сибирской язвы методом времяпролетной масс-спектрометрии . . . . .	66
<i>Ulshina D.V., Eremanko E.I., Kovalev D.A., Ryzanova A.G., Kuznetsova I.V., Aksenova L.Yu., Semenova O.V., Bobrysheva O.V., Siritsa Yu.V., Kulichenko A.N.</i> Study of the mass-spectors' features of spores and vegetative forms of <i>Bacillus Anthracis</i> by the method of time of flight mass-spectrometry	
<i>Твердохлебова Т.И., Думбадзе О.С., Ермакова Л.А., Ковалев Е.В., Алешукина А.В., Нагорный С.А., Болатчиев К.Х., Хуторянина И.В.</i> Ситуация по ларвальным гельминтозам на юге России и оптимизация эпидемиологического надзора за ними . . . . .	72
<i>Tverdokhlebova T.I., Dumbadze O.S., Ermakova L.A., Kovalev E.V., Aleshukina A.V., Nagorny S.A., Bolatchiev K.Kh., Hutoryanina I.V.</i> Situation on larval helminthosis in the south of Russia and optimization of epidemiological surveillance for them	
<i>Драгомерецкая А.Г., Троценко О.Е., Бебенина Л.А., Курганова О.П., Игнатъева М.Е., Зайцева Т.А., Копылов П.В., Маслов Д.В., Жданова Н.И., Рубцова А.А., Фунтусова О.А., Феделеш И.Ю.</i> Цистный эхинококкоз в Дальневосточном федеральном округе: современное состояние проблемы . . .	80
<i>Dragomeretskaya A.G., Trotsenko O.E., Bebenina L.A., Kurganova O.P., Ignateva M.E., Zaitseva T.A., Kopylov P.V., Maslov D.V., Zhdanova N.I., Rubtsova A.A., Funtusova O.A., Fedelezh I.Yu.</i> Cystic echinococcosis in the Far Eastern Federal District: current state of the problem	
<i>Балахонов С.В., Шучинов Л.В., Мищенко А.И., Матросов А.Н., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Корзун В.М., Косилко С.А., Тагызова С.Л., Топорков В.П., Попов Н.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В.</i> Организация профилактических, противоэпидемических мероприятий в целях снижения риска осложнения эпидемиологической ситуации по чуме на территории Республики Алтай . . . . .	85
<i>Balakhonov S.V., Schuchinov L.V., Mischenko A.I., Matrosov A.N., Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Korzun V.M., Kosilko S.A., Tagyzova S.L., Toporkov V.P., Popov N.V., Scherbakova S.A., Kutyrer V.V.</i> Organization of preventive, anti-epidemic actions to decrease risks of epidemic situation complications for plague in Republic Altai	
<i>Жуков К.В., Топорков А.В., Викторов Д.В.</i> Эпидемиологические аспекты и современная эволюция глобально распространяющихся арбовирусов . . . . .	94
<i>Zhukov K.V., Toporkov A.V., Viktorov D.V.</i> Epidemiological aspects and modern evolution of globally spreading arboviruses	
<i>Захарова И.Б., Топорков А.В., Викторов Д.В.</i> Мелиоидоз и сап: современное состояние проблемы и актуальные вопросы эпидемиологического надзора . . . . .	103
<i>Zakharova I.B., Toporkov A.V., Viktorov D.V.</i> Melioidosis and glanders: current state and actual issues of epidemiological surveillance	
<i>Анохина Е.П., Исува М.М., Старцева С.В., Мотина Е.А., Михайлова Н.А., Корнеева О.С.</i> Исследование пребиотических, иммуностимулирующих свойств фукозы и ее влияния на репродуктивную функцию . . . . .	110
<i>Anokhina E.P., Isuva M.M., Staritseva S.V., Motina E.A., Mihailova N.A., Korneeva O.S.</i> Investigation of prebiotic, immunostimulating properties of fucose and its effect on reproductive function	
<i>Оксанич А.С., Никонова А.А., Зверев В.В.</i> Рекомбинантные антитела в противовирусной терапии: достижения и перспективы . . . . .	114
<i>Oksanich A.S., Nikonova A.A., Zverev V.V.</i> Recombinant antibodies in anti-viral therapy: achievements and perspectives	

## ХРОНИКА (CURRENT EVENTS)

<i>Черкасов С.В., Селиванова Е.А.</i> Итоги IX Российской научной конференции с международным участием «Персистенция и симбиоз микроорганизмов» . . . . .	124
---	-----