

Дальневосточный Журнал Инфекционной Патологии

№ 25, 2014

Основатель и первый главный редактор журнала – профессор В.В. Богач

Редакционный совет:

Г.Г. Онищенко (академик РАМН, д.м.н., профессор, Москва)
М.И. Михайлов (член-корр. РАМН, д.м.н., профессор, Москва)
В.Ф. Учайкин (академик РАМН, д.м.н., профессор, Москва)
Е.И. Ефимов (д.м.н., профессор, Нижний Новгород)
Н.В. Рудаков (д.м.н., профессор, Омск)
Н.Н. Беседнова (д.м.н., профессор, Владивосток)
Л.М. Сомова (д.м.н., профессор, Владивосток)
С.Ш. Сулейманов (д.м.н., профессор, Хабаровск)
В.А. Фигурнов (д.м.н., профессор, Благовещенск)
И.Я. Егоров (д.м.н., профессор, Якутск)

Главный редактор

О.Е. Троценко, доктор медицинских наук

Редакционная коллегия:

В.П. Молочный - *зам главного редактора, д.м.н., профессор*
Ю.Г. Ковальский, *д.м.н., профессор*
Ю.Н. Сидельников, *д.м.н., профессор*
Г.С. Томилка, *д.м.н., профессор*
Т.А. Захарычева, *д.м.н., профессор*
Т.П. Владимирова, *д.б.н., ст. н.с.*
О.В. Островская, *д.м.н., ст. н.с.*
И.И. Протасеня, *д.м.н., доцент*
А.П. Бондаренко, *к.м.н., ст. н.с.*
Е.Ф. Завгородняя, *к.м.н., ст. н.с.*
Т.В. Корита, *к.м.н., ст. н.с.*
Т.В. Мжельская, *к.м.н., ст. н.с.*
И.С. Старостина – *ответственный секретарь, к.б.н., ст. н.с.*
А.Н. Иванов – *технический редактор*

Учредитель –

ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора

Журнал зарегистрирован Дальневосточным окружным управлением Министерства РФ по делам печати, телерадиовещания и СМИ 10.10.2001 г. ПИ № 15-0267

Подписной индекс по Каталогу российской прессы «Почта России» в Межрегиональном агентстве подписки 14402

Периодичность издания – 2 раза в год

Журнал размещается в интегрированном научном информационном ресурсе в российской сети Интернет – Научной электронной библиотеке.

Полная версия журнала доступна на сайте Российской электронной библиотеки (www.elibrary.ru)

ISSN 2073-2899 Импакт-фактор – 0,070

Публикации в Дальневосточном журнале инфекционной патологии бесплатны

Адрес издателя и редакции:

680610, г. Хабаровск, ул. Шевченко, 2, Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора

Для корреспонденции:

680610, г. Хабаровск, ул. Шевченко, 2, Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора
редакция «Дальневосточного Журнала Инфекционной Патологии»

E-mail: adm@hniiem.ru **Наш сайт в Интернет:** <http://www.hniiem.rospotrebнадzor.ru>

При цитировании ссылка на журнал обязательна

Мнение редакции журнала может не совпадать с мнением авторов

© Дальневосточный Журнал Инфекционной Патологии

МАТЕРИАЛЫ

**Всероссийской научно-практической конференции
с международным участием
«Актуальные вопросы обеспечения
противоэпидемических мероприятий
в зоне чрезвычайных ситуаций»
к 80-летию**

***Федерального казенного учреждения здравоохранения
«Иркутский ордена Трудового Красного Знамени
научно-исследовательский противочумный институт
Сибири и Дальнего Востока»***

**Федеральной службы по надзору в сфере
защиты прав потребителей и благополучия человека**

(23-24 сентября, г. Иркутск)

ВЫПУСК ПОДГОТОВЛЕН

редакционной коллегией

**Федерального казенного учреждения здравоохранения
«Иркутский ордена Трудового Красного Знамени
научно-исследовательский противочумный институт
Сибири и Дальнего Востока»**

**Федеральной службы по надзору в сфере защиты
прав потребителей и благополучия человека:**

**Балахонов С.В. (ответственный редактор), Чеснокова М.В.,
Трухина А.Г., Базанова Л.П., Корзун В.М., Миронова Л.В.,
Вишняков В.А., Носков А.К., Шкаруба Т.Т., Субычева Е.Н.**

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

ЭПИЗООТОЛОГИЯ

ЧРЕЗВЫЧАЙНЫЕ СИТУАЦИИ НА ЭНЗОТИЧНЫХ ПО ЧУМЕ ТЕРРИТОРИЯХ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА Ю.М. Евченко, Л.В. Ляпустина, Г.М. Грижебовский, Д.С. Агапитов 9

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ МНОГОВИДОВЫХ СООБЩЕСТВ БЛОХ МОНГОЛЬСКОЙ ПИЩУХИ В ГОРНО-АЛТАЙСКОМ ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ ЧУМЫ М.Б. Ярыгина, В.М. Корзун, Л.А. Фомина, А.В. Денисов 11

УВЕЛИЧЕНИЕ АРЕАЛА МОНГОЛЬСКОЙ ПИЩУХИ В ГОРНО-АЛТАЙСКОМ ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ ЧУМЫ А.В. Денисов, Е.В. Чипанин, В.М. Корзун, Е.И. Филатов, Н.Ю. Курепина 15

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ДЕЗИНСЕКЦИИ В ДОЛИНЕ РЕКИ САГЛЫ (ТУВИНСКИЙ ПРИРОДНЫЙ ОЧАГ ЧУМЫ) Д.Б. Вержуцкий, А.Я. Никитин, Н.И. Ковалева, Н.Ф. Галацевич, Н.А. Чумакова, С.В. Ткаченко, А.В. Чумаков 18

СОВРЕМЕННАЯ СИТУАЦИЯ В ПРИРОДНЫХ ОЧАГАХ ЧУМЫ МОНГОЛИИ З. Адъяасурэн, Д. Цэрэнноров, Ж. Мягмар, Ц. Ганхуяг, Д. Отгонбаяр, Ц. Баяр, Д.Б. Вержуцкий, Д.Ганболд, С.В. Балахоннов 22

ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ, ПЕРЕДАЮЩИХСЯ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ, НА ТЕРРИТОРИИ АМУРСКОЙ ОБЛАСТИ В ПОСЛЕПАВОДКОВЫЙ ПЕРИОД О.П. Курганова, А.А. Перепелица, Т.Ю. Нехрюк, Е.Н. Бурдинская, К.В. Крахмалев 26

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ РИККЕТСИЙ И РИККЕТСИОЗОВ ГРУППЫ КЛЕЩЕВОЙ ПЯТНИСТОЙ ЛИХОРАДКИ В РОССИИ И КАЗАХСТАНЕ Н.В. Рудаков, С.Н. Шпынов, Р.А. Егембердыева, И.Е. Самойленко, Л.В. Кумпан . 28

ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ НА ЮГЕ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ О.В. Малецкая, Н.Ф. Василенко, Т.В. Таран, Т.В. Харченко 30

УСТОЙЧИВОСТЬ ФАУНИСТИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОВ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ (ACARI: IXODIDAE) НА ОСТРОВЕ РУССКИЙ И В УССУРИЙСКОМ ЗАПОВЕДНИКЕ (ПРИМОРСКИЙ КРАЙ) Н.С. Гордейко, А.Я. Никитин, А.В. Алленов, Т.В. Зверева 33

EPIZOOTOLOGY

EMERGENCIES AT ENZOOTIC PLAGUE TERRITORIES OF THE NORTH CAUCASUS Y.M. Evchenko, L.V. Lyapustina, G.M. Grizhebovsky, D.S. Agapitov ... 9

STRUCTURE CHANGE OF MONGOLIAN PIKA FLEA MULTISPECIES COMMUNITIES IN THE MOUNTAIN-ALTAI NATURAL PLAGUE FOCUS M.B. Yarygina, V.M. Korzun, L.A. Fomina, A.V. Denisov 11

EXTENSION OF MONGOLIAN PIKA AREAL IN THE MOUNTAIN-ALTAI NATURAL PLAGUE FOCUS A.V. Denisov, E.V. Chipanin, V.M. Korzun, E.I. Filatov, N.Yu. Kurepina 15

MAIN RESULTS OF PREVENTIVE DISINFESTATION MEASURES IN THE SAGIL VALLEY (TYVA NATURAL PLAGUE FOCUS) D.B. Verzhutski, A.Ya. Nikitin, N.I. Kovaleva, N.F. Galatsevich, N.A. Chumakova, S.V. Tkachenko, A.V. Chumakov 18

CURRENT SITUATION IN THE NATURAL PLAGUE FOCI OF MONGOLIA Z. Adjaasuren, D. Tserennorov, Z. Myagmar, T. Ganhuyag, D. Otgonbayar, T. Bayar, D.B. Verzhutsky, D. Ganbold, S.V. Balakhonov 22

FEATURES OF MANIFESTATION OF NATURAL FOCAL INFECTIOUS DISEASES TRANSMITTED BY IXODES TICKS AFTER FLOOD IN THE AMUR REGION O.P. Kurganova, A.A. Perepelitsa, T.Yu. Nekhryuk, E.N. Burdinskaya, K.V. Krakhmalev 26

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF RICKETTSIA AND RICKETTSIOSES OF TICK-BORNE SPOTTED FEVER GROUP IN RUSSIA AND KAZAKHSTAN N.V. Rudakov, S.N. Shpynov, R.A. Egemberdyeva, I.E. Samoylenko, L.V. Kumpan 28

EVALUATION OF ACTIVITY OF NATURAL FOCI OF THE INFECTIOUS DISEASES IN SOUTH OF THE EUROPEAN PART OF RUSSIA O.V. Maletskaya, N.F. Vasilenko, T.V. Taran, T.V. Kharchenko 30

STABILITY OF TICKS' (ACARI: IXODIDAE) FAUNA ASSOCIATIONS ON RUSSKY ISLAND AND IN USSURIYSK NATIONAL PARK (PRIMORSKY KRAI) N.S. Gordeyko, A.V. Allenov, T.V. Zvereva, A.Ya. Nikitin ... 33

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И АНАЛИЗ СЛУЧАЕВ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЛЮДЕЙ В МОНГОЛИИ Д. Цэрэнноров, Б. Уянга, Ж. Батцэцэг, Ц. Баяр, Б. Байгалмаа, М. Нямсүрэн 36

RESULTS OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS INVESTIGATION, AND THE ANALYSIS OF HUMAN CASES IN MONGOLIA D. Tserennorov, B. Uyanga, Z. Battsetseg, T. Bayar, B. Baygalmaa, M. Nyamsuren 36

ОСОБЕННОСТИ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ОЧАГОВ ОПАСНЫХ ЗООНОЗНЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ В УСЛОВИЯХ МАСШТАБНОГО СТИХИЙНОГО БЕДСТВИЯ (НАВОДНЕНИЕ) М.А. Тарасов, Н.П. Шестопалов, А.М. Поршаков, С.И. Толоконникова, В.А. Янович, П.В. Копылов, А.Д. Воронцова, Н.В. Попов, В.П. Топорков, А.В. Топорков, И.Г. Карнаухов, В.В.Кутырев 39

PECULIARITIES OF EPIZOOTIOLOGICAL INSPECTION IN FOCI OF PARTICULARLY DANGEROUS ZONOTIC INFECTIONS UNDER THE CONDITIONS OF A LARGE-SCALE NATURAL DISASTER (FLOODING) M.A. Tarasov, N.P. Shestopalov, A.M. Porshakov, S.I. Tolokonnikova, V.A. Yanovich, P.V. Kopylov, A.D. Vorontsova, N.V. Popov, V.P. Toporkov, A.V. Toporkov, I.G. Karnaukhov, V.V. Kutyrev 39

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕРАТИЗАЦИОННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ В АМУРСКОЙ ОБЛАСТИ В ПОСЛЕПАВОДКОВЫЙ ПЕРИОД 2013 ГОДА Л.П. Окунев, А. А. Перепелица, О.И. Короткоручко, Т.Ю. Нехрюк, Е.Н. Бурдинская, О.К. Лялина, А.В. Самчук, И.А. Бойко, К.В. Крахмалёв, О.С. Кизима, А.Я. Никитин, С.А. Борисов, И.М. Морозов 42

ESTIMATION OF EFFICIENCY OF DISINFESTATION ACTIONS IN THE AMUR REGION AFTER THE FLOOD PERIOD IN 2013 L.P. Okunev, A.A. Perepelitsa, O.I. Korotkoruchko, T.Yu. Nekhryuk, E.N. Burdinskaya, O.K. Lyalina, A.V. Samchuk, I.A. Boiko, K.V. Krakhmalyov, O.S. Kizima, A.Ya. Nikitin, S.A. Borisov, I.M. Morozov 42

ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОНТАКТОВ И НЕКРОФАГИИ В ПОПУЛЯЦИЯХ НОСИТЕЛЕЙ ОПАСНЫХ ЗООНОЗНЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ В УСЛОВИЯХ МАСШТАБНОГО СТИХИЙНОГО БЕДСТВИЯ (НАВОДНЕНИЕ) М.А. Тарасов, Н.П. Шестопалов, А.М. Поршаков, А.И. Удовиков, М.М. Шилов, В.А. Янович, П.В. Копылов, А.Д. Воронцова, Н.В. Попов 47

EPIZOOTIOLOGICAL SIGNIFICANCE OF SUCH FACTORS AS NUMBER OF CONTACTS AND NECROPHAGY WITHIN THE CARRIER POPULATIONS OF PARTICULARLY DANGEROUS INFECTIONS IN THE CONDITIONS OF A LARGE-SCALE NATURAL DISASTER (FLOODING) M.A. Tarasov, N.P. Shestopalov, A.M. Porshakov, A.I. Udovikov, M.M. Shilov, V.A. Yanovich, P.V. Kopylov, A.D. Vorontsova, N.V. Popov .. 47

ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ НА ЛЕПТОСПИРОЗЫ В ПАВОДКОВЫЙ ПЕРИОД В ПРИАМУРЬЕ Е.Ю. Киселева, Н.В. Бренёва, М.Б. Шаракшанов, А.К. Носков, С.А. Борисов ... 50

EPIZOOTIOLOGICAL EXAMINATION FOR LEPTOSPIRES DURING THE FLOOD PERIOD IN PRIAMURIE E.Yu. Kiseleva, N.V. Breneva, M.B. Sharakshanov, A.K. Noskov, S.A. Borisov 50

ТРАНСМИССИВНЫЕ ЭПИДЕМИЧЕСКИЕ ВСПЫШКИ (ГРУППОВЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ) ТУЛЯРЕМИИ В РОССИИ В XXI ВЕКЕ И.С. Мещерякова, Т.Н. Демидова, В.В. Горшенко, А.А. Добровольский 53

TRANSMISSIBLE EPIDEMIC OUTBREAKS (GROUP DISEASES) OF TULAREMIA IN RUSSIA IN XXI CENTURY I.S. Meshcheryakova, T.N. Demidova, V.V. Gorshenko, A.A. Dobrovolsky 53

ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ВО ВРЕМЯ ВСПЫШКИ ТУЛЯРЕМИИ В ХАНТЫ-МАНСИЙСКОМ АВТОНОМНОМ ОКРУГЕ (ЮГРА) В 2013 ГОДУ В.П. Попов 56

EPIZOOTIC SITUATION AT THE TULAREMIA OUTBREAK IN KHANTY-MANSIYSK AUTONOMOUS REGION (YUGRA) IN 2013 V.P. Popov 56

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ТУЛЯРЕМИИ НА СЕВЕРО-ВОСТОКЕ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ Т.В. Михайлова, И.С. Мещерякова, Д.В. Транквилевский, М.И. Кормилицына, Т.Н. Демидова 58

CHARACTERISTICS OF NATURAL TULAREMIA FOCI IN NORTHEAST VORONEZH REGION T.V. Mikhailova, I.S. Meshcheryakova, D.V. Trankvilevskiy, M.I. Kormilitsyna, T.N. Demidova 58

АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ТУЛЯРЕМИЕЙ В АРХАНГЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ Т.Н. Демидова, В.В. Горшенко, И.С. Мещерякова 60

ANALYSIS OF TULAREMIA MORBIDITY IN ARKHANGELSK REGION T.N. Demidova, V.V. Gorshenko, I.S. Meshcheryakova 60

ЭПИЗОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ТУЛЯРЕМИИ КАЗАХСТАНА НА ПРИГРАНИЧНОЙ С РОССИЕЙ ТЕРРИТОРИИ Т. Н. Куница, У.А. Избанова, В.Г. Мека-Меченко, Н. С. Майканов, В.П. Садовская 63

ЦИРКУЛЯЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ТРАНСМИССИВНЫХ ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫХ ИНФЕКЦИЙ В РЕГИОНЕ КАВКАЗСКИХ МИНЕРАЛЬНЫХ ВОД СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ Н.Ф. Василенко, А.В. Ермаков, О.В. Малецкая, О.В. Семенко, А.Н. Куличенко 66

ОПЫТ РАБОТЫ В ОЧАГЕ ТУЛЯРЕМИИ В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ СТРОИТЕЛЬСТВА БОГУЧАНСКОЙ ГЭС В КРАСНОЯРСКОМ КРАЕ В 2012 ГОДУ Г.М. Дмитриева, Н.Ю. Очековская, Н.Д. Орешкина, Н.Г. Зверева, Г.А. Евтушок, Т.Г. Чепижко . 68

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА В 2013 ГОДУ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ Е.В. Путинцева, В.П. Смелянский, В.В. Мананков, В.А. Пак, Н.В. Бородай, Н.И. Погасий, Г.А. Ткаченко, Д.В. Викторов, В.А. Антонов 71

ЛИХОРАДКА ЗАПАДНОГО НИЛА В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ В 2012-2013 ГГ. Т.Ю. Красовская, Е.В. Казорина, Е.В. Найденова, Е.А. Билько, Ж.А. Касьян, И.В. Терехова, А.М. Сеничкина, В.Е. Куклев, С.А. Щербакова 73

МЕРОПРИЯТИЯ ПО ЛИКВИДАЦИИ ЧРЕЗВЫЧАЙНЫХ СИТУАЦИЙ В ЭПИЗОТИЧЕСКИХ ОЧАГАХ БЕШЕНСТВА РЕСПУБЛИКИ БУРЯТИЯ С.С. Ханхареєв, Р.С. Шобоева, Л.В. Байронова, С.Ю. Амагырова 76

МОНИТОРИНГ БЕШЕНСТВА У ЛЮДЕЙ В МОНГОЛИИ В 2004-2013 ГГ. Б. Амгаланбаяр, Д. Отгонбаатар 77

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ АВТОМАТИЧЕСКОЙ ЛОВУШКИ ДЛЯ УЧЕТА ЧИСЛЕННОСТИ ОТБОРА ПРОБ КОМАРОВ В ОЧАГЕ ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА. Н.В. Бородай, В.А. Пак, Е.В. Путинцева, В.П. Смелянский, В.В. Мананков, Н.И. Погасий, К.В. Жуков 79

О РИСКЕ ЗАРАЖЕНИЯ НАСЕЛЕНИЯ КЛЕЩЕВЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ В МЕСТАХ МАССОВОГО ОТДЫХА В БОДАЙБИНСКОМ РАЙОНЕ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ О.Л. Богомазова, И.В. Безгодков, В.Б. Успенский, Н.А. Миряшкин, М.М. Верхозина, В.Б. Казанова, Т.Н. Осипова, Романенко Е.Г., И.В. Козлова, Г.А. Данчинова 82

EPIZOOTIC ACTIVITY OF NATURAL TULAREMIA FOCI OF KAZAKHSTAN IN FRONTIER TERRITORY WITH RUSSIA T.N. Kunitsa, U.A. Izbanova, V.G. Meka-Mechenko, N.S. Maikanov, V.P. Sadovskaya 63

CIRCULATION OF PATHOGENS TRANSMISSIBLE NATURAL FOCAL INFECTIONS IN CAUCASIAN MINERAL WATERS OF STAVROPOL REGION N.F. Vasilenko, A.V. Ermakov, O.V. Maletskaya, O.V. Semenko, A.N. Kulichenko 66

OPERATIONAL EXPERIENCE IN THE TULAREMIA FOCUS IN THE AREA OF BOGUCHANSK HYDROELECTRIC POWER STATION CONSTRUCTION IN KRASNOYARSK TERRITORY IN 2012 G.M. Dmitrieva, N.Yu. Ochekovskaya, N.D. Oreshkina, N.G. Zvereva, G.A. Evtushok, T.G. Chepizhko 68

RESULTS OF EPIDEMIOLOGICAL MONITORING OF WEST NILE FEVER IN 2013 IN THE RUSSIAN FEDERATION E.V. Putintseva, V.P. Smelyansky, V.V. Manankov, V.A. Pak, N.V. Boroday, N.I. Pogasiy, G.A. Tkachenko, D.V. Viktorov, V.A. Antonov 71

WEST NILE VIRUS FEVER IN SARATOV REGION IN 2012-2013 T.Yu. Krasovskaya, E.V. Kazorina, E.V. Naidenova, E.A. Bilko, Zh.A. Kasyan, I.V. Terekhova, A.M. Senichkina, V.E. Kuklev, S.A. Shcherbakova ... 73

ACTIONS FOR LIQUIDATION OF EMERGENCY SITUATIONS IN THE EPIZOOTIC RABIES FOCI IN BURYAT REPUBLIC S.S. Khankhareev, R.S. Shoboeva, L.V. Baironova, S.Yu. Amagyrova 76

ANALYSIS OF THE SURVEILLANCE DATA FOR HUMAN RABIES CASES, 2004-2013 B. Amgаланбаяр, D. Otgonbaatar 77

RESULTS OF AUTOMATIC TRAP APPLICATION TO COUNT THE NUMBER AND SAMPLING OF MOSQUITOES IN THE OUTBREAK OF WEST NILE FEVER N.V. Boroday, V.A. Pak, E.V. Putintseva, V.P. Smelyansky, V.V. Manankov, N.I. Pogasiy, K.V. Zhukov 79

ABOUT A RISK OF INFECTION OF POPULATION TICK INFECTIONS IN PLACES OF MASS REST IN BODAIBO DISTRICT OF THE IRKUTSK AREA O.L. Bogomazova, I.V. Bezgodov, V.B. Uspenskiy, N.A. Miryashkin, M.M. Verhosina, V.B. Kazanova, T.N. Osipova, E.G. Romanenko, I.V. Kozlova, G.A. Danchinova 82

АНАЛИЗ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ В ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА НА ЮГЕ ХАБАРОВСКОГО КРАЯ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИССЛЕДОВАНИЯ КЛЕЩЕЙ, СНЯТЫХ С ЖИТЕЛЕЙ Г. ХАБАРОВСКА Т.В. Мжельская, А.В. Кириллова, А.Г. Ковальский, Н.П. Высочина, О.Е. Троценко, Е.Н. Присяжнюк, И.Г. Пивоварова ... 85

МИКРОБИОЛОГИЯ И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

РАЗРАБОТКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ КОРОНАВИРУСА, ВЫЗЫВАЮЩЕГО БЛИЖНЕВОСТОЧНЫЙ РЕСПИРАТОРНЫЙ СИНДРОМ А.Н. Болдырев, С.А. Боднев, С.Н. Соколов, Т.П. Микрюкова, В.В. Солодкий, В.А. Терновой, Ю.В. Туманов, О.В. Пьянков, А.П. Агафонов 88

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ РАСШИФРОВКА ЗАВОЗНЫХ СЛУЧАЕВ ТРОПИЧЕСКИХ ЛИХОРАДОК В ДАЛЬНЕВОСТОЧНОМ РЕГИОНЕ С.В. Бахметьева, Н.М. Пуховская, Н.И. Здановская, Л.И. Иванов, Н.Б. Белозерова, О.М. Уткина, Я.А. Журавлев, В.Ф. Ларичев 91

СЛУЧАИ ЗАВОЗА ЛИХОРАДКИ ДЕНГЕ ПУТЕШЕСТВЕННИКАМИ В ИРКУТСК Т.И. Борисова, Е.А. Сидорова, А.В. Севостьянова, М.В. Лемешевская, И.В. Котова, К.А. Белых, Е.И. Андаев 94

ИНДИКАЦИЯ КАПСУЛЬНОГО АНТИГЕНА ЧУМНОГО МИКРОБА В СУСПЕНЗИЯХ ОРГАНОВ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ С ПРИМЕНЕНИЕМ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ С.А. Белькова, С.В. Балахонов 96

ЭПИДЕМИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ РОДНИКОВЫХ ВОД В ЗАПАДНО-КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ Н.С. Майканов, К.М. Ахмеденов, Н.И. Михайлюк, Т.З. Аязбаев 98

ПРИМЕНЕНИЕ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХОЛЕРНОГО ТОКСИНА В.Г. Германчук, А.Н. Спицын, Д.В. Уткин 101

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ БАКТЕРИОФАГОВ ХОЛЕРНЫХ И ПАРАГЕМОЛИТИЧЕСКИХ ВИБРИОНОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ ИХ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ Н.Е. Гаевская, Т.А. Кудрякова, Л.Д. Македонова, Г.В. Качкина 103

МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ ДОКЛИНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ ВАКЦИН ПРОТИВ ЧУМЫ И ТУЛЯРЕМИИ С.А. Бугоркова 106

Analysis of epizootic situation in hot spot of tick borne encephalitis in the South of Khabarovsk region, based on examination of ticks, removed from citizens of Khabarovsk City T.V. Mzhel'skaya, A.V. Kirillova, A.G. Kovalskii, N.P. Visochina, O.E. Trotsenko, E.N. Prisyazhnyuk, I.G. Pivovarova 85

MICROBIOLOGY AND LABORATORY DIAGNOSTICS

DEVELOPMENT OF POLYMERASE CHAIN REACTION KIT FOR DETECTION OF CORONAVIRUS CAUSING MIDDLE EASTERN RESPIRATORY SYNDROME A.N. Boldyrev, S.A. Bodnev, S.N. Sokolov, T.P. Mikryukova, V.V. Solodky, V.A. Ternovoi, Yu.V. Tumanov, O.V. Pyankov, A.P. Agafonov 88

ETIOLOGICAL DECODING OF IMPORTED CASES OF TROPICAL FEVERS IN THE FAR EASTERN REGION S.V. Bakhmeteva, N.M. Pukhovskaya, N.I. Zdanovskaya, L.I. Ivanov, N.B. Belozerova, O.M. Utkina, Ya.A. Zhuravlev, V.F. Larichev 91

CASES OF DENGUE FEVER IMPORTATION BY TRAVELLERS TO IRKUTSK T.I. Borisova, E.A. Sidorova, A.V. Sevostyanova, M.V. Lemeshevskaya, I.V. Kotova, K.A. Belyh, E.I. Andaev 94

INDICATION OF YERSINIA PESTIS CAPSULAR ANTIGEN IN SUSPENSIONS OF SMALL MAMMAL ORGANS USING IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TEST SYSTEM S.A. Belkova, S.V. Balakhonov 96

EPIDEMIC VALUE OF SPRING WATERS IN THE WEST KAZAKHSTAN AREA N.S. Maikanov, K.M. Akhmedenov, N.I. Mikhailyuk, T.Z. Ayazbaev 98

APPLICATION OF MALDI-TOF MASS SPECTROMETRY FOR DEFINITION OF CHOLERA TOXIN V.G. Germanchuk, A.N. Spitsyn, D.V. Utkin 101

BIOLOGICAL INDICATORS OF CHOLERA AND PARAHEMOLYTIC VIBRIO BACTERIOPHAGES USED IN ITS DIFFERENTIATION N.E. Gaevskaya, T.A. Kudryakova, L.D. Makedonova, G.V. Kachkina 103

METHODOLOGICAL ASPECTS OF APPLICATIONS OF QUANTITATIVE MORPHOLOGICAL STUDIES IN PRECLINICAL EVALUATION OF PLAGUE AND TULAREMIA VACCINES S.A. Bugorkova 106

<p>ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ СВОЙСТВ ВАКЦИННОГО ШТАММА <i>FRANCISELLA TULARENSIS</i> 15 НИИЭГ РАЗНЫХ ЛЕТ ХРАНЕНИЯ Е.А. Соловьев, Л.В. Саяпина, А.А. Горяев, Н.А. Осина, М.П. Рудник, Д.С. Давыдов, В.П. Бондарев 109</p>	<p>STUDY OF <i>FRANCISELLA TULARENSIS</i> NIIEG-15 VACCINE STRAIN STABILITY AFTER DIFFERENT STORAGE PERIODS E.A. Solovyev, L.V. Sayapina, A.A. Goryaev, N.A. Osina, M.P. Rudnik, D.S. Davydov, V.P. Bondarev 109</p>
<p>ПРИМЕНЕНИЕ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ <i>BRUCELLA</i> SPP. Д.В. Ульшина, Д.А. Ковалев, С.И. Головнева, Е.В. Чеботарева 111</p>	<p>APPLICATION OF MALDI-TOF MASS SPECTROMETRY TO <i>BRUCELLA</i> SPP. IDENTIFICATION D.V. Ulshina, D.A. Kovalev, S.I. Golovneva, E.V. Chebotareva 111</p>
<p>ПРОДУКЦИЯ БЕЛКОВ S-СЛОЯ И ПРОТЕКТИВНОГО АНТИГЕНА РАЗЛИЧНЫМИ ШТАММАМИ <i>BACILLUS ANTHRACIS</i> А.М. Барков, А.В. Новоженина, И.А. Баркова, С.В. Порохня, Г.А. Ткаченко, А.В. Липницкий 113</p>	<p>PRODUCTION OF S-LAYER PROTEINS AND PROTECTIVE ANTIGEN BY DIFFERENT <i>BACILLUS ANTHRACIS</i> STRAINS A.M. Barkov, A.V. Novozhenina, I.A. Barkova, S.V. Porohnya, G.A. Tkachenko, A.V. Lipnitsky 113</p>
<p>ВЫЯВЛЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ ГЕМОРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ И СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ В КЛИНИЧЕСКОМ И ПОЛЕВОМ МАТЕРИАЛЕ В АМУРСКОЙ ОБЛАСТИ В ПЕРИОД НАВОДНЕНИЯ 2013 ГОДА Е.А. Сидорова, М.О. Горина, С.А. Борисов, А.Я. Никитин, А.В. Самчук, Е.В. Кравец, Е.А. Разенькова, Т.Ю. Нехрюк, О.П. Курганова, Е.И. Андаев 116</p>	<p>DETECTION OF THE CAUSATIVE AGENT AND SPECIFIC ANTIBODIES TO HAEMORRAGIC FEVER WITH RENAL SYNDROME IN CLINICAL AND FIELD SAMPLES IN THE AMUR REGION DURING THE FLOOD IN 2013 E.A. Sidorova, M.O. Gorina, S.A. Borisov, A.Ya. Nikitin, A.V. Samchuk, E.V. Kravets, E.A. Razenkova, T.Yu. Nekhruk, O.P. Kurganova, E.I. Andaev 116</p>
<p>МЕТОДЫ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА В ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ РАССЛЕДОВАНИЯХ СЛУЧАЕВ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ НА ТЕРРИТОРИЯХ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПОДВЕРГШИХСЯ ПОДТОПЛЕНИЮ В 2013 ГОДУ Е.Ю. Сапега, О.Е. Троценко, О.П. Курганова, В.А.Отт, Н.В. Коршунова, Т.В. Корита, В.О. Котова, В.А. Янович, Ю.А. Гарбуз, П.В. Копылов, Л.В. Бутакова, Т.А. Зайцева, А.А. Перепелица, Т.Н. Каравянская, Е.Н. Присяжнюк, Е.М. Голубева, В.И. Резник, Е.С. Мироненко, Л.А. Балахонцева, А.П. Бондаренко, А.Н. Лукашев, С.В. Балахонов, А.К. Носков, С.А. Косилко, Н.А. Новикова, Л.Н. Голицына, М.Е. Игнатьева, А.А. Рубцова, Б.Б. Дарижапов, Г.Г. Онищенко 119</p>	<p>METHODS OF GENOTYPING AND PHYLOGENETIC ANALYSIS OF EPIDEMIOLOGICAL INVESTIGATIONS OF ENTEROVIRUS INFECTION AT THE TERRITORY OF THE FAR EASTERN FEDERAL DISTRICT OF THE RUSSIAN FEDERATION, THAT WERE EXPOSED TO FLOOD IN 2013 E.Yu. Sapega, O.E. Trotsenko, O.P. Kurganova, V.A. Ott, N.V. Korshunova, T.V. Korita, V.O. Kotova, V.A. Yanovich, Yu.A. Garbuz, P.V. Kopilov, L.V. Butakova, T.A. Zaitseva, A.A. Perepelitsa, T.N. Karavyanskaya, E.N. Prisyazhnyuk, E.M. Golubeva, V.I. Reznik, E.S. Mironenko, L.A. Balakhontseva, A.P. Bondarenko, A.N. Lukashev, S.V. Balakhonov, A.K. Noskov, S.A. Kosilko, N.A. Novikova, L.N. Golitsina, M.E. Ignat'eva, A.A. Rubtsova, B.B. Darizhapov, G.G. Onishchenko 119</p>
<p>ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРОВ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ МЕЛИОИДОЗА ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ВНУТРЕННЕГО КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В РЕФЕРЕНС-ЦЕНТРЕ ПО МОНИТОРИНГУ ЗА ВОЗБУДИТЕЛЯМИ САПА И МЕЛИОИДОЗА Е.В. Прохватилова, В.А. Антонов, Д.В. Викторов, В.И. Илюхин, Н.П. Храпова, Г.А. Ткаченко, И.Б. Захарова, Н.Г. Плеханова, И.В. Новицкая, М.Я. Кулаков, Т.В. Замарина, И.И. Корсакова, С.С. Савченко, О.С. Бондарева, А.А. Батуринов, Л.В. Лемасова, Н.Н. Тетеряникова, Л.И. Белицкая 128</p>	<p>EVALUATION OF THE DIAGNOSTIC VALUE OF THE REAGENT KIT FOR DETECTION OF MELIOIDOSIS CAUSATIVE AGENT AT CONDUCTING OF INTERNAL QUALITY CONTROL OF THE LABORATORY RESEARCH IN THE REFERENCE CENTER FOR MONITORING OF GLANDERS AND MELIOIDOSIS AGENTS E.V. Prokhvatilova, V.A. Antonov, D.V. Viktorov, V.I. Ilyukhin, N.P. Khrapova, G.A. Tkachenko, I.B. Zakharova, N.G. Plehanova, I.V. Novitskaya, M.Ya. Kulakov, T.V. Zamarina, I.I. Korsakova, S.S. Savchenko, O.S. Bondareva, A.A. Baturin, L.V. Lemasova, N.N. Tetryatnikova, L.I. Belitskaya 128</p>

АНАЛИЗ ПРАЙМЕРОВ И ЗОНДОВ, ПОЗВОЛЯЮЩИХ ДИФФЕРЕНЦИАЦИРОВАТЬ <i>BURKHOLDERIA MALLEI</i> И <i>BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI</i> МЕТОДОМ ПЦР Л.В. Лемасова, С.С. Савченко, Г.А. Ткаченко, В.А. Антонов 132	EVALUATION OF PCR PRIMERS AND PROBES FOR <i>BURKHOLDERIA MALLEI</i> AND <i>BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI</i> DIFFERENTIATION L.V. Lemasova, S.S. Savchenko, G.A. Tkachenko, V.A. Antonov 132
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ФЛУОРЕСЦИРУЮЩИХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ НА ОСНОВЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К АНТИГЕНУ 200 KDA <i>BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI</i> Е.Э. Ким, Н.П. Храпова, Т.В. Замарина 134	DIAGNOSTIC CAPABILITIES OF EXPERIMENTAL FLUORESCENT IMMUNOGLOBULINS BASED ON MONOCLONAL ANTIBODIES TO <i>BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI</i> ANTIGEN 200KDA E.E. Kim, N.P. Khrapova, T.V. Zamarina 134
ПРИМЕНЕНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ АНТИГЕНА 200 KDA <i>BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI</i> В РЕАКЦИИ ИММУНОДИФФУЗИИ В ГЕЛЕ Т.В. Замарина, Н.П. Храпова, И.И. Корсакова 137	APPLICATION OF MONOCLONAL ANTIBODIES FOR DETECTION OF <i>BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI</i> ANTIGEN 200 KDA BY DOUBLE IMMUNODIFFUSION TEST T.V. Zamarina, N.P. Khrapova, I.I. Korsakova 137
КОНСТРУИРОВАНИЕ ДИАГНОСТИКУМА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МЕЛИОИДОЗА В РЕАКЦИИ ЛАТЕКС-АГГЛЮТИНАЦИИ А.М. Куделина, И.В. Новицкая, Е.В. Прохвятилова 139	DEVELOPMENT OF DIAGNOSTICUM FOR THE DETECTION OF MELIOIDOSIS AGENTS IN LATEX AGGLUTINATION REACTION A. M. Kudelina, I.V. Novitskaya, E.V. Prokhvatilova 139
АНАЛИЗ АНТИГЕННОГО СОСТАВА ПАТОГЕННЫХ БУРКХОЛЬДЕРИЙ МЕТОДОМ ИММУНОБЛОТТИНГА СО СПЕЦИФИЧЕСКИМИ КРОЛИЧЬИМИ СЫВОРОТКАМИ ПРОТИВ ЖИВЫХ КЛЕТОК, КЛЕТОЧНЫХ И ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНЫХ АНТИГЕНОВ А.А. Будченко, И.Ю. Мазурова 142	ANALYSIS OF ANTIGEN STRUCTURE BY IMMUNOBLOTTING METHOD WITH SPECIFIC RABBIT SERA AGAINST LIVE CELLS, CELLULAR AND EXTRACELLULAR ANTIGENS OF PATHOGENIC BURKHOLDERIAS A.A. Budchenko, I.Yu. Mazurova 142
ИЗМЕНЕНИЕ АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ШТАММОВ ПАТОГЕННЫХ БУРКХОЛЬДЕРИЙ ПРИ ПАССИРОВАНИИ НА ЖИВОТНЫХ И ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ Т.В. Сенина, Е.В. Илюхин, Е.В. Шубникова 144	CHANGING OF ANTIBIOTIC SENSITIVITY IN PATHOGENIC BURKHOLDERIA STRAINS BY PASSAGING TO ANIMALS AND NUTRIENT MEDIA T.V. Senina, E.V. Ilyukhin, E.V. Shubnikova 144
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИПА БОТУЛОТОКСИНА В КЛИНИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ ОТ БОЛЬНЫХ ЛЮДЕЙ МЕТОДОМ ДОТ-ИММУНОАНАЛИЗА Т.Ю. Загоскина, С.В. Балахонов, Е.А. Чапоргина, Е.Ю. Марков, О.Б. Бодрых, Т.А. Иванова, О.В. Гаврилова, Т.М. Долгова, Т.С. Тайкова, Ю.О. Попова, А.В. Корнева 146	DEFINITION OF BOTULOTOXIN TYPE IN CLINICAL MATERIAL FROM PATIENTS BY DOT-IMMUNOASSAY T.Yu. Zagoskina, S.V. Balakhonov, E.A. Chaporgina, E.Yu. Markov, O.B. Bodrykh, T.A. Ivanova, O.V. Gavrilova, T.M. Dolgova, T.S. Taikova, Yu.O. Popova, A.V. Korneva 146
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕПТОСПИРОЗНОЙ СЫВОРОТКИ, ПОЛУЧЕННОЙ К ЖИВЫМ ВИРУЛЕНТНЫМ И ИНАКТИВИРОВАННЫМ ШТАММАМ Н.М. Андреевская, В.А. Михайлова, Н.В. Бренёва, Е.Ю. Киселева, А.Г. Атлас 150	EVALUATION OF THE LEPTOSPIROSIS SERUM EFFICIENCY TO LIVE VIRULENT AND INACTIVATED STRAINS N.M. Andreevskaya, V.A. Mikhailova, N.V. Breneva, E.Yu. Kiseleva, A.G. Atlas 150
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДЕТЕКЦИЯ ICES ЭЛЕМЕНТОВ СЕМЕЙСТВА SXT/R391 В ШТАММАХ <i>VIBRIO CHOLERAЕ</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РФ М.В. Подшивалова, И.Б. Захарова, Я.А. Лопастейская, Л.М. Веркина, Н.А. Селянская, Д.В. Викторов 152	MOLECULAR DETECTION OF SXT/R391 ICES IN <i>VIBRIO CHOLERAЕ</i> STRAINS ISOLATED IN RUSSIAN FEDERATION M.V. Podshivalova, I.B. Zakharova, Ya.A. Lopasteyskaya, L.M. Verkina, N.A. Selyanskaya, D.V. Viktorov 152
ИНСТРУКЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ 155 АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ АВТОРОВ ... 159	INSTRUCTION FOR AUTHORS 155 ALPHABETICAL INDEX OF AUTHORS 159

ЭПИЗООТОЛОГИЯ

УДК: 616.98:579.842.23Yersinia(470.6)

ЧРЕЗВЫЧАЙНЫЕ СИТУАЦИИ НА ЭНЗООТИЧНЫХ ПО ЧУМЕ ТЕРРИТОРИЯХ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА

Ю.М. Евченко, Л.В. Ляпустина, Г.М. Грижебовский, Д.С. Агапитов
*ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Природные очаги чумы на Северном Кавказе подвергались действию различных чрезвычайных ситуаций. Гуманитарные кризисы сопровождаются активной миграцией населения, неадекватными санитарно-гигиеническими условиями проживания. Природные катаклизмы снижают эпизоотическую активность вследствие сокращения численности носителей и переносчиков.

Ключевые слова: *природный очаг чумы, Северный Кавказ, чрезвычайные ситуации, факторы риска.*

EMERGENCIES AT ENZOOTIC PLAGUE TERRITORIES OF THE NORTH CAUCASUS

Y.M. Evchenko, L.V. Lyapustina, G.M. Grizhebovsky, D.S. Agapitov
Stavropol Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor, Stavropol

Natural plague foci in the North Caucasus have been exposed to various emergencies. Humanitarian crises are accompanied by active people migration, inadequate hygiene-and-sanitary living conditions. Natural disasters reduce epizootic activity due to downsizing of carrier and vector numbers.

Keywords: *natural plague focus, the North Caucasus, emergency, risk factors.*

В Северо-Кавказском федеральном округе находятся шесть из 11 известных в Российской Федерации природных очагов чумы. Они располагаются на относительно небольшом расстоянии друг от друга и, зачастую, подвергаются действию одних и тех же чрезвычайных ситуаций (ЧС), как природного, так и антропогенного (гуманитарные кризисы) характера. На рубеже XX и XXI веков, многие энзоотические по чуме территории региона явились ареной различных ЧС – землетрясения, наводнения, паводки, вооруженные конфликты, вспышки и эпидемии инфекционных заболеваний.

Цель работы – путем экстраполяции установить общие факторы риска возникновения эпидемических ситуаций для территорий Северного Кавказа, энзоотических по чуме, подвергнувшихся воздействию различных ЧС.

Материалы и методы

Наблюдения за последствиями наводнения в природных очагах проведены в 2002 г. во время ликвидации медико-санитарных последствий ЧС в ЮФО. Изучение факторов риска гуманитарных катастроф осуществлялось в составе специализированных противэпидемических бригад на территории Чеченской Республики в 1995 и 1999-2000 гг.

Результаты и обсуждение

Природные очаги Северного Кавказа охватывают территории всех субъектов региона: республик Дагестан, Ингушетия, Кабардино-Балкария, Калмыкия, Карачаево-Черкесия, Чеченская Республика и Ставропольского края. Количество выделяемых здесь культур чумного микроба в отдельные годы достигает 80 % от числа изолированных в России. Наиболее масштабной ЧС природного характера были затопления и паводки на крупных реках региона в 2002 г. Границы зоны бедствия сформированы паводками на таких крупных реках как Кубань, Сунжа, Терек, Подкумок и их притоках. При этом были затоплены участки природно-очаговых территорий по чуме, туляремии, Крымской геморрагической лихорадке. В результате произошло резкое снижение эпизоотической актив-

ности на всех упомянутых участках вследствие прямого негативного воздействия на численность носителей и переносчиков. В Центрально-Кавказском высокогорном природном очаге многие поселения основного носителя были залиты водой и даже смыты по доньям и склонам ущелий, особенно в верховьях р. Малка. В сочетании с другими неблагоприятными факторами (засухи, малоснежные морозные зимы, ранние оттепели) эти природные катаклизмы явились причиной уменьшения ареала и общей численности горного суслика с конечным итогом снижения эпизоотической активности.

В ряде случаев в зоне затопления оказывалась вышедшей из строя полностью или частично сеть лечебно-профилактических учреждений [2]. Данное обстоятельство в значительной мере повышает уязвимость населения, находящегося в зоне ЧС.

Наиболее масштабными гуманитарными кризисами явились события, вызванные боевыми действиями в Чеченской республике в 1995 и 1999-2000 гг., которые стали причиной распада всей социальной сферы, разрушения системы жизнеобеспечения населения, резкого снижения объема и качества противозидемических мероприятий, и неспособности местных госсанэпидслужбы и здравоохранения обеспечивать эпидемиологический контроль. В этих условиях возникли тяжелые вспышки опасных инфекционных заболеваний: холеры, брюшного тифа, полиомиелита, дифтерии, сопровождавшиеся выносом инфекций на сопредельные территории. На этом фоне наличие в зоне ЧС природных очагов чумы явилось серьезной угрозой эпидемических осложнений.

Прикаспийский песчаный очаг чумы является постоянно действующим. Его южная и юго-западная части захватывают Наурский и Шелковской районы Чечни и приграничные с ними районы Ставропольского края. Противозидемические отряды ФКУЗ «Дагестанская противочумная станция» при методическом руководстве специалистов СПЭБ Ставропольского противочумного института провели в 1995 и 1999-2000 гг. эпизоотологическое обследование Прикаспийского песчаного и Терско-Сунженского низкогорного природных очагов чумы. В мае 1995 г. эпизоотия чумы была зарегистрирована в Наурском районе Чеченской республики (Прикаспийский песчаный очаг). Одновременно в Малгобекском районе Республики Ингушетия (Терско-Сунженский низкогорный природный очаг) был выявлен случай заболевания человека туляремией, что явилось свидетельством активизации природных очагов трансмиссивных инфекций. В значительной мере повышение эпизоотической активности обусловлено сокращением площадей устойчивого земледелия вследствие распада агропромышленного комплекса. Необходимость срочной профилактики природно-очаговых инфекций дополнялась высокими показателями заселенности жилищ человека крысами и другими синантропными грызунами. В качестве неспецифической профилактики чумы во всех лагерях вынужденных переселенцев и близлежащих населенных пунктах была проведена поселковая дератизация. Опасность эпидемических осложнений усиливалась из-за размещения, в некоторых случаях, воинских контингентов на эпизоотических участках (блиндажи, траншеи и прочие инженерные сооружения). Следующая угроза обозначилась в 2000 г., когда была выявлена эпизоотия чумы среди малых сусликов в окрестностях с. Нижние Ачалуки Республики Ингушетия (Терско-Сунженский низкогорный природный очаг). В это время в лагерях вынужденных переселенцев проживало около 10 тыс. человек, прибывших из населенных пунктов Чеченской Республики, где велись активные боевые действия. В плане экстренной профилактики был проведен комплекс мероприятий, включающий вакцинацию населения, поселковую дератизацию, подготовку специалистов лечебно-профилактических учреждений. Только в Малгобекском районе Республики Ингушетия поселковая дератизация была проведена в 32 населенных пунктах, а также в лагере вынужденных переселенцев «Аки-Юрт». При этом общая площадь обработок составила 700 тыс. м².

Восточно-Кавказский высокогорный очаг охватывает территорию горных районов Республики Дагестан, Чеченской Республики, Республики Ингушетия и Республики Северная Осетия-Алания. Помимо обыкновенной полевки, в эпизоотии вовлекаются водяная полевка, серый хомячок, кустарниковая полевка. Эпидемиологический надзор за очагом в период сложной общественно-политической обстановки и военных действий практически не проводился [1], что является фактором риска, связанным с ослаблением деятельности лечебно-профилактических учреждений. Восстановление полноценного надзора и контроля над очагом в 2008 г. позволило установить высокую непрекращающуюся активность очага, что, в сочетании с наличием на эпизоотической территории воинских контингентов по защите административных границ России, не исключает эпидемических осложнений, которые могут приобрести международное значение.

Дагестанский равнинно-предгорный очаг расположен в Терско-Сулакском междуречье и низовьях Терека. В качестве основных носителей выступают малые суслики и гребенщикове песчанки. Эпизоотии зарегистрированы в 1997 и 1999 гг. в окрестностях с. Бабаюрт, по трассе строящейся железной дороги Махачкала – Кизляр, что послужило фактором риска для строителей дороги и обслуживающего строительства персонала. На этой территории в 1999 г. проводилась антитеррористическая операция по освобождению 9 пунктов Буйнакского и Новолакского районов от бандформирований. В результате разрушено 7610 домовладений и отдельные здания медучреждений. Устроено 47 пунктов компактного проживания вынужденных переселенцев, где, с учетом размещен-

ных в частном секторе, проживало 14508 беженцев. Несмотря на низкую эпизоотическую активность очага, актуальной оставалась задача организации и проведения профилактических противочумных мероприятий.

Заключение

Гуманитарные кризисы формируют следующие риски эпидемических осложнений на энзоотических по чуме территориях Северного Кавказа: миграционная активность населения; неадекватные санитарно-гигиенические условия проживания в лагерях вынужденных переселенцев; тесный контакт с дикой природой. Снижение устойчивости населения к инфекциям индуцируют стрессовое состояние, свертывание программ иммунизации и разрушение коммунальных объектов. Природные ЧС в виде наводнений и паводков в условиях Северного Кавказа послужили факторами снижения эпизоотической активности природных очагов трансмиссивных инфекций вследствие негативного воздействия на численность носителей и переносчиков.

Литература

1. Асваров Б.М. и др. Эпизоотическая обстановка на очаговой по чуме территории Северо-Кавказского региона // Медицина катастроф. – 2001. – № 3 (35). – С. 32-34.
2. Онищенко Г.Г. Инфекционные болезни – важнейший фактор биоопасности // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2003. – № 3. – С. 4-6.

Ответственный автор

*Евченко Юрий Михайлович – старший научный сотрудник ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, канд. мед. наук.
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru*

УДК: 57.012:576.895.775Aphaniptera:599.324.8Octodontidae]:616.98(571.150)

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ МНОГОВИДОВЫХ СООБЩЕСТВ БЛОХ МОНГОЛЬСКОЙ ПИЩУХИ В ГОРНО-АЛТАЙСКОМ ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ ЧУМЫ

М.Б. Ярыгина¹, В.М. Корзун¹, Л.А. Фомина², А.В. Денисов²

*¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора, г. Иркутск,*

*² ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора,
г. Горно-Алтайск*

Изучена долговременная трансформация многовидовых сообществ блох монгольской пищухи – основного носителя возбудителя чумы в Горно-Алтайском природном очаге. Показано, что в трех мезоочагах происходят процессы постепенного изменения численности и соотношения отдельных видов. Сообщества блох монгольской пищухи в каждом мезоочаге характеризуются выраженной специфичностью по количественным характеристикам массовых видов.

Ключевые слова: Горно-Алтайский природный очаг чумы, блохи, монгольская пищуха.
STRUCTURE CHANGE OF MONGOLIAN PIKA FLEA MULTISPECIES COMMUNITIES IN THE MOUNTAIN-ALTAI NATURAL PLAGUE FOCUS

M.B. Yarygina¹, V.M. Korzun¹, L.A. Fomina², A.V. Denisov²

¹Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, Irkutsk

²Altai Antiplague Station of Rospotrebnadzor, Gorno-Altai

Long-term transformation of flea multispecies communities of the Mongolian pika, the basic carrier of the plague agent in Mountain-Altai natural focus, is studied. It is shown that in three mesofoci there are processes of gradual change of the flea number and correlation of separate species. Communities of the Mongolian pika fleas in each mesofocus are characterized by the expressed specificity by quantitative characteristics of mass species.

Key words: Mountain-Altai natural plague focus, a flea, the Mongolian pika

Возникновение чрезвычайных ситуаций по чуме представляет большую угрозу, что обусловлено существованием природных очагов этой инфекции – динамичных многоуровневых паразитарных систем, в которых активность эпизоотических проявлений существенно меняется как во времени, так и в пространстве. Горно-Алтайский природный очаг чумы в настоящее время характеризуется высокой эпизоотической активностью [4]. Это связано с влиянием комплекса факторов, один из которых – изменение структуры многовидовых сообществ блох монгольской пищухи – основного носителя инфекции. Очаг является поливекторным, трансмиссия возбудителя осуществляется блохами нескольких видов [2]. В нем выделены три участка очаговости: Уландрыкский, Тархатинский, Курайский, которые территориально и функционально связаны с популяциями зверька [1].

Цель работы – изучение пространственно-временной трансформации структуры многовидовых сообществ блох монгольской пищухи в Горно-Алтайском природном очаге чумы.

Материал и методы

Проанализированы данные по численности насекомых на монгольской пищухе в весенне-раннелетний (апрель, май, июнь) и осенний (сентябрь, октябрь) периоды с 1972 по 2013 годы, полученные при эпизоотологическом обследовании Горно-Алтайского природного очага чумы, проводимого Алтайской противочумной станцией и Иркутским научно-исследовательским противочумным институтом. Суммарное обилие рассматриваемых в работе десяти видов составляет около 99 % от всех блох, паразитирующих на монгольской пищухе. Для анализа изменения обилия эктопаразитов во времени весь период был разделен на четыре отрезка: первый – 1972-1981 гг., второй – 1982-1991 гг., третий – 1992-2001 гг., четвертый – 2002-2013 гг. Для количественной оценки населения блох использованы индексы обилия (ИО) – среднее число эктопаразитов, приходящееся на одного зверька, и индексы доминирования (ИД) – отношение количества блох определенного вида к общему их числу (в %).

Результаты и обсуждение

Полученные результаты по оценке численности и соотношению доли блох отдельных видов на монгольской пищухе в трех мезоочагах Горно-Алтайского природного очага чумы представлены в таблице 1. В начальный период исследования суммарное обилие этих эктопаразитов на разных участках очаговости существенно различалось, тогда как в последний – оно примерно одинаково. На Курайском участке очаговости не наблюдается направленных изменений численности блох всех видов за рассматриваемый интервал времени. На Уландрыкском и Тархатинском – обилие насекомых снизилось более чем в 1,5 раза весной, а осенью на первом участке оставалось примерно на одном уровне, тогда как на втором уменьшилось более чем в два раза.

A. runatus в 1972-1991 гг. был наиболее массовым видом в очаге. За анализируемый промежуток времени в трех мезоочагах наблюдается тенденция к снижению его численности. Причем, весной во всех из них и осенью в Тархатинском ИО уменьшился более, чем в два раза. В Уландрыкском и Курайском – в осенний период обилие эктопаразитов снизилось, более чем в полтора раза. В большинстве рассмотренных случаев ИД также постепенно понижается, кроме весеннего периода в Уландрыкском мезоочаге, где он остается примерно на одном уровне.

Обилие *C. hirticus* в Уландрыкской и Тархатинской популяции монгольской пищухи весной снизилось в 1,5 и 1,3 раза, однако ИД, наоборот, увеличился в 1,2 и 1,6 раза, соответственно. Осенью в этих популяциях ИД возросли почти в три раза. В Курайской – как в весенний, так и в осенний периоды отмечается выраженная тенденция росту оцениваемых показателей, при этом отметим,

что в первый период блох данного вида здесь не обнаруживали. В настоящее время *C. hirticus* стал доминирующим видом во всех трех мезоочагах.

Таблица 1.
Средние значения ИО и ИД (в скобках) блох на монгольской пищеухе в весенний и осенний периоды в трех мезоочагах Горно-Алтайского природного очага чумы в 1972–2013 гг.

Вид	Период ¹	Мезоочаг					
		Уландрыкский		Тархатинский		Курайский	
		весна	осень	весна	осень	весна	осень
<i>Amphalius runatus</i>	I	5,3 (41,6)	1,5 (30,1)	5,0 (44,3)	1,6 (13,5)	4,9 (60,3)	1,1 (12,0)
	II	4,5 (49,3)	1,8 (35,7)	4,9 (44,1)	1,4 (28,8)	1,7 (30,0)	1,0 (18,2)
	III	4,0 (56,7)	1,3 (25,6)	2,4 (36,9)	1,0 (11,6)	1,3 (27,5)	0,6 (6,4)
	IV	2,9 (42,3)	0,9 (14,8)	1,8 (27,6)	0,8 (13,0)	1,8 (19,9)	0,7 (4,3)
<i>Ctenophyllus hirticus</i>	I	5,8 (41,7)	1,2 (13,7)	4,7 (33,3)	3,0 (14,3)	ед. ²	ед.
	II	3,6 (33,6)	1,9 (17,7)	4,9 (41,0)	3,1 (19,9)	2,3 (37,6)	0,1 (0,8)
	III	3,0 (34,9)	2,2 (34,0)	3,5 (51,8)	4,7 (46,1)	3,3(49,1)	3,3 (30,6)
	IV	3,8 (49,2)	3,0 (38,6)	3,8 (53,7)	3,2 (41,3)	4,1 (43,8)	2,6 (24,7)
<i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i>	I	0	1,6 (28,5)	0	6,3 (32,5)	0	2,6 (33,4)
	II	0	1,1 (17,9)	0	1,3 (8,6)	0	1,7 (25,9)
	III	0	1,3 (19,8)	0	1,4 (14,1)	0	3,5(34,2)
	IV	0	1,6 (21,9)	0	1,8 (22,6)	0	2,9 (27,9)
<i>Paradoxopsyllus kalabukhovi</i>	I	0	0,02 (0,5)	0	0,6 (5,6)	0	2,2 (23,9)
	II	0	0,07 (0,9)	0	0,4 (4,7)	0	0,6 (15,0)
	III	0	ед.	0	0,6 (6,0)	0	0,8 (6,6)
	IV	0	0,1 (1,4)	0	0,3 (3,0)	0	0,4 (5,1)
<i>Paradoxopsyllus dashidorzhii</i>	I	0	0	0	2,5 (13,5)	0	0
	II	0	0,4 (0,03)	0	3,2 (16,1)	0	0,02 (0,4)
	III	0	ед.	0	1,8 (9,7)	0	ед.
	IV	0	0,01 (0,1)	0	0,1 (1,4)	0	0,4 (3,9)
<i>Paramonopsyllus scalonae</i>	I	0	0	0,4 (3,9)	0,03 (0,4)	1,4 (13,5)	0,2 (2,3)
	II	ед.	ед.	0,6 (5,4)	0,1 (3,0)	0,9 (16,1)	0,9 (21,4)
	III	0,05 (0,6)	ед.	0,4 (6,6)	0,2 (2,2)	1,4 (16,9)	0,9 (15,8)
	IV	0,02 (0,3)	0,06 (0,7)	0,7 (11,6)	0,7 (9,4)	2,3 (26,0)	1,1 (20,5)
<i>Amphipsylla primaris</i>	I	1,1 (9,6)	0,3 (4,3)	0,01 (0,3)	0	0,02 (0,2)	0,01 (0,1)
	II	1,4 (13,7)	0,2 (2,2)	0,02 (0,7)	0,01 (0,2)	0	0,01 (0,2)
	III	0,5 (6,0)	0,1 (1,8)	0,03 (0,5)	0,03 (0,3)	0,02 (0,1)	0,03 (0,2)
	IV	0,5 (5,9)	0,2 (2,1)	0,2 (2,6)	0,1 (1,0)	0,03 (0,4)	0,03 (0,5)
<i>Frontopsylla hetera</i>	I	0,4 (3,2)	0,1 (1,1)	1,3 (18,5)	1,3 (7,6)	2,0 (23,3)	0,8 (9,3)
	II	0,1 (0,8)	0,1 (1,0)	0,7 (6,8)	0,3 (5,9)	0,8 (16,1)	0,8 (14,1)
	III	0,1 (0,9)	0,1 (0,8)	0,2 (3,7)	0,3 (2,4)	0,1 (6,3)	0,3 (3,9)
	IV	0,1 (1,3)	0,1 (1,4)	0,2 (3,0)	0,2 (2,6)	0,3 (3,1)	0,3 (4,5)
<i>Rhadinopsylla dahurica</i>	I	0,1 (0,6)	1,2 (14,7)	0,01 (0,3)	2,5 (14,2)	0,01 (0,1)	1,5 (15,8)
	II	0,02 (0,2)	1,6 (19,5)	0,01 (0,2)	1,2 (10,4)	0	0,1 (2,8)
	III	0,03 (0,5)	1,2 (17,2)	ед.	0,7 (7,0)	ед.	0,3 (2,1)
	IV	0,03 (0,4)	1,4 (18,2)	0,01 (0,1)	0,3 (4,4)	0,01 (0,1)	0,3 (3,1)
<i>Rhadinopsylla li</i>	I	0,2 (1,6)	0,31 (6,5)	0,04 (0,4)	0,1 (1,0)	0,01 (0,1)	0,03 (0,3)
	II	0,1 (1,5)	0,33 (3,6)	0,02 (0,2)	0,02 (0,9)	0	ед.
	III	0,01 (0,2)	0,03 (0,4)	ед.	0,01 (0,1)	0	0
	IV	0	ед.	ед.	0,01 (0,2)	0	0
Все виды	I	13,1	6,2	11,7	17,6	8,5	8,6
	II	9,8	7,1	11,2	11,2	5,8	5,2
	III	7,7	6,1	6,6	10,7	6,1	9,7
	IV	7,6	7,4	7,2	7,5	8,4	8,4

Примечание: ¹ – интервалы временных периодов приведены в тексте; ² ед. – единичные особи.

Блохи рода *Paradoxopsyllus* представлены в очаге тремя видами: *P. scorodumovi*, *P. kalabukhovi*, *P. dashidorzhii*, их наибольшая сезонная численность наблюдается в сентябре-октябре. Первый вид является эффективным переносчиком, и с ним связывают осеннюю активизацию эпизоотического процесса в очаге [2]. Существенного долговременного изменения обилия *P. scorodumovi* на Уландрыкском и Курайском участках очаговости не отмечается, средние ИО составляют 1,4 и 2,7, соответственно, но наблюдается тенденция к снижению ИД в 1,3 раза в первом случае и в 1,2 раза во втором. На Тархатинском – ИО за весь период наблюдения значительно уменьшился (в 3,5 раза), ИД с первого по второй период резко снизился, а к четвертому увеличился. *P. dashidorzhii* в течение всего времени наблюдения в Уландрыкском мезоочаге обнаруживается редко, тогда как в Тархатинском – его абсолютное и относительное обилие значительно выше, но при этом отмечается выраженное их снижение. В Курайском мезоочаге, наоборот, ИО и ИД сильно возросли. У *P. kalabukhovi* в Тархатинском мезоочаге направленные изменения данных показателей не проявляются, в Курайском – обилие существенно стало ниже, в Уландрыкском – блоха встречается редко.

P. scalonae в Уландрыкском сообществе встречается в небольшом количестве, средний ИО не превышает 0,05, а ИД – 0,7 %. В Курайском – рассматриваемые показатели во много раз больше и отмечается тенденция к их увеличению весной (ИО изменился в 1,5 раза, а ИД – в 1,9 раза) и, особенно, осенью (ИО вырос в 5,5 раза, ИД – в 8,9 раза). За период мониторинга отмечен рост численности блохи и в Тархатинском сообществе: весной ИО повысился в 1,8 раза, ИД – в три раза, осенью – более чем на порядок. В двух последних мезоочагах в современный период данный вид стал субдоминирующим.

Количественные показатели *A. primaris* существенно выше на Уландрыкском участке очаговости, по сравнению с двумя другими. В тоже время здесь за анализируемый период наблюдается тенденция к их снижению, на Тархатинском, наоборот, – они увеличиваются. На Курайском – эта блоха очень редка, средний ИО не превышает 0,03.

Численность *F. hetera* во все временные отрезки выше в Тархатинском и Курайском мезоочагах, по сравнению с Уландрыкским. При этом ИО и ИД уменьшились во времени во всех мезоочагах, кроме осеннего периода в Уландрыкском, здесь они остаются примерно на одном низком уровне.

R. dahurica – это осенне-зимний вид. Выраженная тенденция к снижению показателей численности наблюдается в Тархатинском и Курайском мезоочагах, тогда как в Уландрыкском она не проявляется. В настоящий период обилие этой блохи существенно больше на последнем участке.

R. li в 1972-1991 гг. являлся обычным видом в очаге. Относительно высокая численность его наблюдалась в Уландрыкском сообществе блох монгольской пищухи. При этом во всех мезоочагах за период наблюдений отмечалось сильное снижение рассматриваемых показателей. Последняя регистрация *R. li* в очаге на основном носителе зафиксирована в 2003 г.

Заключение

Таким образом, структура многовидовых сообществ блох монгольской пищухи в трех мезоочагах Горно-Алтайского природного очага чумы не является статичной. В них происходят процессы постепенного изменения численности и долговременной трансформации соотношения отдельных видов. При этом каждое сообщество блох, обитающее в отдельной популяции монгольской пищухи, характеризуется выраженной специфичностью по количественным характеристикам массовых видов. Данное обстоятельство во многом определяет степень вовлеченности блох в эпизоотический процесс. Относительное количество штаммов возбудителя чумы, изолированных от блох отдельных видов на разных участках очаговости в Горном Алтае, существенно отличается, что было нами показано в опубликованном ранее сообщении [3]. Вполне вероятно, что структура многовидовых сообществ блох будет меняться и в дальнейшем. Это может привести к непредсказуемым пока изменениям эпизоотической активности очага.

Литература

1. Балахонов С.В., Вержуцкий Д.Б., Корзун В.М. и др. Современное состояние природных очагов чумы Сибири // Журн. инфекционной патологии. – 2009. – Т. 16, № 3. – С. 16–20.
2. Иннокентьева Т.И., Корзун В.М., Машковский И.К. и др. Эпизоотологическая роль блох в Горно-Алтайском природном очаге чумы (обзор) // Паразитология. – 2004. – Т. 38, вып 4. – С. 273–287.
3. Корзун В.М., Ярыгина М.Б., Фомина Л.А. и др. Вовлеченность в эпизоотический процесс отдельных видов блох в Горно-Алтайском природном очаге чумы: пространственные и временные особенности // Мед. паразитология и паразитарные болезни – 2014. – № 1. – С. 29–34.

4. Попков А.Ф., Балахонов С.В., Вержуцкий Д.Б. и др. Исследование структурно-функциональных аспектов эпизоотического процесса в сибирских природных очагах чумы // Пробл. особо опасн. инф. – 2013. – Вып. 4. – С. 28–32.

Ответственный автор

Ярыгина Марина Борисовна – аспирант ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78

УДК: 599.324.8Octodontidae:574.3]:616.98(571.150)

УВЕЛИЧЕНИЕ АРЕАЛА МОНГОЛЬСКОЙ ПИЩУХИ В ГОРНО-АЛТАЙСКОМ ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ ЧУМЫ

А.В. Денисов¹, Е.В. Чипанин², В.М. Корзун²,
Е.И. Филатов¹, Н.Ю. Курепина³

¹ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора,
г. Горно-Алтайск,

²ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора, г. Иркутск,

³ФГБУН Институт водных и экологических проблем СО РАН, г. Барнаул

В Юго-Восточном Алтае описан современный ареал монгольской пищухи – основного носителя возбудителя чумы в Горно-Алтайском природном очаге чумы. Показано, что область распространения этого животного с 1978 по 2013 годы увеличилась в полтора раза. Если на 1978 г. зарегистрированная площадь обитания зверька составляла около 1430 кв. км, то на 2013 г. она возросла до 2200 кв. км.

Ключевые слова: Горно-Алтайский природный очаг чумы, монгольская пищуха, ареал.

EXTENSION OF MONGOLIAN PIKA AREAL IN THE MOUNTAIN-ALTAI NATURAL PLAGUE FOCUS

A.V. Denisov¹, E.V. Chipanin², V.M. Korzun², E.I. Filatov¹, N.Yu. Kurepina³

¹*Altai Antiplague Station of Rospotrebnadzor, Gorno-Altai*

²*Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, Irkutsk*

³*Institute of Water and Environmental Problems of the Siberian Branch of the Russian Academy of Science, Barnaul*

The current areal of Mongolian pika (Ochotona pallasii), the basic carrier of the plague agent in Mountain-Altai natural plague focus, was described in Southeast Altai. It was shown that the area of this animal distribution increased up to 1,5 times from 1978 to 2013. So, in 1978 the registered area of the small animal habitation was about 1430 km² and it increased to 2200 km² in 2013.

Key words: Mountain-Altai natural plague focus, Mongolian pika (Ochotona pallasii), areal.

Риски чрезвычайных ситуаций, связанные с эпидемическими проявлениями чумы, обусловлены существованием природных очагов данной инфекции. При этом угроза эпидемических ослож-

нений значительно увеличивается при их активизации. Горно-Алтайский природный очаг чумы, расположенный в Юго-Восточной области Горного Алтая, в течение текущего столетия характеризуется постоянно высокой эпизоотической активностью [5, 7].

Основным носителем возбудителя чумы в очаге является монгольская пищуха (*Ochotona pallasi*) [2, 9]. Эпизоотические проявления регистрируют только в пределах ее ареала. Здесь выделены три популяции зверька: Уландрыкская, Тархатинская и Курайская [8]. Установлено, что одним из основных факторов, определивших рост эпизоотической активности очага в последнее время, является увеличение ареала этого животного [1, 7].

Последние опубликованные сведения по описанию области распространения монгольской пищухи относятся к 1977-1978 гг., при этом количественного определения площади, занимаемой поселениями зверька, не приводилось [4]. Все перечисленное выше обуславливает необходимость рассмотрения современного ареала монгольской пищухи и оценки его изменения за время мониторинга очага, что и является **целью** настоящей работы.

Материал и методы

Для определения площади, занимаемой монгольской пищухой на 1978 г., использованы архивные материалы Алтайской противочумной станции. В 70-х годах предыдущего столетия было проведено картирование границ поселений зверька по всему его ареалу в Юго-Восточном Алтае, и они нанесены на топографические карты масштаба 1:100000.

Для изучения области распространения монгольской пищухи в современный период, с 1997 по 2013 годы было выполнено 2536 км пеших и более 15 тыс. км автомобильных маршрутов. Проведен анализ доступных космических снимков в программах Google Earth и SASPlanet.

Все координаты поселений монгольской пищухи в Юго-Восточном Алтае как на 1978 г., так и на 2013 г., нанесены на электронную топографическую карту. Для визуализации ареала монгольской пищухи была использована ГИС-платформа ESRI ArcGIS 10.2.1. Проекционные преобразования градусной информации (JPS) координат границ ареала в проекцию Гаусса-Крюгера с системой координат Пулково 1995 г. (15 зона) позволили автоматизировано определить его площадь.

Результаты и обсуждение

Основными биотопами *O. pallasi* являются мелкодерновинная злаковая щебнистая и опустыненная каменистая степи. В годы высокой численности монгольская пищуха временно может заселять несвойственные ей биотопы.

По данным Б.В. Лазарева [6], в Юго-Восточном Алтае вертикальное распределение поселений монгольской пищухи находится от 1700 до 2500 метров над уровнем моря, а оптимальный диапазон обитания животных от 1950-2000 до 2300 метров. По нашим наблюдениям в этом регионе вертикальное распределение поселений монгольской пищухи лежит в пределах от 1750 (Северо-Западная часть Курайского хребта – это северо-западная граница ареала монгольской пищухи) до 2700 метров над уровнем моря (верховье р. Елангаш, пояс высокогорной тундры на южном сухом склоне отрогов Южно-Чуйского хребта). Обширные поселения зарегистрированы на высоте 2650 (урочище Ташта-Гобо), 2560 (верховье р. Чаган-Бургазы) и 2500 метров над уровнем моря (верховье р. Уландрык).

По данным на 2013 г. сплошные поселения монгольской пищухи с плотностью от 3 до 15 жилых нор на 1 га протянулись полосой шириной 20-30 км по подножьям северных склонов хребтов Сайлюгем и Южно-Чуйский, от перевала Дурбет-Даба на востоке до склонов Северо-Чуйского хребта, спускающихся к левому берегу р. Чаган-Узун и р. Талдура на западе. Западная граница распространения пищух включает в себя долину р. Талдура и ее левого притока р. Кускуннур, правый берег р. Кызылчин, мозаичные поселения зафиксированы по долине р. Чаган вплоть до слияния рек Караюк и Аккол. В юго-восточной части Кош-Агачского района поселения монгольской пищухи доходят до линии стыка горных степей с высокогорной тундровой растительностью в верховьях рек Уландрык, Чаган-Бургазы (по притоку последней – р. Кара-Су – поселения доходят до границы с Монголией), Большие Шибеты (вся долина, включая лог Аксай до его верхней части). Сплошные поселения пищух проникают вглубь Чуйской степи до 15 км, зафиксировано их распространение по поймам р. Тархата и р. Чаган-Бургазы, вплоть до их слияния. Они достигают с. Жана-Аул, непосредственно на окраине села отмечены жилые норы животного. Островные поселения монгольской пищухи обнаружены в 10 км на юго-восток от пос. Кош-Агач в районе оз. Узункуль и в 8 км на юго-запад, единичные колонии отмечены в непосредственной близости от районного центра. При обследовании поливных комплексов и территории возмуждения газопровода в КНР были выявлены множественные островные поселения монгольской пищухи непосредственно в Чуйской степи. На описанной выше территории расположены Уландрыкская и Тархатинская популяции.

Область распространения *O. pallasi* на некоторых участках в данном районе требует дополнительного изучения – это долина р. Тархата в среднем ее течении до правого притока р. Каланегир, южные склоны долин небольших притоков по правобережью р. Чаган-Бургазы, верховья рек

Кок-Озек, Ирбисту, Елангаш, Чаган-Узун, степная часть долин Ирбисту и Елангаша. Но уже по имеющимся данным видно существенное увеличение ареала монгольской пищухи, произошедшее за последние 35 лет, так площадь Уландрыкской популяции увеличилась с 320 до 530 кв. км, то есть возросла в 1,7 раза, а площадь Тархатинской популяции – с 980 до 1170 кв. км (в 1,2 раза).

По подножию Курайского хребта в настоящее время поселения пищух практически сплошной полосой тянутся от урочища Букабажи на востоке до р. Тыдтуярык (включая правобережье р. Чуя ниже высоты 2130 м над уровнем моря), спускаясь узкими лентами по сухим руслам временных водотоков, заросших караганой, вплоть до р. Чуя. Достаточно мощные языки таких поселений спускаются с Курайского хребта к с. Ортолык и районному центру. Поселения монгольской пищухи приблизились к пос. Кош-Агач и уже фиксируются в непосредственной близости от жилых строений на правобережье р. Чуя.

В настоящее время осенняя численность монгольской пищухи в центральной части Курайского хребта в среднем достигает 7,3 жилой норы на 1 га, в восточной части этот показатель равен 10,1. С 1978 г. площадь Курайской популяции увеличилась в 3,2 раза (с 120 до 390 кв. км).

Отдельно следует остановиться на поселениях, расположенных на склонах горного массива Талдуаир и в долине р. Бар-Бургазы. В 1978 г. здесь были зафиксированы, в основном, островные поселения общей площадью 10 кв. км, к настоящему времени площадь, занимаемая *O. pallasii*, составляет около 110 кв. км. Возможно, на этой территории идет формирование самостоятельной популяции монгольской пищухи.

В августе 2010 г. при обследовании потенциально опасной по чуме территории на плоскогорье Укок (участок Калгуты) обнаружены жилые поселения монгольской пищухи на площади около 2 кв. км, расположены они на высоте 2260 м над уровнем моря, ниже впадения р. Аргамджи в р. Калгуты по правому берегу последней [3]. Ранее считалось, что монгольская пищуха на этой территории отсутствует. Область распространения зверька на плоскогорье Укок требует дальнейшего изучения. Наиболее вероятным местом обитания этого вида могут быть сухие остепненные склоны южной экспозицией по правому берегу р. Калгуты от бывшей базы Калгутинского скотоимпорта вплоть до устья р. Акколь.

В целом за рассмотренный промежуток времени ареал монгольской пищухи в Юго-Восточном Алтае заметно изменился. Если площадь обитания зверька, зарегистрированная на 1978 г., составляла около 1430 кв. км, то в современный период она примерно равна 2200 кв. км, то есть увеличилась на 770 кв. км или в полтора раза.

Заключение

Представленные материалы показывают, что за последние 35 лет область распространения монгольской пищухи в Юго-Восточном Алтае значительно выросла. Следует акцентировать внимание на том важном факте, что в последние годы именно на вновь выявленных участках обитания зверька были обнаружены до этого не регистрируемые эпизоотические проявления [7]. Весьма вероятно, что ареал *O. pallasii* будет увеличиваться и в дальнейшем, что может привести к увеличению энзоотичной по чуме территории, а, следовательно, и к возрастанию эпидемического потенциала Горно-Алтайского природного очага чумы.

Литература

1. Балахонов С.В., Вержуцкий Д.Б., Корзун В.М. и др. Современное состояние природных очагов чумы Сибири // Журн. инфекционной патологии. – 2009. – Т. 16, № 3. – С. 16–20.
2. Бондаренко А.А., Иннокентьева Т.И. Монгольская пищуха – основной носитель чумы в Сайлюгемском природном очаге // Эпидемиол. и профилактик. ООИ в МНР и СССР. – Улан-Батор, 1978. – С. 108–110.
3. Денисов А.В., Мищенко А.И., Абибулаев Д.Э. и др. Ареал монгольской пищухи в Юго-Восточном Алтае, обнаружение вида на плато Укок // Охрана окружающей среды и обеспечение благополучия населения в Республике Алтай: Матер. науч.-практич. конф. – Горно-Алтайск, 2012. – С. 168–170.
4. Деревщиков А.Г., Ешелкин И.И., Лазарев Б.В., Пуртов С.М. Распространение и численность носителей чумы в Горно-Алтайском очаге // Проблемы природной очаговости чумы: Тез. докл. к 4 советско-монгольской конф. специалистов противочумных учреждений. – Иркутск, 1980. – Ч. 1. – С. 77–78.
5. Корзун В.М., Чипанин Е.В., Иннокентьева Т.И. и др. Динамика эпизоотической активности и численности населения монгольской пищухи в Горно-Алтайском природном очаге чумы // Пробл. особо опасн. инф. – 2010. – Вып. 4 (106). – С. 13–18.
6. Лазарев Б.В. Распространение и численность монгольской и даурской пищух на Алтае // Докл. Иркут. противочум. ин – та. – 1971. – Вып. 9. – С. 194–196.

7. Попков А.Ф., Балахонов С.В., Вержуцкий Д.Б. и др. Исследование структурно-функциональных аспектов эпизоотического процесса в сибирских природных очагах чумы // Пробл. особо опасн. инф. – 2013. – Вып. 4. – С. 28–32.

8. Попков А.Ф., Чипанин Е.В., Корзун В.М. Популяционно-фенетическая дифференциация монгольской пищухи (*Ochotona pallasii*) в Юго-Восточном Алтае // Байкальский зоол. журн. – 2012. – № 1 (9). – С. 107–114.

9. Чипанин Е.В., Денисов А.В., Попков А.Ф. и др. Эпизоотологическая роль монгольской пищухи в Горно-Алтайском природном очаге чумы // Териофауна России и сопредельных территорий: Матер. Междунар. совещ., IX Съезд Териологического общества при РАН. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2011. – С. 517.

Ответственный автор

Денисов Алексей Васильевич – заведующий зоологической лабораторией, ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора. Тел.: (38822) 64320. E-mail: chuma@mail.gornu.ru

УДК: 632.931.43:616.98(571.16)

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ДЕЗИНСЕКЦИИ В ДОЛИНЕ РЕКИ САГЛЫ (ТУВИНСКИЙ ПРИРОДНЫЙ ОЧАГ ЧУМЫ)

Д.Б. Вержуцкий¹, А.Я. Никитин¹, Н.И. Ковалева², Н.Ф. Галацевич²,
Н.А. Чумакова², С.В. Ткаченко², А.В. Чумаков²

¹ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора, г. Иркутск

²ФКУЗ «Тувинская противочумная станция» Роспотребнадзора, г. Кызыл

Дезинсекционные мероприятия, проведенные в долине р. Саглы (Тувинский природный очаг чумы) в 1981-1985 гг. по новизне подходов, уровню реализации и полученным результатам не имеют аналогов в мире. Прекращение активности автономного мезоочага чумы, наблюдаемое уже почти 30 лет, однозначно свидетельствует о прямой зависимости энзоотии чумы от состояния численности блох – основных переносчиков и хранителей инфекции в очаге. Продолжительный период низкой численности этих насекомых на всей территории популяции прокормителя приводит к полной элиминации возбудителя чумы, неспособного к существованию в любой другой среде обитания.

Ключевые слова: дезинсекция, блохи, природный очаг чумы, профилактика.

MAIN RESULTS OF PREVENTIVE DISINFESTATION MEASURES IN THE SAGIL VALLEY (TYVA NATURAL PLAGUE FOCUS)

D.B. Verzhutskii¹, A.Ya. Nikitin¹, N.I. Kovaleva², N.F. Galatsevich², N.A. Chumakova², S.V. Tkachenko², A.V. Chumakov²

¹Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, Irkutsk

²Tyva Antiplague Station of Rospotrebnadzor, Kyzyl

There are no analogues in the world to disinfestation activities carried out in the Sagil valley (Tyva natural plague focus) in 1981-1985 meaning novelty approaches, the level of implementation and

the obtained results. Activity extinction of the autonomous plague mezofocus has been observed almost 30 years. This is a clear indication of direct dependence of the plague enzootic process from flea number - the main infection vectors and keepers in the focus. Prolonged low number of these insects at the territory of the independent host population caused the complete elimination of the pathogen unable to exist in any other habitat.

Key words: *disinfestation, fleas, natural plague focus, prevention.*

Тувинский природный очаг чумы был открыт в 1964 г. Эпизоотические проявления впервые были обнаружены в верхней части долины р. Каргы. В дальнейшем возбудитель чумы выделяли на значительной части территории Каргинской депрессии. Эпизоотии в очаге с самого начала были связаны с длиннохвостым сусликом (как основным носителем) и присущими ему эктопаразитами, среди которых роль основного переносчика и основного хранителя инфекции принадлежит блохе *Citellophilus tesquorum* Wagn. [1, 2, 5, 6, 12]. При дальнейших исследованиях в Юго-Западной Туве были обнаружены новые территории с присутствием в их биоценозах чумного микроба (среди которых в 1966 г. был выявлен и эпизоотический участок, расположенный в долине р. Саглы), что увеличило общую площадь очага до 120 тыс. гектар [11].

Сразу после открытия энзоотии чумы в Юго-Западной Туве остро возникла проблема ограничения эпизоотической активности очага чумы с целью сохранения эпидблагополучия в республике [9]. К этому времени мировой опыт по подавлению эпизоотий чумы свидетельствовал, что единственной действенной мерой борьбы является любой из приемов, обеспечивающий устойчивый разрыв цепи циркуляции возбудителя в естественных условиях. Поскольку прямое воздействие на возбудителя чумы в природе осуществить трудно, то этого добиваются путем истребления носителей или переносчиков [14].

В Тувинском очаге чумы в порядке экстренной профилактики площадные дератизационные обработки начали проводиться с 1965 г., дезинсекционные – с 1966 г. Дератизационные мероприятия против длиннохвостого суслика проводились посредством применения отравленной приманки в основном с фосфидом цинка, в более поздний период при опытно-производственных обработках в качестве ядовитой основы использовались и различные антикоагулянты. В период 1965-1988 гг. суммарная площадь обработанной от основного носителя территории составила 102 547 га, с эффективностью 49,0-85,3 %. В некоторых опытах на локальных участках местности при использовании ядов-антикоагулянтов удавалось добиться 95-100 % результата, но, как правило, уже через 1-2 года после обработки численность зверьков на этих территориях полностью восстанавливалась. В целом по стране опыт противочумной службы свидетельствовал, что даже многократное истребление носителей на значительных территориях не приводило к их стойкому оздоровлению [10, 13]. С 1989 г. полевая дератизация в очаге прекращена.

При дезинсекции использовали различные ядохимикаты, но в подавляющем большинстве случаев применяли 10 % дуст ДДТ. Преобладающий способ подачи – ручное закладывание дуста во входы нор зверьков, реже применяли глубокое пропыливание нор с помощью различной аппаратуры. С конца 70-х годов прошлого века широкое распространение получил способ подачи яда с пропитанными им хлопчатобумажными материалами (импрегнация). Метод основан на особенностях поведения норových грызунов, охотно использующих для строительства и подновления своих гнезд любые подходящие материалы, обнаруженные ими на поверхности. Пропитанные ядохимикатом кусочки ткани, занесенные зверьком в гнездо, попадают непосредственно к блохам [16]. Блохи суслика более 90 % времени проводят в подстилке гнезд, там же находятся и насекомые в личиночной фазе развития, наиболее чувствительной к ядам. Точечное использование инсектицидов обеспечивает снижение примерно в 3 раза количества вносимого препарата на единицу площади и в 1,5 раза сокращает себестоимость работ. При этом, если эффективность дезинсекции методом пропыливания входов нор на следующий год после обработки составляла в среднем 94-96 %, то у импрегнации данный показатель достигал 98-100 %.

В период 1966-1980 гг. дезинсекцией по всей территории очага было охвачено 85 267 га, с эффективностью 91,2-100 %. Как правило, обработки велись по эпидпоказаниям на участках, где регистрировали присутствие инфекции.

По Монгун-Тайгинскому мезоочагу дезинсекционные мероприятия, проведенные с конца 60-х до конца 70-х годов прошлого столетия, обеспечили устойчивое длительное снижение численности переносчиков. На всех участках и при любом способе применения инсектицидов истребление блох сопровождалось немедленным прекращением эпизоотических проявлений. Сокращение численности эктопаразитов длилось по отдельным участкам до 8-10 лет, и на протяжении этих же сроков возбудитель чумы на обработанных территориях не обнаруживался. Лишь после 1990-1992 гг., когда численность всех групп эктопаразитов в долине р. Каргы превысила среднемноголетние показатели [9], произошло резкое увеличение эпизоотической

активности (1992-1994 гг.), что, по всей видимости, было, в первую очередь, предопределено именно полным восстановлением численности переносчиков на обработанной территории.

На территории Саглинского мезоочага в 1981-1985 гг. проведены широкомасштабные дезинсекционные работы с целью подавления эпизоотической активности [15]. Для выполнения этих работ Иркутским противочумным институтом и Главным управлением карантинных инфекций Минздрава СССР была разработана и принята специальная государственная программа «Оздоровление». В отличие от всех проводимых ранее в мировой практике мероприятий в природных очагах чумы, направленных на ограничение численности блох, в основу принятой программы были заложены новые подходы. Анализ многолетнего опыта дезинсекционных работ показал, что их эффективность прямо пропорциональна тщательности обработки и размерам одновременно обрабатываемых площадей.

Обработкам подверглась вся площадь поселений популяции длиннохвостого суслика в долине р. Саглы и прилегающей территории (суммарно около 40 тыс. гектар). В составе истребительной группы, проводившей дезинсекционные работы, была сформирована отдельная контрольная группа, осуществлявшая постоянное наблюдение за качеством полевых работ. В случае любых допущенных пропусков или иных нарушений регламента проводилась обязательная повторная переобработка всего участка. Второе нововведение касалось широкого использования импрегнации – из 40 тыс. га общей площади полевой дезинсекции 9,6 тыс. га, включающих в себя, в первую очередь, труднодоступные участки, обрабатывались импрегнированными ядохимикатами материалами.

До проведения дезмероприятий общий запас блох в среднем по долине р. Саглы оценивался в 150-250 особей (имаго) на 1 га. По завершении работ в 1986-1987 гг. этот показатель по территориям, обработанным дустом, составил 5,5 особи на 1 га, а по выделам, где использовали импрегнированные материалы – 3,5 особи на 1 га, то есть, находился на уровне 1,5-3 % от исходного [4].

В первые после дезинсекции годы в долине р. Саглы отмечалось крайне медленное восстановление численности блох, что, вероятно было связано именно с эффектом сплошной обработки территории всей Саглинской популяции длиннохвостого суслика. К 1994 г. (через 9-13 лет после проведения работ) численность блох по большинству урочищ не превышала 30-40 особей на 1 га, то есть составляла около 10-25 % от исходной. На отдельных поселениях зверька (площадью не более 20-25 га) наблюдалась повышенная численность блох – до 100-150 особей на 1 га (50-60 % от дообработочного уровня). К этому сроку практически сгладились различия в численности блох по поселениям, в зависимости от способа дезинсекции (дустирование или импрегнация) [15].

В последующие годы темпы восстановления численности блох резко замедлились. По результатам рекогносцировочных обследований долины р. Саглы в 1999-2001 гг. численность блох в подавляющем большинстве урочищ в пределах обработанной территории стабилизировалась на уровне 25-30 % от начальной. Наряду с общей низкой численностью блох отмечали незначительные по площади (до нескольких десятков гектар) поселения зверька с уровнями численности 60-70 % от дообработочной. Полного восстановления плотности населения блох через 15-20 лет после сплошных дезинсекционных работ не отмечено ни в одном из обследованных урочищ [4]. Среди других групп эктопаразитов (иксодовые и гамазовые клещи, вши) на большинстве участков полностью восстановили свою численность к этому времени только вши.

За последние 5-10 лет на различных участках территории Саглинской долины наблюдалась разная картина формирования паразитоценозов. Учитывая, что экосистемы Центральной Азии за последние десятилетия на фоне существенного потепления и некоторого снижения количества осадков претерпели существенные изменения, сравнивать современные показатели численности с дообработочными не вполне корректно, так как прошло уже почти 30 лет после окончания тех работ. Численность эктопаразитов в очаге за этот период возросла в несколько раз [7, 17]. Более правильным представляется проведение сравнения данных по долине р. Саглы с текущими фоновыми показателями численности членистоногих по всему очагу. В этом плане картина складывается достаточно интересная. В целом, по всей площади обработок, проведенных в соответствии с программой «Оздоровление», плотности населения всех групп эктопаразитов, кроме вшей, заметно уступали показателям с остальной территории очага. Что касается блох длиннохвостого суслика, то в среднем за 2009-2013 гг. индекс обилия этих насекомых в целом по очагу в шерсти зверьков равнялся 4,3 (в долине р. Саглы – 1,1), во входах нор суслика – 0,29 (0,22), в гнездах зверька – 42,8 (8,0). Существенно изменилась структура таксоценоза блох. Так, если по всей территории очага доля *C. tesquorum* в гнездах зверьков составляла в эти годы 69,4 %, то на «оздоровленной» территории этот показатель достигал только 3,8 %. Наряду с этими общими закономерностями, на отдельных локальных участках местности наблюдались высокие уровни плотности населения блох, в ряде случаев превышающие фоновые для очага значения. Данное явление объясняется сильно выраженной неравномерностью распределения блох длиннохвостого суслика в пространстве, вызванной особенностями территориального поведения зверька [3].

Циркуляция возбудителя чумы на участке последний раз регистрировалась в 1985 г. на границе обрабатываемых и контрольных территорий. Достаточно интенсивные обследования не пока-

зывают присутствие возбудителя на этой территории. В настоящее время возможность восстановления эпизоотической активности участка в случае заноса инфекционного начала при существующей численности переносчиков можно оценивать как крайне маловероятную.

Важнейшим результатом проведенных работ явилось прямое доказательство ведущей роли блох в энзоотии чумы. Локальные обработки от этих насекомых, проводимые в очаге ранее, во всех случаях приводили к немедленному прекращению эпизоотий. Эпизоотии возобновлялись через 8-10 лет, лишь после полного восстановления численности блох. При проведении сплошной обработки в долине р. Саглы полного восстановления численности блох не происходит уже почти 30 лет. Остаточное действие инсектицидов через такой период времени можно не брать во внимание. На протяжении всего этого срока отсутствует и эпизоотическая активность мезоочага. Таким образом, опираясь на эти факты, мы можем утверждать, что возможность переживания возбудителя чумы в природе в любых других объектах, помимо блох, можно исключить.

Литература

1. Базанова Л.П. Эпизоотологическое значение блохи *Citellophilus tesquorum altaicus* в Тувинском природном очаге чумы: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов, 1993. – 21 с.
2. Базанова Л.П., Маевский М.П. Длительность сохранения возбудителя чумы в организме блохи *Citellophilus tesquorum altaicus* // Мед. паразитология и паразитарные болезни. – 1996. – Вып. 1. – С. 45-48.
3. Вержуцкий Д.Б. Пространственная организация населения хозяина и его эктопаразитов. – Saarbrücken: Palmarium Acad. Publishing, 2012. – 360 с.
4. Вержуцкий Д.Б., Очиров Ю.Д., Никитин А.Я., Окунев Л.П., Чумаков А.В., Ковалева Н.И., Колосов В.М., Федоров С.В. О результатах дезинсекции Саглинского участка очаговости (Тувинский очаг чумы) // Актуальные проблемы дезинфектологии в профилактике инфекционных и паразитарных заболеваний: Матер. Всеросс. научн. конф. – М., 2002. – С. 184-185.
5. Вержуцкий Д.Б., Чумакова Н.А., Галацевич Н.Ф., Ковалева Н.И. К экологии блохи *Citellophilus tesquorum* Wagn., 1898 в Юго-Западной Туве // Байкальский зоологический журнал. – 2009. – Вып. 1. – С. 17-22.
6. Воронова Г.А. Взаимоотношения возбудителя чумы с блохами грызунов и зайцеобразных в Тувинском природном очаге: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Саратов, 1984. – 14 с.
7. Галацевич Н.Ф. Современное состояние численности переносчиков в Монгун-Тайгинском мезоочаге Тувинского природного очага чумы // Актуальные проблемы профилактики особо опасных и природно-очаговых инфекционных болезней: Тез. докл. научн. конф. – Иркутск, 1994. – С. 29.
8. Голубинский Е.П., Жовтый И.Ф., Лемешева Л.Б. О чуме в Сибири. – Иркутск: ИГУ, 1987. – 244 с.
9. Жовтый И.Ф., Некипелов Н.В. Чумные очаги Сибири и работы по их оздоровлению // Докл. Иркут. противочум. ин-та. – 1971. – Вып. 9. – С. 14-18.
10. Жовтый И.Ф., Некипелов Н.В. Борьба с проявлениями чумы в Сибири на границе с МНР // Докл. Иркут. противочум. ин-та. – 1974. – Вып. 10. – С. 235-237.
11. Колосов В.М., Евдокимов А.В., Очиров Ю.Д., Равдоникас И.О., Беломестных Л.В., Обухов П.А., Никифоров Ю.В. Тувинский природный очаг чумы и проблемы его оздоровления // Проблемы природной очаговости чумы: Тез. докл. научн. конф. – Иркутск, 1980. – Ч. 1. – С. 28-29.
12. Крюков И.Л. Дезинсекция нор грызунов и зайцеобразных как метод подавления эпизоотий в Тувинском природном очаге: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Иркутск, 1987. – 16 с.
13. Наумов Н.П., Лобачев В.С., Дмитриев П.П., Смирин В.М. Природный очаг чумы в Приаральских Каракумах. – М.: МГУ, 1972. – 406 с.
14. Очиров Ю.Д. Антропогенное воздействие на Сибирские горные очаги чумы в связи с эпизоотологическим надзором // Актуальные проблемы профилактики особо опасных и природно-очаговых инфекционных болезней: Тез. докл. научн. конф. – Иркутск, 1994. – С. 123-124.
15. Очиров Ю.Д., Немченко Л.С., Никитин А.Я. Неспецифическая профилактика в Сибирских природных очагах чумы // Chinese J. Control Endemic Dis. – 1999. – № 14. – P. 211-213.
16. Пауллер О.Ф. Испытание различных материалов импрегнированных ДДТ и хлорофосов для уничтожения блох в гнездах даурского суслика // Докл. Иркут. противочум. ин-та. – 1966. – Вып. 7. – С. 281-283.
17. Balakhonov S.V., Verzhutsky D.B., Innokentjeva T.I., Popkov A.F. Basic tendencies in activity of the natural plague foci of Siberia at the beginning of XXI century // Current Issues on Zoonotic Diseases. – 2011. – Is. 19. – P. 55-62.

Ответственный автор

Вержущий Дмитрий Борисович д.б.н. – главный научный сотрудник зоолого-паразитологического отдела ФКУЗ Иркутского научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора

Тел.: (395-2) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.9-036.22(517.3)“2014”

СОВРЕМЕННАЯ СИТУАЦИЯ В ПРИРОДНЫХ ОЧАГАХ ЧУМЫ МОНГОЛИИ

З. Адъяасурэн¹, Д. Цэрэнноров¹, Ж. Мягмар¹, Ц. Ганхуяг¹, Д. Отгонбаяр¹, Ц. Баяр¹, Д.Б. Вержущий², Д. Ганболд¹, С.В. Балахонов²

¹Национальный центр зоонозных инфекции, Уланбаатор, Монголия

²ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Иркутск

В работе приведен сравнительный анализ активности природных очагов чумы в Монголии и заболеваемости людей этой инфекцией за последнее десятилетие (2004-2013 гг.). Показано, что при общем снижении активности очагов чумы и сокращении уровня заболеваемости в стране степень выраженности этих тенденций географически неравномерна. Рассмотрены возможные причины таких изменений.

Ключевые слова: чума, природные очаги, заболевания людей, динамика.

CURRENT SITUATION IN THE NATURAL PLAGUE FOCI OF MONGOLIA

Z. Adjaasuren¹, D. Tserennorov¹, Z. Myagmar¹, T. Ganhuyag¹, D. Otgonbayar¹, T. Bayar¹, D.B. Verzhutsky², D. Ganbold¹, S.V. Balakhonov²

¹National Centre for Zoonotic Infections, Ulanbaatar, Mongolia

²Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, Irkutsk

The comparative analysis of the natural plague foci activities in Mongolia and human plague sickness rate for the last decade (2004-2013) is described. It is shown that intensity in the general decrease of the plague foci activity and its human morbidity reduction in the country is geographically uneven. The possible reasons of such changes are considered.

Key words: plague, natural foci, human sickness rate, dynamics.

Монголия является одной из немногих стран мира, в которых значительная часть территории энзоотична по чуме, природные очаги проявляют высокую активность, а случаи заболеваний людей этой опасной инфекцией регистрируются практически ежегодно.

В данном сообщении рассмотрены сведения о заболеваемости людей чумой и основные результаты эпизоотологического обследования в природных очагах чумы Монголии за последнее десятилетие (с 2004 по 2013 гг.). По сравнению с предыдущим аналогичным временным периодом количество культур, выделенных в природных очагах, снизилось в 4,9 раза; число выявленных очагов заболевания людей сократилось в 4,3 раза; количество случаев заболевания людей уменьшилось в 5,3 раза.

Причины таких изменений могут быть разными. Эпизоотическая активность очагов чумы могла сократиться вследствие каких-то природных явлений, на основе естественной циклики, присущей всем экосистемам планеты или тенденций, связанных с изменением условий существования определенных видов. Так, отмечено, что наблюдаемая аридизация ряда районов Центральной Азии вызвала снижение запасов корма у тарбагана в предпочитаемых биотопах, что привело к существенному уменьшению плотности населения этого зверька основного носителя чумы в стране [3]. Не исключено, что основным фактором послужило резкое сокращение объемов обследовательских работ в стране, особенно в последние годы. Изменение эпизоотической активности очагов чумы в Монголии происходит неравномерно. Отмечается постепенное угасание эпизоотической активности очагов, расположенных в приграничных с Российской Федерацией районах. В очагах, находящихся в центральной части страны, а также вдоль границы с Китайской Народной Республикой, сохраняется достаточно высокая активность эпизоотий.

За рассматриваемый срок летальность среди заболевших чумой снизилась на 14,2 %, вспышечная заболеваемость не отмечена. Случай заболевания человека чумой, зарегистрированный в 2007 г. в Шинэ Идэр сомоне (Хубсгул аймак), показывает на возможность заражения людей этой инфекцией на территориях, ранее благополучных по чуме, где регистрируются лишь разрозненные поселения тарбагана с низкой численностью.

Материалы и методы

Использованы отчетные данные полевых исследований Национального Центра Зоонозных Инфекций, материалы аймачных центров, истории болезней, статистические данные, результаты, полученные в ходе исследований, проведенных в рамках выполнения различных, в том числе и международных, проектов за период 2004-2013 гг. При подготовке текста и обработке данных применяли компьютерные программы Microsoft Word, Microsoft Excel, географическую информационную систему ArcView GIS .

Результаты и обсуждение

Обзор состояния природных очагов. За рассматриваемый период в Монголии проведено эпизоотологическое обследование на площади 19,7 млн гектар. Полевыми работами охвачено 96 сомонов, находящихся на территории 16 аймаков. Отловлено 47008 мелких млекопитающих, из них 34,4 % составляет длиннохвостый суслик, 18,7 % – тарбаган, 20,6 % – пищухи, 10,2 % – полевка Брандта, 7,2 % – песчанки, 8,4 % – другие животные. Также исследовано 825 трупов животных, 159473 эктопаразита и 38954 погадки. Всего изолировано 96 штаммов возбудителя чумы, получено 536 серопозитивных на чуму результатов. Эпизоотическая активность очагов чумы установлена на площади 425 тыс. гектар (рис. 1).

В конце прошлого века численность основного носителя чумы в большинстве очагов Монголии – тарбагана, была почти повсеместно высокой. Так, в 1990-е годы, численность этого зверька оценивалась в 23 млн голов, зверек был распространен на площади 25,2 млн гектар, на территории 229 сомонов, относящихся к 16 аймакам.

За последние 20 лет по различным причинам, прежде всего социально-экономического и климатического характера, произошло сужение ареала тарбаганов. В качестве примера можно привести следующие данные. Оскуднение растительного покрова в природных очагах Монгольского Алтая вызвало переселение тарбагана на хребет Угалз, в местности, находящиеся на высоте свыше 2300 м над у.м, снижение плотности населения зверька на 50-80 % и площади распространения его обитаемых поселений на 53 % [1, 3].

За последние годы штаммы возбудителя чумы в 53,1 % случаев выделены из отловленных тарбаганов и их трупов, в 21,9 % – от полевок, в 12,5 % – от эктопаразитов, в 8,3 % – от пищух, в 4,2 % – от длиннохвостого суслика. Больше половины выделенных штаммов (63,5 %) приходится на территории Гоби-Алтайского, Завханского и Убурхангайского аймаков, где расположены региональные очаги чумы Монгольского Алтая и Хангая.

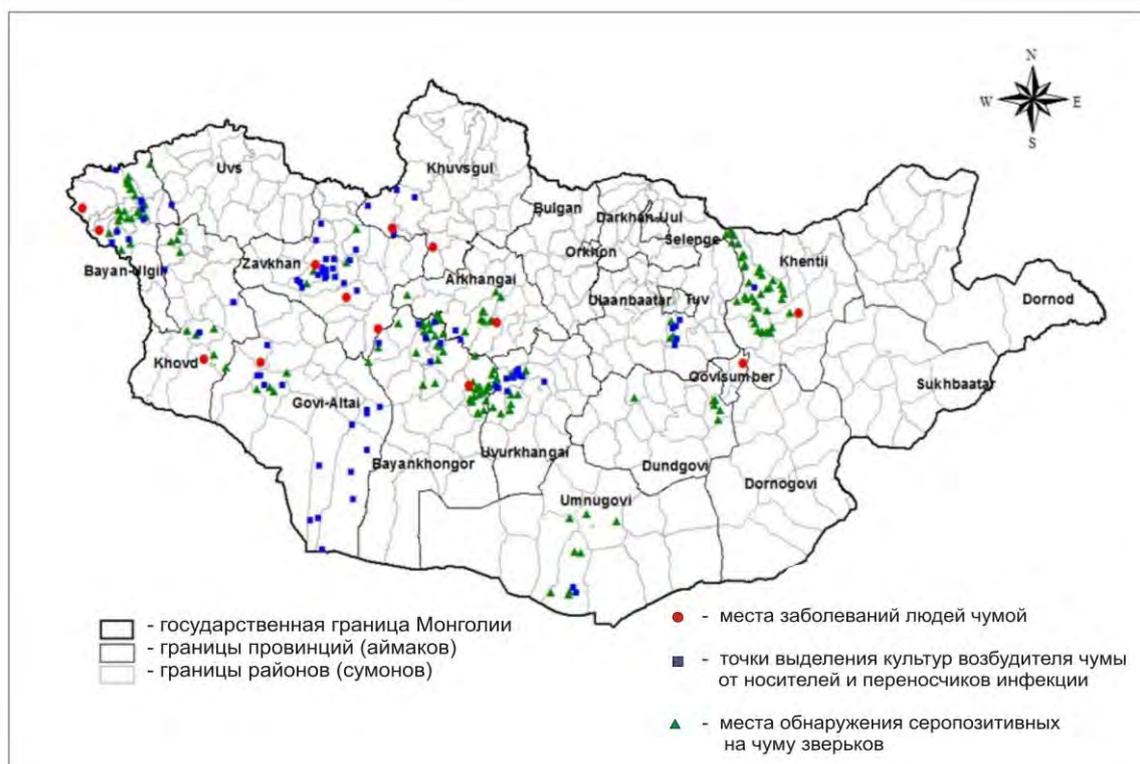


Рис.1. Места эпизоотических и эпидемических проявлений чумы в Монголии в 2004-2014 гг.

В последние 10 лет наметилась тенденция снижения основных показателей при проведении полевых эпизоотологических исследований. По имеющимся данным за рассматриваемое десятилетие среднегодовые показатели обследуемой площади снизились на 44,9 %, количество исследованных млекопитающих уменьшилось на 37,5 %, а эктопаразитов на 44,1 %.

Проводимые наблюдения по динамике распространения второстепенных носителей чумы показывают постепенное увеличение численности полевки Брандта и ее распространение на значительной части территории Монголии. Этот фактор может привести к возрастанию контакта полевых очагов чумы и возможному последующему их участию в эстафетной передаче инфекции на новые удаленные территории. Отмечаемый в последние 5 лет в ряде природных очагов чумы рост численности блох – основных переносчиков возбудителя чумы, может свидетельствовать о вероятном начале активизации эпизоотий в ближайшие годы.

При сравнении данных последнего десятилетия с предыдущим, количество выделенных культур чумы сократилось с 472 до 96. Данное явление также может быть связано с негативным влиянием климатических факторов, вследствие чего отмечены сдвиги сезона максимума выпадения осадков, ухудшение роста растительности, уменьшение почвенной влажности [3], что, как следствие, привело к снижению поголовья и сокращению ареала тарбагана.

Изменение активности эпизоотий в пределах Монголии неравномерно. В очагах чумы Монгольского Алтая в рассматриваемое десятилетие наблюдается рост численности носителей и переносчиков, в том числе видов блох с высокой векторной способностью. Это обусловило активизацию региональных очагов чумы, увеличение числа выделенных культур, расширение ареала возбудителя с вовлечением в эпизоотический процесс ряда видов мелких грызунов.

Иная ситуация регистрировалась в приграничных с Россией 27 сомонах, относящихся к 4 аймакам (от Байан-Ульгийского на западе до Хентейского на востоке), где за рассматриваемый период было проведено эпизоотологическое обследование на площади 13,3 млн гектар. При лабораторном исследовании 13885 проб выявлена низкая активность эпизоотического процесса во всех приграничных очагах чумы, с выделением единичных культур возбудителя и обнаружением небольшого числа серопозитивных находок.

При совместных с китайскими специалистами исследовательских работах, проведенных на приграничной территории КНР (окрестности городов Эрлан, Урумчи, Манчжурия) и Монголии в 2007-2008 гг., обследовано 198 тыс. гектар. Из собранных и исследованных 856 проб выделены культуры чумы, получены серопозитивные результаты на чуму и псевдотуберкулез [1, 2].

Заболееваемость людей чумой. За рассматриваемое десятилетие зарегистрировано 13 случаев заболевания людей в 13 сомонах 9 аймаков, которые относятся к четырем региональным

очагам. Из них семь случаев зарегистрировано в 7 сомонах 4 аймаков, принадлежащих к Хангайскому региональному очагу, четыре случая в 4 сомонах 3 аймаков, которые относятся к региональному очагу Монгольского Алтая и по одному случаю отмечено в Хэнтейском и Гобисумбэрском аймаках. Летальность составила 30,7 %, снизившись по сравнению с предыдущим десятилетием на 14,2 % .

Представляет определенный интерес и информация по некоторым особенностям эпидемиологии чумы в последнее десятилетие. Доминирование мужчин (76,9 %) среди заболевших совпадает с данными З.Адъяасурен [1], что подтверждает большую подверженность мужчин риску заболевания. В повышенной доле заражаются лица 15-29 лет, пик (69,2 %) заболеваемости отмечается в сентябре, совпадая с периодом наиболее активного промысла тарбагана. 61,5 % больных инфицированы контактным, остальные трансмиссивным путем. Инкубационный период составляет в среднем 2,4 дня. 84,6 % пациентов заболели бубонной формой, из них у 54,5 % произошло осложнение в виде вторичной легочной формы, в этих случаях у 52,0 % заболевание закончилось летальным исходом.

В предыдущий период (1994-2003 гг.) зарегистрировано 56 случаев заболеваемости чумой, отмечено семь больших вспышек, в которые были вовлечены по 2-5 человек. За последние 10 лет вспышки не регистрировали. Одной из возможных причин сокращения заболеваемости является запрет промысла тарбагана и усиление контроля за браконьерской добычей зверька.

Выводы

1. За прошедшее десятилетие отмечено сокращение эпизоотической активности чумы в большинстве природных очагов Монголии.
2. За эти же годы снизилось количество случаев заболевания людей, сократилась летальность среди заболевших, не отмечено вспышечных форм заболевания.
3. Зарегистрированы случаи заболевания людей на территориях, на которых раньше не отмечали очагов чумы, и где повсеместно численность тарбаганов была низка.
4. Установлено сокращение эпизоотической активности в очагах, расположенных в приграничных с Россией зонах, но в очагах, приграничных с КНР, активные эпизоотии продолжаются.

Литература

1. Adiyasuren Z, Tserenrorov D, Uyanga B, Purevdulam L. Situation of zoonotic diseases in bordered area of Mongolia // Emerging and re-emerging infectious diseases preparedness and response// international conference, Ulaanbaatar, 2013. – P. 11-16
2. Purevdulam L, Tserenrorov D, Battsetseg J, Uyanga B, Adiyasuren Z. Situation of plague natural foci at the border areas of Mongolia //Emerging and re-emerging infectious diseases preparedness and response // international conference, Ulaanbaatar, 2013. – P. 118-124
3. Sumiyabazar N, Munkhbat O, Delgermaa T, Batjav D. Some result of the study of relationship between spread of animals containing of plague and climate change at the Ugalz mountain //Quarterly Journal of Mongolian Academy of Medical Science. – 2013. – № 2(164). – P.11-18

Ответственный автор

*Вержуцкий Дмитрий Борисович – главный научный сотрудник зоолого-паразитологического отдела ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора
E-mail: verzh58@rambler.ru. Тел.: (3952) 22-13-12*

УДК: 616.9:595.421 [xodidae]-039.1(571.61)

ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ПРИРОДНООЧАГОВЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ, ПЕРЕДАЮЩИХСЯ ИКСОДОВЫМ КЛЕЩАМИ, НА ТЕРРИТОРИИ АМУРСКОЙ ОБЛАСТИ В ПОСЛЕПАВОДКОВЫЙ ПЕРИОД

О.П. Курганова¹, А.А. Перепелица¹, Т.Ю. Нехрюк²,
Е.Н.Бурдинская², К.В. Крахмалев²

¹Управление Роспотребнадзора по Амурской области, Благовещенск

²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Амурской области»,
Благовещенск

Проанализированы данные об эпизоотологических и эпидемиологических проявлениях природноочаговых инфекционных болезней, передающихся иксодовыми клещами, в предпаводковый и послепаводковый периоды на территории Амурской области

Ключевые слова: Амурская область, клещевой вирусный энцефалит, клещевой риккетсиоз северной Азии, иксодовый клещевой боррелиоз.

FEATURES OF MANIFESTATION OF NATURAL FOCAL INFECTIOUS DISEASES TRANSMITTED BY IXODES TICKS AFTER FLOOD IN THE AMUR REGION

O.P. Kurganova¹, A.A. Perepelitsa¹, T.Yu. Nekhryuk², E.N. Burdinskaya², K.V. Krakhmalev²

¹Administration of Rospotrebnadzor in the Amur region, Blagoveshchensk

²Center of Hygiene and Epidemiology in the Amur region, Blagoveshchensk

Data on epizootological and epidemiological manifestations of natural focal infectious diseases transmitted by Ixodes ticks before and after high water periods in the territory of the Amur region is analyzed.

Key words: the Amur region, tick-borne virus encephalitis, tick-borne rickettsiosis of northern Asia, Ixodes tick-borne borreliosis.

Цель работы – мониторинг циркуляции возбудителей инфекционных болезней, передающихся иксодовыми клещами, на территории Амурской области в предпаводковый и послепаводковый периоды.

Амурская область относится к одному из самых разнообразных фаунистических районов Дальнего Востока. Большая часть ее территории является эндемичной по ряду инфекционных болезней, передающихся через укусы иксодовых клещей (далее «клещевые» инфекции).

Существование природных очагов «клещевых» инфекций, постоянное расширение области антропогенного воздействия, наличие угрожаемого контингента определяет сохранение риска заражения людей в регионе.

В настоящее время на территории Амурской области официально регистрируются три «клещевые» инфекции – клещевой вирусный энцефалит (КВЭ), клещевой риккетсиоз северной Азии (КР), иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ).

Заболевания «клещевыми» инфекциями среди населения регистрируются ежегодно. Так, в период с 2004 по 2013 гг. заболеваемость КВЭ варьировала от 0,1 до 1,2, КР от 1,9 до 13,2 и ИКБ от 0,1 до 1,5 случаев на 100 тыс. населения. При этом динамика заболеваемости КВЭ и КР имеет тенденцию к росту, для ИКБ – незначительная тенденция к снижению.

Ежегодно в структуре заболеваемости «клещевыми» инфекциями, доминирует КР, на его долю приходится в среднем 80 % от всех зарегистрированных случаев. В течение десяти последних лет в формировании эпидемического процесса КР в области было вовлечено население 23 из 28 административных районов. Тогда как ИКБ и КВЭ регистрируются среди населения 12 и 10 административных районов, соответственно. Данный факт позволяет предположить расширение ареала возбудителя КР на территории практически всей области.

Около 50 % случаев заболеваний «клещевыми» инфекциями зарегистрировано среди городского населения, что свидетельствует о влиянии антропогенного фактора на формирование уровня заболеваемости.

В многолетней динамике прослеживается тенденция роста количества лиц, обращающихся в ЛПУ по поводу присасывания клещей. Так, с 2004 г. количество зарегистрированных присасыва-

ний ежегодно увеличивается в среднем на 10-20 %. В 2013 г. в лечебные учреждения обратилось 1960 человек, из них 67 % городские жители, что несколько больше, чем в предыдущие три года.

На территории Амурской области ежегодно в сборах обнаруживаются три вида иксодовых клещей – *Ixodes persulcatus*, *Dermacentor silvarum*, *Haemaphysalis concinna*. *Haemaphysalis japonica* – типичный дальневосточный вид, на территории области в единичном экземпляре был обнаружен в 2000 г. в Мазановском районе. Численность иксодовых клещей на различных участках неодинакова и имеет ландшафтную приуроченность. Доминирующим видом на территории области являлся *Dermacentor silvarum*, что связано с ландшафтными особенностями большей части Верхнего и Среднего Приамурья, где преобладают биотопы, включающие луго-полевые станции, наиболее благоприятные для обитания данного вида. Вторым по значимости видом является *Ixodes persulcatus*, для которого наиболее благоприятны лесные станции таёжной зоны области. Наименьшая численность характерна для *Haemaphysalis concinna*, представители которого встречаются повсеместно на территории области, места их обитания приурочены к околоводным станциям.

Начало массовой активности имаго иксодид в зависимости от погодных условий приходится на середину апреля с пиком обилия в конце весны – начале лета. Второй пик активности отмечается с третьей декады сентября по первую декаду октября. Сезон активности иксодовых клещей на территории области в разные годы составляет от 160 до 199 суток.

В 2013 г. первые клещи *D. silvarum* были отловлены 5 апреля на окраине с. В-Благовещенское. Последний клещ *D. silvarum* снят с человека в Бурейском районе 20 октября.

Из 28 административных территорий области 16 являются эндемичными по КВЭ.

С целью мониторинга циркуляции возбудителей «клещевых» инфекций в природных очагах области ежегодно на базе испытательного лабораторного центра ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Амурской области» Роспотребнадзора проводятся исследования клещей. Вирусофорность иксодовых клещей с 2003 по 2013 гг. варьировала от 0 до 3,3 %. В некоторых южных районах практически ежегодно в отловленных клещах обнаруживается антиген вируса КЭ. При детекции ДНК *Borrelia burgdorferi sensulato* и *Rickettsia spp.* за анализируемый период положительные находки составили от 0 до 9,4 % и от 0 до 7,94 %, соответственно. Также установлена циркуляция анаплазм, эрлихий и *Francisella tularensis*, что подтверждает наличие природных очагов инфекционных болезней, вызываемых этими возбудителями. Регистрируется микст-инфицирование переносчиков.

Весна 2014 г. в Амурской области – это период ликвидации последствий крупномасштабного наводнения 2013 г., повлекшего изменения биотических и абиотических факторов среды обитания переносчиков «клещевых» инфекций. В этой связи изучение природных очагов данных инфекционных болезней весьма актуально.

В 2014 г. первые клещи *D. silvarum* отловлены 25 марта в окрестностях с. Новотроицкое Благовещенского района (в предыдущие годы первые находки отмечались в первой-второй декадах апреля).

За период с 25 марта по 15 мая отловлено 426 особей клещей *D. silvarum*, численность которых на разных участках центральной зоны области варьировала от 6 до 91 особи на флажок/км, что в сравнении с аналогичным периодом прошлого года, а так же среднемноголетними данными, выше в трех-шесть раз.

О возросшем обилии активных особей свидетельствует увеличившееся количество лиц, обращающихся в ЛПО по поводу укусов клеща. Так, с 25 марта по 15 мая т.г. зарегистрировано 445 укусов, что в два раза превышает показатель аналогичного периода прошлого года. При лабораторном исследовании клещей в 1,3 % проб обнаружен ДНК *Borrelia burgdorferi sensulato*.

Заключение

В современных условиях на территории Амурской области функционируют активные природные очаги «клещевых» инфекций, с ежегодными положительными находками анаплазм и эрлихий – возбудителей КВЭ, ИКБ, КР. Регистрируются случаи микст-инфицирования переносчиков. В послепагодковый период зафиксировано резкое увеличение численности клещей, что требует дальнейшего наблюдения и детального изучения особенностей проявления природных очагов «клещевых» инфекций.

Ответственный автор

Курганова Ольга Петровна, руководитель Управления Роспотребнадзора по Амурской области
Амурская область, г. Благовещенск, ул. Первомайская, д. 30
8(3952) 22-13-12 E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.98:579.881-036.22(470+571+574)

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ РИККЕТСИЙ И РИККЕТСИОЗОВ ГРУППЫ КЛЕЩЕВОЙ ПЯТНИСТОЙ ЛИХОРАДКИ В РОССИИ И КАЗАХСТАНЕ

Н.В. Рудаков¹, С.Н. Шпынов¹, Р.А. Егембердыева²,
И.Е. Самойленко¹, Л.В. Кумпан¹

¹Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, Омск

²Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, Алматы, Казахстан

Впервые получены научные данные, свидетельствующие о широком распространении в России и Казахстане новых видов патогенных для человека риккетсий, экологически связанных с иксодовыми клещами. В целом выявлено распространение более 15 генотипов клещевых альфа1- протеобактерий. Требуется изучения пейзаж риккетсий в регионах Казахстана и Крымском федеральном округе.

Ключевые слова: риккетсии, риккетсиозы, иксодовые клещи, эпидемиология, Россия, Казахстан

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF RICKETTSIA AND RICKETTSIOSES OF TICK-BORNE SPOTTED FEVER GROUP IN RUSSIA AND KAZAKHSTAN

N.V. Rudakov¹, S.N. Shpynov¹, R.A. Egemberdyeva², I.E. Samoylenko¹, L.V. Kumpan¹

¹Omsk Research Institute of Natural Focal Infections of "Rosпотребнадзор, Russia

²Kazakhstan National Medical University by S.D. Asfendiyarov, Almaty, Kazakhstan

New scientific data indicating the wide spread of new Rickettsia species pathogenic for humans and environmentally connected with Ixodes ticks are obtained in Russia and Kazakhstan. Total spreading over 15 genotypes of tick-borne alpha1-proteobacteria is found. Rickettsiae scenery is necessary to study in the regions of Kazakhstan and the Crimean Federal District.

Key words: rickettsiae, rickettsioses, Ixodes ticks, epidemiology, Russia, Kazakhstan.

Цель работы – характеристика распространения риккетсий и риккетсиозов, передаваемых иксодовыми клещами, в России и Казахстане, с использованием комплекса эпидемиологических, микробиологических и молекулярно-биологических методов.

Из трех подвидов *R. sibirica* в России доказано наличие *R. sibirica subsp. sibirica* и *R. sibirica subsp. BJ-90*. Верифицированные случаи клещевого риккетсиоза (КР) или сибирского клещевого тифа (СКТ) связаны с *R. sibirica subsp. sibirica*. Начиная с 1936 г. в РФ зарегистрировано более 70 тыс. случаев СКТ. Переносчики – клещи родов *Dermacentor* и *Haemaphysalis*, очаги распространены в азиатской части России, Казахстане, Монголии, Китае [1]. В нозоареале КР на Дальнем Востоке РФ и в Китае в клещах *D. silvarum* выявляют генотип *R. sibirica BJ-90*, патогенность которого для человека показана в последние годы [1, 6].

Нозоареал СКТ в России охватывает 17 субъектов юга Сибири и Дальнего Востока. Заболевания регистрируют преимущественно в Алтайском и Красноярском краях, Республике Алтай (более 80 % по РФ). Основная часть заболеваний СКТ в 2013 г. регистрировалась в Сибирском федеральном округе (ФО) и составила 82,8 %, в том числе 35,2 % в Алтайском крае; на Дальневосточный ФО приходилось 17,1 %. В Казахстане более 90 % заболеваний приходится на Кызыл-Ординскую и Северо-Казахстанскую (по 33,0 %), Павлодарскую (17,7 %) и Восточно-Казахстанскую (9,3 %) области.

В прошлом преобладал моноказуальный подход – один возбудитель (*Rickettsia sibirica*) – одна нозологическая форма – СКТ. Сейчас в России выявлено еще шесть генотипов патогенных для человека риккетсий, экологически связанных с иксодовыми клещами – *R. conorii subsp. caspiensis*, *R. heilongjiangensis*, *R. helvetica*, *R. aeschlimannii*, *R. slovacica*, *R. raoultii* [4]. В соответствии с нашими предложениями и приказом Росстата от 20.12.2012 г. № 645 внесены изменения в формы № 1 и № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», с 2013 г. введена регистрация дополнительно астраханской пятнистой лихорадки (АПЛ), гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ) и моноцитарного эрлихиоза человека (МЭЧ).

Вторым (после КР) официально регистрируемым риккетсиозом группы КПЛ в России оказалась Астраханская пятнистая лихорадка (АПЛ), целенаправленное изучение которой было

начато сотрудниками Всесоюзного центра по риккетсиозам совместно с астраханскими коллегами в 1989-1990 гг. [5]. Возбудитель АПЛ – *R. conori subsp. caspiensis*. Кроме Астраханской области, агент генотипирован в клещах *Rh. pumilio* на смежных территориях России (Калмыкия, Волгоградская область) и Казахстана.

R. heilongjiangensis выявлена в “пятнах” *H. concinna* на Дальнем Востоке (Приморский край, *H. concinna*), в Алтайском (*H. concinna*) и Красноярском (*H. concinna*, *D. nuttalli*) краях, выделены штаммы. Случаи “КР”, вызванные *R. heilongjiangensis* и клинически схожие с СКТ, выявлены ретроспективно в Хабаровском крае [2, 4].

R. helvetica широко распространена в странах Европы в клещах *Ixodes ricinus*. С этим видом риккетсий связывают лихорадочные заболевания, сопровождающиеся поражением кровеносных сосудов и развитием перикардитов. Риккетсии, генетически близкие *R. helvetica*, выявлены нами в Омской области в клещах *I. persulcatus* [4], Нефедовой с соавт. [3] у пациентов в Пермском крае с лихорадочным заболеванием после присасывания клещей. *R. helvetica* и близкие к ней виды риккетсий – *R. asiatica sp. nov.* и *R. tamurae sp. nov.* выявлены в клещах родов *Ixodes* и *Amblyomma* в Японии. Полученные данные свидетельствуют о вероятности широкого распространения *R. helvetica*-подобных риккетсий в ареале клещей *Ixodes persulcatus*-комплекса в России [4].

Патогенная *R. aeschlimannii* генотипирована в клещах *H. punctata* из Алма-Атинской области Казахстана, где в предыдущие десятилетия зарегистрированы случаи “КР”. В дальнейшем эта риккетсия была выявлена в Ставропольском крае в *H. marginatum marginatum* [4, 7].

На ряде территорий Европы установлено распространение *R. slovacae*. В 2001 г. *R. slovacae* генотипирована нами в иксодовых клещах рода *Dermacentor* на двух административных территориях Европейской части России – в Воронежской области и Ставропольском крае. Идентифицирован штамм *R. slovacae*, выделенный в Мокроусовском районе Курганской области (Зауралье) в 1969 г. д.м.н. М.С. Шайманом из клещей *D. marginatus*. Он является единственным штаммом *R. slovacae*, выделенным в России, изолирован практически одновременно с первыми штаммами из бывшей Чехословакии. *R. slovacae* рассматривается как агент лимфоаденопатии от присасывания клеща – синдрома TIBOLA: от «tick-borne lymphadenopathy». Случаи синдрома TIBOLA в России до сих пор не регистрируют, хотя есть основания предполагать распространение *R. slovacae* в ареале клещей *D. marginatus* в Европейской части РФ и в Сибири.

Три тесно генетически связанные генотипа риккетсий (*R. sp. RpA4*, *R. sp. DnS14*, *R. sp. DnS28*), впервые описанные в Астраханской области (*R. sp. RpA4*) и в республике Алтай (*R. sp. DnS14*, *R. sp. DnS28*) Rydkina E. et al. (1999) с нашим участием, были выявлены нами в клещах рода *Dermacentor* в очагах КР и на свободных от этой инфекции территориях России и Казахстана [4]. Их патогенность для человека окончательно не установлена, однако в последние годы выяснено не только широкое распространение этих риккетсий в Евразии, но и их вероятная роль в возникновении синдрома TIBOLA. Девять штаммов этих генотипов, описанных как новый вид риккетсий группы КПЛ *Rickettsia raoultii sp. nov.*, депонировано нами во Всероссийском музее риккетсиальных культур.

Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что наряду с традиционно известным видом риккетсий группы КПЛ – *Rickettsia sibirica* – возбудителем СКТ, в России и Казахстане с иксодовыми клещами связаны новые для науки и указанных регионов виды риккетсий группы КПЛ: *R. raoultii*, *R. slovacae*, *R. heilongjiangensis*, *R. helvetica*, *R. aeschlimannii*. Анализ распространения риккетсий группы КПЛ показал их тесные экологические связи с определенными видами переносчиков. Выделены с помощью культур клеток Vero и клещевых моделей, идентифицированы и депонированы в музее риккетсиальных культур уникальные штаммы *Rickettsiales* новых генотипов.

Требуют дополнительного изучения пейзаж патогенных риккетсий в различных регионах Казахстана. В связи с воссоединением Крыма с Россией актуальным является изучение риккетсиозов группы КПЛ, в первую очередь средиземноморской лихорадки, на территории Крымского федерального округа.

Полученные результаты являются обоснованием организации дифференциальной лабораторной диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами в условиях сочетанности природных очагов, для оптимизации этиотропной терапии.

Литература

1. Абрамова Н.В., Рудаков Н.В., Пенъевская Н.А., Седых Н.Н., Кумпан Л.В., Самойленко И.Е. и др. Аprobация иммуноферментного анализа для серологической диагностики инфекций, вызываемых риккетсиями группы клещевой пятнистой лихорадки // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2010. – № 1 (50). – С. 17-22.
2. Mediannikov O., Sidelnikov Y., Ivanov E. etc. Acute tick-borne rickettsiosis caused by *Rickettsia heilongjiangensis* in Russian Far East // Emerg Infect Dis. – 2004. – Vol. 10, N 5. – P. 810-817.

3. Нефедова В.В., Коренберг Э.И., Ковалевский Ю.В. и др. Микроорганизмы порядка *Rickettsiales* у таежного клеща (*Ixodes persulcatus sch.*) в Предуралье // Вестник РАМН. – 2008. – № 7. – С. 47-50.
4. Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Самойленко И.Е., Ястребов В.К., Оберт А.С., Курепина Н.Ю. Риккетсии и риккетсиозы группы клещевой пятнистой лихорадки в Сибири. – Омск: Издательский центр «Омский научный вестник», 2012. – 288 с.
5. Тарасевич И.В. Астраханская пятнистая лихорадка. – М.: Медицина, 2002. – 176 с.
6. Jia N., Jiang J.-F., Huo Q.-B. et al. *Rickettsia sibirica subspecies BJ-90* as a cause of human disease // N. Engl. J. Med. – 2014. – Vol. 369, N 12. – P. 1176-1178.
7. Shpynov S., Raoult D., Fournier P.-E., Rudakov N., Matushchenko A., Tohkov Y., Tarasevich I. Detection of *Rickettsia aeschlimannii* in *Hyalomma marginatum* ticks in western Russia // Clinical Microbiology & Infection. – 2009. – Vol. 15, № SUPPL. 2. – P. 315-316.

Ответственный автор

Рудаков Николай Викторович – директор ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора док. мед. наук профессор
Тел.: (395-2) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.9-036.22(470)

ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ НА ЮГЕ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

О.В. Малецкая, Н.Ф. Василенко, Т.В. Таран, Т.В. Харченко

ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь

Представлен анализ эпизоотолого-эпидемиологической обстановки по природно-очаговым инфекциям в субъектах Южного и Северо-Кавказского федеральных округов Российской Федерации в 2013 г.

Ключевые слова: *природно-очаговые инфекции, эпидемиологическая обстановка, эпизоотологический мониторинг.*

EVALUATION OF ACTIVITY OF NATURAL FOCI OF THE INFECTIOUS DISEASES IN SOUTH OF THE EUROPEAN PART OF RUSSIA

O.V. Maletskaia, N.F. Vasilenko, T.V. Taran, T.V. Kharchenko

Stavropol Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Stavropol

Analysis of epizootological-epidemiological situation concerning natural focal infections in Southern and North Caucasian Federal districts of the Russian Federation in 2013 is presented.

Key words: *natural focal infection, epidemiological situation, epizootological monitoring.*

Территория юга европейской части Российской Федерации неоднократно являлась ареной чрезвычайных ситуаций природного, конфликтного и техногенного генеза, сопровождающихся возникновением биолого-социальных последствий (эпидемического и экологического характера). В связи с этим на повестку дня остро вставали вопросы обеспечения эпидемиологической безопасности

населения с учетом специфики территории и сложной фоновой обстановки по природно-очаговым инфекциям (ПОИ) и в т.ч. мероприятия в отношении которых регламентируются ММСП (2005 г.).

Климатогеографические особенности территории Южного и Северо-Кавказского федеральных округов (ЮФО и СКФО) способствуют стойкому существованию природных очагов инфекционных болезней. Эпидемические проявления некоторых из них в России ежегодно регистрируются преимущественно в данном регионе. Так, в 2013 г. заболеваемость Крымской геморрагической лихорадкой (КГЛ) регистрировалась исключительно на территории СКФО и ЮФО, Астраханской риккетсиозной лихорадкой (АРЛ) – только на территории ЮФО, 94,7 % заболеваний лихорадкой Ку зарегистрировано в ЮФО и СКФО, 70,3 % заболеваний лихорадкой Западного Нила (ЛЗН) – в ЮФО. Всего в 2013 г. в субъектах ЮФО и СКФО был зарегистрирован 1021 случай заболеваний ПОИ. В структуре заболеваемости ими на Юге России в 2013 г. преобладали АРЛ (38,9 %), лихорадка Ку (15,9 %), ЛЗН (12,6 %) и болезнь Лайма (10,6 %). Следует отметить особую эпидемическую значимость инфекционных болезней, основным переносчиком и резервуаром возбудителей которых являются клещи. Так, в 2013 г. 73 % заболеваний ПОИ (745 случаев) пришлось на «клещевые» инфекции.

В 2013 г. доля АРЛ составила 38,9 % всех ПОИ на Юге России, хотя заболеваемость ею зарегистрирована только в 2 субъектах ЮФО – в Республике Калмыкия (РК) и Астраханской области (АО). Всего зарегистрированы 397 случаев заболевания АРЛ, 386 из которых – в АО, 11 случаев выявлены в РК. Следует отметить, что заболеваемость АРЛ в АО превысила уровень заболеваемости 2012 г. на 35 % (293 случая в 2012 г.), при этом заболевания преимущественно регистрировались в г. Астрахани (147).

Эпидемические проявления лихорадки Ку, как и в предыдущие годы, в 2013 г. преимущественно (в 98,7 %) наблюдались в АО (160 случаев). Уровень заболеваемости был на 10,1 % ниже, чем в 2012 г. (178 случаев). Кроме того, в 2013 г. по 1 случаю заболевания лихорадкой Ку выявлены в Волгоградской области (ВО) и в г. Кисловодске Ставропольского края (СК). Эпизоотическая активность природного очага лихорадки Ку зарегистрирована на территории ВО, АО, Ростовской области (РО) и СК. Наиболее широкое распространение лихорадки Ку отмечено в СК, где природный очаг инфекции занимает территорию 11 административных районов.

Иксодовым клещевым боррелиозом (ИКБ), или болезнью Лайма, в 2013 г. в ЮФО и СКФО заболели 108 человек в 4 субъектах РФ (Краснодарский край (КК), ВО, РО и СК). ИКБ на Юге России является одной из наиболее значимых «клещевых» инфекционных болезней. Заболеваемость ею в 2013 г. в целом возросла на 18,7 % по сравнению с предыдущим годом, а в КК – на 25,4 %. Следует отметить, что в СК эпидемические проявления ИКБ отмечены исключительно в городах-курортах Кавказских Минеральных Вод – Пятигорске (1), Ессентуках (3) и Кисловодске (24). При проведении эпизоотологического мониторинга наличие природного очага ИКБ выявлено на территории РО, ВО, СК, КК, Республик Дагестан (РД) и Адыгея (РА).

Актуальной по эпидемическим проявлениям на Юге России продолжает оставаться КГЛ. В 2013 г. в 5 субъектах ЮФО и СКФО зарегистрировано 79 случаев заболевания этой инфекцией (из них 4 летальных), что на 6,8 % больше, чем в 2012 г. (74 больных, 1 летальный). Эпизоотическая активность природного очага КГЛ в 2013 г. подтверждена на территории 10 субъектов Юга России (298 положительных проб на наличие РНК или антигена вируса КГЛ).

Заболеваемость клещевым вирусным энцефалитом (КВЭ) в субъектах ЮФО и СКФО не регистрируется, хотя данные эпизоотологического мониторинга свидетельствуют о циркуляции вируса клещевого энцефалита на территории РО, ВО, СК, РД и РА.

По количеству зарегистрированных в субъектах Юга России в 2013 г. случаев заболевания вирусными ПОИ ЛЗН принадлежит лидирующая позиция – 55,6 %. Заболевания регистрировались в АО, ВО и РО. Всего было выявлено 129 больных ЛЗН. Маркеры возбудителя ЛЗН обнаружены на территории 4 субъектов ЮФО – ВО, АО, РО и РК и 2 субъектов СКФО – СК и РД.

Заболевания геморрагической лихорадкой с почечным синдромом (ГЛПС) были выявлены только в КК и ВО (по 12 случаев), где они регистрируются ежегодно. Маркеры возбудителя ГЛПС выявлены на территории КК (13 административных районов), ВО (12), РО (2), СК (2) и РА (1).

В мае 2013 г. выявлен 1 случай заболевания бешенством в Урюпинском районе Волгоградской области.

Наиболее широко распространенной по территории ЮФО и СКФО ПОИ в 2013 г. были лептоспирозы. Случаи заболевания этой инфекцией отмечались на территории 4 субъектов ЮФО (ВО, РО, КК, РА) и 4 субъектов СКФО (СК, Республика Северная Осетия-Алания (РСО-А), Карачаево-Черкесская республика (КЧР) и Кабардино-Балкарская республика (КБР)). Всего выявлено 53 больных лептоспирозами, что на 29,3 % больше, чем в 2012 г. (41). Как и в предыдущие годы, наиболее неблагоприятной по лептоспирозу была территория КК, где были выявлены 62 % всех случаев заболевания в ЮФО и СКФО. При эпизоотологическом мониторинге подтверждена активность природных очагов лептоспирозов в СК, КК, АО, ВО, РО, РА, РК и КБР.

В 2013 г. на Юге России зарегистрировано 4 случая заболевания туляремией: по 1 больному в г. Ставрополе и в Бабаюртовском районе РД, а также 2 больных в г. Краснодаре. Природные очаги туляремии занимают около 80 % территории Юга России. Они характеризуются стойкостью и циклическим проявлением эпизоотической активности. Эпизоотологические проявления туляремии в 2013 г. установлены на территории СК, КК, АО, ВО, РО, РА и РСО-А.

Больных кишечным иерсиниозом выявляли только в КК и СК. Причем в СК выявлено 56 случаев заболевания (93,3 %), в КК – 4 случая. Эпизоотологический мониторинг кишечного иерсиниоза проводится только в РА. Антитела к возбудителю инфекции выявлены у мышевидных грызунов на территории 4 административных районов республики.

Заболеемость псевдотуберкулезом в ЮФО и СКФО также регистрируется только в КК и СК. В 2013 г. в КК выявлен 1 больной в г. Сочи. В СК заболели 4 человека. Эпизоотологический мониторинг псевдотуберкулеза также проводится только в РА. Выявлены маркеры возбудителя псевдотуберкулеза на территории 5 административных районов.

Кроме того, в РА выявлены природные очаги листериоза, в РО вновь подтверждена циркуляция возбудителей арбовирусных инфекций: лихорадок Инко, Батаи, Тягиня, Синдбис.

На территории ЮФО и СКФО расположены 8 природных очагов чумы: Центрально-Кавказский высокогорный, Терско-Сунженский низкогорный, Дагестанский равнинно-предгорный, Прикаспийский Северо-Западный степной, Восточно-Кавказский высокогорный, Прикаспийский песчаный, Волго-Уральский степной, Волго-Уральский песчаный.

В 2013 г., так же как и в 2012 г., на территории Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы в Карачаевском районе КЧР регистрировались горные суслики с антителами к чумному микробу в титре, превышающем диагностический в 4 и более раз. Кроме того, в Карачаевском районе КЧР и Зольском районе КБР выявляли сусликов с антителами в низких титрах. В Восточно-Кавказском высокогорном природном очаге чумы выделено 2 штамма возбудителя чумы. С ноября 2013 г. наблюдается повышение активности Прикаспийского песчаного природного очага чумы с продолжающимся расширением эпизоотически активной территории в настоящее время и вовлечением в процесс блох *Nosopsyllus mokrzecky*, которые основным хозяином (домовая мышь) могут быть занесены в жилище человека. Выделение штаммов чумного микроба от данного вида блох представляет наибольшую эпидемиологическую опасность.

Итак, в 2013 г. на территории ЮФО и СКФО регистрировалась инфекционная заболеваемость ПОИ по 11 нозологическим формам: АРЛ, лихорадка Ку, ИКБ, лептоспирозы, туляремия, кишечный иерсиниоз, псевдотуберкулез, ЛЗН, КГЛ, ГЛПС и бешенство. Кроме того, при эпизоотологическом мониторинге подтверждена активность природных очагов чумы, клещевого энцефалита, листериоза, лихорадки Инко, Батаи, Тягиня, Синдбис. Таким образом, учитывая неустойчивую обстановку по ПОИ на Юге России, следует обратить внимание на своевременность и полноту объема эпизоотологического мониторинга за актуальными нозологическими формами данных инфекций. Недостаточный контроль эпидемиологической и эпизоотической обстановки может привести к осложнению ситуации по актуальным для региона природно-очаговым инфекционным болезням.

Ответственный автор

Малецкая Ольга Викторовна – зам. директора по научной и противоэпидемической работе, зав. лабораторией эпидемиологии ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 595.421Ixodidae(571.63)

УСТОЙЧИВОСТЬ ФАУНИСТИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОВ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ (ACARI: IXODIDAE) НА ОСТРОВЕ РУССКИЙ И В УССУРИЙСКОМ ЗАПОВЕДНИКЕ (ПРИМОРСКИЙ КРАЙ)

Н.С. Гордейко¹, А.Я. Никитин², А.В. Алленов¹, Т.В. Зверева¹

¹ ФКУЗ Приморская противочумная станция Роспотребнадзора, Уссурйск

² ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Иркутск

На основе собственных наблюдений и данных литературы проведено сравнение структуры фаунистических комплексов иксодовых клещей (Acari: Ixodidae), сформировавшихся на территориях о-ва Русский и Уссурйского заповедника (Приморский край) в последней четверти XX и начале XXI века. Показано, что островные сообщества клещей подвержены более сильным преобразованиям.

Ключевые слова: иксодовые клещи, фаунистические комплексы, видовое разнообразие
STABILITY OF TICKS' (ACARI: IXODIDAE) FAUNA ASSOCIATIONS ON RUSSKY ISLAND AND IN USSURIYSK NATIONAL PARK (PRIMORSKY KRAI)

N.S. Gordeyko¹, A.V. Allenov¹, T.V. Zvereva¹, A.Ya. Nikitin²

¹Primorye Antiplague Station of Rospotrebnadzor, Ussuriisk

²Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, Irkutsk

Compositional comparison of the ticks' (Acari: Ixodidae) fauna associations evolved in the territories of Russky Island and Ussuriysk National Park (Primorsky Krai) over the last quarter of the XX and at the beginning of the XXI centuries was based on our own observations and literature sources. It was proved that island associations of ticks are more susceptible to transformations.

Key words: Ixodes ticks, fauna associations, species diversity.

Представители семейства иксодовых клещей имеют важное эпидемиологическое значение, так как являются переносчиками возбудителей целого ряда природно-очаговых инфекционных болезней человека [1, 2, 4, 6, 8]. На территории Приморского края зарегистрировано 17 видов сем. Ixodidae [6, 7, 9, 10] из которых массовыми являются: *Ixodes persulcatus* Schulze, 1930, *Haemaphysalis concinna* Koch, 1844, *H. japonica douglasi* Nuttall et Warburton, 1915, *Dermacentor silvarum* Olenov, 1932. Кроме того, на западном макросклоне Сихотэ-Алиня и на некоторых островах Японского моря высокой численности достигает *I. pavlovskiy* Pomerantzev, 1946 [3, 5, 7, 10].

Многие виды клещей сосуществуют в одних биотопах в виде устойчивых во времени совокупностей популяций переносчиков (сообществ), на основе которых формируются совмещенные природные очаги инфекций [1-3, 6, 8, 9, 10]. Именно факт различий в структуре фаунистических комплексов иксодид в значительной степени предопределяет эпидемиологический риск для проживания или пребывания людей на эндемичных территориях, а также выбор комплекса необходимых мер профилактики.

В 70-90 гг. XX века сообщества иксодовых клещей на территории Приморского края достаточно подробно изучали [4, 6, 7, 10 и др.]. Вместе с тем, фаунистические комплексы под действием абиотических, биотических и антропогенных факторов претерпевают изменения. Важность задачи отслеживания трансформации в структуре сообществ иксодовых клещей определяется их ролью в качестве резервуаров и переносчиков возбудителей большого числа инфекционных болезней человека [1-4, 5-10], определяющих региональные особенности эпидемиологической обстановки по природно-очаговым болезням.

Цель работы – сравнить структуру сообществ иксодовых клещей, сформировавшихся на юге Приморского края в конце XX и начале XXI века. Для анализа рассмотрены районы, для которых имеются данные полученные в эти два временных периода: территории о-ва Русский и Уссурйского государственного заповедника (окрестности села Каменушка).

Материалы и методы

Для описания временной изменчивости структуры фаунистических комплексов иксодид взяты данные из литературы и собранные непосредственно авторами.

Сообщества иксодовых клещей о-ва Русский и Уссурийского заповедника, сформировавшиеся в XX веке, охарактеризованы на основе опубликованных работ [6, 7, 9].

Собственные материалы по сообществам клещей о-ва Русский включают данные за 2012-2013 гг., а на материке за 2001-2013 гг. Сбор клещей проводили на флаг с растений [11]. При определении их видовой принадлежности использован определитель Н.А. Филипповой [13]. Для сравнения фаунистического комплекса применен показатель процентного сходства (коэффициент Сьеренсена) [12].

Результаты и обсуждение

Остров Русский – самый большой в заливе Петра Великого Японского моря. Наименьшее расстояние между островом и континентальной частью (г. Владивосток) 800 м. Наиболее полно обследованы территории, окружающие бухты Воеводиха, Рында, п-ов Саперный. Обследованные биотопы по характеру растительных комплексов разделены на две группы. Первая – луго-полевая зона находится в непосредственной близости к населенным пунктам и включает территории освоенных земель. Для нее характерен обедненный травяно-кустарниковый состав растительности (доминируют злаковые, осоки, несколько видов полыни). Вторая группа представлена вторичными широколиственными лесами из дуба монгольского с примесью других пород. В результате деятельности человека леса на острове местами имеют разреженный характер и лишены подлеска.

На о-ве Русский Г.В. Колониным [7] в 1983 г. зарегистрировано три массовых вида иксодовых клещей: *I. persulcatus*, *H. concinna*, *H. j. douglasi* (таблица). Кроме того, выявлены единичные особи *D. silvarum*. Всего автором собрано на острове 785 иксодид, то есть выборка репрезентативна.

По современным данным на о-ве Русский массово присутствуют четыре вида: *I. persulcatus*, *H. concinna*, *H. j. douglasi*, *I. pavlovskyi* [3]. Причем *I. pavlovskyi* обнаруживали во всех сборах даже из биотопов не характерных для этого вида (луго-полевом). В 2012-2013 гг. нами зарегистрированы в качестве массовых эти же виды иксодид. *D. silvarum* представлен единичными особями (таблица). Всего собрано 759 имаго иксодовых клещей, то есть объем материала практически идентичен рассматриваемому в работе Г.В. Колонина [7]. Подчеркнем, что наши сборы клещей на о-ве Русский проведены до глубокой перестройки биотопов, которая здесь ожидается после открытия Дальневосточного федерального университета и завершившегося в 2012 г. строительства автодорожного моста, связавшего остров с материком.

Таблица 1.

Структура фаунистического комплекса иксодовых клещей на о. Русский и на материке (с. Каменушка Уссурийского района) в конце XX – начале XXI века

Район	Период наблюдений	Доля участия вида в сообществе иксодовых клещей, %						Процентное сходство (коэффициент Сьеренсена):	Источник
		<i>I. persulcatus</i>	<i>I. pavlovskyi</i>	<i>I. pommerantzevi</i>	<i>H. concinna</i>	<i>H. japonica</i>	<i>D. silvarum</i>		
о-в Русский	1983 г.	35,5	нет	нет	52,5	11,2	единично	0,76	Колонин, 1986
	2012-2013 гг.	40,5	19,0	нет	33,2	6,6	единично		Собственные данные
Материк	70-ые гг. XX века	90,0	единично	единично	2,0	8,0	единично	0,92	Вершинина и др., 1974
	2001-2012 гг.	83,3	единично	нет	10,2	6,5	единично		Собственные данные

Таким образом, фауна сообщества иксодид по сравнению с 1983 г. [7] претерпела существенное изменение (таблица). В разных биотопах острова, но особенно массово в лесных, стал встречаться *I. pavlovskiyi*.

На материке обследован лесной биотоп в окрестностях с. Каменушка на территории Уссурийского заповедника. Он представлен зоной хвойно-широколиственных лесов с группой растительных формаций, объединяющих кедрово-широколиственные и темнохвойно-широколиственные леса.

По данным последней четверти XX века [6, 9] на стационарном участке наблюдений в районе с. Каменушка массово встречались: *I. persulcatus*, *H. japonica*, *H. concinna*. Единично – *D. silvarum*, *I. pavlovskiyi*, *I. pomerantzevi* (таблица).

В настоящее время в районе с. Каменушка (2001-2012 гг.) массово встречаются *I. persulcatus*, *H. japonica*, *H. concinna*. Единично – *D. silvarum* и *I. pavlovskiyi*. *I. pomerantzevi* не зарегистрирован (таблица). Всего собрано 11841 особь иксодовых клещей. Нельзя исключать, что *I. pomerantzevi* не обнаружен в виду низкого расположения на растениях, что затрудняет сбор на флаг. В выше упомянутой работе [9] этот вид выявляли при осмотре мелких млекопитающих.

Таким образом, в отличие от острова, фауна и структура сообществ иксодовых клещей на материке (окрестности с. Каменушка) за 40 лет наблюдений изменилась значительно в меньшей степени (коэффициент сходства 0,92), чем на острове (0,76) (таблица). Причем, если в XX веке коэффициент сходства между структурой сообществ острова Русский и территорией заповедника составлял 0,46, то в XXI веке – 0,57. То есть, изменения в фауне, происходящие на острове, направлены в сторону сближения с материком, что в данном случае обусловлено массовым появлением на нем *I. pavlovskiyi*. Однако причина внедрения и быстрого распространения на о-в Русский этого вида не может быть однозначно объяснена.

Литература

1. Алексеев А.Н., Дубинина Е.В., Юшкова О.В. Функционирование паразитарной системы «клещ-возбудители» в условиях усиливающегося антропогенного пресса. – СПб., 2008. – 146 с.
2. Алленов А.В., Борзов В.П., Краснощеков В.Н. и др. Сочетанность природных очагов туляремии, лептоспироза и хантавирусной инфекции в экосистемах Приморского края // Тихоокеанский мед. журн. – 2008. – Т. 32. – № 2. – С. 40-43.
3. Балахонов С.В., Никитин А.Я., Зверева Т.В. и др. Эпизоотологическое обследование острова Русский и меры, необходимые для предотвращения заболеваемости населения и участников саммита АТЭС инфекциями, передающимися иксодовыми клещами // Пробл. особо опасных инф. – 2012. – Т. 112. – № 2. – С. 5-8.
4. Беликова Н.П. Основные эколого-фаунистические комплексы иксодид, поддерживающие существование природных очагов инфекций в Приморском крае // Мед. паразитол. – 1969. – № 4. – С. 401-405.
5. Болотин Е.И., Колонин Г.В., Киселев А.Н., Матюшина О.А. Распространение и экология *Ixodes pavlovskiyi* (Ixodidae) в Сихотэ-Алине // Паразитология. – 1977. – Т.11. – № 3. – С. 225-229.
6. Вершинина Т.А., Конева И.В., Байбородин В.Н. Типы населения иксодовых клещей Азиатской России. В кн. Опыт создания карты иксодовых клещей Азиатской России. – Иркутск, 1974. – С. 37-55.
7. Колонин Г.В. Материалы по фауне иксодовых клещей юга Приморского края // Паразитология. – 1986. – Т. 20. – № 1. – С. 15-18.
8. Коренберг Э.И., Помелова В.Г., Осин Н.С. 2013. Природноочаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. – М., – 463 с.
9. Окулова Н.М., Юдаева О.Н., Константинов О.К. К экологии клеща *Ixodes pomerantzevi* (Ixodidae). Паразитология. – 1986. – Т. 20. – № 1. С. 11-14.
10. Сагдиева П.Д. Кровососущие клещи (Parasitiformes) млекопитающих заповедных территорий Приморского края: Дис. ... канд. биол. наук. Тбилиси, 1984. – 296 с.
11. Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих – переносчиков возбудителей природно-очаговых инфекций (Методические указания 3.1.1027-01). – М., 2002. – 55 с.
12. Уиттекер Р. Сообщества и экосистемы. – М., 1980. – 327 с.
13. Филиппова Н.А. Иксодовые клещи подсем. Ixodinae. – Л., 1977. – Т. 4. – 396 с.

Ответственный автор

Гордейко Наталья Станиславовна – зоолог ФКУЗ Приморская противочумная станция Роспотребнадзора. Тел.: (395-2) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.831-002-022:578.833.2Flavivirus(517.3)

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И АНАЛИЗ СЛУЧАЕВ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЛЮДЕЙ В МОНГОЛИИ

Д. Цэрэнноров, Б. Уянга, Ж. Батцэцэг, Ц. Баяр,
Б. Байгалмаа, М. Нямсүрэн
Национальный центр изучения зоонозных инфекций,
Улан-Батор, Монголия

Обобщены результаты обследования на клещевой энцефалит территории 11 сомонных трех провинций Монголии и эпидемиологического анализа заболеваемости людей клещевым энцефалитом.

Ключевые слова: Клещевой энцефалит, иксодовые клещи, эпидемиологический надзор, заболеваемость.

RESULTS OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS INVESTIGATION AND THE ANALYSIS OF HUMAN CASES IN MONGOLIA

D. Tserennorov, B. Uyanga, Z. Battsetseg, T. Bayar, B. Baygalmaa, M. Nyamsuren
National Centre of the Zoonotic Infection Studying, Ulan Bator, Mongolia

Results of inspection for tick-borne encephalitis virus in 11 Soums (districts) of three Mongolian provinces and the epidemiological analysis of human sickness rate are generalized.

Key words: tick-borne encephalitis, Ixodes ticks, epidemiological surveillance, sickness rate.

Исследование клещевого энцефалита (КЭ) в Монголии началось в 80-ые годы XX века совместно с российскими учеными, случаи заболевания людей официально зарегистрированы с 2005 года и с того же времени началась организация диагностики, лечения и вакцинации.

В зависимости от генотипа вируса клещевого энцефалита (ВКЭ), может значительно варьировать клиническая картина болезни и исход заболевания. Отмечено, что клиническая картина КЭ в Монголии аналогична наблюдаемой в Сибири [1].

Установлено, что на территории Монголии циркулирует вирус клещевого энцефалита сибирского подтипа (Заусаев и Васильченко) [2, 3].

Заболеваемость людей не снижается, несмотря на хорошо организованные профилактические меры и увеличение числа лиц, вакцинированных против клещевого энцефалита.

Цель – эпидемиологический анализ заболеваемости за 2005-2013 гг. и обобщение результатов обследования природных очагов КЭ в Монголии в 2011-2013 гг.

Материалы и методы

Использованы материалы обследования природных очагов, проведенного по научно-технологическому проекту "Исследование монгольских штаммов вируса клещевого энцефалита", реализованному в 2011-2013 гг., и данные статистических отчетов о случаях заболевания людей за 2005-2013 гг. В лабораторных исследованиях использованы методы иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Результаты и обсуждение

В 2011-2013 гг. проведено пять разовых обследований на территориях 11 сомонных провинций Селенге, Булган и Хэнтий с высоким риском заболевания людей клещевым энцефалитом – собранно 285 сывороток крови людей, 2794 экз. иксодовых клещей двух видов (табл. 1).

Таблица 1.

Количество и виды собранных клещей

Провинции, сомон	<i>Ixodes persulcatus</i>	<i>Dermacentor nuttalli</i>	Всего
Булган, Хангал	301	1	302
Сэлэнгэ, Алтанбулаг, Ероо, Мандал, Худэр, Цагааннуур	2161	96	2257
Хэнтий, Биндэр, Баян-адрага, Омнодэлгэр, Батширээт, Биндэр	42	193	235
Итого	2504	290	2794

Среди собранных клещей 89,6 % пришлось на *I. persulcatus* – основного переносчика ВКЭ; он же, главным образом, был инфицирован вирусом КЭ. В основном клещи встречаются с апреля по июнь, больше всего их было в мае (76,3 %).

Был проведен опрос среди населения (n=169) в Центральных (Селенга, Хэнтий, Орхон), и Восточной (Архангай) провинциях, где имеются природные очаги клещевого энцефалита. Возраст опрошенных колебался от 15 до 94 лет, среди них мужчин – 56,7 %, женщин – 43,3 %, профессиональный состав – пастухи и работники частных и государственных секторов. Среди опрошенных 46 % (n = 77) были укушены клещами, у 33 из них после укусов клещей наблюдалось покраснение, отек, головная боль, сыпь и лихорадка.

В результате лабораторного исследования собранных клещей и сывороток крови людей положительными на КЭ оказались 208 клещей (групповой анализ) и 45 сывороток. Выявление РНК вируса клещевого энцефалита в 1437 клещах было проведено в вирусологической лаборатории Микробиологического института Бундесвера (Германия). Шесть из 32 положительных проб по последовательности гена Е были определены как вирус клещевого энцефалита сибирского подтипа. Положительные результаты выявлены в сыворотках крови и клещах, собранных в сомонах Ероо и Худэр провинции Селенге.

Совместно с Иркутским институтом эпидемиологии и микробиологии (Россия) в 2008 г. было проведено генетическое исследование нуклеиновых кислот в материалах от умершего больного из сомона Бугат провинции Булган Монголии и установлена его аналогия с восточным подтипом вируса КЭ [4].

Совместно с Микробиологическим институтом Бундесвера (Германия) в 2010 г. проведен филогенетический анализ нуклеотидной последовательности гена Е вируса КЭ, изолированного из клещей, собранных в провинции Булган. В результате исследования определен вирус КЭ сибирского подтипа [5]. Эти исследования показывают, что в Монголии и на сопредельных с нею территориях возможно распространение одинаковых подтипов вируса КЭ.

В 2005-2013 гг. в Монголии было зарегистрировано в общей сложности 126 случаев клещевого энцефалита с пятью (5,6 %) летальными исходами. В среднем регистрируется по 14 случаев в год и от 0,2 до 2,0 на 100 тыс. населения (рис. 1).

Все случаи заболевания людей отмечены с апреля по август с пиком в июне. Заболеваемость зарегистрирована на территории 29 сомонов 10 провинций и 8 районов г. Улан-Батор, из них 53,9 % отмечены в Селенге и 19,8 % в Улан-Баторе. Но 63 % всех больных заразились в Селенге, в том числе большинство пациентов из Улан-Батора (68 %), что говорит о высоком риске инфицирования в этой провинции.

Среди больных больше всего безработных мужчин и людей, которые занимаются сбором дикоросов и заготовкой древесины на эндемичной территории. В группе риска также туристы и некоторые профессиональные контингенты.

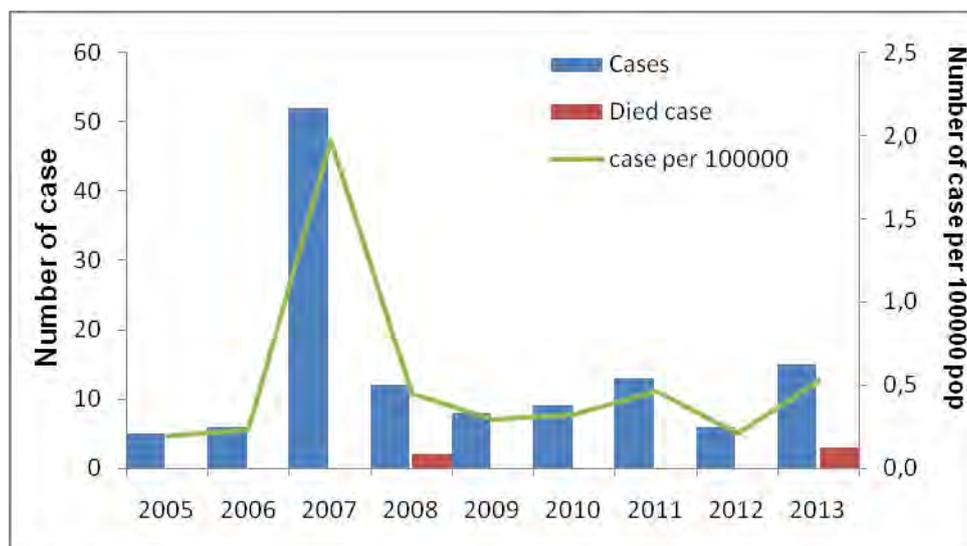


Рис. 1. Случаи заболевания людей клещевым энцефалитом (2005-2013 гг.)

Выводы

1. В Монголии регистрируется в среднем 14 случаев клещевого энцефалита в год (0,4 на 100 тыс. населения), заболеваемость не снижается.

2. Случаи заболевания КЭ, заражения людей из других регионов и распространение основного переносчика – клещей *I. persulcatus* чаще всего имеют место в провинции Селенге. Инфицирование людей происходит при выпасе скота, заготовке древесины, орехов, ягод, сена, во время прогулок и отдыха, добычи золота.

3. В последние годы в Монголии увеличивается активность природных очагов и заболеваемость людей КЭ, что причиняет значительный ущерб здоровью населения и экономике. Проводится большая работа по предупреждению заболеваний людей клещевым энцефалитом, а также обследование природных очагов на предмет распространения иксодовых клещей и их инфицирования вирусом КЭ, углубленное изучение штаммов вируса КЭ, создается база данных по выделенным штаммам вируса КЭ и другой информации по этой инфекционной болезни.

4.

Литература

1. Батаа Ж., Абмэд Д. Клещевые инфекции. – Улан-Батор, 2007. – 13 с.
2. Беликов С.И., Бутина Т.В., Демина Т.В., Злобин В.И. Генотипирование вируса клещевого энцефалита // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра. – 2002. – № 4, Том 2 – С. 36-39.
3. Нямдаваа П. Сборник трудов, том 3. Улан-Батор, 2007. – С. 189-196.
4. Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А., Кулакова Н.В. и др. Генетическая характеристика возбудителя клещевого энцефалита в Монголии // Вопр. вирусол. – 2010. – Т. 55, № 3. – Р. 27-32.
5. Frey S, Mossbrugger I, Altantuul D, et al. Isolation, preliminary characterization, and full-genome analyses of tick-borne encephalitis virus from Mongolia // Virus Genes. – 2012. – Vol. 45 (3). – P. 413-25. doi: 10.1007/s11262-012-0795-9.

УДК: 614.4:614.81:616.993

ОСОБЕННОСТИ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ОЧАГОВ ОПАСНЫХ ЗООНОЗНЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ В УСЛОВИЯХ МАСШТАБНОГО СТИХИЙНОГО БЕДСТВИЯ (НАВОДНЕНИЕ)

М.А. Тарасов¹, Н.П. Шестопапов², А.М. Поршаков¹, С.И. Толоконникова¹,
В.А. Янович³, П.В. Копылов², А.Д. Воронцова⁴, Н.В. Попов¹,
В.П. Топорков¹, А.В. Топорков¹, И.Г. Карнаухов¹, В.В. Кутырев¹
¹ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт
«Микроб», Саратов; ²Центр гигиены и эпидемиологии в Еврейской
автономной области (ЕАО), Биробиджан; ³Управление Роспотребнадзора
по ЕАО, Биробиджан; ⁴ФГУП «Профилактика», Биробиджан

Обобщены материалы эпизоотологического обследования территории Еврейской автономной области, подвергшейся катастрофическому наводнению в августе-сентябре 2013 г. Проведены учеты численности мелких млекопитающих — носителей опасных зоонозных инфекций (ГЛПС, туляремии, лептоспироза и др.), проверена эффективность дератизации, предложен ряд новых эколого-эпизоотологических показателей, характеризующих распределение грызунов в природных и антропогенных биотопах в связи с наводнением.

Ключевые слова: эпизоотологическое обследование, стихийное бедствие, наводнение, очаги зоонозов, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, чрезвычайная ситуация.

PECULIARITIES OF EPIZOOTIOLOGICAL INSPECTION IN FOCI OF PARTICULARLY DANGEROUS ZOO NOTIC INFECTIONS UNDER THE CONDITIONS OF A LARGE-SCALE NATURAL DISASTER (FLOODING)

M.A. Tarasov¹, N.P. Shestopalov², A.M. Porshakov¹, S.I. Tolokonnikova¹, V.A. Yanovich³, P.V. Kopylov², A.D. Vorontsova⁴, N.V. Popov¹, V.P. Toporkov¹, A.V. Toporkov¹, I.G. Karnaukhov¹, V.V. Kutyrev¹

¹Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov

²Center of Hygiene and Epidemiology in the Jewish Autonomous Region (JAR), Birobidzhan

³Rospotrebnadzor Administration in the JAR, Birobidzhan

⁴Federal State Unitary Enterprise "Prophylaktika", Birobidzhan

The data of epizootiological inspection in the Jewish Autonomous Region (JAR) territory exposed to the catastrophic flooding in August-September, 2013 are summarized. In the context of the disaster, the numbers of small mammals – carriers of dangerous zoonotic infections (hemorrhagic fever with renal syndrome, tularemia, leptospirosis, etc.) were evaluated; the efficacy of deratization activities was verified; a number of new ecological-epizootiological factors characterizing distribution of the rodents in the natural and anthropogenic biotopes was suggested.

Key words: epizootiological inspection, natural disaster, flooding, foci of zoonotic infections, hemorrhagic fever with renal syndrome, emergency situation.

Обследование территории Еврейской автономной области (ЕАО), подвергшейся катастрофическому наводнению в августе-сентябре 2013 г. (выпала годовая норма осадков), проводилось нами в сентябре-октябре с целью обоснования для осуществления противоэпидемических мероприятий на участках высокого риска заражения. Эти работы были направлены на выяснение складывающейся в период наводнения эпизоотологической и

эпидемиологической обстановки по геморрагической лихорадке с почечным синдромом (ГЛПС), как наиболее распространенному зоонозу, а также по другим опасным зоонозным инфекциям (туляремия, лептоспироз и др.). Другой важной задачей было оказание консультативно-методической и практической помощи службам санитарно-эпидемиологического надзора ЕАО в условиях чрезвычайной ситуации. Кроме того, необходимо было оценить масштабы, объём и эффективность проводимых дезинфекционных и дератизационных мероприятий в очагах ГЛПС и сочетанных с нею очагах других зоонозов (туляремия, лептоспироз и др.) на территории ЕАО, провести по эпидемиологическим показателям эпизоотологическое обследование территорий населенных пунктов и прилегающих к ним природных биотопов и агроценозов на ГЛПС, составить прогноз развития эпизоотологической и эпидемиологической обстановки по ГЛПС и туляремии на осенне-зимний период 2013-2014 гг. и на 2014 г., дать оперативные рекомендации по профилактике зоонозных инфекционных болезней.

В период с 17. 09. 2013 г. по 27. 09. 2013 г. нами обследованы все пять районов ЕАО: Облученский, п. Пашково; Смидовичский, п. Николаевка; Октябрьский, п. Амурзет и окрестности, с. Пузино; Ленинский, п. Ленинское и окрестности, с. Нижнеленинское; Биробиджанский, с. Дубовое и окрестности, с. Казанка; окрестности г. Биробиджана (район лесхоза). Обследование проводилось в соответствии с эпидемиологическими показателями по ГЛПС и другим зоонозам за 2004–2013 гг., а также за 1984 г. (в этот год было наводнение с подъемом воды до 6 метров, заболел ГЛПС 101 чел., 5 из них с летальным исходом).

Стратегия и тактика эпизоотологического обследования. Перед началом работы были получены карты области и административных районов, разработан алгоритм действий, который предусматривал: составление календарного плана эпизоотологического обследования, установление жесткого временного графика ежедневных выездов, выявление объектов повышенного риска заражения населения опасными зоонозными инфекционными болезнями (магазины, кафе, рынки, животноводческие фермы, зернотоки, хлебозаводы, пекарни, овощехранилища, лесхоз, пасеки, турбазы, лагеря отдыха и др.). В районах подтопленных населенных пунктов узнавали дату начала наводнения и спада воды, высоту и привязку к местности максимального уровня подъема воды, площадь затопления, количество затопленных домов, пострадавших людей. В зонах и на объектах риска описывали обследуемый объект – адрес, грызунопроницаемость, площадь, обрабатывался от грызунов или нет (выясняли количество обработанных и необработанных строений), уточняли дату последней обработки.

В каждом населенном пункте выставляли не менее 100 давилок Геро, описывали прилегающие к населенному пункту и объекту обследования биотопы, проводили опрос владельцев объектов – есть ли грызуны или следы их жизнедеятельности (экскременты, погрызы, норы, запах), наблюдались ли миграции грызунов при подходе воды днем и ночью.

Обследование открытых биотопов. Используя крупномасштабные карты (1:100000), выбирали наиболее предпочитаемые грызунами места обитания (широколиственные леса с густым подлеском и высоким травостоем с обилием леспедецы даурской (*Lespedeza davurica*), луга и залежи с высоким плотным разнотравьем, бурьянники, берега водоемов, разнообразные агроценозы, прежде всего поля с соей, кукурузой, бахчи и др.). Выставляли не менее 100 ловушек на расстоянии 1–2 км от населенного пункта. Обязательно находили участок, где зафиксирована граница максимального затопления. Для определения количества вытесненных водой грызунов выставляли линию из 50 давилок Геро через 5 м одна от другой параллельно границе затопления в 50 м от нее (линия А). Вторую линию (Б) из 50 орудий лова ставили в 300 м фронтально к линии А. Учет проводили в течение суток. Вычитая показатель численности грызунов на 100 ловушко-суток на линии Б от аналогичного на линии А, получали процент вытесненных водой мелких млекопитающих. Для дополнительного контроля в ряде случаев ставили 50 ловушек в биотопе такого же типа в 500 м от линии максимального затопления (линия В). Если показатель численности мелких млекопитающих на линии В был значительно меньше, чем на линии Б, констатировали факт вытеснения мелких млекопитающих водой на незатопленные территории.

В выбранных для обследования населенных пунктах составляли карту (схему) населенного пункта и выявляли объекты повышенного риска заражения населения опасными зоонозными инфекционными болезнями.

Методы вычисления основных эколого-эпизоотологических показателей в зоне затопления и прилегающих районах. Нами вычислялись наиболее значимые при наводнении эколого-эпизоотологические показатели, в том числе:

- интенсивный показатель заселенности грызунами объектов и зон риска заражения людей ГЛПС и другими зоонозными инфекциями в населенных пунктах определяли как отношение количества грызунов во всех обследованных объектах в населенном пункте к площади всех обследованных объектов, в которых обнаружены грызуны;

- показатель интенсивности вселения «диких» грызунов из природных биотопов и агроценозов в постройки человека (интенсивность миграций) вычисляли как процентное отношение количества объектов с дикими грызунами к общему количеству обследованных объектов;

- экстенсивный показатель степени заселения грызунами объектов в населенном пункте вычисляли как процентное отношение количества объектов, заселенных грызунами, к количеству всех обследованных объектов.

Эффективность дератизационных мероприятий в населенных пунктах с наибольшим риском заражения людей ГЛПС и другими зоонозными болезнями вычисляли по формуле Аббота [1].

Показатель численности мелких млекопитающих (в %) определяли традиционно на 100 ловушко-суток.

В 2004–2013 гг. заболевания ГЛПС на территории ЕАО регистрировали ежегодно. Вся территория области энзоотична по этой инфекции, т. к. повсеместно обитают основной (полевая мышь) и второстепенные виды носителей хантавирусов, среди которых постоянно выявляют инфицированных особей. Из 146 добытых нами и исследованных мелких млекопитающих 12 (8,2 %) оказалось инфицированных хантавирусами, в том числе из 80 полевых мышей – 7 (8,8 %). Доля населенных пунктов с высокой заболеваемостью ГЛПС в 3,9 раза превышает долю населенных пунктов с низкой заболеваемостью.

Проведены учеты численности грызунов на территории 6 населенных пунктов и их окрестностей. Всего отработано 1100 ловушко-суток: 412 в населенных пунктах, 688 – в природных биотопах и агроценозах; в открытых биотопах было выставлено 16 ловушко-линий. В населенных пунктах обследовано 49 объектов общей площадью 16084 м², в их окрестностях обследовано 8 типов природных биотопов и агроценозов общей площадью 267475 м². Добыто за 10 дней 216 мелких млекопитающих (средний процент попадания составил 19,6), в том числе в населенных пунктах – 46 экз. (11,2 %), в открытых биотопах - 170 экз. (24,7 %). В населенных пунктах отловлено 7 видов грызунов: полевых мышей (*Apodemus agrarius*) – 23 экз. (индекс доминирования (ИД) составил 50,0 %), домовых мышей (*Mus musculus*) – 15 экз. (ИД – 32,6 %), серых крыс (*Rattus norvegicus*) – 4 экз. (ИД – 8,7 %), прочих видов – 4 экз. (ИД – 8,7 %).

В природных биотопах добыто 9 видов мелких млекопитающих: полевых мышей – 107 экз. (ИД – 62,9 %), серых крыс – 31 экз. (ИД – 18,2 %), восточно-азиатских мышей (*A. peninsulae*) – 12 (ИД – 7,1 %), домовая мышь – 1 экз. (ИД – 0,6 %), красных полевок (*Clethrionomys (Myodes) rutilus*) – 7 экз. (ИД – 4,1 %), красно-серых полевок (*C. (M.) rufocanus*) – 6 экз. (ИД – 3,5 %), больших полевок (*Microtus fortis*) – 2 экз. (ИД – 1,2 %), барабинских хомячков (*Cricetulus barabensis*) – 2 экз. (ИД – 1,2 %), средних бурозубок (*Sorex caecutiens*) – 2 экз. (ИД – 1,2 %).

Интенсивный показатель заселенности грызунами объектов и зон риска заражения людей ГЛПС и другими зоонозными инфекциями в населенных пунктах варьировал от 0 (пос. Пашково Облученского района) до 0,008 (п. Николаевка Смидовичского района). Низкая заселенность объектов грызунами свидетельствует об отсутствии в период обследования интенсивных миграций грызунов из природных биотопов и агроценозов в населенные пункты. Опрос местных жителей показал, что массовых перемещений грызунов в период наводнения не наблюдалось ни днем, ни ночью.

Показатели интенсивности вселения «диких» грызунов из природных биотопов и агроценозов в постройки человека (интенсивность миграций) в период обследования не превышали 27,3 % (п. Амурзет).

Экстенсивные показатели степени заселения грызунами объектов в населенном пункте достигали 30 % (п. Амурзет).

Масштабного вытеснения мелких млекопитающих водой на незатопленные территории не отмечено, большинство популяций во время наводнения в связи с высокой скоростью горизонтального затопления погибло. Для обеспечения эпидемиологического благополучия необходим постоянный контроль численности грызунов и по показаниям повторение сплошной поселковой и барьерной дератизации.

Эффективность дератизации в населенных пунктах составляла 80-100 %. Крайне важно, кроме сплошной поселковой и барьерной дератизации с непрерывным функционированием точек долговременного отравления грызунов (ТДО), своевременно проводить уборку территорий населенных пунктов и прилегающих к ним природных биотопов и агроценозов с выкашиванием высокотравья с весны до осени, активно продолжать информационно-разъяснительную работу по радио и телевидению.

На 01. 04. 2014 г. эпидемиологическая обстановка по опасным зоонозным инфекционным болезням находилась в пределах средних многолетних значений и ниже.

Прогноз. В 2014 г. наибольший риск заражения людей опасными зоонозными инфекциями, особенно ГЛПС, лептоспирозом, туляремией, будет связан с оставшимися после наводнения водоемами на предсопковой равнине и обилием естественных верховых болот. Группы риска –

сельскохозяйственные рабочие, а тип заражения – сельскохозяйственный. К контингентам риска следует отнести так же рыбаков, охотников, других рекреантов, работников лесного хозяйства.

Отличие эпизоотологического обследования очагов зоонозов и их неспецифической профилактики в условиях ЧС от штатных ситуаций заключается, прежде всего, в темпах проведения работ, которые выполняются в условиях ЧС оперативно и непрерывно в соответствии с календарным планом (алгоритмом) действий.

Литература

1. Управление численностью проблемных биологических видов / по ред. В.А. Рыльникова. – М.: Институт пестменеджмента, 2011. – Т. 3, Дератизация. – 220 с.

Ответственный автор

Тарасов Михаил Алексеевич – старший научный сотрудник ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» докт. биол. наук.
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.449.932.34:616.9-036.22(571.61)”2013”

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕРАТИЗАЦИОННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ В АМУРСКОЙ ОБЛАСТИ В ПОСЛЕПАВОДКОВЫЙ ПЕРИОД 2013 ГОДА

Л.П. Окунев¹, А.А. Перепелица², О.И. Короткоручко², Т.Ю. Нехрюк³,
Е.Н. Бурдинская³, О.К. Лялина³, А.В. Самчук³, И.А. Бойко³,
К.В. Крахмалёв³, О.С. Кизима³, А.Я. Никитин¹,
С.А. Борисов¹, И.М. Морозов¹

¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора,

² Управление Роспотребнадзора по Амурской области,

³ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Амурской области» Роспотреб-
надзора

По результатам эпизоотолого-эпидемиологического обследования дается обоснование к проведению дератизационных мероприятий на территории Амурской области. Представлены материалы по способам их организации, отражен объем. Проведен анализ и дана оценка эффективности выполненных профилактических работ.

Ключевые слова: дератизация, мелкие млекопитающие, Амурская область.

**ESTIMATION OF EFFICIENCY OF DISINFESTATION ACTIONS IN THE AMUR REGION AFTER
THE FLOOD PERIOD IN 2013**

L.P. Okunev¹, A.A. Perepelitsa², O.I. Korotkoruchko², T.Yu. Nekhryuk³, E.N. Burdinskaya³, O.K. Lyalina³, A.V. Samchuk³, I.A. Boiko³, K.V. Krakhmalyov³, O.S. Kizima³, A.Ya. Nikitin¹, S.A. Borisov¹, I.M. Morozov¹

¹Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, Irkutsk

²Administration of Rospotrebnadzor in the Amur region, Blagoveshchensk

³Center of Hygiene and Epidemiology in the Amur region of Rospotrebnadzor, Blagoveshchensk

Results of epizootological-epidemiological inspection validate the implementation of disinfection actions in the Amur region. Its organization and extent are described. Efficiency of the executed preventive works is analyzed and estimated.

Key words: disinfection, small mammals, the Amur region.

Обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения Приамурья в послепаводковый период в значительной степени способствовало проведение дератизационных мероприятий на территориях, подвергнувшихся затоплению.

В Амурской области заболеваемость природно-очаговыми и зооантропонозными инфекциями за последние 10 лет характеризуется как спорадическая (Госдоклад, 2013). В 2012 г. зарегистрировано всего 17 случаев зоонозов против 39 в 2011 г. Больных сибирской язвой, лептоспирозом, листериозом, бешенством не выявляют последние 10 лет, туляремией – шесть лет, ГЛПС регистрируют по одному случаю ежегодно, за исключением 2007 и 2012 гг., когда клинических форм не выявлено.

Тем не менее, учитывая, что в Амурской области подтоплению подверглись значительные территории, 126 населенных пунктов в 22-х муниципальных образованиях, возникла необходимость эпизоотолого-эпидемиологического контроля обстановки и принятие превентивных мер профилактики в послепаводковый период.

На этапе работы СПЭБ-1 (конец августа – начало сентября 2013 г.) проведено эпизоотолого-эпидемиологическое обследование административных районов, пострадавших от паводка: Благовещенского и г. Благовещенск, Белогорского и г. Белогорск, Архаринского, Михайловского, Октябрьского, Серышевского, Свободнинского, Мазановского. В ходе работ накоплено 1144 ловушко-суток, отловлено 285 мелких млекопитающих 17 видов, дана оценка их зараженности возбудителями зоонозов. Работы проведены как в населенных пунктах, так и в природных биотопах.

По всем учтам относительное обилие мелких млекопитающих составило 24,9 % попадания в орудия лова. Почти 80 % от всех отловленных животных приходится на полевую (*Apodemus agrarius* Pallas, 1771) и восточноазиатскую (*Apodemus peninsulae* Thomas, 1907) мышей, со значительным преобладанием первого вида.

Повторное эпизоотологическое обследование территорий проведено в октябре-ноябре совместно специалистами ФБУЗ «Центра гигиены и эпидемиологии в Амурской области» и Иркутского противочумного института. Обследованиями охвачена территория 42 участков 11 муниципальных образований области: Благовещенский, Белогорский, Архаринский, Михайловский, Свободнинский, Мазановский, Константиновский, Тамбовский, Бурейский, Магдагачинский, Зейский.

Во второй тур работ, по сравнению с первым, установлено увеличение относительного обилия мелких млекопитающих до 32,4 % попадания в орудия лова с вариацией этого показателя по территориям от 10,0 до 46,8 %. Доля полевой и восточноазиатской мышей составила 64,6 % от всех отловленных животных.

Несмотря на то, что на большинстве территорий административных районов Амурской области в период обследования численность мелких млекопитающих характеризовалась как низкая или средняя, с началом холодов прогнозировалась миграция грызунов из природных стаций в жилые строения, усиление их контактов с синантропными животными, вследствие чего существовала вероятность обострения эпизоотолого-эпидемиологической обстановки. Таким образом, возникла необходимость проведения усиленной дератизации на эпидемиологически значимых объектах всех населенных пунктов в октябре 2013 г. Подлежали ликвидации все несанкционированные свалки, а также мусор и отходы, оставшиеся после паводка. Следовало активизировать санитарно-просветительную работу среди населения для повышения эффективности борьбы с грызунами в частном секторе.

Дератизация проведена на 7269 объектах Амурской области (лечебно-профилактические, детские, пищевые, сельскохозяйственные, коммунальные, транспортные, места массового отдыха, свалки), что составило 100 % эпидемиологически значимых площадей. Общая площадь обработанных строений и прилегающих территорий (барьерная дератизация) составила 2505284 кв. м. Организации, проводившие дератизацию, приведены в табл. В большинстве случаев ими применялась

готовая брикетированная приманка с действующим веществом из класса антикоагулянтов первого и второго поколения, в том числе, коммерческий родентицид «крысиная смерть».

Основной объем дератизационных мероприятий выполнила ООО «Городская дезинфекционная станция» и ее многочисленные филиалы, кроме того в работе принимали участие индивидуальные предприниматели в г. Благовещенске и других населенных пунктах области. Отсутствие в тот период организации подобного профиля на базе ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Амурской области» значительно усложнило контроль за проведением истребительных работ на территории Амурской области.

В конце октября проведено выборочное обследование уже обработанных эпидемиологически значимых объектов в городах Благовещенск и Белогорск, а также в районах, подвергшихся затоплению, для оценки их остаточной заселенности грызунами, анализу эффективности проведенной дератизации, возможной корректировки тактики истребительных работ. Работы выполнены двумя зоологическими группами, включающими специалистов трех организаций (Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Амурской области, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Амурской области», Иркутского научно-исследовательского противочумного института). Для учетов заселенности грызунами объектов применены контрольные пылевые (следовые) площадки (КПП).

Обследование 71 объекта (здания, склады, подсобные помещения и т.п.) на территории 20 организаций показало, что следы грызунов регистрируются на 16. Процент заслеженности КПП колебался от 1,6 до 51,6. На объектах восьми организаций обнаружены следы мышей и крыс, на восьми – только мышей, на объектах четырех организаций (20 %) грызуны не выявлены. Всего в ходе работ оборудовано 1040 КПП, из них заслежено – 143 (13,8 %). Общая площадь обследованных объектов составила 211380 кв. м.

Несмотря на то, что выявлена высокая встречаемость грызунов на объектах, их плотность на 1000 кв. м (показатель, отражающий вероятность прямого или опосредованного контакта зверьков с людьми и имеющий основное эпидемиологическое значение), за исключением одного случая (ОАО «Мясокомбинат»), находилась на низком или среднем уровне (табл.). Высокая плотность грызунов (более 5 заслеженных КПП на 1000 кв. м), установленная на ОАО «Мясокомбинат» составляла – 5 % от числа обследованных организаций. На объектах семи организаций (35 %): ОАО «Амуррагроцентр», ЗАО «Пассажирский порт «АмурАССО», ООО «Пограничный», ООО «Бизнес-холдинг» оптовая база «Дружба», ОАО «Горпищекомбинат» г. Белогорск, ГБУЗ АО «Белогорская городская больница», военная часть № 53790 г. Белогорска – установлена средняя заселенность (от 1 до 5 заслеженных КПП на 1000 кв. м). Объекты, находящиеся на территории семи организаций (35 %): ОАО «Хладокомбинат», ОАО «Благовещенский молочный комбинат», ГБУЗ АО «Амурская областная детская клиническая больница», ОАО «Кондитерская фабрика «Зея», ОАО Амурские коммунальные системы «Амурводоканал», МДОАУ Детский сад № 12 г. Белогорск, МОАУ СОШ № 1 г. Белогорск – имели низкую заселенность грызунами (менее одной заслеженной КПП на 1000 кв. м). На территории четырех организаций, т.е. 25 % обследованных объектов, грызуны не выявлены.

Проведенное обследование выявило недостаточную эффективность истребления грызунов. Особенно наглядно это проявилось при рассмотрении показателя встречаемости животных. Учитывая, что на эпидемиологически значимых объектах это является не допустимым, принято решение повысить эффективность дератизации. Для этого руководителям организаций, занимающихся дератизацией, предложено: 1. Проводить анализ поедаемости грызунами отравленных приманок; 2. Чаще применять овсяную крупу с добавлением 3-5 % нерафинированного подсолнечного масла, молотых семечек подсолнуха и обжаренного лука; 3. Использовать механические орудия лова, в том числе клеевые листы, давилки и капканы; 4. Для увеличения эффективности мероприятий по борьбе с серой крысой шире использовать приманки животного происхождения (мясной или рыбный фарш); 5. Увеличить долю приманок изготавливаемых специалистами организаций, проводящих дератизационные мероприятия, используя концентраты антикоагулянтов второго поколения; 6. В кратчайшие сроки обеспечить грызунонепроницаемость объектов, подлежащих дератизации.

В ходе проведенных Руководителем Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Амурской области двух селекторных совещаний (при участии специалистов Иркутского научно-исследовательского противочумного института) с начальниками территориальных отделов Управления, главными врачами филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Амурской области», представителями организаций дезинфекционного профиля, был выработан план дальнейших действий. В частности, предусмотрено:

Таблица 1.

Результаты обследования на заселенность грызунами с помощью контрольно-следовых площадок (КПП) объектов на территориях организаций в городах Благовещенск и Белогорск (25.09-01.10.2013 г.)

Организация	Дата обследования	Число отдельно стоящих объектов	Всего КПП	Число заслеженных КПП	% заслеженных КПП (встречаемость грызунов)	Площадь объекта, (кв. м)	Вид грызунов	Плотность зверьков на 1000 кв. м и ее оценка	Организация, отвечающая за дератизацию (дата последней обработки)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ОАО «Мясокомбинат»	25.09.	2	76	8	10,5	1200	Мыши, крысы	6,6 – высокая	ООО «ГДС» (11.09.13)
ОАО «Хладокомбинат»	25.09.	4	34	1	2,9	22190	Мыши	0,1 – низкая	ООО «ГДС» (13.09.13)
ОАО «Благовещенский молочный комбинат»	25.09.	3	56	10	17,9	15690	Мыши, крысы	0,6 – низкая	ООО «ГДС» (09.09.13)
ОАО «Амурагроцентр»	25.09.	8	101	5	4,9	3468	Мыши	1,4 – средняя	ООО «ГДС» (17.09.13)
ГБУЗ АО «Амурская областная детская клиническая больница»	25.09.	6	63	1	1,6	11962	Мышь, крысы	0,1 – низкая	Хабаровск (23.09.13)
МОАУ «Гимназия № 1»	25.09.	1	9	0	0	5550	-	-	ООО «ГДС» (05.09.13)
МДОАУ «Детский сад № 3 «Надежда»	25.09.	1	21	0	0	1785	-	-	ООО «ГДС» (19.09.13)
ООО «Мегаторг», супермаркет Простор	25.09.	1	13	0	0	654	-	-	ООО «ГДС» (27.08.13)
ОАО «Кондитерская фабрика «Зея»	25.09.2013	5	141	9	6,7	29087	Мыши	0,3 – низкая	ООО «ГДС» (20.09.13)

продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ООО «Пограничный»	26.09.	6	53	5	9,4	2900	Мыши, крысы	1,7 – средняя	Договор не заключён
ОАО Амурские коммунальные системы «Амур-водоканал» (очистные сооружения)	26.09.	4	53	9	16,9	66801	Мыши, крысы	0,1 – низкая	ООО «ГДС»
ЗАО «Пассажирский порт «АмурАССО»	27.09.	2	41	19	46,3	6670	Мыши	2,8 – средняя	ООО «ГДС» (04.09.13)
ООО «Бизнес-холдинг», оптовая база «Дружба»	27.09.	1	55	5	9,1	2074	Мыши	2,4 – средняя	ООО «ГДС»
ОАО «Горпищекомбинат» г. Белогорск	30.09.	3	17	8	47,1	2194	Мыши	3,6 – средняя	ИП Суслина (01.10.13)
ГБУЗ АО «Белогорская городская больница»	30.09.	6	60	31	51,6	15151	Крысы, мыши	2,1 – средняя	ИП Суслина (26.06.13)
МДОАУ Детский сад № 12, г. Белогорск	30.09.	1	25	3	12	3299	Мыши	0,9 – низкая	ИП Суслина (26.06.13)
МОАУ СОШ № 1, г. Белогорск	30.09.	1	19	1	5,3	5805	Мыши	0,2 – низкая	ИП Суслина (01.07.13)
Военная часть № 53790, г. Белогорск	30.09.	5	75	26	34,7	11350	Крысы, мыши	2,3 – средняя	ОАО «Славянка» (26.09.13)
ООО «Благовещенская управляющая компания»	01.10.	5	72	0	0	2598	-	-	ООО «Амурдез» (заявок от жильцов не поступало)
Домоуправление № 7	01.10.	1	34	2	5,9	698	Крысы, мыши	0,3 – низкая	ООО «Амурдез» (заявок от жильцов не поступало)

1. Провести в октябре-ноябре повторный выборочный мониторинг заселенности объектов грызунами.
2. Обеспечить устранение выявленных случаев низкой эффективности дератизационных работ за счет средств исполнителей договоров.
3. Сотрудникам Управлений необходимо проконтролировать наличие у всех организаций различных форм собственности договоров на дератизацию.
4. Усилить пропагандистскую работу среди населения, особенно проживающего в частном секторе, с подробным разъяснением необходимости приобретения отравленных приманок, способов истребления грызунов, мер безопасности при проведении таких работ.

Выборочное обследование 7 организаций (создано 348 КПП и выставлено 35 ловушек Геро) показало, что повторно проведенная дератизация на эпидемиологически значимых объектах, где эффективность работ была недостаточно высокой, позволила достичь 99-100 % истребления грызунов на территории четырех организаций (ОАО «Благовещенский молочный комбинат», ОАО «Горпищекомбинат» г. Белогорск, ООО «Бизнес-холдинг», оптовая база «Дружба», ОАО «Амурагроцентр»); на трех объектах эффективность составила 74-85 % (ОАО «Мясокомбинат», ГБУЗ АО «Белогорская городская больница», Военная часть № 53790).

Таким образом, реализация комплекса перечисленных, а также иных мер, обеспечила увеличение эффективности дератизационных мероприятий, и минимизировала эпидемиологические риски проявления природно-очаговых инфекций в послепаводковый период 2013 г.

Ответственный автор

Окунев Лев Павлович – научный сотрудник зоолого-паразитологического отдела ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 614.449:616.993:614.81

ЭПИЗОТОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОНТАКТОВ И НЕКРОФАГИИ В ПОПУЛЯЦИЯХ НОСИТЕЛЕЙ ОПАСНЫХ ЗООНОЗНЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ В УСЛОВИЯХ МАСШТАБНОГО СТИХИЙНОГО БЕДСТВИЯ (НАВОДНЕНИЕ)

**М.А. Тарасов¹, Н.П. Шестопапов², А.М. Поршаков¹, А.И. Удовиков¹,
М.М. Шилов¹, В.А. Янович³, П.В. Копылов², А.Д. Воронцова⁴, Н.В. Попов¹**
*¹ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт
«Микроб», Саратов; ²Центр гигиены и эпидемиологии в Еврейской
автономной области (ЕАО), Биробиджан; ³Управление Роспотребнадзора по
ЕАО, Биробиджан; ⁴ФГУП «Профилактика», Биробиджан*

Для наиболее информативной оценки последствий масштабного наводнения в Приамурье предложены редко используемые в эпизоотологическом и эпидемиологическом анализе показатели некрофагии, внутри- и межпопуляционных контактов носителей инфекций в зоне повышенного риска заражения людей опасными зоонозными инфекционными болезнями, положительно коррелирующие с показателями эпизоотической активности очагов этих зоонозов.

Ключевые слова: эпизоотологическое обследование, стихийное бедствие, наводнение, очаги зоонозов, внутри- и межпопуляционные контакты носителей зоонозов, некрофагия, чрезвычайная ситуация.

EPIZOOTIOLOGICAL SIGNIFICANCE OF SUCH FACTORS AS NUMBER OF CONTACTS AND NECROPHAGY WITHIN THE CARRIER POPULATIONS OF PARTICULARLY DANGEROUS INFECTIONS IN THE CONDITIONS OF A LARGE-SCALE NATURAL DISASTER (FLOODING)

M.A. Tarasov¹, N.P. Shestopalov², A.M. Porshakov¹, A.I. Udovikov¹, M.M. Shilov¹, V.A. Yanovich³, P.V. Kopylov², A.D. Vorontsova⁴, N.V. Popov¹

¹Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov

²Center of Hygiene and Epidemiology in the Jewish Autonomous Region (JAR), Birobidzhan

³Rospotrebnadzor Administration in the JAR, Birobidzhan

⁴Federal State Unitary Enterprise "Prophylaktika", Birobidzhan

To perform comprehensive assessment of the aftermaths consequent to the large-scale flooding in the Amur-river region it was suggested seldom-used for epizootiological and epidemiological analysis factors such as: necrophagy and numbers of inter- and intra-population contacts of carriers habitant in the areas with the high risk of exposure of the population to dangerous zoonotic infections that positively correlate with the factors predetermining epizootic activity of the foci.

Key words: epizootiological inspection, natural disaster, flooding, foci of zoonotic infections, inter- and intra-population contacts of carriers, necrophagy, emergency situation.

При работе в условиях стихийных бедствий и чрезвычайных ситуаций очень важно использовать не только весь арсенал традиционных методов эколого-эпизоотологических и эпидемиологических исследований, но и новые или редко применяемые методы сбора, обработки и анализа материала.

Очень информативными и положительно коррелирующими с эпизоотологическими и эпидемиологическими индексами являются показатели внутри- и межпопуляционных контактов и некрофагии (каннибализма) у носителей опасных зоонозных инфекционных болезней.

Для определения частоты внутри- и межпопуляционных контактов носителей инфекций 100 ловушек Геро выставляли группами по 5 шт. через 10 м (20 точек учета). Показатель частоты контактов определяли процентным отношением количества пар зверьков, определенного пола и вида, отловленных на каждой точке учета, к общему количеству контактирующих пар зверьков. Исследования проводили у границы затопления на высокотравной залежи в окрестностях г. Биробиджана, где сформировались активные очаги геморрагической лихорадки с почечным синдромом. Показатель численности мелких млекопитающих составил 33 % попаданий в орудия лова. Были выявлены внутривидовые и межвидовые контакты 58 пар зверьков в популяциях полевой мыши (*Apodemus agrarius*) и серой крысы (*Rattus norvegicus*).

При исследовании некрофагии (каннибализма) погрызенных животных определяли в процессе учетов численности мелких млекопитающих, причем регистрировались лишь зверьки, погрызенные самими грызунами и насекомоядными. Идентификацию погрызов осуществляли как по характеру повреждения трупов, так и по экскрементам, оставляемым этими животными на ловушках. Показатель некрофагии вычисляли в процентах, отношением количества погрызенных или съеденных зверьков каждого вида мелких млекопитающих к общему количеству съеденных (для оценки видовых различий поедаемости трупов этих животных), а также отношением количества подвергшихся некрофагии зверьков к общему количеству отловленных особей всех видов (при определении других аспектов некрофагии). Материал по некрофагии собирали на подвергшейся наводнению и незатапливаемой территории Еврейской автономной области в 6 населенных пунктах и их окрестностях в 8 типах природных и антропогенных биотопов (всего отработано 1100 ловушко-суток: 412 – в населенных пунктах, 688 – в природных биотопах и агроценозах). В открытых биотопах было выставлено 16 ловушко-линий. Добыто за 10 дней (с 17.09.2013 г. по 27.09.2013 г.) 216 мелких млекопитающих (средний процент попадания составил 19,6), в том числе 31 зверек подвергся некрофагии.

Взаимодействие между особями в популяциях носителей зоонозных инфекций происходит посредством прямых и косвенных контактов их друг с другом и особями других видов. При этом косвенные контакты могут осуществляться с помощью различных информативных сигналов-меток – акустических, оптических, ольфакторных и их комбинаций [4]. Важно подчеркнуть, что по значимости для нормального (адекватного условиям среды) функционирования популяции косвенные контакты не уступают прямым, а нередко и превосходят последние. Достаточно напомнить об известных опытах с домовыми мышами П. Кроуcroftа [1]. При этом эпизоотологическая значимость прямых контактов очевидна, однако и косвенные контакты также имеют важное значение в развитии эпизоотий.

В результате исследований выяснилось, что в популяциях полевых мышей на границе

максимального затопления частота контактов самцов с самками оказалась максимальной – 68,8 % (размножение еще не закончилось), самцов с самцами – 12,5 %, самок с самками – 18,7 % (N=16).

В популяции серой крысы частота контактов самцов с самками, также как и в популяциях полевых мышей, была максимальной – 62,5 %, самцов с самцами – 25,0 %, самок с самками – 12,5 % (N=8).

Межвидовые контакты полевых мышей и серых крыс оказались следующими: частота контактов самцов полевых мышей с самками серых крыс составили 11,8 %, самцов серых крыс с самками полевых мышей – 41,2 % (всего самцов с самками двух видов грызунов – 53,0 %). Частота контактов самцов полевых мышей и серых крыс оказалась равной 32,4 %, самок – 14,6 % (N=34).

Таким образом, частота контактов самцов с самками максимальна как при внутривидовых, так и межвидовых взаимоотношениях носителей зоонозных инфекций, причем это характерно для популяций многих видов грызунов и особенно высоки эти показатели в условиях наводнения. Видимо, при соотношении полов близким к 1 : 1 реализуется наибольшая эффективность передачи инфекций в популяциях носителей. Поэтому при эпизоотологическом обследовании, кроме традиционных эколого-эпизоотологических показателей, очень важно определять соотношение полов в популяциях носителей инфекций, особенно при работе в условиях стихийного бедствия.

Некрофагия – широко распространенное в природе явление, когда одни виды животных постоянно или периодически поедают трупы других видов животных или мертвых особей своего вида. В связи с этим некрофаги подразделяются нами на **облигатных** – например, жуки-мертвоеды кожееды (Coleoptera, Silphidae), кожееды (Coleoptera, Dermestidae), личинки некоторых двукрылых (Insecta, Diptera), ряд видов птиц (грифы – Accipetridae, Aegypiinae) и млекопитающих (гиены – Carnivora, Hyaenidae) и **факультативных** – например, хищные виды муравьев (Hymenoptera, Formicidae), насекомоядные (Mammalia, Insectivora), грызуны (Mammalia, Rodentia), большинство видов хищных млекопитающих и некоторые виды птиц. Кроме некрофагии важное эпизоотологическое значение имеет каннибализм (поедание особей своего вида в форме внутривидового хищничества) [2].

В эпизоотологическом аспекте некрофагия – один из эффективных алиментарных путей передачи возбудителей многих инфекционных и инвазионных болезней животных и человека, особенно в условиях наводнения.

В результате наших исследований в ЕАО оказалось, что наибольшие показатели некрофагии в популяциях носителей зоонозных инфекций отмечены в населенных пунктах – 32,6 % и примерно одинаковыми были в природных биотопах (10,2 %) и агроценозах (8,5 %), а в среднем составили 14,4 % (N=216). В связи с этим передача зоонозных инфекций в популяциях животных при наличии некрофагии наиболее вероятна в населенных пунктах.

Больше всего было погрызено полевых мышей (*Apodemus agrarius*) – 22 особи (71,0 %), домовых мышей (*Mus musculus*) – 6 (19,4 %), больших полевок (*Microtus fortis*) – 2 (6,4 %), красных полевок (*Clethrionomys (Myodes) rutilus*) – 1 (3,2 %).

Как показали наши многолетние исследования в других регионах России [3], динамика эпизоотического потенциала очагов (ЭПО) ГЛПС коррелирует с динамикой показателя некрофагии в высокой степени и с положительным знаком ($r=0,78\pm 0,09$, $v=16$, $t_r=8,7 > t_{st}$, при $p<0,001$). Поэтому некрофагия, как алиментарный путь передачи инфекции, может иметь существенное значение в динамике эпизоотической активности очагов ГЛПС. Оказалось также, что в годы с эпидемическими проявлениями этой инфекции вспышечного характера в Саратовской области (1986, 1992, 1997-1998) показатель некрофагии ($N_f=9,4\pm 0,4$ %), был достоверно больше ($v=12398$, $t_d=6,0 > t_{st}$, при $p<0,001$), чем в годы без эпидемических осложнений ($N_f=6,4\pm 0,3$ %). Этот факт имеет большое прогностическое значение, особенно для краткосрочного прогнозирования эпизоотической активности очагов ГЛПС. В дератизированных биотопах интенсивность некрофагии значительно меньше, чем в недератизированных ($v=24674$, $t_d=5,5 > t_{st}$, при $p<0,001$), что обусловлено, вероятнее всего, крайне низкой плотностью популяций мелких млекопитающих в дератизированных биотопах.

Литература

1. Кроуcroft П. Все о мышах /Пер. с англ. – М.: «Мир», 1970. – 158 с.
2. Овасапян О.В., Галоян В.О., Аракелян К.А. Каннибализм как фактор распространения возбудителей эризипелоида, туляремии и чумы среди обыкновенных полевок // Грызуны и их эктопаразиты. – Саратов, 1968. – С. 304-306.
3. Тарасов М.А., Сонин К.А., Толоконникова С.И., Яковлев С.А., Билько Е.А., Попов Н.В. Особенности проявления некрофагии в популяциях грызунов – носителей вируса ГЛПС // Мед. паразитология и паразит. болезни. – 2006. – № 1. – С. 49-51.
4. Thiessen D., Rice M. Mammalian scent gland marking and social behavior // Psychol. Bull. – 1976. – Vol. 83, N 4. – P. 505-539.

Ответственный автор:

Тарасов Михаил Алексеевич – старший научный сотрудник ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» докт. биол. наук
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.993:579.834Spirochaetes-07(571.61/.64)“2013”

ЭПИЗОТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ НА ЛЕПТОСПИРОЗЫ В ПАВОДКОВЫЙ ПЕРИОД В ПРИАМУРЬЕ

**Е.Ю. Киселева, Н.В. Бренёва, М.Б. Шаракшанов,
А.К. Носков, С.А. Борисов**

*ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора, Иркутск*

Выявлена циркуляция патогенных лептоспир среди мелких млекопитающих на обследованных территориях Амурской области, Хабаровского края и Еврейской автономной области во время паводка 2013 г. Доминирующий вид носителей лептоспир – полевая мышь, преобладающая серогруппа лептоспир – Icterohaemorrhagiae.

Ключевые слова: лептоспирозы, эпизоотологическое обследование, паводок.

EPIZOOTOLOGICAL EXAMINATION FOR LEPTOSPIRES DURING THE FLOOD PERIOD IN PRIAMURIE

E.Yu. Kiseleva, N.V. Breneva, M.B. Sharakshanov, A.K. Noskov, S.A. Borisov

Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, Irkutsk

Circulation of pathogenic Leptospira in small mammals was revealed at the inspected territories in the Amur region, Khabarovsk Krai and Jewish autonomous region during a high water in 2013. Dominating species of Leptospira carriers was a field mouse, prevailing Leptospira serogroup – Icterohaemorrhagiae.

Key words: leptospiroses, epizootological examination, a high water.

На Дальнем Востоке лептоспирозы до недавнего времени занимали одно из ведущих мест среди болезней с природной очаговостью. По официальным данным с 2005 г. показатели заболеваемости этой инфекцией в регионе стали заметно снижаться, однако лептоспирозы не утрачивают своей актуальности в связи с тяжестью клинического течения, отдаленными последствиями и высокой летальностью.

Летом 2013 г. на территории Приамурья сформировалась напряженная санитарно-эпидемиологическая ситуация, связанная с паводком на реках Дальнего Востока. Основная задача обеспечения эпидемиологического благополучия населения по лептоспирозам при чрезвычайных ситуациях природного характера – это эпизоотологическое обследование и определение рисков возникновения эпидемических очагов вследствие изменившихся условий окружающей среды. В связи с тем, что в чрезвычайных ситуациях, особенно при наводнениях, вероятность эпидемических осложнений по лептоспирозам значительно возрастает [1, 2], возникла необходимость проведения мониторинга лептоспирозной инфекции в зоне подтопления и на прилегающих территориях.

Наибольшее эпизоотологическое значение в природных очагах лептоспирозов имеют представители отряда грызунов. Их виды доминируют по численности среди мелких млекопитающих по-

что во всех ландшафтных зонах. Связь с возбудителями лептоспирозов объясняется биологией зверьков и их географическим распределением.

Цель работы – эпизоотологическое обследование природных и антропогенных очагов лептоспирозов в паводковый период на территориях Амурской, Еврейской автономной областей и Хабаровского края.

Материалы и методы

Для проведения комплексного эпизоотолого-эпидемиологического обследования территорий Амурской, Еврейской автономной областей и Хабаровского края были привлечены специалисты СПЭБ-1 и СПЭБ-2 ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт.

Материал для исследований (почка, фильтр-отпечаток крови из сердца) был взят от 444 мелких млекопитающих 16 видов, отловленных зоологическими группами на затопленных и прилегающих к ним территориях. Лабораторные исследования материала проводили бактериологическим (посев на жидкие питательные среды), серологическим (реакция микроагглютинации – РМА), молекулярно-генетическим (полимеразная цепная реакция – ПЦР) методами.

Пробы почек от животных, пойманных живыми, были посеяны на жидкие питательные среды Ферворта-Вольфа и Элленгаузена-МакКаллоха в модификации Джонсона-Харриса – EMJH (Becton Dickinson), всего 50 посевов.

Для постановки РМА в качестве антигена использовали диагностический набор 7-10-дневных культур 11 эталонных штаммов лептоспир. Все манипуляции проводили согласно требованиям нормативной документации [5]. Всего в РМА исследовали 343 фильтра-отпечатка крови из сердца отловленных животных.

Методом ПЦР в реальном времени исследовали 444 пробы почек мелких млекопитающих. ПЦР-диагностику выполняли в соответствии с нормативной документацией [4]. Экстракцию суммарного препарата ДНК/РНК осуществляли с помощью сертифицированного набора «РИБО-преп», ПЦР ставили в режиме реального времени с тест-системой «АмплиСенс® *Leptospira*-FL» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва) на амплификаторе Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия).

Результаты и обсуждение

Фоновым видом мелких млекопитающих Приамурья явилась полевая мышь (*Apodemus agrarius* Pallas, 1771). Количество представителей этого вида составило больше половины от общего числа отловленных нами животных. Встречаемость другого фонового вида – восточноазиатской мыши (*Apodemus peninsulae* Thomas, 1907), существенно ниже [3].

В организмах обследованных животных показана циркуляция патогенных лептоспир. Это подтверждают положительные находки участков ДНК возбудителей лептоспирозов при исследовании проб почек молекулярно-генетическим методом. Серологическим методом выявлено наличие антител к патогенным лептоспирам в сыворотках крови мелких млекопитающих.

Положительные результаты в ПЦР получены в 20,7 % от общего количества обследованных животных у представителей семи видов, при серологическом исследовании – в 9,3 % случаев у пяти видов (табл.).

Этиологическая структура возбудителей лептоспирозов на обследованной территории представлена следующими серогруппами: *Icterohaemorrhagiae*, *Grippityphosa*, *Javanica*, *Sejroe*, *Bataviae*, *Autumnalis* с выраженным доминированием серогруппы *Icterohaemorrhagiae* – 68,8 % [2]. Титры антител у обследованных зверьков варьировали от 1:20 до 1:80.

По полученным данным на обследованных территориях Приамурья основными видами носителей лептоспир серогруппы *Icterohaemorrhagiae* являются восточноазиатская и полевая мыши. Большая полевка (*Microtus fortis* Büchner, 1889) – носитель лептоспир серогруппы *Grippityphosa*.

На основании результатов исследований молекулярно-генетическим методом выявлено, что эпизоотически важными являются большая полевка, поскольку среди представителей этого вида обнаружено наибольшее относительное количество инфицированных животных – 36,4 %, и полевая мышь (26,7 %); причем количество исследованных особей полевой мыши в 11,6 раз больше (табл.).

Интенсивность эпизоотического процесса определяется численностью животных-носителей и их подвижностью. В результате проведенного эпизоотологического обследования установлено, что на большинстве территорий численность грызунов была низкой или средней, однако с началом холодов существовала высокая вероятность миграции грызунов из природных стадий в жилые строения, а также увеличения их контактов с синантропными животными. Результаты лабораторных исследований показали невысокий уровень циркуляции лептоспир среди мелких млекопитающих на территории Амурской области, тогда как в Еврейской автономной области и Хабаровском крае сложилась неблагоприятная эпизоотическая обстановка по лептоспирозам, требовавшая проведения усиленных противоэпидемических мероприятий [2]. На основании эпизоотологического обследования были даны рекомендации о необходимости проведения дератизационных мероприятий на эпидемически значимых объектах населенных пунктов, а также санитарно-просветительной работы с населением.

Таблица 1.

**Вовлеченность в эпизоотический процесс при лептоспирозах
мелких млекопитающих Приамурья в паводковый период 2013 г.**

Отряд	Вид	Результаты исследований				
		ПЦР		РМА		
		кол-во	+	кол-во	+	серогруппа
насекомоядные <i>Insectivora</i>	бурозубка тундряная	10	1 10 %	3	0	–
	бурозубка малая		0			
грызуны <i>Rodentia</i>	азиатский бурундук	7	1 14,3 %	0	0	–
	даурский хо- мячок		0			
	красно-серая полевка	25	0	14	0	–
	красная по- левка	21	4 19,1 %	23	1 4,4 %	<i>Icterohaemorrhagiae</i>
	водяная по- левка		1		0	
	узкочерепная полевка	1	0	1	0	–
	большая по- левка	22	8 36,4 %	19	2 10,5 %	<i>Grippotyphosa,</i> <i>Sejroe</i>
	монгольская полевка		2		0	
	мышь- малютка	1	0	1	0	–
	лесная азиатская мышь	3	0	6	0	–
	восточно- азиатская мышь	55	5 9,1 %	49	7 14,3 %	<i>Icterohaemorrhagiae</i> <i>Javanica</i>
	полевая мышь		68 26,7 %		199	
	домовая мышь	13	0	14	0	–
	серая крыса	28	5 17,9 %	3	1 33,3 %	<i>Javanica</i>
	Всего		444		92 20,7 %	

Примечание: «+» – количество положительных проб, в числителе – абсолютное, в знаменателе – относительное.

Заключение

Проведенное эпизоотологическое обследование очагов лептоспирозов в зоне паводка в Приамурье позволило оценить текущую эпизоотическую ситуацию, определить доминирующий и второстепенные виды носителей лептоспир, составить прогноз развития ситуации на послепаводковый период и дать необходимые рекомендации по организации противоэпидемических и профилактических мероприятий.

Литература

1. Ананьина Ю.В. Лептоспирозы людей и животных: тенденции распространения и проблемы профилактики // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2010. – № 2. – С. 13-16.
2. Бренёва Н.В., Носков А.К., Киселева Е.Ю. и др. Анализ ситуации по лептоспирозам в Примурье. Опыт работы в зоне затопления в 2013 г. и прогноз на 2014 г. // Пробл. особо опасных инф. – 2014. – Вып. 1. – С. 94-97.
3. Окунев Л.П., Никитин А.Я., Нехрюк Т.Ю. и др. Анализ ситуации, сложившейся в Амурской области осенью 2013 г., в связи с влиянием паводка на мелких млекопитающих. // Пробл. особо опасных инф. – 2014. – Вып. 1. – С. 105-107.
4. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности: МУ 1.3.2569-09. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2009. – 42 с.
5. Эпидемиология, диагностика и профилактика заболеваний людей лептоспирозами: МУ 3.1.1128-02. – М.: Минздрав России, 2002. – 44 с.

Ответственный автор

Киселева Евгения Юрьевна – младший научный сотрудник отдела биологического и технологического контроля ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.993:579.841.95Francisella-036.2(470+571)"20"

ТРАНСМИССИВНЫЕ ЭПИДЕМИЧЕСКИЕ ВСПЫШКИ (ГРУППОВЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ) ТУЛЯРЕМИИ В РОССИИ В XXI ВЕКЕ

И.С. Мещерякова¹, Т.Н. Демидова¹, В.В. Горшенко², А.А. Добровольский³

¹ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава РФ, Москва,

²ФКУЗ «Противочумный центр», Москва,

³БУ Ханты-Мансийского автономного округа – Югры (Окружная клиническая больница), Ханты-Мансийск

Проведен анализ причин возникновения трансмиссивных вспышек туляремии в последнее десятилетие (Центральный федеральный округ, Архангельская область, город Ханты-Мансийск). Оценена эпизоотическая активность природных очагов туляремии пойменно-болотного типа на этих территориях и состояние иммунопрофилактики туляремии в настоящее время. Даны рекомендации по контролю за эпизоотической и эпидемической ситуацией на территории природных очагов туляремии.

Ключевые слова: туляремия, эпидемиология, трансмиссивная вспышка, диагностика, эпизоотологический мониторинг, вакцинопрофилактика

TRANSMISSIBLE EPIDEMIC OUTBREAKS (GROUP DISEASES) OF TULAREMIA IN RUSSIA IN XXI CENTURY

I.S. Meshcheryakova¹, T.N. Demidova¹, V.V. Gorshenko², A.A. Dobrovolsky³

¹Research Institute of Epidemiology and Microbiology by N.F. Gamalei of Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

²Antiplague Centre of Rospotrebnadzor, Moscow

³Khanty-Mansiysk Autonomous District-Yugra (District hospital)

The reasons of vector-borne tularemia outbreak occurrences in the last decade (the Central Federal district, the Arkhangelsk region, Khanty-Mansiysk city) were analyzed. Epizootic activity of natural tularemia foci of inundated-swamp type in these territories and immunization state against tularemia at present were estimated. Recommendations for the epizootic and epidemic situation control in the territory of the natural tularemia foci were given to prevent epidemic (group disease) outbreaks.

Key words: tularemia, epidemiology, a transmissible outbreak, a diagnosis, epidemiological monitoring, vaccination.

Туляремия – зоонозная природно-очаговая инфекция, возбудитель которой - *Francisella tularensis* – относится к наиболее опасным микроорганизмам, способным вызывать массовые заболевания людей (эпидемические вспышки). Природные очаги туляремии широко распространены на территории РФ. Наиболее активные природные очаги туляремии расположены в Центральной части России, в Западной Сибири и приурочены к крупным водным экосистемам. Особую эпидемическую опасность представляют природные очаги пойменно-болотного типа, основными источниками и носителями возбудителя в которых являются околотовные млекопитающие, а переносчиками – кровососущие членистоногие. Природные очаги туляремии представляют собой устойчивые паразитарные системы, характеризующиеся длительным существованием, многие годы и десятилетия сохраняющие свой эпизоотический и эпидемический потенциал. Эпизоотическая активизация природных очагов приводила к крупным эпидемическим вспышкам, имевшим место в период, предшествовавший массовой вакцинации населения. Такие вспышки описаны для Центральной европейской части России, Западной Сибири, Поволжья [3]. В последние десятилетия туляремия проявляет себя как спорадической заболеваемостью, так групповыми заболеваниями и эпидемическими вспышками. Всего с 2001 по 2013 гг. в РФ было зарегистрировано 2817 случаев туляремии. При этом от 60 до 70 % всех случаев приходится на Центральный, Сибирский и Северо-Западные Федеральные округа. Намечались устойчивые тенденции к изменению эпидемического проявления туляремии в большинстве регионов РФ: отмечена резкая урбанизация заболеваемости – на долю городского населения приходится от 70 до 80 % от числа больных туляремией, также до 20-30 % возрастает число заболевших детей в возрасте до 14 лет. Особую опасность представляют трансмиссивные вспышки туляремии, возникающие в природных очагах пойменно-болотного типа.

В 2005 г. был зарегистрирован высокий уровень заболеваемости туляремией – 881 случай в 35 субъектах РФ, а летом 2005 г. произошла трансмиссивная эпидемическая вспышка туляремии, охватившая пять областей Центрального федерального округа: Воронежскую (35 случаев), Рязанскую (135 случаев), Владимирскую (40 случаев), Московскую (403 случая, включая больных, зарегистрированных в г. Москве), Нижегородскую (130 случаев), а также Свердловскую область (33 случая). Всего зарегистрировано 776 больных, из которых 98 – дети до 14 лет. Источником заражения и факторами передачи возбудителя явились вода и кровососущие двукрылые (в основном слепни). Ведущий тип передачи – трансмиссивный. Преобладали язвенно-бубонная (язвенно-бубонная) и glandularная (бубонная) клинические формы заболевания при средней и легкой тяжести течения инфекционного процесса [1, 4]. При этом сохранилась выраженная урбанизация инфекции – более 80 % заболевших составляли жители города, а также дети до 14 лет, контингенты, не подвергавшиеся профилактическим прививкам. Диагноз туляремии был установлен на основании эпидемиологического анализа и клинического проявления инфекции, а также подтвержден лабораторными исследованиями. Поздняя диагностика сказалась на тяжести и длительности заболевания, а также на своевременности проведения противоэпидемических мероприятий.

Подобная ситуация повторилась в Архангельской области, где практически ежегодно регистрировались случаи туляремии (125 случаев за 2001-2013 гг.), а в 2010, 2012, 2013 гг. имели место групповые заболевания туляремией. Эпидемиологическая ситуация по туляремией в Архангельской области была неблагоприятной, начиная с 2009 г. Летом 2009 г. имели место групповые заболевания туляремией, охватившие по официальным данным 24 человека; единичные случаи туляремии зарегистрированы осенью 2009 г. и ранней весной 2010 г. Эпидемические проявления туляремийной инфекции привели к трансмиссивной эпидемической вспышке в летний период 2010 г. (40 случаев), охватившей значительную часть местных жителей и приезжих (отдыхающих). Обращает на себя внимание значительное число заболевших детей – 11 чел. в возрасте от 3 до 14 лет. Все больные не вакцинированы против туляремии, а заболевания не были связаны с их профессиональной деятельностью. Анализ клинических проявлений (форм) заболевания, а также время инфицирования – лето 2010 г. (начало заболеваний 26.06, последние случаи - начало октября 2010 г.) свидетельствуют о преимущественно трансмиссивном механизме инфицирования (в большинстве случаев обусловленном укусами слепней). Преобладали заболевания средней степени тяжести (более 90 % случаев), легкие формы (около 9 %) и два случая тяжелого течения инфекции. Язвенно-бубонная, glandularная клинические формы туляремии составили около 90 % случаев, ангинозная форма – около 6 % и легочная (бронхиальная) – менее 4 % случаев. При этом заболеваемость туляремией законо-

мерно прослеживалась в районах, расположенных в пойме реки Северная Двина, начиная от ее устья: Приморский, Холмогорский, Виноградовский (Березник), Верхнетоемский, Красноборский, Котласский. Профилактические мероприятия по предотвращению данной эпидемической трансмиссивной вспышки туляремии не были проведены в необходимом объеме. Поэтому в 2012, 2013 гг. были снова отмечены групповые заболевания людей туляремией.

В августе–сентябре 2013 г. в городе Ханты-Мансийске была зарегистрирована трансмиссивная эпидемическая вспышка туляремии, охватившая 1005 человек. Заболевания людей связаны с их пребыванием на территории природного очага туляремии. Высокая эпизоотическая активность природного очага подтверждена выделением культур возбудителя туляремии, обнаружением антител в крови многих видов мелких млекопитающих (ММ). Заражение происходило как в черте города, так и за его пределами. Источниками инфекции были ММ, а переносчиками служили кровососущие двукрылые (комары, мошки). Механизм заражения главным образом – трансмиссивный. Основной клинической формой заболевания была ульцерогландулярная при средней тяжести или легком течении болезни. Диагностика заболевания базировалась на клинико-эпидемиологических данных и подтверждена лабораторными исследованиями. Использованы как традиционные методы диагностики (реакция агглютинации, реакция непрямой гемагглютинации), так и метод полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) для определения ДНК *F.tularensis* [2].

Следует отметить, что эпидемическая вспышка туляремии произошла на фоне существенного уменьшения объема вакцинопрофилактики в городе Ханты-Мансийске, Ханты-Мансийском районе и автономном округе в целом. Это привело к резкому снижению показателей иммунной прослойки населения, проживающего на территории активного очага туляремии, которые варьировали от 0,4 % до 21,4 % в разных административных районах округа, при необходимом уровне защищенности 80-90 %. Значительное снижение объема и качества эпизоотологических исследований и мониторинга территорий активных природных очагов туляремии не позволило своевременно прогнозировать осложнение эпидемической ситуации и предотвратить развитие эпидемической вспышки. Основным средством остановить распространение эпидемии стала массовая вакцинация населения. За период август-сентябрь 2013 г. в городе было вакцинировано 15 846 человек. Массовая экстренная вакцинация населения, проведенная в условиях чрезвычайной ситуации, сопровождалась предварительным обследованием населения с помощью туляриновой пробы. Всего было поставлено 21 148 проб с тулярином, из которых 3716 (17 %) были положительными. Эта группа людей была исключена из контингента, подлежащего вакцинации. Всего до конца 2013 г. в ХМАО было вакцинировано 28 544 и ревакцинировано 33 759 человек.

В связи с заметными изменениями эпидемической активности природных очагов и структуры заболеваемости особую значимость приобретают контроль эпизоотического состояния природных очагов и прогнозирование их эпидемического проявления с внедрением новых технологий, как в процесс мониторинга природных очагов, так и в совершенствование диагностики туляремии.

Литература

1. Мещерякова И.С. Туляремия: современная эпидемиология и вакцинопрофилактика (К 80-летию создания первой туляремийной лаборатории в России) // Журн. эпидемиол. и вакцинопроф. – 2010. – 2(51). – С. 17-22.
2. Мещерякова И.С., Демидова Т.Н., Добровольский А.А. Трансмиссивная эпидемическая вспышка туляремии в городе Ханты-Мансийске в 2013 году // Материалы Международной научной конференции 6-10 апреля 2014 г. Сургут, 2014. – С. 173-174.
3. Некипелов Н.В. Вспышки туляремии в СССР // Известия Иркутского Государственного противочумного института Сибири и Дальнего Востока – 1959. – Т. XX. – С. 133-145.
4. Никифоров В.В., Кареткина Г.Н. Туляремия: от открытия до наших дней. // Инфекц. болезни. 2007. – 5 (1). – С. 67-76.

Ответственный автор

Мещерякова Ирина Сергеевна – Руководитель лаборатории туляремии ФГБУ «НИИЭИ им. Гамалея» Министерства здравоохранения России докт. биол. наук
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.993:579.841.95Francisella-036.2(470+571)“2013”

ЭПИЗОТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ВО ВРЕМЯ ВСПЫШКИ ТУЛЯРЕМИИ В ХАНТЫ-МАНСИЙСКОМ АВТОНОМНОМ ОКРУГЕ (ЮГРА) В 2013 ГОДУ

В.П. Попов

ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора, Москва

Проанализирована эпизоотическая ситуация в период осложнения по туляремии в Ханты-Мансийском автономном округе (Югра) в 2013 г.

Ключевые слова: Ханты-Мансийский автономный округ (Югра), туляремия, эпизоотическая ситуация.

EPIZOOTIC SITUATION AT THE TULAREMIA OUTBREAK IN KHANTY-MANSIYSK AUTONOMOUS REGION (YUGRA) IN 2013

V.P. Popov

Antiplague Centre of Rospotrebnadzor, Moscow

The epizootic situation in connection with tularemia occurrence in Khanty-Mansiysk Autonomous region (Yugra) in 2013 is analyzed.

Key words: Khanty-Mansiysk Autonomous region (Yugra), tularemia, epizootic situation.

Цель работы – анализ эпизоотологической обстановки в период эпидемического осложнения по туляремии в Ханты-Мансийском автономном округе (Югра) в 2013 г.

О массовом распространении туляремии на заболоченных обширных пространствах в Западной Сибири упоминается у Н.Г. Олсуфьева [2], где сообщается, что об этом заболевании с передачей кровососущими насекомыми писали иностранные путешественники, посетившие Россию в XVIII и XIX веках. Позже В.В. Попов и Н.В. Простотина [1] при ландшафтно-эпидемиологическом районировании Тюменской области по туляремии выделили Обский (с Обско-сосьвинским и Верхне-обским участками) и Иртышский (с Нижне-иртышским и Нижне-кондинским участками) пойменные ландшафтно-эпидемиологические районы. Основными носителями туляремии являются водяная полевка (*Arvicola terrestris*) и ондатра (*Ondatra sibirica*).

С 1959 по 1992 годы на территории Ханты-Мансийского автономного округа (ХМАО) из различных объектов окружающей среды были изолированы 94 культуры возбудителя туляремии в восьми районах. В Кондинском районе выделены 33 культуры (пос. Каурья, Мокровка, Новая Пушта, Тугутка, Ермак, Богданы, Болчары и Ильичевка), Березовском – 16 (пос. Березово, Няргигорт, Полноват, Лопоры), Белоярском – четыре (Верхние Тугияны, Пугоры), Ханты-Мансийском – шесть (пос. Зенково, Тюли, Краснотенинский), Нижневартовском – две (пос. Усть-Коленчеган, Молодежный), Октябрьском – 20 (пос. Низямы, Послон озеро, Сергины), Сургутском – восемь (пос. Чеускино, Локосово, Сытомино), Нефтеюганском – пять (о. Гусиный). Культуры возбудителя туляремии были изолированы: из воды – 54, от водяной полевки и ее трупов – 18, от помета водяной полевки – восемь, ондатры – пять, обыкновенной бурозубки (*Sorex araneus*) – три, полевки-экономки (*Microtus oeconomus*) – две, по одной от рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus*), иксодового клеща, почвы и клещей с трупа ондатры (карта).

По данным ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ханты-Мансийском автономном округе» Роспотребнадзора в 2010-2013 гг. возросла эпизоотическая активность природных очагов туляремии. Так, в 2010 г. было исследовано 131 экз. грызунов, от 17 (13 %) рыжих полевок получены положительные серологические результаты (г. Ханты-Мансийск, Нефтеюганский, Нижневартовский, Сургутский, Октябрьский и Ханты-Мансийский районы). В 2011 г. при исследовании 120 грызунов получено 30 (25 %) положительных результатов от красных и рыжих полевок, добытых в гг. Ханты-Мансийск, Нягань, Сургут и Нижневартовск, а также в Нефтеюганском, Октябрьском (пос. Каменное) и Нижневартовском районах (пос. Большетархово и Покур). В 2012 г. от 120 грызунов получено 44 (36,6 %) положительных результата от красных и рыжих полевок, добытых в гг. Сургут, Нефтеюганск и Пыть-Ях, Нижневартовском (пос. Покур, Вата, Заячья речка) Ханты-Мансийском (пос. Шапша и Ягурь-Ях), Октябрьском (пос. Каменное) и Нефтеюганском (пос. Пыть-Ях) районах.

В 2013 г. произошло резкое обострение эпизоотической ситуации по туляремии на значительной территории ХМАО. По данным Иркутского научно-исследовательского противочумного

института при исследовании 120 экземпляров грызунов на туляремию получено 70 положительных (58,3 %) серологических результатов в реакции РНГА с эритроцитарным туляремийным диагностикумом: в г. Сургут – 50,0 %, г. Ханты-Мансийск – 84,2 %, Нижневартовск – 26,3 %, Ханты-Мансийский – 50,0 % (пос. Ярки, Ягурь-Ях, Шапша), Кондинский – 50,0 % (пос. Междуреченский), Березовский – 12,5 %, Нижневартовский – 93,3 % (г. Нижневартовск, пос. Вата), Октябрьский – 85,7 % (пос. Приобье, Сергино, Шеркалы) районах. Положительные серологические результаты (титры 1:20 – 1:80) были получены от красных и рыжих полевков, полевки-экономки и обыкновенных бурозубок.

В августе 2013 г. специалистами ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии (пос. Оболенинск) от мелких млекопитающих, добытых в г. Ханты-Мансийск и Ханты-Мансийском районе, выделены четыре культуры возбудителя туляремии (три – от красных полевков и одна – от обыкновенной бурозубки). От одного больного туляремией из клинического материала изолировано шесть субкультур *Francisella tularensis*.

В сентябре сотрудниками Тюменского научно-исследовательского института краевой и инфекционной патологии от домовых мышей, добытых в Нефтеюганском районе (пос. Пыть-Ях и СУ-62), а также в г. Ханты-Мансийск от домовой мыши и красной полевки получены положительные серологические результаты (1:40 – 1:160), специфические антитела на туляремию были обнаружены у комаров в семи пулах из десяти.



Заключение

В природных очагах туляремии пойменно-болотного типа на территории ХМАО в течение последних лет удалось проследить нарастание эпизоотической активности в виде локальных эпизоотий, о чем Центр гигиены и эпидемиологии в Ханты-Мансийском автономном округе неоднократно сообщал в обзорах по особо опасным инфекциям, направлявшимся в различные организации Роспотребнадзора. К сожалению, профилактические мероприятия по снижению эпизоотической активности очагов туляремии и защите населения были проведены в недостаточном объеме. Разлитые эпизоотии туляремии летом 2013 г. в пойменно-болотных очагах ХМАО способствовали массовому заражению туляремией жителей Ханты-Мансийского района. За летний период здесь заразились и заболели туляремией более 1000 человек. Основной путь заражения людей трансмиссивный (через укусы комаров и слепней).

При подготовке настоящего сообщения были использованы материалы ФБУЗ «ЦГиЭ в Тюменской области» с 1959 по 2006 гг. и Обзоры по ООИ ФБУЗ «ЦГиЭ в Ханты-Мансийском автономном округе» за 2010-2013 гг.

Литература

1. Попов В.В., Простотина Н.В. Ланцшафтно-эпидемиологическое районирование Тюменской области по туляремии // Туляремия и сопутствующие инфекции: Матер. науч.-практич. конф. – Омск, 1965. – С. 234-239.
2. Туляремия / Под ред. Н.Г. Олсуфьева и П.Г. Руднева. – М., 1960. – 460 с.

Ответственный автор

Попов Вячеслав Петрович – зоолог ФКУЗ Противочумный центр Роспотребнадзора
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.993:579.841.95Francisella(470.324)

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ТУЛЯРЕМИИ НА СЕВЕРО-ВОСТОКЕ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ

Т.В. Михайлова¹, И.С. Мещерякова¹, Д.В. Транквилевский²,
М.И. Кормилицына¹, Т.Н. Демидова¹

¹ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения РФ,
Москва

²ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора,
Москва

650 мелких млекопитающих (ММ), собранных в северо-восточных районах Воронежской области, были исследованы на наличие туляремийного антигена и ДНК возбудителя *Francisella tularensis*. Выявлены основные виды ММ, участвующие в циркуляции возбудителя туляремии в природных очагах. Показаны особенности биотопического распределения инфицированных особей ММ на территории природного очага.

Ключевые слова: туляремия, эпизоотии, мелкие млекопитающие, биотопы, станции, обыкновенные полевки, полевая мышь.

CHARACTERISTICS OF NATURAL TULAREMIA FOCI IN NORTHEAST VORONEZH REGION
T.V. Mikhaylova¹, I.S. Meshcheryakova¹, D.V. Trankvilevskiy², M.I. Kormilitsyna¹, T.N. Demidova¹

¹Gamalei Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow

²Federal Center of Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor, Moscow

Small mammals (650 individuals) caught in the north-eastern districts of the Voronezh region were investigated for the presence of the tularemia antigen and *Francisella tularensis* DNA. The basic species of small mammals involved in the pathogen circulation in natural tularemia foci were revealed. The peculiarities of biotopic distribution of the infected mammals are discussed.

Key words: tularemia, epizootic, small mammal, biotope, station, a common vole, field mice.

Природные очаги туляремии на территории Воронежской области регистрируются уже несколько десятилетий. Эти очаги до сегодняшнего дня остаются эпидемически и эпизоотически активными. Эпидемические вспышки регулярно регистрировали в области в середине прошлого столетия [3]. В дальнейшем, с введением массовой вакцинации людей, заболеваемость туляремией резко со-

кратилась до единичных случаев. Однако в 2005 г. произошла трансмиссивная вспышка, которая охватила многие области Центрального региона РФ [2, 4]. В Воронежской области зарегистрировано 35 случаев заболевания туляремией, что составило практически половину всех случаев за последние 45 лет.

Воронежская область расположена в двух природных подзонах: лесостепь и северные степи. Большая часть территории представляет собой сельскохозяйственные земли; лесные массивы сохранились в поймах рек или в виде защитных полос. Разнообразие природных ландшафтов создает предпосылки для обитания здесь различных видов мелких млекопитающих (ММ), являющихся источниками инфекции. На территории Воронежской области существуют луго-полевые, пойменно-болотные и лесные природные очаги туляремии [1].

Цель работы – оценка эпизоотической активности природных очагов туляремии в Воронежской области в настоящее время, выявление особенностей их пространственного распределения.

Материал и методы

Сбор материала проводили в Аннинском, Верхнехавском, Панинском, Эртильском районах в летний период 2011 г. и в Терновском районе зимой 2014 г. ММ отлавливали методом ловушко-линий по стандартной методике. Всего было отработано более 4000 ловушко-суток (л-с) и отловлено 650 особей ММ разных видов: обыкновенные полевки рода *Microtus*, рыжие, водяные полевки, полевые, лесные, желтогорлые и домовые мыши, мыш-малютка, лесная соня, серый хомячок, бурозубки разных видов. В летний период были обследованы полевые, лесные, увлажненные балочно-овражные станции, постройки человека; в зимний период ММ отлавливали в закрытых луго-полевых станциях – в стогах.

Для исследования у ММ отбирали селезенку и/или печень. Наличие туляремийного антигена выявляли при помощи реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) с эритроцитарным туляремийным иммуноглобулиновым диагностикумом (набор «РНГА-Тул-СтавНИПЧИ», Россия, (сер. 6-11 ЭКСП-ПР) [5]. Для выделения ДНК возбудителя туляремии применяли метод полимеразной цепной реакции (ПЦР-РВ). ДНК выделяли с помощью набора «Проба Репид» (ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Россия).

Результаты и обсуждение

Положительные результаты (выявление антигена и/или ДНК *Francisella tularensis* у ММ) были получены во всех точках сбора материала. В эпизоотическом процессе принимали участие восемь видов ММ: обыкновенные полевки, рыжая полевка, полевые, лесные, желтогорлые и домовые мыши, мыш-малютка, бурозубки.

Основную роль в циркуляции возбудителя туляремии играли обыкновенные полевки (55 %) и полевые мыши (17 %), меньшую – лесные и желтогорлые мыши, остальные виды имели второстепенное значение. Однако роль каждого вида ММ в поддержании эпизоотического процесса в разных биотопах различна. Наиболее разнообразный видовой состав мелких млекопитающих, как и состав инфицированных туляремией зверьков отмечен в полевых станциях и во влажных биотопах. На обследованной территории наиболее распространены полевые станции. Здесь доминировали обыкновенные полевки, достигая летом численности более девяти особей на 100 ловушко/суток. В этих биотопах они играют основную роль в циркуляции возбудителя туляремии (63%). В циркуляцию возбудителя туляремии включались также полевая мыш и лесная мыш. Зимой в закрытых полевых станциях эпизоотический процесс поддерживали обыкновенные полевки (73 %), мыш-малютка (15 %) и в меньшей степени другие виды ММ.

Во влажных биотопах основными носителями возбудителя туляремии были полевые мыши и обыкновенные полевки, в лесных – желтогорлые мыши. В постройках человека, несмотря на достаточное разнообразие ММ с преобладанием домовой мыши, эпизоотии туляремии практически не поддерживались ММ.

Заключение

На исследованной нами территории выявлены основные носители возбудителя туляремии – серые полевки и полевые мыши, с вовлечением в эпизоотический процесс и других видов ММ, обитающих в различных биотопах. Наиболее активные очаги приурочены к полевым и увлажненным станциям, где в эпизоотию вовлекаются несколько видов ММ. Луго-полевые природные очаги туляремии поддерживаются, в основном, за счет доминирующих видов ММ: серых полевок и полевых мышей.

Очаги туляремии в Воронежской области имеют смешанный характер. Как правило, многие природные очаги сочетают в себе элементы луго-полевого, пойменно-болотного, лесного комплекса. В таких местообитаниях формируется разнообразный видовой состав ММ. Это способствует увеличению контактов между зверьками, что в свою очередь обеспечивает циркуляцию возбудителя туляремии в очагах.

Для прогнозирования уровня заболеваемости людей туляремией и проведения профилактики необходим постоянный мониторинг численности, инфицированности и распределения основных носителей инфекции на территории природных очагов.

Литература

1. Квасов Д.А., Ромашов Б.В., Простаков Н.И. и др. Об инфицированности мелких млекопитающих возбудителями особо опасных инфекций в Воронежской области в 2012 году // Современные проблемы зоологии и паразитологии. – Воронеж. – 2013. – С. 72-75.
2. Мещерякова И.С. Туляремия: современная эпидемиология и вакцинопрофилактика // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2010. – № 2 (51). – С. 17-22.
3. Некипелов Н.В. Вспышки туляремии в СССР // Известия Иркутского Государственного научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока. – 1959. – Т. XX. – С. 133-146.
4. Никифоров В.В., Кареткина Г.Н. Туляремия: от открытия до наших дней. – 2007. – Т. 5 (1). – С. 67-76.
5. Эпидемиологический надзор за туляремией: Методические указания (МУ 3.1.2007-05). – М. – 2005. – 59 с.

Ответственный автор:

Михайлова Татьяна Владимировна – старший научный сотрудник ФГБУ «НИИЭИ им. Гамалея» Министерства здравоохранения России канд. биол. наук
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.993:579.841.95Francisella(470.324)

АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ТУЛЯРЕМИЕЙ В АРХАНГЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

Т.Н. Демидова¹, В.В. Горшенко², И.С. Мещерякова¹

¹ ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава РФ, Москва,

² ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора; г. Москва

Проведен эпидемиологический анализ регистрируемой заболеваемости туляремией в Архангельской области. Показаны некоторые особенности проявления природных очагов туляремии в настоящее время. Впервые клинико-эпидемиологический анализ и результаты лабораторных исследований выявили больных, инфицированных возбудителями двух природно-очаговых инфекционных болезней (туляремия и лептоспироз), что свидетельствует о наличии сочетанных природных очагов этих заболеваний на территории Архангельской области. Со времени введения массовой иммунизации против туляремии в СССР, с середины прошлого века и по настоящее время, наиболее эффективной мерой профилактики туляремии остается вакцинация людей живой туляремийной вакциной.

Ключевые слова: туляремия, природные очаги, эпидемиология, микст-инфекция, профилактика.

ANALYSIS OF TULAREMIA MORBIDITY IN ARKHANGELSK REGION

T.N. Demidova¹, V.V. Gorshenko², I.S. Meshcheryakova¹

¹Research Institute of Epidemiology and Microbiology by N.F. Gamalei of Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow; ²Antiplague Centre of Rospotrebnadzor, Moscow

An epidemiological analysis of the recorded tularemia cases in the Arkhangelsk region was conducted. Some features of natural tularemia foci manifestations at the present time were revealed. For the first time clinical-epidemiological analysis and laboratory findings revealed patients infected with two

natural focal infections (tularemia, leptospirosis) that indicated the presence of combined natural foci of these infections in the Arkhangelsk region. Since the mass immunization against tularemia in the USSR (from the middle of the last century to the present days) the most effective preventive measure against tularemia is human vaccination with a live tularemia vaccine.

Key words: tularemia, natural foci, epidemiology, mixed infection, prevention.

Туляремия – природно-очаговая зоонозная инфекция, имеет широкое распространение на территории России. Очаги этой инфекции характеризуются стойкостью, длительностью существования и способностью проявлять активность через много лет эпизоотического и эпидемического благополучия. В последние годы об активности природных очагов туляремии становится известно только после выявления больных этой инфекцией, т.е. именно больные люди становятся индикаторами эпизоотического неблагополучия местности. Такая ситуация складывается во многих природных очагах России, в том числе в Архангельской области.

Архангельская область Северо-Западного федерального округа имеет в своем составе 19 муниципальных районов. В 13 из них существуют активно действующие очаги пойменно-болотного и тундрового типов. Территории 255 населенных пунктов считаются энзоотичными по туляремии в связи с регистрацией случаев данного заболевания. Наличие природных очагов этой инфекции также было подтверждено выделением культур или выявлением антигена возбудителя туляремии из объектов внешней среды. В последние годы в области сокращались объемы плановых эпизоотологических обследований, что отразилось на прогнозировании эпизоотической и эпидемической ситуации по туляремии.

Цель работы – анализ ежегодной регистрируемой заболеваемости туляремией в Архангельской области.

Материалы и методы

В работе использованы отчетные материалы и карты эпидемиологического обследования случаев заболеваний людей туляремией в Архангельской области.

Результаты и обсуждение

Впервые больные туляремией в Архангельской области были зарегистрированы в 1949 г. – 152 случая. С середины этого же года началась вакцинация населения против данной инфекции. В 1950 г. заболело туляремией 188 человек, из них 85 – в Ленском районе в результате укусов кровососущими насекомыми. В последующие шесть лет заболеваемость выявляли в виде единичных случаев. Крупная эпидемическая вспышка туляремии, насчитывающая 652 случая, произошла в 1957 г. Наибольшее число случаев зарегистрировано в августе и сентябре в трех районах – Вилегодском (70), Котласском (49), Ленском (49), в других районах выявлено от 10 до 28 больных. Был установлен основной путь передачи инфекции – трансмиссивный. До 1964 г. наблюдалось относительное эпидемическое спокойствие, когда заболеваемость людей туляремией отмечали в виде спорадических случаев и небольших групповых заболеваний от 4 до 9 больных. В большей степени заражению подвергались сельские жители, проживающие на энзоотичных территориях, их доля составила более 80 %. Начиная с 70-х гг. происходит изменение в структуре заболеваемости – увеличение доли городского населения и соответственно уменьшение доли сельских жителей. Это было обусловлено ежегодно проводимой на энзоотичных по инфекции территориях иммунизацией сельского населения, тогда как городское население не прививалось.

С начала 2000-х годов туляремия в Архангельской области характеризовалась спорадической заболеваемостью. Вспышка (15 больных) была зарегистрирована в 2002 г. в пяти районах, расположенных в бассейне реки Северная Двина, с наибольшим числом заболевших в Холмогорском (5) и Шенкурском (6) районах. До 2008 г. включительно в области отмечалось относительное эпидемическое благополучие, что привело к снижению количества ежегодно прививаемого населения. Так, в 2008 г. иммунизировано 31,3 % от числа привитых людей в 2000 г. Уже в 2009 г. было зарегистрировано 24 больных, а в 2010 г. – 40 случаев туляремии. По материалам 40 карт эпидемиологического обследования случаев заболеваний людей туляремией в 2010 г. заражение произошло в Верхнетомском, Красноборском, Онежском, Приморском, Устьяновском, Холмогорском районах, а также на территориях городов Архангельска, Вельска, Котласа, Новодвинска, Онеги и Северодвинска (в зонах отдыха во время купания в водоемах). Больные не были привиты против туляремии. Возраст заболевших людей варьировал от 3 до 73 лет, из них 8 детей до 18 лет. Удельный вес городских жителей составил 65,6 %. Преобладали бубонная, кожно-бубонная и язвенно-бубонная клинические формы туляремии. Также отмечены ангинозно-бубонная, легочная и бронхитическая клинические формы, в большинстве случаев заболевание было средней тяжести. Выявлен семейный очаг в г. Вельске: мать и дочь заболели легочной и бронхитической формами туляремии, что предполагает аспираци-

онный механизм заражения. Очевидно, что факторами заражения послужили шкуры животных (бобров, куниц, лис и др.), добытых главой семьи – профессиональным охотником, который снимал, сушил, выдeldывал шкуры в домашних условиях. По месту жительства не было проведено эпизоотологического обследования (не исследовались на туляремию остатки добытых шкур, не взяты для исследования смывы с мест выделки шкур, в холодильнике и т.д., не организован отлов грызунов в доме). Также, при вероятном аспирационном механизме заражения, не было организовано медицинское обследование других жильцов дома. Подобные случаи требуют особого внимания при проведении эпидемиологического расследования.

В Котласском районе у двух человек при клинико-эпидемиологическом обследовании и по результатам лабораторных исследований выявлено микст-инфицирование возбудителями туляремии и лептоспироза. Инфицирование больных произошло во время купания в реке Северная Двина, также отмечены укусы кровососущих насекомых. Это может свидетельствовать о наличии сочетанных природных очагов туляремии и лептоспирозов в этом районе.

По эпидемиологическим показаниям провели иммунизацию против туляремии, что дало возможность остановить распространение инфекции. В результате в 2011 г. зарегистрировано всего четыре случая туляремии. Однако, уже в 2012 г. зарегистрировано 25, а в 2013 г. – восемь больных. Это свидетельствует об активности природных очагов туляремии и необходимости постоянного мониторинга за ними.

Заключение

Анализ ежегодно регистрируемой заболеваемости туляремией позволил подтвердить активность уже известных очагов и, вместе с тем, выявить территории, ранее не считавшиеся энзоотичными, но имеющие сходные ландшафтные характеристики с близлежащими природными очагами. На основании МУ 3.1.2007-05 [1], территории в населенных пунктах Вельского, Онежского, Приморского, Холмогорского районах, где произошло заражение людей, следует считать энзоотичными по туляремии.

В основном болеют не привитые против туляремии, это дает основание утверждать, что иммунизация продолжает оставаться наиболее эффективной мерой профилактики данной инфекции. Существует определенная проблема незащищенности городского населения, подвергающегося риску заражения туляремией при выезде на территории природных очагов.

Клинико-эпидемиологический анализ и результаты лабораторных исследований позволили выявить больных, микст-инфицированных двумя возбудителями природно-очаговых заболеваний (туляремия, лептоспироз), что свидетельствует о наличии сочетанных природных очагов на территории Котласского района в Архангельской области.

Литература

1. Эпидемиологический надзор за туляремией: МУ 3.1.2007-05. – М., 2005. – 59 с.

Ответственный автор:

*Демидова Татьяна Николаевна – старший научный сотрудник ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалея» Министерства здравоохранения России канд. биол. наук профессор
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru*

УДК: 619:993.98:579.841.95Francisella(574)

ЭПИЗОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ТУЛЯРЕМИИ КАЗАХСТАНА НА ПРИГРАНИЧНОЙ С РОССИЕЙ ТЕРРИТОРИИ

Т.Н. Куница¹, У.А. Избанова¹, В.Г. Мека-Меченко¹, Н.С. Майканов²,
В.П. Садовская¹

¹РГКП «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекции
им. М. Айкимбаева, г. Алматы, Казахстан

²Уральская противочумная станция, г. Уральск, Казахстан

Общая площадь природных очагов туляремии Казахстана составляет 520 тыс. км², значительная часть из которых расположена на приграничной с Россией территории. Проведен анализ эпизоотического состояния очагов туляремии Казахстана на приграничной с Россией территории с 2000 по 2014 гг.

Ключевые слова: туляремия, эпизоотии туляремии, природные очаги туляремии.

EPIZOOTIC ACTIVITY OF NATURAL TULAREMIA FOCI OF KAZAKHSTAN IN FRONTIER TERRITORY WITH RUSSIA

T.N. Kunitsa¹, U.A. Izbanova¹, V.G. Meka-Mechenko¹, N.S. Maikanov², V.P. Sadovskaya¹

¹Kazakh Research Centre of Quarantine and Zoonotic Infections of M. Aikimbaev, Almaty, Kazakhstan

²Ural Antiplague Station, Uralsk, Kazakhstan

The total area of the natural tularemia foci in Kazakhstan is 520 thousand km² and its considerable part is located in frontier territory with Russia. Epizootic conditions of the Kazakhstan tularemia foci in frontier territories with Russia are analyzed from 2000 to 2014.

Key words: tularemia, epizooty, natural foci.

Общая протяженность границы Казахстана – 12012 км, из которых граница с Россией имеет длину 6846 км. На территории Казахстана расположены природные очаги туляремии предгорно-ручьевого, степного, пойменно-болотного и тугайного типа, эпизоотическая активность которых ежегодно подтверждается выделением штаммов туляремийного микроба [3]. Общая площадь природных очагов туляремии Казахстана, значительная часть из которых расположена на приграничной с Россией территории, составляет 520 тыс. км².

Цель работы – анализ эпизоотологического состояния очагов туляремии Казахстана на приграничной с Россией территории с 2000 по 2014 гг.

Материалы и методы

В работе использовались отчеты противочумных станций, внеочередные донесения и паспорта штаммов.

Результаты и обсуждение

Западные районы Казахстана связаны с природными очагами туляремии России реками Ащиюзек, Большой и Малый Узень, крупной речной артерией – р. Урал с многочисленными притоками (р. Илек, р. Утва, р. Кобда и др.), вдоль которых сформировались стойкие активные действующие природные очаги туляремии [1].

В последнее десятилетие в природных очагах туляремии Западно-Казахстанской области эпизоотическая активность увеличилась, что обусловлено ростом численности грызунов, вызванных благоприятными погодными условиями 1999-2001 гг. Практически на всей территории области заметно увеличилась численность обыкновенной полевки и домовая мышь. Эти виды мышевидных грызунов обычно обитают в околородных биотопах. Однако в последние годы их численность заметно увеличилась и в ксерофитных условиях, показатель численности в степных очагах колебался в весенний период от 4,4 % до 12 %, в осенний – от 12,9 % до 21,9 %. Заметно увеличилась и численность малого суслика, которая достигла среднемноголетнего уровня (2130 особей на 1 км²). В пробах полевого материала стала обычной малая белозубка. По всей территории области заметно возросла численность

пастбищных клещей, в частности *Dermacentor marginatus*, которые стали обычными и в сухих биотопах. Заметно увеличилась активность нападения этих переносчиков. В совокупности все эти факторы, видимо, способствовали распространению туляремии из оптимальных мест локализации этой инфекции. Эпизоотии в 2001 г. в основном были приурочены к долине р. Урал, Урало-Кушумскому междуречью, Большому и Малому Узеню. Весной 2002 г. обнаружена эпизоотия в Жанибекском районе, где от доменной и лесной мышей изолированы два штамма туляремии. Эпизоотический участок примыкает к долине р. Ащеузек, где наблюдалась повышенная численность обыкновенной полевки. В 2002 г. после 37-летнего перерыва в области был зарегистрирован единичный случай заболевания человека туляремией в Казталовском районе. В 2003 г. эпизоотия распространилась на Зауралье, в 2004 г. эпизоотическая активность зарегистрирована в районе Саралджин-Самарских озер, единичные культуры выделялись в Зауралье. Выделен 31 штамм возбудителя от мелких млекопитающих и 15 – от пастбищных клещей. В 2005 г. эпизоотическая активность значительно снизилась и регистрировалась по долинам рек Большого и Малого Узеня. В 2006 г. зарегистрировано четыре эпизоотических участка в Зауралье (1 штамм от белозубки малой и 3 – от клещей), в 2007 г. выделены три культуры возбудителя туляремии также в Зауралье. В весенние периоды 2008-2009 гг. были выявлены два новых эпизоотических участка: в Таскалинском и Сырымском районах Западно-Казахстанской области. Отмечена высокая численность и зараженность пастбищных клещей, что свидетельствует о значительном риске заражения людей туляремией. В 2007 г. в Западно-Казахстанской области зарегистрирован случай туляремии в городе Уральске. В последние годы особенно заметно выросла численность обыкновенной полевки. С 2011 по 2013 гг. отмечена крупнейшая эпизоотия туляремии в Джангалинском и Бокейординском районах, которая глубоко распространилась в песчаную зону на несколько десятков километров. Кроме обыкновенных полевок в эпизоотический процесс были вовлечены домовые мыши, гребенщикове и полуденные песчанки, землеройки, малые и большие суслики.

Северные и северо-восточные районы Казахстана связаны с природными очагами туляремии России Ишимским и Иртышским бассейном рек [3].

В Костанайской области помимо водных артерий (р. Тобол, р. Убаган, р. Уй и р. Тургай) имеются многочисленные мелководные степные озера, которые формируют природные очаги туляремии пойменно-болотного типа. Основной носитель – водяная полевка. В эпизоотию вовлекаются обыкновенная полевка, стадная полевка, степная пеструшка, лесная мышь, полевка - экономка, домовая мышь. Основные переносчики – иксодовые клещи рода *Dermacentor* (*D. marginatus*, *D. pictus*). Северо-Казахстанская область характеризуется равнинным рельефом, бедностью речной сети и обилием озер (более 2000). С юго-запада на северо-восток ее пересекает река Ишим, берега которой богаты луговым разнотравьем и зарослями камыша. Наибольшей эпизоотической активностью обладают районы, расположенные в северной части области [2]. Основной носитель в этих очагах – водяная полевка (численность ее достигает 50 особей на 1 км береговой линии, зараженность – 0,4-2,8 %). В эпизоотию вовлекаются мышевидные грызуны. С 2000 по 2014 гг. в области зарегистрировано семь случаев заболеваний туляремией, связанные с отловом ондатры и использованием инфицированной воды открытых водоемов для питья и хозяйственных нужд.

Иртышский пойменно-болотный очаг туляремии занимает значительную часть территории Павлодарской области, северную Восточно-Казахстанской. Основной носитель – водяная полевка, численность которой составляет от 0,8-36,7 % попадания в ловушки, зараженность достигает 0,5 %. В эпизоотический процесс вовлекается ондатра, лесные и домовые мыши, сибирская красная и стадная полевки. Иртышский очаг до настоящего времени проявляет очень высокую эпизоотическую активность. В 2007 г. культуры возбудителя туляремии не выделялись, однако антиген обнаруживался в мумифицированных грызунах, найденных на территории Качирского района в пойме реки Иртыш. В 2008, 2011 и 2012 гг. изолированы культуры возбудителя туляремии от клещей *D. marginatus* и *D. pictus*. в Железинском районе (в пяти км от с. Железинка), а также при серологическом исследовании погадок хищных птиц на территории Качирского района (с. Осьмерыжск, пойма р. Иртыш) обнаружен антиген туляремийного микроба.

Алтайский предгорно-ручьевого очаг, расположенный на территории Российской Федерации, южными районами располагается в Восточно-Казахстанской области вплоть до границ с Китаем. В последнее десятилетие отмечалась высокая эпизоотическая активность в Алтайском предгорно-ручьевом очаге Восточно-Казахстанской области. Основной носитель в очаге водяная полевка. В эпизоотию вовлекаются другие виды полевок, а также грызуны, относящиеся ко 2 группе (серая крыса, полевая мышь), что указывает на высокую эпизоотическую активность очага. С 2000 г. отмечается увеличение эпизоотической активности этого очага [4]. В апреле 2000 г. в пригороде г. Усть-Каменогорска (п. Металлург) при исследовании блох, снятых с грызунов, выделена культура туляремийного микроба. В 2001 г. выделено восемь культур туляремийного микроба (в Зайсанском – 7 культур вблизи поселков Саржир, Бокасу и Даирово, Урджарском – одна культура вблизи с. Алексеевка). В 2001 г. зарегистрирован случай заболевания туляремией кожно-бубонной формой в Шемонаихинском районе.

В 2002 г. в Восточно-Казахстанской области зарегистрировано 14 случаев заболеваний людей туляремией: в Глубоковском районе – девять случаев, по одному в Зайсанском, Катон-Карагайском,

Жарминском районах и два случая в г. Усть-Каменогорске. Заболевания регистрировались до 2006 г. (2003 -7, 2004 – 5, 2005 – 8, 2006 – 5 случаев) в основном в Глубоковском, Зайсанском, Зырянском, Катон-Карагайском районах, были связаны, в основном, с употреблением воды и продуктов питания, инфицированных больными туляремией мелкими мышевидными грызунами, заселившими жилье. Заражение также происходило при разделке тушек больных зайцев и укусах клещей. У больных чаще всего регистрировалась ангинозно-бубонная форма туляремии, реже язвенно-бубонная. Последнее заболевание зарегистрировано в 2011 г. и было связано с употреблением воды и продуктов питания, инфицированных больными туляремией мелкими мышевидными грызунами.

Заключение

Таким образом, значительная часть природных очагов туляремии Казахстана связана с природными очагами туляремии России реками, расположенными в приграничной с Россией зоне, вдоль которых сформировались стойкие активные природные очаги туляремии. В 2000-2014 гг. отмечены разлитые эпизоотии в верховьях рек Большой и Малый Узень, в северных районах р. Урал, в Ишимском и Иртышском бассейне рек. Для проведения адекватных профилактических мероприятий необходима взаимоинформация об эпизоотической активности этих территорий.

Литература

1. Гражданов А.К., Кожанова О.И., Топорков А.В., Аязбаев Т.З., Матвеева Н.И., Карнаухова И.Г., Попов Н.В., Раздорский А.С., Архипова Г.Н. Сравнительный анализ проявлений опасных инфекций в Саратовской и Западно-Казахстанской областях в целях современной оценки эпидемиологических рисков // Пробл. особо опасн. инфекций. – Саратов. – 2013. – Вып. 4. – С. 16-23.
2. Куница Г.М., Айкимбаев М.А., Тлеугабылов М.К. и др. О природной очаговости и эпидемиологии туляремии в Северо-Казахстанской области // Пробл. особо опасн. инфекций. – Саратов, 1976. – Вып. 5(51). – С. 58-61.
3. Куница Т.Н. «Современные особенности туляремии в Казахстане» ISBN 978-3-659-12793-9.- Германия (Saarbrücken, LAMBERT Academic Publishing). – 2014. – 85 с. (<https://www.ljubljuknigi.ru>)
4. Куница Т.Н., Мека-Меченко Т.В., Лухнова Л.Ю. и др. Заболеваемость туляремией в Казахстане // Пробл. особо опасн. инфекций. – Саратов, 2001. – В. 1 (81). – С. 52-55.

Ответственный автор:

Куница Татьяна Николаевна – ведущий научный сотрудник Казахского центра карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева канд. мед. наук
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.9-002.952-033(470.638)

ЦИРКУЛЯЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ТРАНСМИССИВНЫХ ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫХ ИНФЕКЦИЙ В РЕГИОНЕ КАВКАЗСКИХ МИНЕРАЛЬНЫХ ВОД СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ

Н.Ф. Василенко¹, А.В. Ермаков², О.В. Малецкая¹,
О.В. Семенко¹, А.Н. Куличенко¹

¹ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь

²Управление Роспотребнадзора по Ставропольскому краю, Ставрополь

Изучены условия, способствующие циркуляции возбудителей трансмиссивных природно-очаговых инфекций, в том числе опасных, в регионе Кавказских Минеральных Вод Ставропольского края. Определен спектр и природные резервуары возбудителей данных инфекций.

Ключевые слова: эпизоотологический мониторинг, трансмиссивные природно-очаговые инфекции, возбудитель, резервуар.

CIRCULATION OF PATHOGENS TRANSMISSIBLE NATURAL FOCAL INFECTIONS IN CAUCASIAN MINERAL WATERS OF STAVROPOL REGION

N.F. Vasilenko¹, A.V. Ermakov², O.V. Maletskaya¹, O.V. Semenko¹, A.N. Kulichenko¹

¹The Federal Government Public Health Institution Stavropol Anti-Plague Institute of the Rospotrebnadzor, Stavropol, Russia,

²Menegment of Rospotrebnadzor across the Stavropol territory, Stavropol, Russia

The conditions promoting circulation of transmissible natural focal infections pathogens, were studied, including particularly dangerous in Caucasian Mineral Waters region of Stavropol Territory. Was defined range of pathogen these infections. Natural reservoirs of these diseases pathogens were established.

Key words: epizootological monitoring, transmissible natural focal infections, pathogen reservoir.

Территория Кавказских Минеральных Вод (КМВ) – уникальный, особо охраняемый эколого-курортный регион Российской Федерации, расположенный в южной части Ставропольского края и на северных склонах Главного Кавказского хребта, не имеющий по своим природно-лечебным ресурсам аналогов в мире. Разнообразие ландшафтов в сочетании с теплым климатом создают условия для циркуляции возбудителей бактериальных и вирусных инфекций, передающихся человеку трансмиссивным путем различными видами клещей и комаров [1]. Благоприятные природно-климатические условия, снижение объемов дератизационных, дезинсекционных и акарицидных мероприятий привели к резкому увеличению численности основных носителей и переносчиков возбудителей трансмиссивных природно-очаговых инфекционных болезней. При отсутствии способности клещей передавать возбудителя инфекции потомству их резервуаром являются дикие и синантропные животные – прокормители клещей. При этом иксодовым клещам отводится определенная роль в поддержании эпизоотического процесса. Иксодовые клещи и их прокормители объединены между собой трофическими связями, что обеспечивает циркуляцию возбудителя в природном очаге [2]. Вместе с тем, до последнего времени в регионе КМВ комплекс этих условий оставался практически не изученным, мало уделялось внимания оценке эпидемиологической обстановки по трансмиссивным природно-очаговым инфекциям, не определен спектр их возбудителей и не выявлены природные резервуары основных носителей и переносчиков возбудителей данных инфекций.

Цель работы – выявление природных резервуаров и основных переносчиков возбудителей трансмиссивных природно-очаговых инфекций в регионе Кавказских Минеральных Вод Ставропольского края.

Материалы и методы

Сбор полевого материала в различных ландшафтно-географических зонах осуществляли в период с марта по ноябрь в 2010-2012 гг. Точки сбора полевого материала для исследований в рамках мониторинга были подобраны таким образом, чтобы наиболее полно охарактеризовать обследуемую территорию в отношении распространения возбудителей трансмиссивных природно-очаговых инфекционных болезней с учетом ландшафтной зональности.

На территории региона КМВ было собрано 5632 экз. клещей, представленных шестью видами семейства *Ixodidae*; 1326 экз. комаров 12 видов; 690 экз. мелких млекопитающих восьми видов; 28 погадок птиц; 306 сывороток крови мелких млекопитающих.

Для выявления антигенов возбудителей инфекционных болезней использовали иммуноферментные тест-системы производства ЗАО «ВекторБест» (п. Кольцово, Новосибирской обл.); ЗАО «Биосервис» (г. Боровск, Калужской обл.); ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора (г. Ставрополь). РНК/ДНК возбудителей инфекций выявляли с помощью наборов реагентов ООО «ИнтерЛабСервис» (г. Москва).

Проверку достоверности различий или сходства между изучаемыми характеристиками, полученными при исследовании сравниваемых выборок, проводили с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r_s) [3].

Результаты и обсуждение

Антиген вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) выявлен у клещей *Dermacentor marginatus* – 40 проб из 350 исследованных и *D. reticulatus* – 14 проб из 197 исследованных. Наименьшее число положительных пулов (2 из 21) обнаружено при исследовании клещей *Hyalomma marginatum*. Всего из 845 пулов положительными на наличие антигена вируса ККГЛ были 75 (8,9 %). По административным территориям КМВ максимальная вирусозоносность установлена в Минераловодском районе (25 %), минимальная – в г. Ессентуки (3,9 %) (r_s 0,730).

Полученные данные свидетельствуют об активном состоянии природного очага Крымской геморрагической лихорадки (КГЛ) в регионе КМВ, как и на всей территории Ставропольского края. Показатели вирусозоносности клещей отдельных видов свидетельствуют о том, что основным резервуаром и переносчиком возбудителя КГЛ в природном очаге этой инфекции на территории КМВ являются клещи *D. marginatus* и *D. reticulatus*, в отличие от полупустынь и степей Ставропольского края, где эту роль выполняет клещ *H. marginatum*.

На наличие антигена вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) методом ИФА исследовано 3893 экз. иксодовых клещей, объединенных в 548 пулов. Выявлена 51 положительная проба. Наиболее высокий показатель зараженности вирусом установлен у клещей *D. marginatus* (60,9 %), наименее зараженными оказались клещи *Haemaphysalis punctata* (6,5 %). Общая зараженность клещей возбудителем клещевого вирусного энцефалита составила 9,3 % (r_s 1,0). Максимальная вирусозоносность выявлена в Предгорном районе – 50,9 %, почти вдвое ниже в г. Кисловодске – 23,5 %, минимальная – в городах Ессентуки и Пятигорске (1,9 %).

Иксодовые клещи являются специфическими переносчиками возбудителя туляремии и подлежат исследованию на наличие этого возбудителя при эпизоотологическом обследовании. Антиген и ДНК возбудителя туляремии выявлены в трех (1,7 %) пулах клещей *D. marginatus* и одном – *Ixodes ricinus* из 231 исследованного (1751 экз.). Все положительные пробы обнаружены на территории Предгорного района.

При исследовании 151 пробы клещей в 20 (13,2 %) обнаружена РНК *Borrelia burgdorferi* s.l. В основном, клещи представлены тремя видами: *D. marginatus*, *D. reticulatus* и *I. ricinus*. Из 20 положительных проб 11 доставлены из г. Кисловодска, где регистрируется самая высокая заболеваемость иксодовым клещевым боррелиозом. При анализе инфицированности клещей *B. burgdorferi* s.l. по видам максимальный показатель установлен у лесного клеща *I. ricinus* – 17 проб из 74, что составило 23 %.

Впервые в Ставропольском крае, а именно в регионе КМВ, у иксодовых клещей выявлена ДНК *Anaplasma phagocytophilum*. Из 151 пробы положительный результат показали 25 (16,6 %) (клещи видов *D. marginatus* и *I. ricinus*). Более половины инфицированных проб обнаружено в Предгорном районе – 15 (60 %) из 25. И по территориальному распределению, и по видовой инфицированности первое место принадлежит лесному клещу *I. ricinus* (r_s 0,7).

При исследовании 27 пулов комаров РНК вируса Западного Нила (ВЗН) выявлена в одной пробе комаров *Anopheles messeae*, отловленных в Минераловодском районе.

Повсеместное распространение грызунов во всех ландшафтных зонах, высокая плотность их популяций, тесные связи с кровососущими членистоногими, чувствительность к заражению, склонность к персистентной инфекции с передачей возбудителя вертикальным путем, синантропность многих видов грызунов позволяют этим позвоночным участвовать в циркуляции большого числа возбудителей природно-очаговых трансмиссивных инфекций.

При обследовании 348 мышевидных грызунов антиген вируса ККГЛ выявлен в 23 (6 %) пробах головного мозга у 6 видов грызунов, в том числе: мышей подрода *Sylvaemus* (11 проб), полевки обще-

ственной (5), мыши домовая (3), мыши полевой (2) и по 1 пробе мыши малютки и полевки обыкновенной.

Антиген ВЗН обнаружен в 5 (3,1 %) пробах головного мозга и 14 пробах (6,5 %) печени мышей подрода *Sylvaemus*, а также в 1 пробе мыши полевой.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что среди грызунов, вовлекаемых в носительство арбовирусов, наиболее важную роль в регионе КМВ выполняют представители подрода *Sylvaemus* и полевки общественные. Активное участие синантропных видов грызунов в сохранении возбудителей арбовирусных инфекций представляет потенциальную эпидемическую опасность, так как массовые осенне-зимние миграции домовая мыши в жилье человека могут способствовать заносу арбовирусов (ККГЛ, ЗН).

Маркёры возбудителя туляремии выявлены в 43 (14,1 %) пробах, полученных от мышевидных грызунов, и 1 пробе погадок хищных птиц, при этом ведущая роль в поддержании эпизоотического процесса принадлежит мышам подрода *Sylvaemus* и домовым мышам ($r_s 0,9$).

Заключение

Таким образом, проведенные нами исследования в регионе Кавказских Минеральных Вод Ставропольского края установлена циркуляция возбудителей таких трансмиссивных природно-очаговых инфекций как, Крымская геморрагическая лихорадка, лихорадка Западного Нила, клещевой вирусный энцефалит, иксодовый клещевой боррелиоз, гранулоцитарный анаплазмоз, туляремия, определены их основных переносчиков и природные резервуары.

Литература

1. Варфоломеева Н.Г., Ермаков А.В., Василенко Н.Ф. и др. Эпидемиологическая обстановка по природно-очаговым вирусным инфекциям на территории Ставропольского края // Проблемы особо опасных инф. – 2011. – Вып. 2 (108). – С. 16-18
2. Петрищева П.А. Переносчики возбудителей природно-очаговых болезней. М., 1962. – 344 с.
3. Поляков Л.Е. Коэффициент ранговой корреляции Спирмена. М.: Наука, 1971. – 260 с.

Ответственный автор

Василенко Надежда Филипповна – главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологии ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора докт. биол. наук. Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.993:579.841.95Francissella-036.22(571.51)"2012"

ОПЫТ РАБОТЫ В ОЧАГЕ ТУЛЯРЕМИИ В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ СТРОИТЕЛЬСТВА БОГУЧАНСКОЙ ГЭС В КРАСНОЯРСКОМ КРАЕ В 2012 ГОДУ

Г.М. Дмитриева¹, Н.Ю. Очековская¹, Н.Д. Орешкина¹, Н.Г. Зверева²,
Г.А. Евтушок², Т.Г. Чепижко²

¹ Управление Роспотребнадзора по Красноярскому краю, Красноярск

² ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Красноярском крае», Красноярск

Представлены характеристика эпидемического процесса туляремии в Красноярском крае, результаты зоолого-энтомологического мониторинга природных очагов и оценка комплекса противоэпидемических мероприятий, выполненных при взаимодействии с Иркутским научно-исследовательским противочумным институтом при расследовании случая туляремии, зарегистрированного в зоне влияния Богучанской ГЭС в 2012 г.

Ключевые слова: туляремия, эпидемиологические мониторинговые наблюдения, бактериологический метод, серологический метод, метод ПЦР, ложе водохранилища Богучанской ГЭС, вакцинация.

OPERATIONAL EXPERIENCE IN THE TULAREMIA FOCUS IN THE AREA OF BOGUCHANSK HYDROELECTRIC POWER STATION CONSTRUCTION IN KRASNOYARSK TERRITORY IN 2012

G.M. Dmitrieva¹, N.Yu. Ochekovskaya¹, N.D. Oreshkina¹, N.G. Zvereva², G.A. Evtushok², T.G. Chepizhko²

¹Administration of Rospotrebnadzor in Krasnoyarsk Territory, Krasnoyarsk

²Center of Hygiene and Epidemiology in Krasnoyarsk Territory, Krasnoyarsk

Results of zoological-entomological monitoring of the natural tularemia foci and estimation of complex anti-epidemic actions implemented in cooperation with the experts from Irkutsk Antiplague Research Institute at examination of a tularemia case registered in area of Boguchansk hydroelectric power station in 2012 are characterized the epidemic tularemia process in Krasnoyarsk Territory.

Key words: tularemia, epidemiological monitoring, a bacteriological method, a serological method, polymerase chain reaction (PCR), water storage basin of Boguchansk hydroelectric power station, vaccination.

Цель работы – эпидемиологический мониторинг ситуации по туляремии в зоне влияния Богучанской ГЭС в Красноярском крае.

Актуальность проблемы туляремии в Красноярском крае определяется расширением ареала инфекции, регистрацией вспышечной заболеваемости, наносимым медико-социальным уроном пострадавшим лицам и значительным социально-экономическим ущербом для региона в целом.

Всего с 1964 г. в Красноярском крае зарегистрировано 134 случая заболеваний туляремией, показатель заболеваемости на 100 тыс. населения составил от 0,03 до 1,5. Заболеваемость туляремией в крае носит преимущественно спорадический характер, но нередки случаи вспышечной и групповой заболеваемости: в 1964 г. – 67 случаев (г. Норильск), в 1991 г. – 42 случая (Таймырский а.о.) и в 2004 г. – 12 случаев (Туруханский район).

По данным ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора и нашим собственным наблюдениям особенность природных очагов туляремии заключается в их исключительной стойкости, по-видимому, связанной с длительной персистенцией возбудителя в объектах окружающей среды. Так, в п. Хатанга Таймырского а.о. в 1991 г. зарегистрирована вспышка после десятилетнего перерыва, связанная с увеличением численности леммингов в тундровых очагах. В 2004 г. в Туруханском районе после восьмилетнего перерыва отмечена вспышка, связанная с увеличением численности ондатры и водяной крысы. Это обстоятельство служит основанием для организации и постоянного проведения специальных зоологических мониторинговых наблюдений в природных очагах, система которых в крае разработана и реализуется в рамках целевой программы. [2]

Наиболее неблагополучными территориями по заболеваемости населения туляремией в настоящее время являются северные территории: Таймырский (Долгано-Ненецкий) муниципальный район и Туруханский район, где периодически регистрируются случаи заболеваний (1991, 1996, 2004, 2007, 2009 гг.). Важно подчеркнуть, что в последние годы (1996-2013 гг.) ареал инфекции расширяется, выявлены случаи туляремии в Шарыповском, Ужурском, Уярском, Абанском районах. Данные наших исследований, проведенных во взаимодействии с Иркутским НИИПЧИ в 2001 и 2007 гг. в зоне строительства Богучанской ГЭС, подтвердивших наличие условий для активизации природного очага туляремии, позволили сделать прогноз о возможных эпидемиологических осложнениях. Это потребовало реализации дополнительных профилактических мероприятий [1]

Эпидемиологический мониторинг объектов среды обитания человека осуществляется ежегодно. Бактериологическим методом исследуется от 330 до 755 проб, из них (1998, 1999, 2003 гг.) в двух районах края – Каратузском и Ужурском выделено от шести до десяти культур туляремийного микроба. Серологическим методом исследуется от 1650 до 1800 проб, с положительным результатом от 12,4 % до 17,5 %, методом ПЦР – до 400 проб, с положительным результатом 4,7 %.

Прогнозируемое эпидемиологическое неблагополучие по туляремии в зоне влияния Богучанской ГЭС оправдалось в 2012 г., когда 16 октября был зарегистрирован случай заболевания туляремией у жителя края, постоянно проживающего в п. Абан Абанского района Красноярского края. В период с 06.10 по 11.10.2012 г. он находился в зоне затопления ложа водохранилища Богучанской ГЭС на территории Кежемского района Красноярского края, спускался на лодке вниз по течению реки Ангара, занимался рыбной ловлей. Больной не был привит против туляремии. Причиной заболевания туляремией явился контакт с возбудителем при свеживании и разделке тушки ондатры, пойманной принадлежащей ему собакой.

Диагноз «Туляремия, кожно-бубонная форма, легкая степень тяжести» выставлен на основании результатов лабораторных исследований биологического материала от больного. Положительные результаты получены в серологических реакциях на туляремию с нарастанием в динамике титров антител в сыворотке больного (РНГА с 1: 160 до 1: 1280). Кроме того, из объектов среды обита-

ния человека – обнаружение ДНК и выделение культуры *Francisella tularensis subsp. holartica* из секционного материала ондатры и трупа кошки, эпидемиологического анамнеза – контакт с одним из основных носителей возбудителя туляремии (резервуара в природе) – с ондатрой.

С целью локализации и ликвидации эпидемического очага туляремии бригадой в составе специалистов Управления Роспотребнадзора по Красноярскому краю, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Красноярском крае» при участии специалистов отдела зоонозных инфекций ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора проведен полный комплекс противоэпидемических мероприятий, повторных случаев заболевания туляремией не зарегистрировано.

Одним из важных элементов противоэпидемических мероприятий при туляремии является вакцинация контингентов, подвергающихся наибольшему риску заражения. На территории Красноярского края ежегодно планируется прививать из числа декретированных контингентов населения от 200 до 600 человек, так за период с 2009 по 2013 гг. в крае привито 2383 человека.

Вторым направлением профилактики туляремии среди людей является мониторинг эпизоотологической ситуации среди грызунов с целью минимизации влияния источников возбудителя инфекции (грызунов) на проживающее и контактирующее с ними население и предупреждения заражения людей от животных [3]

На территории, где находился выявленный больной Б., по информации службы по ветеринарному надзору администрации Красноярского края, эпизоотий среди животных не отмечено.

Однако эпизоотологическая ситуация по туляремии в зоне влияния Богучанской ГЭС прогностически остается неблагоприятной: в зоне влияния строительства Богучанской ГЭС имеются условия для активизации природных очагов туляремии – разнообразный видовой состав переносчиков, средний уровень численности грызунов, наличие положительных результатов лабораторных исследований на туляремию материалов из объектов среды обитания человека. В связи с этим эпизоотологическая ситуация по туляремии требует дальнейшего динамического наблюдения.

Таким образом, сложившаяся эпидемиологическая ситуация по туляремии в Красноярском крае требует систематической подготовки специалистов различных профилей, постоянного мониторинга за природными очагами, проведения комплекса противотуляремийных мероприятий, дальнейшего взаимодействия в работе с профильными институтами и включения территории Кежемского района в зону влияния Богучанской ГЭС в систему мониторинговых эпидемиологических и зоологических наблюдений с привлечением специалистов Роспотребнадзора и службы по ветеринарному надзору администрации Красноярского края.

Литература

1. Аднагулова А.В., Высочина Н.П., Лапин А.С. и др. Эпизоотическая активность природных и антропоургических очагов туляремии на территории Еврейской автономной области и в окрестностях Хабаровска в период паводка на Амуре // Пробл. особо опасных инф. – 2014. – Вып. 1. – С. 90-93.
2. Крутилин В.Е., Рогутский С.В., Крутилина Г.Н. Эпидемиологическая и эпизоотическая ситуация по туляремии в Смоленской области в 2001-2006 годах // Материалы IX съезда ВНПОЭМиП. – 2007. – Т. 3. – С. 191-192.
3. Частная эпидемиология / Руководство для врачей под ред. Б.Л. Черкасского. – М., 2002. – Т. 2. – С. 73-81.

Ответственный автор:

Дмитриева Галина Михайловна – зам. руководителя Управления Роспотребнадзора по Красноярскому краю. Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.928.8-036.2-001.891(470+571)“2013”

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА В 2013 ГОДУ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Е.В. Путинцева, В.П. Смелянский, В.В. Мананков, В.А. Пак, Н.В. Бородай,
Н.И. Погасий, Г.А. Ткаченко, Д.В. Викторов, В.А. Антонов
ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора, Волгоград

В 2013 г. в России зарегистрирован 191 случай заболевания населения лихорадкой Западного Нила в 16 субъектах, что значительно ниже предыдущего года. Та же тенденция снижения интенсивности эпидпроцесса наблюдалась и на североамериканском континенте. Подъем заболеваемости в странах Европы был обусловлен вспышкой этой болезни в Сербии. В 2013 г. на территории РФ в Волгоградской и Саратовской областях циркулировал вирус Западного Нила 2 генотипа, Астраханской – 1 генотипа.

Ключевые слова: лихорадка Западного Нила, вирус, эпидемическая ситуация.

RESULTS OF EPIDEMIOLOGICAL MONITORING OF WEST NILE FEVER IN 2013 IN THE RUSSIAN FEDERATION

E.V. Putintseva, V.P. Smelyansky, V.V. Manankov, V.A. Pak, N.V. Boroday, N.I. Pogasiy, G.A. Tkachenko, D.V. Viktorov, V.A. Antonov

Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd

One hundred ninety one human cases of West Nile fever infections were registered in 16 Russian regions in 2013 that was considerably lower than a year before. The same tendency of the intensity decrease in the epidemiological process was observed also at the North American continent. The West Nile fever outbreak in Serbia caused the rise of morbidity in the European countries. In 2013 West Nile fever virus of genotype 2 (lineage 2) was found to circulate in Volgograd and Saratov regions and genotype 1 (lineage 1) – in the Astrakhan region.

Key words: West Nile fever, virus, the epidemic situation.

Проблема лихорадки западного Нила (ЛЗН) в настоящее время остаётся актуальной, как в мире, так и в нашей стране. Глобальное потепление климата и антропогенная нагрузка на природные биоценозы обусловили расширение ареала возбудителя ЛЗН. Одним из аспектов повышения эффективности эпидемиологического надзора за ЛЗН является эпидемиологический мониторинг.

Цель работы – анализ ситуации по ЛЗН на территории России в 2013 г., как составной части общего мониторинга инфекции, а также исследование молекулярно-генетических характеристик выделенных штаммов вируса Западного Нила (ВЗН).

Материалы и методы

Исследование проводилось эпидемиологическим методом с использованием описательно-оценочных приемов, метода ретроспективного эпидемиологического анализа и наблюдения, а также статистических методов. Детекция РНК и ее генотипирование проводилось молекулярно-генетическими методами.

Результаты и обсуждение

По данным Европейского центра по профилактике и контролю за заболеваниями (ECDC), в 2013 г. интенсивность эпидемического процесса по ЛЗН в странах Европы в целом была выше, чем в 2012 г. (606 и 452 случая соответственно), за счет вспышки ЛЗН в Сербии (302 случая, что составило 49,8 % от всей заболеваемости, в 2012 г. – 71 случай). Нейроинвазивные формы болезни составили 2,5 %, летальность – 0,7 % (в 2012 г. – 3,8 %) [4].

На североамериканском континенте эпидемическая ситуация по ЛЗН складывалась несколько иначе. Так, в США, по данным Центра по контролю и профилактике заболеваний (CDC), в 2013 г. было зарегистрировано 2374 случая заболевания людей ЛЗН, что в 2,4 раза меньше, чем в 2012 г. (5674 случая), при этом летальным исходом закончилось 4,0 % заболеваний (в 2012 г. – 5,0 %). Доля ней-

роинвазивных форм ЛЗН равна 51,0 % (в 2012 г. – 50,6 %). Сходная ситуация наблюдалась и в Канаде, где в сезон 2013 г., по данным Агентства общественного здравоохранения (PHAC), выявлено в четыре раза меньше случаев заболевания, чем в сезон 2012 г. (2013 г. – 108, в 2012 г. – 428). Нейроинвазивные формы болезни составили 42,0 % (в 2012 г. – 43,2 %), летальность – 3,6 % (2012 г. – 2,65 %) [4, 5].

Эпидемический процесс ЛЗН в 2013 г. в Российской Федерации характеризовался снижением общего количества больных почти в 2,4 раза (с 455 до 191), в основном за счет его меньшей интенсивности в Волгоградской, Ростовской, Воронежской и Липецкой областях, а также меньшего числа субъектов РФ, в которых он реализовался (с 21 субъекта до 16, тогда как в период 1997-2011 гг. – в 10 субъектах). Интенсивность проявлений ЛЗН заметно возросла в Саратовской области (19 случаев – 2012 г., 31 – 2013 г.) и практически не изменилась на природно-очаговых территориях Астраханской (72 – 2012 г. и 70 – 2013 г.), Самарской областей (6 – 2012 г. и 9 – 2013 г.). В 2013 г. впервые лихорадка Западного Нила зарегистрирована в Пензенской, Оренбургской, Калужской областях и Республике Карелия, что свидетельствует о продолжении распространения эпидемического процесса ЛЗН на территории России [1-3].

В эпидемический сезон 2013 г. наметилась тенденция в изменении тактики диагностики ЛЗН в лечебно-профилактических учреждениях регионов России (особенно на территории «старых» очагов), когда обследования на ЛЗН проводилось преимущественно пациентам с более тяжелыми проявлениями болезни. Данное обстоятельство закономерно привело к уменьшению выявления легких форм заболевания и увеличению доли больных со среднетяжелыми формами ЛЗН. Так, в 2013 г. в среднем по РФ доля больных с легкими формами ЛЗН составила 14 % (2012 г. – 20 %), в т.ч. в Волгоградской области – 16 % (2012 г. – 23 %), в Воронежской – 33 % (2012 г. – 55 %), в Липецкой – 0 (2012 г. – 77 %). При этом доля больных с нейроинвазивными формами болезни остается практически на прежнем уровне (2012 г. – 17,2 %, 2013 г. – 18,5 %), также, как и летальность (2012 г. – 1,0 %, 2013 г. – 1,5 %), которая зарегистрирована, как и в прежние годы, в наиболее уязвимой группе населения с ослабленным иммунитетом: в Астраханской области – два случая (больные старше 60 и 70 лет), Волгоградской – один (больной старше 80 лет) [3]. У всех больных, выявленных в 2013 г., диагноз лабораторно подтвержден детекцией IgM выше диагностического титра или IgG с четырехкратным нарастанием титра антител в парных сыворотках. Подтверждение диагноза ЛЗН выявлением вирусной РНК было проведено в Белгородской, Калужской, Оренбургской, Пензенской областях в 100 % случаев, в Саратовской области – 83 %, Волгоградской – 49 %, Астраханской – 10 %, Ростовской – 1 %. Маркеры ВЗН в носителях и переносчиках в 2013 г. обнаружены на территории восьми субъектов РФ, IgG к ВЗН при скрининговом обследовании населения – в 25 субъектах. В результате анализа данных мониторинга на территории РФ в период 1999-2013 гг. установлено, что маркеры ВЗН выявлены в 61 субъекте РФ.

Эпидемический процесс ЛЗН в различных регионах мира, как и в России, обусловлен циркуляцией ВЗН нескольких геновариантов. В эпидсезон 2013 г. заболеваемость населения ЛЗН в Волгоградской и Саратовской областях была обусловлена генотипом 2 ВЗН, как в Сербии и Италии; в Астраханской области – ВЗН генотипа 1а [4]. Кроме того, в 2013 г. РНК возбудителя ЛЗН генотипа 2 выявлена в комарах *Culex pipiens* и *Aedes vexans*, отловленных в Волгоградской области. Согласно опубликованным данным, на территории Западной Сибири до настоящего времени циркулирует возбудитель одного геноварианта ЛЗН-1а. Наличие в Российской Федерации устойчивых природных очагов ЛЗН 1 и 2 геновариантов ВЗН в географически соседствующих регионах определяет потенциальную возможность «переключения» эпидемической активности между генотипами возбудителя ЛЗН в последующие годы.

По сведениям управлений Роспотребнадзора частота выявления IgG к ВЗН среди доноров и других здоровых групп населения отдельных регионов Сибири соизмерима с показателями очаговых территорий европейской части России; например, в Омской области она составила – 26,5 % (2011 г.), Забайкальском крае – 5,8 % (2011 г.), Новосибирской области – 6,9 % (2013 г.), Кемеровской области – 19,5 % (2013 г.) [1]. В 2013 г. этот показатель на европейской части территории РФ составлял: в Астраханской области – 26,5 %, в Ростовской – 6,9 %, в Волгоградской – 10,5 %, в Воронежской – 4,3 %. Этот факт может свидетельствовать об эпидемической напряженности очагов ЛЗН региона Западной Сибири.

Литература

1. Антонов В.А., Смоленский В.Ю., Путинцева Е.В., Липницкий А.В., Смелянский В.П., Яковлев А.Т., Мананков В.В., Погасий Н.И., Красовская Т.Ю. Эпидемиологическая ситуация по лихорадке Западного Нила в 2011 году на территории Российской Федерации и прогноз ее развития // Проблемы особо опасн. инф. – 2012. – Вып. 111, № 11. – С. 17-21.
2. 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 опасн. инф. – 2011. – Вып. 107. – С. 38-41.

3. Путинцева Е.В., Антонов В.А., Викторов Д.В., Смелянский В.П., Жуков К.В, Мананков В.В., Погасий Н.И., Ткаченко Г.А., Шпак И.М., Снатенков Е.А. Особенности эпидемической ситуации по лихорадке Западного Нила в 2012 г. на территории Российской Федерации // Проблемы особо опасн. инф. – 2013. – № 1. – С. 25-29.

4. Communicable Disease Threats Report (CDTR), Week 45, 3-9 November 2013 [Internet]. The European Centre of Disease Prevention and Control (ECDC); [cited 08 Nov 2013]. Available from: <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Communicable-disease-threats-report-8-nov-2013.pdf>.

5. West Nile virus National Surveillance Report, Weeks 44 & 45, 2013 [Internet]. The Public Health Agency of Canada (PHAC); [cited 21 Nov 2013]. Available from: http://www.phac-aspc.gc.ca/wnv-wvn/nsr-rns_2013/w44-45/pdf/w44-45-eng.pdf.

Ответственный автор

Путинцева Елена Викторовна – старший научный сотрудник ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора канд. мед. наук
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.928.8-036.2(470.41)“2012/2013”

ЛИХОРАДКА ЗАПАДНОГО НИЛА В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ В 2012-2013 ГГ.

Т.Ю. Красовская, Е.В. Казорина, Е.В. Найденова, Е.А. Билько, Ж.А. Касьян, И.В. Терехова, А.М. Сеничкина, В.Е. Куклев, С.А. Щербакова
ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов

В 2012 г. в Саратовской области впервые были зарегистрированы больные лихорадкой Западного Нила.

Ключевые слова: лихорадка Западного Нила, вспышка заболевания, комары, профилактические мероприятия.

WEST NILE VIRUS FEVER IN SARATOV REGION IN 2012-2013

T.Yu. Krasovskaya, E.V. Kazorina, E.V. Naidenova, E.A. Bilko, Zh.A. Kasyan, I.V. Terekhova, A.M. Senichkina, V.E. Kuklev, S.A. Shcherbakova

Russian Anti-plague Research Institute «Microbe» of Rospotrebnadzor, Saratov

First patients with West Nile virus fever were registered in Saratov region in 2012.

Key words: West Nile virus fever, outbreak, mosquitoes, preventive measures.

Проблема лихорадки Западного Нила (ЛЗН) в последние два года стала актуальной и для Саратовской области. Если маркеры вируса Западного Нила (ВЗН) в полевом материале и иммунная прослойка населения к возбудителю выявлялись на территории области с конца 90-х годов прошлого века, когда подобные исследования стали проводится институтом «Микроб» [1-6], то больные ЛЗН до 2012 г. зарегистрированы не были.

Климато-географические условия Саратовской области (температурные характеристики, разнообразие видового состава животных – потенциальных носителей и переносчиков вируса, прохождение через территорию области путей миграции птиц, связывающих европейскую часть России с Африкой, Азией, Западной и Южной Европой) создают предпосылки для поддержания циркуляции вируса Западного Нила (ВЗН). Кроме этого, область граничит с природно-очаговыми по ЛЗН территориями – Волгоградской областью, Республикой Казахстан.

Регистрация случаев ЛЗН в областях, граничащих с Саратовской (в Ульяновской области с 2006 г. и Воронежской – с 2010 г.), а также обострение эпидемиологической ситуации в Волгоградской области в 2010 г., способствовали повышению настороженности клиницистов в отношении этой инфекционной болезни и постепенному увеличению объема назначаемых лабораторных исследований с целью исключения ЛЗН. Вследствие этого в 2012 г. в Саратовской области впервые были выявлены больные ЛЗН.

Цель работы – изучение эпидемиологических особенностей ЛЗН на территории Саратовской области в 2012-2013 гг.

Задачи исследования:

1. Определение роли ВЗН в инфекционной патологии на территории области.
2. Изучение иммунной прослойки населения Саратовской области к ВЗН.

В процессе работы исследован биологический материал от больных с подозрением на ЛЗН (кровь, сыворотка крови, ликвор, моча), сыворотки крови доноров, а также выписки из историй болезни пациентов с диагнозом ЛЗН и донесения эпидемиологов, проводивших эпидемиологическое исследование.

С помощью ИФА определяли специфические антитела классов IgM и IgG к ВЗН в сыворотках крови пациентов, взятых в острый период и период реконвалесценции, с помощью ПЦР-анализа во всех видах биологического материала выявляли РНК вируса. Сыворотки крови доноров исследовали на наличие IgG к ВЗН для определения уровня иммунной прослойки населения к возбудителю ЛЗН. В работе использовали зарегистрированные диагностические препараты отечественного и зарубежного производства. При анализе документов применяли статистические методы исследования.

Был исследован клинический материал от пациентов с заболеваниями, в этиологии которых нельзя исключить роль ВЗН. Предварительные диагнозы были: лихорадка неясной этиологии, серозный менингит, серозный менингоэнцефалит, ОРВИ, ГЛПС, ЛЗН и др. Протестирован материал от 27 человек в 2012 г. и от 203 – в 2013 г. В структуре обследованных пациентов преобладали взрослые, тем не менее, в 2013 г. значительно увеличилась доля детей (составила 29,1 %).

На основании результатов лабораторного тестирования, клинических проявлений и эпидемиологического анамнеза в 2012 г. диагноз ЛЗН был поставлен 11 пациентам, а в 2013 г. – 31 пациенту.

Практически все больные ЛЗН в Саратовской области в 2012-2013 гг. были городскими жителями (90,9 % в 2012 г. и 96,8 % в 2013 г.). В Российской Федерации в этот период в структуре заболевших также отмечалась тенденция к преобладанию жителей городов (68,8 % и 66,0 %).

Возраст заболевших в Саратовской области в 2012 г. был от 19 до 76 лет, в 2013 г. – от трех до 76 лет. Наибольшее число случаев ЛЗН было зарегистрировано среди трудоспособного населения – в возрастной группе от 30 до 59 лет: в 2012 г. – 63,6 %, в 2013 г. – 67,7 %. В 2013 г. ЛЗН была впервые выявлена у детей. В 2012 г. в структуре заболевших на возрастную группу до 50 лет пришлось 54,5 %, а на возрастную группу старше 60 лет – 27,3 %. Эти данные аналогичны данным по РФ. В 2013 г. доля заболевших в возрасте до 50 лет по Саратовской области осталась такой же (54,8 %), а больных в возрастной группе старше 60 лет было выявлено 16,1 %, что в 1,7 раз меньше, чем в 2012 г., и в 1,5 раза меньше, чем в среднем по России.

В 2012 г. доли мужчин и женщин среди заболевших были приблизительно равны (45,5 % и 54,5 %, соответственно). В 2013 г. мужчин было в два раза больше, чем женщин (65,5 % и 34,5 %, соответственно).

Как и в среднем по РФ в 2012 г., пик заболеваемости ЛЗН пришелся на август-сентябрь. В 2013 г. отмечалось раннее начало вспышки – в июле. Последние случаи заболевания в Саратовской области были зарегистрированы в октябре.

Данные эпидемиологического анамнеза свидетельствовали в пользу трансмиссивного механизма передачи ЛЗН у больных, зарегистрированных на территории области. В 2012 г. большинство пациентов выезжало на природу, где отмечали нападение комаров. В 2013 г. также все больные указывали на контакт с природой, но многие из заболевших отмечали наличие затопленных подвалов по месту жительства и работы, большое скопление комаров. В двух случаях нельзя было исключить застойной характер заболевания (завоз из Астраханской области и Краснодарского края).

Среди зарегистрированных случаев ЛЗН преобладали менингеальная и гриппоподобная формы. У одной больной в 2012 г. заболевание протекало субклинически и было выявлено только при лабораторном обследовании. Этот случай демонстрирует, что истинное число больных ЛЗН значительно больше, чем регистрируется на данной территории.

Этот факт подтверждается и выявлением иммунной прослойки населения к ВЗН. В 2011-2013 гг. изучали иммунную прослойку у населения тех районов Саратовской области, где были выявлены маркеры возбудителя ЛЗН в полевом материале и/или случаи заболевания. Ее уровень достигал 15 % и был высоким не только в районах с регистрацией случаев ЛЗН, но и в тех, где больные зафиксированы не были. Полученные данные свидетельствуют о недостаточном выявлении больных ЛЗН на территории области. При сравнении результатов исследований иммунной прослойки населения

правого и левого берегов р. Волга установлен ее более высокий уровень в Левобережье (9,2 % в 2013 г.).

При тестировании положительных проб биологического материала в 2012-2013 гг. в Референс-центре по мониторингу за возбудителем лихорадки Западного Нила (Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт) установлено, что циркулирующий на территории Саратовской области в 2012-2013 гг. ВЗН принадлежит ко II генотипу.

Таким образом, результаты исследования подтверждают расширение ареала ВЗН на территорию Саратовской области, что привело к появлению случаев ЛЗН. Основные закономерности эпидемиологического процесса ЛЗН в области аналогичны таковым по РФ. Необходимо обратить внимание на возможное формирование антропогенных очагов ЛЗН. Результаты изучения иммунной прослойки указывают на активную циркуляцию ВЗН в Левобережье Саратовской области, что, видимо, связано с природными особенностями этого региона. Важно дальнейшее изучение роли ВЗН в инфекционной патологии различных районов Саратовской области для определения территориальной приуроченности циркуляции вируса, повышение настороженности медицинских работников в отношении ЛЗН и усиление профилактических и противозидемических мероприятий по предупреждению случаев данного инфекционного заболевания на территории области.

Литература

1. Красовская Т.Ю., Билько Е.А., Данилов А.Н. и др. Результаты исследования сывороток крови населения Пугачёвского и Балаковского районов Саратовской области на антитела к арбовирусам // ЗНиСО. – 2004. – № 12 (141). – С. 25-27.
2. Кутырев И.В., Билько Е.А., Шарова И.Н. и др. Оценка роли фоновых видов мышевидных грызунов в сохранении возбудителей арбовирусных инфекций в полупустынной зоне Саратовского Заволжья // Пробл. особо опасных инф. – 2008. – № 3(97). – С. 19-22.
3. Щербакова С.А., Головинская О.Н., Ключева Е.В. и др. Результаты исследования сывороток крови населения Саратова на антитела к арбовирусам // Вопр. вирусол. – 2002. – № 3. – С. 32-34.
4. Щербакова С.А., Билько Е.А., Ключева Е.В. и др. Экология распространения арбовирусов на территории Саратовской области // ЖМЭИ. – 2005. – № 5. – С. 27-30.
5. Щербакова С.А., Билько Е.А., Найденова Е.В. и др. Выявление антигенов арбовирусов в комарах и клещах, обитающих на территории Саратовской области // Мед. паразитол. и паразитарные болезни. – 2009. – № 2. – С. 38-41.
6. Щербакова С.А., Найденова Е.В., Билько Е.А. и др. Выявление специфических антител к арбовирусам в сыворотках крови людей, проживающих на территории Саратовской области // Пробл. особо опасных инф. – 2011. – № 2(108). – С. 72-74.

Ответственный автор

*Красовская Татьяна Юрьевна – зав. сектором вирусологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора канд. мед. наук
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru*

УДК: 614.4:[619:616.9:578.824.11](571.54)

МЕРОПРИЯТИЯ ПО ЛИКВИДАЦИИ ЧРЕЗВЫЧАЙНЫХ СИТУАЦИЙ В ЭПИЗООТИЧЕСКИХ ОЧАГАХ БЕШЕНСТВА РЕСПУБЛИКИ БУРЯТИЯ

С.С. Ханхареєв, Р.С. Шобоева, Л.В. Байронова, С.Ю. Амагырова
Управление Роспотребнадзора по Республике Бурятия, Улан-Удэ

Представлена информация об эпизоотической ситуации по бешенству в Республике Бурятия, проводимых мероприятиях в очагах бешенства и мероприятиях, направленных на предупреждение заболевания бешенством среди людей и животных.

Ключевые слова: бешенство, эпизоотический очаг, мониторинг, профилактические мероприятия.

ACTIONS FOR LIQUIDATION OF EMERGENCY SITUATIONS IN THE EPIZOOTIC RABIES FOCI IN BURYAT REPUBLIC

S.S. Khankhareev, R.S. Shoboeva, L.V. Baironova, S.Yu. Amagyrova
Administration of Rospotrebnadzor in Buryat Republic, Ulan-Ude

The information about epizootic rabies situation in the Buryat Republic, the measures conducted in the rabies foci and the actions directed to the prevention of rabies disease among humans and animals is presented.

Key words: rabies, epizootic focus, monitoring, preventive actions.

В Республике Бурятия с 2011 г. отмечается эпизоотическое неблагополучие по бешенству в связи с регистрацией лабораторно подтвержденных случаев заболевания бешенством животных. Всего за период 2011-2013 гг. зарегистрировано 24 лабораторно подтвержденных случаев заболеваний бешенством диких плотоядных, сельскохозяйственных и домашних животных в двух приграничных с Монголией Закаменском и Джидинском районах. Случаи заболевания людей и животных бешенством в республике не регистрировались с 1981 г. [2].

В 2011 г. зарегистрировано 13 лабораторно подтвержденных случаев заболеваний бешенством на территории Закаменского района (4 – КРС, 6 – лисицы, по одному у барсука, волка и собаки), в 2012 г. – 8 случаев, в т.ч. на территории Закаменского (5 – КРС, 1 – лиса, 1 – волк) и Джидинского районов (1 собака), в 2013 г. – 3 случая в Закаменском районе (2 волка и 1 лиса) [1].

На территории Закаменского и Джидинского районов специалистами Управления Роспотребнадзора по Республике Бурятия совместно с заинтересованными министерствами и ведомствами организованы и проведены комплекс организационных, профилактических, противоэпизоотических и противоэпидемических мероприятий по локализации и ликвидации эпизоотических очагов бешенства и предупреждения заболевания людей бешенством.

Распоряжением Президента Республики Бурятия введены ограничительные мероприятия в неблагополучных пунктах по бешенству. В оперативном режиме проведены внеочередные заседания противоэпизоотической комиссии при Правительстве Республики Бурятия, правительственной комиссии по предупреждению и ликвидации чрезвычайных ситуаций.

Разработаны и утверждены межведомственные комплексные планы мероприятий по локализации и ликвидации очагов бешенства среди животных и предупреждению заболевания людей на территории Закаменского и Джидинского районов. Были созданы оперативные штабы по координации деятельности всех заинтересованных учреждений и ведомств. Проведены 27 заседаний противоэпизоотических комиссий при Администрации МО "Закаменский район", МО "Джидинский район".

Во всех сельских поселениях разработаны и утверждены правила по содержанию собак и кошек. Ветеринарными специалистами проведены учет и иммунизация против бешенства всех домашних собак и кошек во всех сельских поселениях Закаменского и Джидинского районов. В эпизоотических очагах было установлено ветеринарное наблюдение за животными, проведена иммунизация сельскохозяйственных животных.

Оперативной бригадой специалистов территориального отдела Управления Роспотребнадзора по Республике Бурятия в Джидинском районе, филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Бурятия» в Джидинском районе совместно с ветеринарными специалистами, медицинскими работниками центральных районных больниц в течение первых суток проведены эпизоотолого-

эпидемиологические обследования очагов бешенства, определен круг контактных лиц, организован первичный осмотр контактных. В условиях риска заражения в эпизоотических очагах бешенства находились 49 человек, в том числе ребенок, покусанный собакой, у которого в последующем диагноз бешенства был установлен лабораторно. Все контактные получили курс лечебно-профилактических антирабических прививок, здоровы. С целью подготовки кадров по вопросам клиники, лечения и профилактики бешенства проведены пять семинаров с медицинскими работниками.

Специалистами филиала ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Бурятия" в Джидинском районе организованы и проведены внеплановые дератизационные мероприятия на эпидзначимых объектах и личных подворьях граждан в неблагополучных по бешенству сельских поселениях. При оценке эффективности дератизации, следов пребывания грызунов не обнаружено.

Литература

1. Адельшин Р.В., Мельникова О.В., Сидорова Е.А., Хангажинов А.С., Ханхареев С.С., Шобоева Р.С. и др. Идентификация и молекулярно-генетическая характеристика вируса бешенства, изолированного в Республике Бурятия // Современные технологии обеспечения биологической безопасности: материалы III научно-практической школы-конференции молодых ученых и специалистов НИО Роспотребнадзора. – Протвино, 2011. – С. 92-95.

2. Полещук Е.М., Сидоров Г.Н., Березина Е.С. Бешенство в Российской Федерации // Информационно-аналитический бюллетень. – Омск, 2013. – С.15-19.

Ответственный автор:

Ханхареев Сергей Степанович – Руководитель Управления Роспотребнадзора по Республике Бурятия. Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.9:578.824.11-036.22-001.8(517.3)"2004/2013"

МОНИТОРИНГ БЕШЕНСТВА У ЛЮДЕЙ В МОНГОЛИИ В 2004-2013 ГГ.

Б. Амгаланбаяр, Д. Отгонбаатар

*Национальный Центр зоонозных болезней в Монголии,
Уланбаатор, Монголия*

Бешенство зарегистрировано более чем в 150 странах мира. Ежегодно в мире от бешенства погибает более 55 000 человек и около 1 млн. животных. Каждый год во всем мире более 15 млн. человек вакцинируются против бешенства. Ежегодно более 10 000 человек подвергаются укусам животных и вакцинируются во избежание развития бешенства. За последние 10 лет в Монголии 653 человека подвергались риску заражения бешенством и три человека умерли. Опасность заражения вирусом бешенства растет с каждым годом.

Ключевые слова: бешенство, вакцинация, профилактика, заболеваемость.

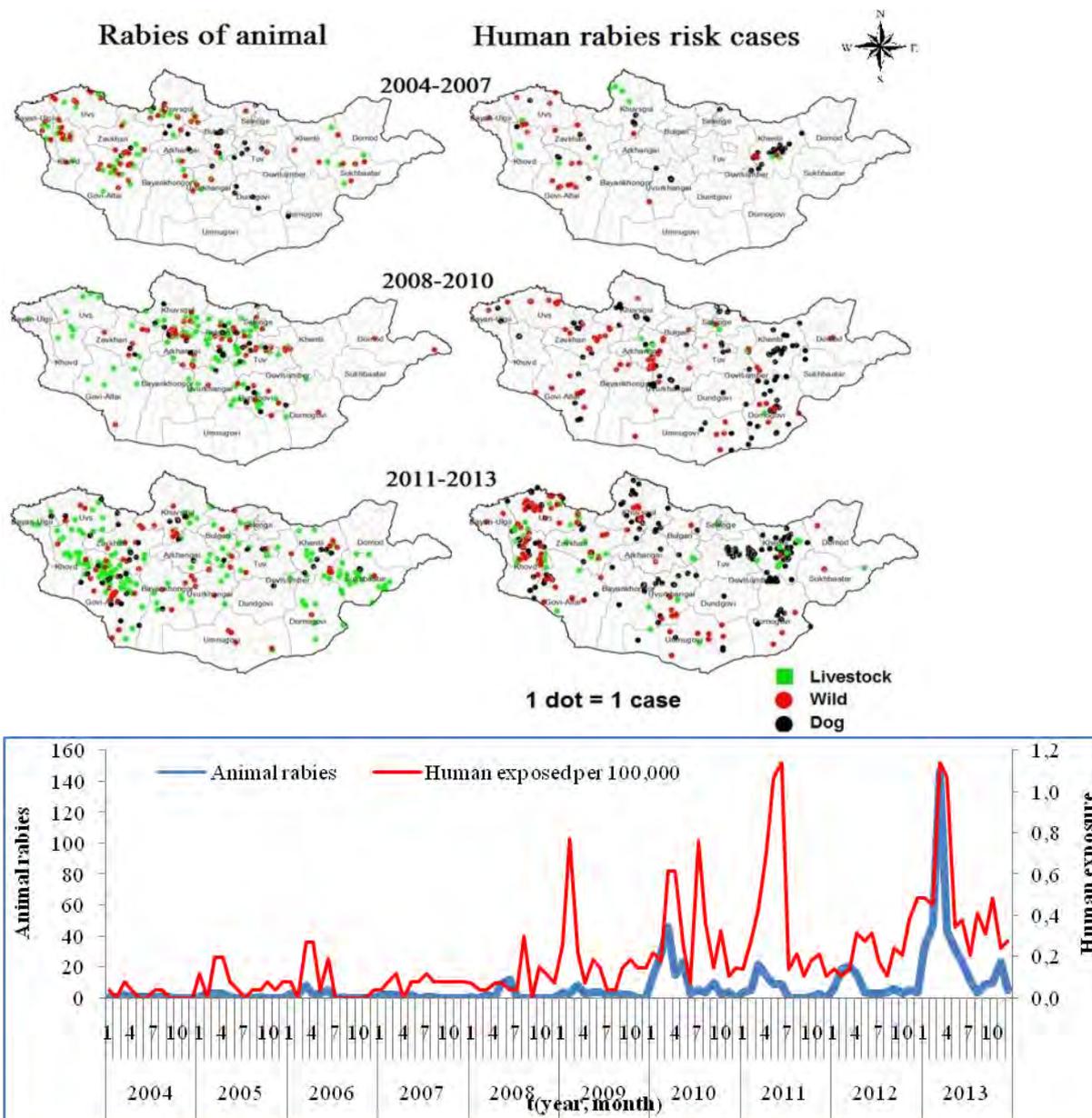
ANALYSIS OF THE SURVEILLANCE DATA FOR HUMAN RABIES CASES, 2004-2013

B. Amgalanbayar, D. Otgonbaatar

National Center for Zoonotic Diseases in Mongolia, Ulanbaatar, Mongolia

Rabies is registered in more than 150 countries and territories. Rabies mortality is more than 55,000 people per a year in the world. Nearly 1 million of animals die from rabies. Every year, worldwide more than 15 million people receive a post-exposure vaccination to prevent the disease. Yearly more than 10,000 people are bitten by animals and vaccinated after exposed rabies risk. In the last 10 years 653 humans were exposed to rabies risk infection, and 3 persons died in Mongolia. This is directly related to animal rabies cases determined by mapping and time period in our study.

Key words: rabies, vaccination, prevention, sickness rate.



To compare animal rabies, rabies exposure cases by time.

The aim of the work - to study and compare human rabies risk cases from animals in 2004-2013.

Objective:

- To forecast the rabies trend for human and animal risk group.
- To determine rabies risk for each geographical areas (Province, District, Ulaanbaatar).
- To develop the assessment of rabies risk in Mongolia.

Material and methods:

- The reporting forms of human rabies risk cases in NCZD in 2013.
- The first documents of human rabies risk cases.
- The first document of vaccination against the zoonotic disease.
- The animal rabies: a half year report of the State Centre for veterinary sector in Mongolia.

Result:

Human rabies cases increase every year and animal rabies is registered throughout the year. High risk of rabies cases is 30.2 %. Rabies high risk cases in 2013 is average in 2.1 times higher than in the previous 10 years and 2.3 times higher compared to 2012. About 30.2 percent of the bite animals were con-

firmed rabies by laboratory veterinary tests. High risk sources for rabies are wolves and dogs. Herders are contacted with all rabies infection sources. We can differentiate the following risk population groups: 20-49 years old through livestock and wild animals, children of 0-9 years old can be usually bitten by dogs. Men rabies exposure is 1.75 times higher than women.

Rabies cases were confirmed in 18.5% of all samples investigated. Saliva and removed skin of rabies suspected animal and livestock were used for testing. Total 81.5% of humans were bitten by attacked domestic animals, livestock and wild animals including bitten head – a wolf, bitten arm – a dog, many animal species – bitten feet. Usually rabies cases were detected after dog bites.

Discussion:

- In Mongolia the main sources of human rabies infection are dogs (60%), livestock (11.5%), wolves (22.9%), foxes (3.2%) and in other countries it may be dogs, cats and bats.
- The children in age of 5-15 years old are more exposed for rabies risk infection in others Asian countries and in Mongolia people of 31-40 years old are more exposed to rabies infection, male (61%) are often infected.

УДК: 614.4:616.928.8-001.8

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ АВТОМАТИЧЕСКОЙ ЛОВУШКИ ДЛЯ УЧЕТА ЧИСЛЕННОСТИ И ОТБОРА ПРОБ КОМАРОВ В ОЧАГЕ ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА

Н.В. Бородай, В.А. Пак, Е.В. Путинцева, В.П. Смелянский, В.В. Мананков, Н.И. Погасий, К.В. Жуков

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград

В природных очагах лихорадки Западного Нила для прогнозирования развития эпидемиологической ситуации необходим мониторинг численности популяций и отбор проб переносчиков для определения их зараженности вирусом Западного Нила. Приведены результаты применения автоматической ловушки для сбора комаров Mosquito Magnet Independence в природных очагах этой инфекции на территории Волгоградской области.

Ключевые слова: ЛЗН, автоматическая ловушка, комары, мониторинг численности, отбор проб.

RESULTS OF AUTOMATIC TRAP APPLICATION TO COUNT THE NUMBER AND SAMPLING OF MOSQUITOES IN THE OUTBREAK OF WEST NILE FEVER

N.V. Boroday, V.A. Pak, E.V. Putintseva, V.P. Smelyansky, V.V. Manankov, N.I. Pogasiy, K.V. Zhukov

Volgograd Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor, Volgograd

Monitoring of the population number and sampling of vectors is required to determine West Nile virus infection in the natural foci and to predict the development of the epidemiological situation. Results of application of the automatic traps (Mosquito Magnet Independence) for mosquito collection in natural West Nile virus foci in the Volgograd region are represented.

Key words: WNV, automatic trap, mosquitoes, population monitoring, sampling.

В очагах лихорадки Западного Нила (ЛЗН) для прогнозирования развития эпидемиологической ситуации необходимо проводить мониторинг численности популяций и отбор проб переносчиков для определения их зараженности вирусом Западного Нила (ВЗН). С середины прошлого века исследователи для этих целей пользуются ловушками Криштала, различными модификациями эксгаустеров, колоколами Мончадского и Березанцева. Основной «приманкой» при использовании данных приспособлений служит человек, поэтому результаты подобных учетов не могут отражать реальной численности на территории орнитофильных видов комаров, которые играют ведущую роль в передаче ВЗН. Кроме того, при использовании данных методов существует высокий риск заражения исследователя.

В настоящее время на рынке появились современные автоматические ловушки комаров, использование которых позволяет максимально снизить возможность контакта исследователя с переносчиком, унифицировать методы сбора и получать данные, сравнимые как в пространстве, так и во времени.

Цель работы – оценить возможность проведения мониторинга численности и отбора проб комаров на территории Волгоградской области с помощью автоматической ловушки Mosquito Magnet Independence.

Материалы и методы

Для сбора комаров в открытых биотопах были использованы автоматические ловушки Mosquito Magnet Independence (далее MMI), производитель – Woodstream Corporation, США. В качестве приманки для комаров использованы таблетки аттрактанта Octenol (55,15% 1-Octenol-3-ol). Отборы проб на территории частных домовладений и рекреационной зоне проводились в 2012-2013 гг. за ловушко-ночь (л/н) – с 20.00 до 08.00 ч. В тростниковых зарослях на берегах водоемов ловушка работала с 19.00 до 22.00 ч.

В 2013 г. по результатам эпидрасследований случаев заболеваний населения ЛЗН на территории Волгоградской области в 2007-2012 гг. [3] для мониторинга численности популяций комаров были определены четыре стационарные точки. Отлов комаров в данных точках проводили раз в две недели с июня до конца августа.

Определение материала проводили с помощью стереомикроскопа, используя стандартные ключи [1].

Результаты и обсуждение

На территории Волгоградской области с помощью автоматической ловушки в открытых биотопах было собрано 22141 имаго комаров: 5324 – на стационарных точках за 24 л/н, 7351 – на территории частных домовладений в различных районах г. Волгограда за 7 л/н, 6528 – в рекреационной зоне за 3 л/н, 2938 – в тростниковых зарослях на берегах водоемов за 9 часов. Видовое разнообразие сборов представлено 20 видами, относящимися к семи родам семейства Culicidae: *Aedes vexans* Mg., *Ae. cinereus* Mg., *Ochlerotatus caspius* Pall., *Och. flavescens* Mull., *Och. pulchritarsis* Rond., *Och. stricticus* Mg., *Och. cantans* Mg., *Och. excrucians* Mg., *Och. leucomelas* Mg., *Och. behningi* Mart., комплекс видов *Anopheles maculipennis* (*An. maculipennis* Mg., *An. messeae* Fall., *An. atroparvus* Tiel.), *An. claviger* Mg., *An. hyrcanus* Pall., *Coquillettidia richiardii* Fic., *Culex pipiens* L., *Cx. modestus* Fic., *Culiseta annulata* Schr., *Uranotaenia unguiculata* Edw.

Подобные исследования в г. Волгограде и его окрестностях были проведены в 2003-2004 гг. с помощью заплечного аспиратора и энтомологического сачка [4]. Видовой состав сборов ловушки MMI отличается от сборов данным оборудованием наличием *An. hyrcanus* Pall. В 2004 г. отбор проб также проводился с помощью ловушек с птицами и колокола Березанцева [2]. Под колоколом Березанцева собраны комары 15 видов, в ловушках с птицами – 12.

Наши результаты показывают, что автоматическая ловушка MMI достаточно эффективно производит отбор комаров трибы Aedini на всех обследованных биотопах, уступая только заплечному аспиратору и энтомологическому сачку. Уловистость ловушки MMI в отношении комаров вида *Cx. pipiens* ниже, чем у ловушки с птицами, колокола Березанцева и заплечного аспиратора.

В сезон 2013 г. количество комаров вида *Cx. modestus* в сборах ловушки MMI на стационарных точках было незначительным, т.к. представители данного вида, как правило, не разлетаются от мест выплода. На берегах же водоемов с помощью MMI отлавливали в среднем 308,3 имаго *Cx. modestus* за час. В учетах, проведенных в 2003-2004 гг., этот показатель был значительно ниже.

Высокая численность комаров *Ae. vexans* и *Och. caspius* (685,3 и 234,8экз. за 1 л/н, соответственно) в начале июня на территории области обусловлена ранним, высоким, затяжным паводком на реках, т.к. основными местами выплода комаров этих видов являются временные пойменные водоемы. Фактическая температура воздуха в мае была на 4,8 °С выше климатической нормы, поэтому неглубокие паводковые водоемы быстро прогрелись. Июнь на территории области был дождливым, что благоприятствовало поддержанию численности полициклических видов. Пик численности комаров рода *Culex* наблюдается на территории области обычно в августе [2,4]. В 2013 г. на стационарных

точках он зарегистрирован в конце июня (*Cx. pipiens* – 46 экз. за 1 л/н; *Cx. modestus* – 7,3 экз. за 1 л/н). После резкого похолодания с 19 по 25 июня произошел спад численности комаров этих видов. В целом, климатические условия лета 2013 г. в Волгоградской области не были благоприятными для развития комаров рода *Culex*: минимальная температура воздуха ниже 15°C была зарегистрирована 34 раза (в 2012 г. – 19 раз), ветер с порывами ≥ 10 м/с течение суток – 57 раз (в 2012 г. – 12 раз). Вода в открытых водоемах и емкостях на приусадебных участках не прогревалась до оптимальных для развития личинок комаров этого рода значений, поэтому сроки развития удлинились. Соответственно, численность имаго была невысокой. Так, если в 2003-2004 гг. заплочным аспиратором в открытых биотопах г. Волгограда исследователи [4] отбирали комаров *Cx. pipiens* в среднем 5 экземпляров в июле, 58 – в августе за 1 час, то в аналогичные периоды 2013 г. автоматической ловушкой MMI – 4 и 27 экземпляров, соответственно, за 4 л/н. Численность *An. claviger* колебалась в течение сезона от 1,3 до 4,5 экземпляров за 1 л/н, комары комплекса *An. maculipennis* в сборах ловушки были единичными. Пик численности *Coq. richiardii* (16,8 экз. за л/н) зарегистрирован в конце июня. Численность других видов на стационарных точках была низкой.

Наши исследования показали, что автоматическая ловушка MMI имеет определенные преимущества перед используемыми ранее приспособлениями для отбора комаров. Так, подготовка ловушки к эксплуатации занимает в среднем 2-3 мин. В процессе работы MMI не требуется участия исследователя. Непродолжительный дождь и ветер не влияют на работу прибора и сохранность собранного материала. Орнитофильные комары присутствуют в сборах данной ловушки. Основная масса собранных ловушкой комаров оставались живыми, что позволяло соблюдать требования большинства производителей тест-систем к исследуемому материалу. Недостатками, отмеченными нами, являются: вес ловушки вместе с заправленным 27-литровым газовым баллоном составляет 44,17 кг; габариты оборудования таковы, что его доставка к стационарным точкам возможна только при использовании автотранспорта.

Заключение

С помощью автоматической ловушки возможно проведение мониторинга численности популяций и отбор проб комаров в различных природных биотопах с минимальными физическими затратами и риском заражения исследователей ЛЗН.

Литература

1. Гуцевич А.В., Мончадский А.С., Штакельберг А.А. // Фауна СССР. Насекомые двукрылые. Л., 1970. – Т. 3, вып. 4. – 384 с.
2. Лопатина Ю.В., Безжонова О.В., Федорова М.В. и др. Комплекс кровососущих комаров (Diptera, Culicidae) в очаге лихорадки Западного Нила в Волгоградской области. III. Виды, питающиеся на птице и человеке, и ритмы их ночной активности. // Мед. паразитология и паразитарные болезни. – 2007. – № 4. – С. 37-43.
3. Сборник материалов по вспышке лихорадки Западного Нила в Российской Федерации в 2010 году: Сборник / Под ред. академика РАМН Г.Г. Онищенко. Волгоград: ООО «Волга-Паблицер», 2011. – 244 с.
4. Федорова М.В., Лопатина Ю.В., Безжонова О.В., Платонов А.Е. Комплекс кровососущих комаров (Diptera, Culicidae) в очаге Лихорадки Западного Нила в Волгоградской области. I. Видовой состав, сезонный ход численности, распределение по биотопам // Мед. паразитология и паразитарные болезни. – 2007. – № 1. – С.41-46.

Ответственный автор

Бородай Наталья Владимировна – младший научный сотрудник ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 614.38:616.98-002.952(571.53)

О РИСКЕ ЗАРАЖЕНИЯ НАСЕЛЕНИЯ КЛЕЩЕВЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ В МЕСТАХ МАССОВОГО ОТДЫХА В БОДАЙБИНСКОМ РАЙОНЕ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ

О.Л. Богомазова¹, И.В. Безгоднов¹, В.Б. Успенский¹, Н.А. Миряшкин¹,
М.М. Верховина¹, В.Б. Казанова¹, Т.Н. Осипова¹, Романенко Е.Г.¹,
И.В. Козлова², Г.А. Данчинова²

¹ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области, Иркутск,

²Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН,
Иркутск

На основе данных (2006-2013 гг.) о количестве укусов и зараженности клещей разными возбудителями в Бодайбинском районе Иркутской области выявлены участки с повышенной активностью инфицированных клещей. В местах массового посещения людей обнаружены клещи, инфицированные клещевым энцефалитом, клещевым боррелиозом, моноцитарным эрлихиозом, гранулоцитарным анаплазмозом человека. В связи с наличием природных очагов клещевых инфекций в Бодайбинском районе предложено проведение профилактических мероприятий.

Ключевые слова: иксодовые клещи, клещевой энцефалит, клещевой боррелиоз, моноцитарный эрлихиоз, гранулоцитарный анаплазмоз человека.

ABOUT A RISK OF INFECTION OF POPULATION TICK INFECTIONS IN PLACES OF MASS REST IN BODAIBO DISTRICT OF THE IRKUTSK AREA

O.L. Bogomazova¹, I.V. Bezgodov¹, V.B. Uspenskiy¹, N.A. Miryashkin¹,
M.M. Verhosina¹, V.B. Kazanova¹, T.N. Osipova¹, E.G. Romanenko¹, I.V. Kozlova²,
G.A. Danchinova²

¹Center for Hygiene and Epidemiology in Irkutsk region, Irkutsk,

²Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS, Irkutsk

In the light of the information about quantity of tick bites and tick's infectiousness by different infectious agents (2006-2013) in Bodaibo district of Irkutsk region were identified some areas with increased ticks activity. In popular recreation areas were found ticks infected with spring-summer tick-borne encephalitis, tick-borne borreliosis, monocytic ehrlichiosis, human granulocytic anaplasmosis. In connection with presence of natural tick-borne infections foci in Bodaibo district preventive measures have been suggested.

Key words: Ixodes ticks, spring-summer tick-borne encephalitis, tick-borne borreliosis, monocytic ehrlichiosis, human granulocytic anaplasmosis.

На территории Иркутской области обитают иксодовые клещи *Ixodes persulcatus* Schulze, являющиеся переносчиками возбудителей природно-очаговых инфекций – клещевого вирусного энцефалита (КВЭ), иксодового клещевого боррелиоза (ИКБ), клещевого риккетсиоза (КР), моноцитарного эрлихиоза (МЭЧ), гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ).

Для оценки риска заражения населения и выявления наиболее опасных в отношении заражения клещевыми инфекциями участков нами были проведены исследования в Бодайбинском районе.

Материалы и методы

Исследования проведены на основе данных о случаях присасывания клещей к человеку и о заболеваемости клещевыми инфекциями из еженедельных сводок филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области» в г. Бодайбо, Бодайбинском и Мамско-Чуйском районах и из государственной статистической формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за 2006-2013 г. Кроме того, были использованы результаты лабораторного исследований иксодовых клещей, поступивших в травмпункты от лиц, пострадавших от укуса клеща в 2006-2013 гг., полученные на базе вирусологической лаборатории «Центра гигиены и эпидемиологии в Иркутской области», в лабораториях молекулярной эпидемиологии и трансмиссивных инфекций Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН.

Для выявления антигена к вирусу клещевого энцефалита (КВЭ) применялся метод ИФА, для обнаружения РНК вируса КВЭ, ДНК анаплазм, эрлихий, риккетсий – метод ПЦР, на наличие боррелий клещей исследовали методом микроскопии окрашенных мазков из содержимого кишечника клеща.

Результаты

За анализируемый период в Бодайбинском районе было зарегистрировано 918 случаев присасываний клещей, при этом, наблюдался их ежегодный рост – с 72 случаев в 2006 г. до 148 и 107 случаев в 2012 г. и 2013 г., соответственно.

Впервые заболеваемость клещевыми инфекциями в Бодайбинском районе была зарегистрирована в 2010 г. – 3 случая ИКБ, с 2011 по 2013 гг. ежегодно регистрируется по 2 случая ИКБ [4]. Случаев других клещевых инфекций официально пока не зарегистрировано.

Вирусофорность таежных клещей, снятых с людей за 8-летний период (2006-2013 гг.), составила 5,6 % (из 609 экз. исследованных – 34 экз. положительных), зараженность боррелиями – 16,9 % (84 из 495 экз.), зараженность эрлихиями – 12,3 %, анаплазмами – 2,5% (из 316 экз. – 39 и 8, соответственно). При исследовании в 2010 г. 50 экз. таежных клещей из Бодайбинского района было выявлено 12 экз. (24 %) зараженных риккетсиями *Rickettsia sibirica*.

Обсуждение

Бодайбинский район расположен в северо-восточной части Иркутской области, на севере и востоке граничит с Саха-Якутией, на юге – с Республикой Бурятия и Читинской областью, на западе – с Мамско-Чуйским районом Иркутской области. Климатические и природные условия благоприятны для обитания таежных клещей *I. persulcatus* [2].

Реальную опасность для населения Бодайбинского района представляют места массового отдыха – лесные пригородные участки, дачные садоводства, в которых вероятны нападения иксодовых клещей, что представляет собой потенциальную возможность возникновения заболеваемости клещевыми инфекциями.

По данным о случаях присасывания клещей к человеку можно судить, что активизация таежных клещей обычно начинается в 1-2 декаде мая, а заканчивается во 2-3 декаде августа, таким образом, в среднем, продолжительность их активности составляет чуть более 100 дней. Максимальная активность клещей за сезон регистрируется в 1-2 декаде июня и совпадает с максимумом числа присасываний к человеку.

В связи с отсутствием официальной регистрации заболеваемости КВЭ территория Бодайбинского района в настоящее время не включена в список эндемичных территорий Иркутской области по этой инфекции. По данным ландшафтно-эпидемиологического районирования, проведенного в начале 21 века, на территории Бодайбинского района существует минимальный риск заражения КВЭ, так как у людей были обнаружены специфические антитела к КВЭ [1].

Объем профилактических мероприятий (противоклещевые обработки) не значителен и они проводятся только на территории летних загородных детских учреждений на площади 11,3 га.

В результате анализа данных о количестве укусов и зараженности клещей разными возбудителями нами были выделены наиболее опасные места массового отдыха людей в Бодайбинском районе (табл.).

Таким образом, наибольшую эпидемиологическую опасность в Бодайбинском районе представляют участки с повышенной активностью инфицированных клещей – в зеленых зонах городской черты г. Бодайбо, п. Мамакан и их окрестностях, в местах отдыха населения – «Лужки», «Наташкина поляна», окрестности ДОЛ «Звездочка», дачные кооперативы: «Собачьи норки», «Энергетик», «Лужки», «Березка», «Скалистый».

Полученные данные указывают на наличие природных очагов КВЭ, ИКБ, анаплазмоза, эрлихоза и клещевого риккетсиоза в местах массового отдыха населения на территории Бодайбинского района и, не смотря на отсутствие официальной регистрации заболеваемости клещевыми инфекциями (кроме ИКБ), такая ситуация требует проведения широкого комплекса профилактических мероприятий: эпизоотологические наблюдения, регистрация укусов клещей и их лабораторное исследование, повышение уровня знаний медицинских работников, иммунологическое исследование больных с подозрением на клещевые инфекции, проведение вакцинопрофилактики КВЭ (в группах риска), экстренной профилактики КВЭ, ИКБ (по показаниям), индивидуальную защиту людей, акарицидные обработки, экологические мероприятия, санитарно-просветительную работу [3].

Литература

1. Атлас. Иркутская область: Экономические условия развития. – М.-Иркутск, 2004. – 168 с.
2. Беркин И.С., Филиппова С.А., Бояркин В.М., Наумова А.М., Руденко Г.В. Иркутская область (природные условия административных районов). – Иркутск: изд-во Иркут. ун-та, 1993. – 304 с.
3. Богомазова О.Л., Безгодков И.В., Успенский В.Б., Антонова А.М., Данилова О.Л., Осипова Т.Н., Нефедьева О.К., Чумаченко И.Г., Логиновская Л.А., Козлова И.В., Верховина М.М., Сунцова О.В.

Современная эпидемиологическая ситуация и профилактика иксодовых клещевых инфекций в северных районах Иркутской области // Эпидемиология и вакцинопрофилактика – 2009. – №3 (46). – С. 23-26.

4. Статистическая форма №2. Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях за 2009-2013 гг.

Таблица

**Местность, наиболее опасная в отношении заражения клещевыми инфекциями
в Бодайбинском районе (2006-2013 гг.)**

Местность, где произошло нападение клещей	Количество укусов (исследовано клещей, экз.)	Положительные результаты на наличие возбудителя КВЭ (экз./%)	Положительные результаты на наличие боррелий (экз./%)	Положительные результаты на наличие <i>Anaplasma phagocytophilum</i> (экз./%)	Положительные результаты на наличие <i>Ehrlichia muris</i> (экз./%)
г.Бодайбо:					
м/р-н «Колобовщина»	122	4/3,3%	14/11,5%	10/8,2%	1/0,8%
	26	1	7	4	-
м/р-н Бисяга	49	1	5	3	1
в черте города	35	3	4	1	1
в р-не аэропорта					
В лесу за г.Бодайбо	80	4/5,0%	13/16,3%	4/5,0%	1/1,3%
ДОЛ «Звездочка»	67	3	9	-	1
В лесу за п. Мамакан	56	-	4	-	-
п.Мамакан:					
в черте поселка	21	2	2	1	-
Взвоз	19	1	1	1	-
«Наташкина поляна»	31	1	3	1	-
Дачи «Собацьи норки»	23	2	6	1	-
Дача «Энергетик»	16	-	3	-	-
Район «Лужков»	12	-	2	-	-
Дача «Березка»	15	2	1	2	1
Дача «Скалистый»	8	-	1	-	1

Ответственный автор

Богомазова Ольга Леонидовна – энтомолог паразитологического отделения эпидемиологического отдела ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.831-002-022.6:578.833.2Flavivirus-001.8(571.620)"2013/2014"

АНАЛИЗ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ В ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА НА ЮГЕ ХАБАРОВСКОГО КРАЯ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИССЛЕДОВАНИЯ КЛЕЩЕЙ, СНЯТЫХ С ЖИТЕЛЕЙ Г. ХАБАРОВСКА

Т.В. Мжельская¹, А.В. Кириллова¹, А.Г. Ковальский², Н.П. Высочина²,
О.Е. Троценко¹, Е.Н. Присяжнюк³, И.Г. Пивоварова³

¹ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора

²ФКУЗ Хабаровская противочумная станция Роспотребнадзора

³ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае»

Представлены данные по погодным условиям 2013, 2014 гг. и мониторинговые наблюдения за численностью иксодовых клещей в природных биотопах на юге Хабаровского края. Приведены результаты исследования напивавшихся клещей, удалённых с жителей города Хабаровска, на инфицированность вирусом клещевого энцефалита в предпаводковые месяцы 2013 г., в сравнении с эпидемическим периодом 2014 г.

Ключевые слова: клещевой энцефалит, иксодовые клещи, вирусофорность.

Analysis of epizootic situation in hot spot of tick borne encephalitis in the South of Khabarovsk region, based on examination of ticks, removed from citizens of Khabarovsk City
T.V. Mzhel'skaya¹, A. V. Kirillova¹, A. G. Kovalskii², N. P. Visochina², O. E. Trotsenko¹, E. N. Prisyazhnyuk³, I. G. Pivovarova³

¹Khabarovsk research institute of epidemiology and microbiology of Federal service on customer's rights protection and human well-being surveillance,

²Khabarovsk region antiplague station of Federal service on customer's rights protection and human well-being surveillance, Khabarovsk,

³Khabarovsk Region Hygiene and Epidemiology Center

Epidemiological data regarding weather conditions in 2013-2014 and observations for quantity of Ixodes ticks in hot spots in the South of Khabarovsk region are presented in the current article. The infection rate of ticks removed from the citizens of Khabarovsk City during pre-flood months in 2013 was compared to that in 2014.

Key words: tick-borne encephalitis, Ixodes ticks, the spread of infected ticks.

Значительная часть территории Хабаровского края является эндемичной по клещевому вирусному энцефалиту (КЭ), который регистрируется в 16 из 19 муниципальных образований. Природно-климатические условия в крае способствуют поддержанию сформировавшихся природных очагов инфекции. Основным переносчиком вируса клещевого энцефалита в крае является таёжный клещ *Ixodes persulcatus*, дополнительными видами – *Dermacentor silvarum*, *Haemaphysalis concinna* [2, 3].

Краевой центр (г. Хабаровск) расположен на юге края, входит в состав южной климатической зоны, площадь города включает правобережье и левобережье р. Амур и составляет 388,7 тыс. га. Население – 601043 человека. Села и поселки Хабаровского района площадью 30 тыс. га. составляют единое целое с г. Хабаровском. Окраины города вплотную подходят к Воронежским высотам и предгорьям хребта Большой Хехцир. Вокруг города располагаются 78000 садово-огородных участков, в рекреационной зоне расположены санатории, базы отдыха, детские оздоровительные лагеря.

Погода г. Хабаровска соответствует континентальному климату с муссонными проявлениями. Продолжительность холодного периода 134 дня, безморозного – 159 дней, среднемесячная температура в январе -22 °С, в июле +21°С. Среднегодовое количество осадков 672 мм. Снежный покров появляется в конце октября и держится до середины апреля, достигая средней высоты 18 см. Среднегодовая относительная влажность составляет 71 %.

Соотношение теплых и морозных дней, влажность воздуха на юге края, высота и длительность снежного покрова благоприятны для жизнедеятельности переносчиков и репликации в них вируса КЭ.

Лоймопотенциал природных очагов инфекций зависит от численности переносчиков патогенов, периода их активности и степени зараженности вирусами, бактериями, спирохетами и т.д. Эпидемический потенциал, кроме вышеперечисленного, включает также интенсивность контакта населения с очагами.

Цель работы

Сравнительная оценка результатов исследования клещей, удаленных после присасывания к жителям г. Хабаровска, на зараженность вирусом клещевого энцефалита в 2013 и 2014 гг.

Материал и методы

Методом ИФА (диагностикум Векто ВКЭ – антиген производства ЗАО «Вектор Бест» г. Новосибирск) выявлялся антиген вируса КЭ в клещах, доставленных на экспертизу жителями города и окрестных населенных пунктов. Проанализированы данные по численности клещей, собранных в природных биотопах, и погодные условия 2013 и 2014 гг.

Результаты и обсуждение

Апрель - июль 2013 года – предпаводковые месяцы. Паводок на р. Амур сформировался в августе, с дальнейшими последствиями в сентябре, октябре.

Погодные условия Приамурья в 2013 г. характеризовались поздним наступлением весны, преимущественно тёплым летом с обильными ливневыми дождями. Осень стояла теплой и сухой. Ноябрь 2013 г. был теплым и влажным. Снежный покров на юге края образовался 7 ноября. Из-за повышенного фона температур воздуха высота снега в южных районах края составила 6 - 9 см. Относительно теплая погода сохранялась в декабре. Январь 2014 г. был малоснежным и тёплым. Средняя температура месяца на 6° выше среднегодовой нормы. Высота снежного покрова на конец февраля составляла 21-25 см, что выше уровня снега в 2013 г.

Весна в 2014 г. наступила на 3 недели раньше среднегодовых показателей. Апрель и май 2014 г. были теплее обычного, отклонения от нормы составили +2,5° и +0,3° соответственно.

Оценивая погодные условия Приамурья в конце 2013 г., можно отметить, что условия зимовки 2014 г. оказались благоприятными для кровососущих переносчиков – иксодовых клещей и мелких млекопитающих – прокормителей преимагинальных фаз клещей, что безусловно повлияло на их численность. Обилие иксодид в эпидемический сезон 2014 г. находилось на высоком уровне, а начало активности наступило на 10 - 12 дней раньше обычных сроков.

В сборах клещей в местных биотопах Хехцира присутствовало 3 вида – *I. persulcatus*, *D. silvarum*, *H. japonica*. Доминировал, как всегда, клещ *I. persulcatus* (62,2 %) в сборах в апреле, до 74,4 % – в мае.

В 2013 г. в крае зарегистрировано 5124 обращения в ЛПУ по поводу присасывания клещей, их них 1821 – в г. Хабаровске. Количество обращений 2014 г. по состоянию на 1 июля - 4812, 2108 соответственно, 75 % пострадавших от нападения клещей в 2014 г. доставили удаленных клещей на исследование.

В 2013 г. первые клещи, присосавшиеся к жителям г. Хабаровска, были доставлены на исследование в начале II декады апреля. В 2014 г. с наступлением ранней весны первые присасывания клещей зарегистрированы 28 марта. С мая количество удаленных клещей увеличивалось синхронно в 2013 и 2014 гг. Наибольшее число экспертиз в анализируемые годы выполнено в третьей декаде мая, I, II декадах июня. Начиная с первых чисел мая, количество доставленных на исследование клещей в 2014 г. превосходило аналогичный показатель 2013 г. В мае - июне 2013 и 2014 гг. клещи были представлены видом *I. persulcatus*.

В апреле 2013 - 2014 гг., а также в сентябре - октябре 2013 г. зафиксированы клещи рода *D. silvarum* (соответственно экологической особенности вида), осенью 2013 г., как обычно, появились личинки и нимфы новой генерации переносчиков.

Всего в 2013 г. исследовано 1292 экземпляра клещей. Антигенположительными были 47, что составило 3,63 % от общего числа исследованных.

На 1 июля 2014 г. исследовано 1583 клеща, на этот же период 2013 г. – 1057, т.е. почти в 1,5 раза меньше. Данные показатели – результат как высокой численности клещей в лесных биотопах пригорода, так и раннего начала их активности. Удельный вес клещей, в которых выявлен антиген вируса КЭ, в 2014 г. составил 9,66 %. Еженедельным мониторингом за уровнем зараженности клещей вирусом КЭ установлено в 2014 г. превышение числа антигенположительных экземпляров в 2,5 - 3,0 раза по сравнению с показателями 2013 г.

По мнению Е.Н. Болотина [1], на патогенные свойства вируса КЭ положительно воздействуют низкие температуры и продолжительность холодного периода года. Уместно отметить, что влияние абиотических факторов на вирусофорность клещей в природных очагах КЭ, практически не изучено [4].

Оптимальное соотношение биотических и абиотических факторов, вероятно, повлияло в 2014 г. на уровень вирусофорности как живых клещей, собранных с растительности (до 8,00 %), так и напитавшихся – снятых с людей (до 9,66 %).

Выявление антигена вируса КЭ в клещах *D. silvarum* в апреле 2013, 2014 гг. и сентябре – октябре 2013 г. подтверждает положение о полигостальности природных очагов КЭ.

В 2014 г. проанализировано месторасположение пунктов, где произошло присасывание клеща. Число нападений клещей увеличилось непосредственно в городской черте. Этот факт имел место и в сентябре - октябре 2013 г. Логично предположить, что клещи были занесены в городские районы мышевидными грызунами, мигрирующими из затопленных мест. Наибольшее число случаев присасывания клещей, как и в прежние годы, зафиксировано на дачных участках, расположенных вблизи лесных массивов хребта Хехцир.

Хотя увеличение числа контактов с клещами в черте города нельзя интерпретировать как формирование антропоургических очагов КЭ, вместе с тем, это является поводом для планомерного наблюдения за наличием клещей в зеленых зонах города.

Таким образом, оценивая эпизоотическую ситуацию в природных очагах клещевого энцефалита, необходимо учитывать, как биотические, так и абиотические факторы, влияющие на численность переносчиков и репликацию в них вируса клещевого энцефалита.

Выводы

1. Циклические колебания численности переносчиков вируса КЭ, благоприятные климатические условия зимы 2013-2014 гг., весны 2014 г. на юге Хабаровского края способствовали повышению численности клещей и уровня их вирусофорности.

2. Увеличение числа лиц, пострадавших от нападения клещей, напрямую связано с численностью переносчиков.

3. Присасывание клещей в осенние месяцы 2013 г. на территории города, вероятно, явилось следствием заноса клещей мышевидными грызунами, мигрирующими с подтопляемых территорий.

4. Значительное число нападений клещей в разных районах г. Хабаровска в 2014 г. можно с определенной долей уверенности объяснить как перезимованием переносчиков в травяной подстилке на территории города, так и высокой численностью клещей в лесных биотопах пригорода, откуда они могли быть занесены грызунами или птицами.

Литература

1. Болотин Е.И., Горковенко Л.Е. Некоторые аспекты изучения структуры и функционирования очагов клещевого энцефалита юга Дальнего Востока // Паразитология. – 1998. – Т. 32, № 1. – С. 32-38.

2. Волков В.И. Иксодовые клещи Приамурья // Кровососущие членистоногие и борьба с ними в районах новостроек Дальнего Востока. – Ленинград, 1977. – С. 17 – 42.

3. Медико-экологический атлас Хабаровского края и Еврейской автономной области /Автор-составитель атласа Волков В.И. – Хабаровск, 2005. - 112 с.

4. Коренберг Э.И. Современные черты природной очаговости клещевого энцефалита: новые или хорошо забытые? // Мед. паразитология. – 2008. – № 3. – С.3-8.

Ответственный автор

Мжельская Тамара Владимировна – кандидат медицинских наук, руководитель лаборатории клещевого энцефалита и других природно-очаговых инфекций ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора. Тел.: (4212) 46-18-59, E-mail: adm@hniiem.ru

МИКРОБИОЛОГИЯ И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

УДК: 616.2:578.834.1Coronavirus:54-41]-07

РАЗРАБОТКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ КОРОНАВИРУСА, ВЫЗЫВАЮЩЕГО БЛИЖНЕВОСТОЧНЫЙ РЕСПИРАТОРНЫЙ СИНДРОМ

А.Н. Болдырев, С.А. Боднев, С.Н. Соколов, Т.П. Микрюкова,
В.В. Солодкий, В.А. Терновой, Ю.В. Туманов,
О.В. Пьянков, А.П. Агафонов

ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии
«Вектор», Кольцово, Новосибирская область, Россия

На основе предложенных Немецким центром по изучению инфекций праймеров и зонда на ген 1b коронавируса ближневосточного респираторного синдрома разработан набор реагентов для его обнаружения. В наборе основные компоненты только отечественного производства. ПЦР проводили по ускоренной программе и ампликон детектировали по конечной точке и в УФ-свете.

Ключевые слова: коронавирус, ближневосточный респираторный синдром, ПЦР, флуоресценция по конечной точке

DEVELOPMENT OF POLYMERASE CHAIN REACTION KIT FOR DETECTION OF CORONAVIRUS CAUSING MIDDLE EASTERN RESPIRATORY SYNDROME

A.N. Boldyrev, S.A. Bodnev, S.N. Sokolov, T.P. Mikryukova, V.V. Solodky, V.A. Ternovoi, Yu.V. Tumanov, O.V. Pyankov, A.P. Agafonov

State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Novosibirsk region, Koltsovo
A kit comprising the key components solely of Russian manufacturers and vendors for PCR and detection of Middle Eastern respiratory syndrome coronavirus 1b gene was developed on the basis of the primers and a probe suggested by German Center for the Study of Infections (Deutsches Zentrum für Infektionsforschung, DZIF, Germany). The detection of a virus-specific amplicon was performed by measuring the fluorescence as the endpoint and the ultraviolet light after the gel electrophoresis in the presence of ethidium bromide. The reaction was conducted in an accelerated program in 15 (10) µl volume. This approach does not require expensive equipment and Taq DNA polymerase such as Platinum-Taq DNA polymerase.

Key words: coronavirus, Middle Eastern respiratory syndrome, polymerase chain reaction, fluorescence by end point

По данным ВОЗ на 15 мая (24 апреля) 2014 г. зарегистрировано 572 (254) лабораторно подтверждённых случая заболевания людей БВРС, возбудителем которого является вирус БВРС, включая 173 (93) смертельных случая [4,5]. Цифры по заболеваемости и смертности возросли почти вдвое всего лишь за 20 дней.

Несмотря на недавнее обнаружение нового коронавируса (сентябрь 2012 г.), получившего название вирус ближневосточного респираторного синдрома (ВБВРС) [3], на рынке уже появились ПЦР-наборы реагентов за рубежом [2] и набор, выпускаемый ЦНИИЭ (Москва, Россия), для его тестирования. Наборы, предложенные ВОЗ, позволяют своевременно и быстро обнаруживать возбудителя. Но они ориентированы на проведение ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени. Стремление исследователей проводить диагностику на высокоточном оборудовании понятно, поскольку исключает контаминацию анализируемых образцов друг другом и обеспечивает полу-

чение результатов в кратчайшие сроки. При возникновении чрезвычайных ситуаций (ЧС) требуется использование недорогих компактных наборов, реагенты которых помещались бы в упаковке малого формата, сохраняли бы свою работоспособность при транспортировке в обычных климатических условиях и выполнении необходимых операций в ходе их использования при отсутствии перекрёстной контаминации, и не требовали при работе с ними дорогостоящего и габаритного оборудования для идентификации искомого патогена.

Цель работы – разработка для обнаружения вируса БВРС ПЦР-набора, который позволил бы измерять флуоресценцию полученных ампликонов по конечной точке и мог бы найти применение при работе в условиях различных чрезвычайных ситуациях: проведение диверсии на мероприятиях при большом скоплении людей и, в частности, биотеррористический акт; первичное выявление вируса у лиц, прибывших из стран с высоким риском заражения (Саудовская Аравия и др.), у работников системы здравоохранения и других групп риска (работников посольств и т.п.).

Материалы и методы

Доктором Haagmans B.L., PhD (Erasmus MC, Rotterdam, the Netherlands) был любезно предоставлен в наше распоряжение вирус ближневосточного респираторного синдрома, который для увеличения титра вируса культивировали на культуре клеток почек зелёной мартышки линии Vero-E6. По 100 мкл вирусосодержащей культуральной жидкости отбирали из культурального флакона в различные дни культивирования и вносили в 300 мкл лизирующего раствора (набор «РНК-Сорб», ЦНИИЭ) в под-готовленную микроцентрифужную круглодонную пробирку объёмом 2 мл. После проведения дезинфекции внешней поверхности закрытой пробирки орошением 70 %-м водным этанолом передавали на выделение суммарной РНК, которое проводили с использованием того же набора согласно инструкции. Препарат суммарной РНК вносили в реакционную смесь для проведения реакции обратной транскрипции (ОТ) (набор «Реверта-L», ЦНИИЭ). Полученную смесь «ДНК-фрагментов» использовали в качестве матрицы для постановки ПЦР. ПЦР с праймерами и зондом («Синтол», Москва, Россия) ставили в двух форматах: немеченный (без внесения зонда в реакционную смесь) и меченный (с зондом) в 15 (10) мкл в амплификаторе «БИС-111» («БИС-Н», Новосибирск, Кольцово, Россия). Детекцию ПЦР-продуктов (ампликонов) проводили, измеряя флуоресценцию по конечной точке в флуоресцентном детекторе «Джин» («ДНК-технология», Москва, Россия), и затем выявляя их в УФ-свете после проведения электрофореза (ЭФ) в агарозном геле (меченый вариант), в случае немеченного варианта – только после ЭФ. Результаты документировали, используя программу «Джин» («ДНК-технология») и систему для документирования и анализа гелей. ЭФ проводили в 2 %-м агарозном геле в 1× TAE-буфере в присутствии бромистого этидия при 80 мА в течение 50 мин. В качестве маркёров использовали смесь ампликонов с шагом длины в 50 п.н., начиная с 50 п.н. («Медиген», Новосибирск, Россия). Для конструирования рекомбинантной плазмиды, несущей нуклеотидную последовательность гена 1b использовали набор TOPO TA Cloning Kit (Invitrogen), а для секвенирования клонированной последовательности – набор для секвенирования BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems).

Результаты и обсуждение

При возникновении ЧС требуется, как правило, выявление искомого патогена, которое следует проводить в двух-трех повторах в расчёте на один образец. Что касается выявления патогена, такого как вирус БВРС, то инфицирование им лиц в отдельных странах регистрируется в настоящее время как единичные случаи, которые известны из научной литературы [1]. Такие случаи выявлены в Европе, Африке, Азии и совсем недавно в Америке [5]. Эти факты навели на мысль, что для первичного скрининга лиц, инфицированных коронавирусом БВРС, дорогостоящие наборы и оборудование не требуются. Кроме того, следует учитывать, что ПЦР-наборы требуют периодического обновления из-за присутствия в нём фермента, со временем снижающего свою активность, а после их закупки в отсутствие заболевших и вовсе могут оказаться не востребуемыми в течение гарантийного срока.

В ходе исследования нами были подобраны условия для проведения ПЦР, которая может быть использована при ЧС для обнаружения коронавируса БВРС. Условия её проведения существенно отличаются от тех условий, которые предложены Немецким центром. В нашем наборе используется Hot Start Taq-ДНК-полимераза («СибЭнзим», Новосибирск, Россия), которая функционирует в присутствии низкой концентрации соли, что требует пониженной температуры для отжига праймеров. Активация её осуществляется при температуре выше 70° С, что позволяет избежать образования димеров. Эта полимераза вместе с обратной транскриптазой из набора «Реверта-L» оказалась способной заменить Platinum Taq-ДНК-полимеразу из набора SuperScript III One-Step RT-PCR System with Platinum® Taq DNA Polymerase (Invitrogen), используемого для выявления БВРС в режиме реального времени. Поскольку в ходе ПЦР образуется ампликон длиной 82 п.н., было сокращено время, отведённое в цикле на стадию денатурации ампликона с 15 с до 1 с и 10 с на стадию отжига (набор пр-ва Invitrogen – 30 с). Учитывая длину ампликона, мы отказались от включения в темпера-

турно-временной профиль стадии синтеза. Т.о., программа ПЦР выглядит как: 1× [94 °С, 10 с], 35–40× [96 °С, 1 с, 49 °С, 10 с], 1× [72 °С, 30 с]. Время проведения ПЦР – ~ 70 мин.

Заключение

В итоге разработан набор, который включал четыре реагента. Первый содержал праймеры, 4 дезоксирибонуклеозидтрифосфата, полимеразный буфер («СибЭнзим») и воду (для проведения ПЦР, ГНЦ ВБ «Вектор»); второй – 50 мМ хлорид магния («СибЭнзим»), третий – зонд, 4-й – Hot Start-Тaq-ДНК-полимераза. В набор также входят положительный контрольный образец (ПКО) – плазмидная ДНК, несущая искомую вирусспецифичную нуклеотидную последовательность; отрицательный контрольный образец (ОКО) – вода для проведения ПЦР и стандартный образец предприятия (СОП) – ДНК человека, выделенная из крови здоровых доноров. Последний используется только при выявлении вируса, полученного от человека. Введение такой ДНК в отдельную пробу обусловлено тем, чтобы показать, что праймеры не образуют вирусспецифичный ампликон в присутствии ДНК здорового человека. В ближайшее время предполагается использование набора для тестирования панели, включающей контрольные образцы коронавируса БВРС.

Литература

1. Guery B. et al. Clinical features and viral diagnosis of two cases of infection with Middle East Respiratory Syndrome coronavirus: a report of nosocomial transmission // *Lancet*. – 2013. – V. 381. – № 9885. – P. 2265–2272.
2. Lu X. et al. Real-time reverse transcription-PCR assay panel for Middle East respiratory syndrome coronavirus // *J. Clin. Microbiol.* – 2014. – V. 52. – № 1. – P. 67–75.
3. ProMED-mail. Novel coronavirus – Saudi Arabia: human isolate. Archive Number: 20120920.1302733. (<http://www.promedmail.org/>).
4. ProMED-mail. [6] Who risk assessment – Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) Archive Number: 20140424.2424017 (<http://www.promedmail.org/>).
5. ProMED-mail. [2] Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) – update Archive Number: 20140515.2474996 (<http://www.promedmail.org/>).

Ответственный автор:

Болдырев Александр Николаевич – старший научный сотрудник ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор». Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.928.8-02(571.6)

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ РАСШИФРОВКА ЗАВОЗНЫХ СЛУЧАЕВ ТРОПИЧЕСКИХ ЛИХОРАДОК В ДАЛЬНЕВОСТОЧНОМ РЕГИОНЕ

С.В. Бахметьева¹, Н.М. Пуховская¹, Н.И. Здановская¹, Л.И. Иванов¹,
Н.Б. Белозерова¹, О.М. Уткина¹, Я.А. Журавлев², В.Ф. Ларичев³

¹ФКУЗ «Хабаровская противочумная станция» Роспотребнадзора, Хабаровск

²КГБУЗ «Городская клиническая больница №10 Минздрава Хабаровского края, Хабаровск

³ФГУ «Научно-исследовательский институт вирусологии имени Д.И. Иванова» Минздравсоцразвития, Москва

Представлены результаты расшифровки завозных случаев арбовирусных лихорадок в Дальневосточном регионе России за период 2011-2014 гг. Диагноз лихорадка Денге подтвержден у 56 больных и выявлены по одному больному лихорадками Западного Нила и Чикунгунья. При подтверждении клинического диагноза использовали ИФА для выявления IgM/IgG антител и ОТ-ПЦР. ОТ-ПЦР и филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей показал наличие вирусов Денге 1, 2 и 3 типа. Используя культуру клеток Vero E6 и новорожденных белых мышей, изолированы пять штаммов вируса Денге 1 и 3 типа.

Ключевые слова: арбовирусные инфекции, лихорадка Денге, завозные случаи

ETIOLOGICAL DECODING OF IMPORTED CASES OF TROPICAL FEVERS IN THE FAR EASTERN REGION

S.V. Bakhmeteva¹, N.M. Pukhovskaya¹, N.I. Zdanovskaya¹, L.I. Ivanov¹, N.B. Belozerova¹,
O.M. Utkina¹, Ya.A. Zhuravlev², V.F. Larichev³

¹Khabarovsk Antiplague Station of Rospotrebnadzor, Khabarovsk

²Municipal Clinical Hospital N 10 of Public Health Ministry of Khabarovsk Territory, Khabarovsk

³Research Institute of Virology by D.I. Ivanovsky of Public Health Ministry of Social Development, Moscow

Decoding data of imported arbovirus fever cases in the Far Eastern region of Russia in 2011-2014 are represented. Dengue fever diagnosis was confirmed in 56 patients; one patient with West Nile fever and one patient with Chikungunya fever were revealed. If the clinical diagnosis was confirmed, IFA was used to reveal IgM/IgG antibodies and RT-PCR. RT-PCR and the phylogenetic analysis of nucleotide sequences showed the presence of Dengue type 1, 2 and 3 viruses. Five Dengue type 1 and 3 virus strains were isolated using Vero E6 cell culture and newborn white mice.

Key words: Arbovirus infections, a Dengue fever, imported cases.

Глобальное распространение лихорадок Западного Нила (ЛЗН), Денге (ЛД), Чикунгунья (ЛЧ) и других тропических инфекций, передающихся трансмиссивным путем, массовость эпидемических вспышек, одновременная циркуляция различных возбудителей на отдельно взятой территории обуславливают высокий риск заражения для «визитеров» из эндемичных регионов [1, 2, 3]. Ежегодный рост туризма, в том числе экологического, территориальная близость со странами Юго-Восточной Азии – излюбленным местом отдыха дальневосточников, способствуют увеличению количества случаев инфицирования туристов вирусами Денге (ВД), Западного Нила (ВЗН), Чикунгунья (ВЧ) и другими патогенами, эндемичными для данных стран.

Цель работы – комплексное лабораторное обследование больных, вернувшихся из туристических поездок, для выявления завозных случаев арбовирусных инфекций.

Материалы и методы

Иммунологические тесты включали определение IgM и IgG к возбудителям ЛД, ЛЗН, ЛЧ, Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) и клещевого энцефалита (КЭ). Использовали наборы реагентов ЗАО «Биосервис», ЗАО «Вектор-Бест» (Россия), «Евроиммун» (Германия). Диффе-

рениальную диагностику проводили, сравнивая титры IgM антител к ВЗН и ВД, а также при обнаружении IgG по наличию нейтрализующих антител к эталонным штаммам вируса КЭ (штамм Софьин) и вируса ЗН (штамм FCG). Образцы, взятые на 2-7 день болезни, тестировали иммунохроматографическим методом («Евроиммун», Германия) на наличие белка NS1 вируса Денге, а также антигенов малярийных плазмодиев.

ПЦР-исследования включали детекцию РНК с помощью тест-систем «АмплиСенс WNV-FL» и «АмплиСенс *Dengue viru stype – FL*» (Интерлабсервис, Москва, Россия). Для типирования были использованы набор праймеров, специфичных к вирусам Денге 1-4 серотипов, и двухраундовая ПЦР с универсальными праймерами к флавивирусам [4, 5]. Специфичность продуктов ОТ-ПЦР подтверждали определением нуклеотидных последовательностей с использованием BigDye 3.1 Terminator Cycle Sequencing Kit и автоматического анализатора ДНК модели ABI 3500 (Applied Biosystems, США) с последующим филогенетическим анализом.

Выделение вирусов Денге проводили на 2-3-дневных сосунках лабораторных белых мышей (НБМ) путем комбинированного (в/м, п/к) заражения и последующих пассажей. Кроме того, осуществлялся посев лейкоцитарной взвеси и суспензий сгустков крови больных людей на монослой перевиваемой клеточной культуры (КК) Vero-E6.

Результаты и обсуждение

За период с мая 2011 г. по май 2014 г. из лечебных учреждений региона поступило 180 проб крови от 131-го больного с предварительными диагнозами лихорадка неясного генеза (ЛНГ) или ЛД, прибывших незадолго до заболевания из стран Юго-Восточной Азии, Африки и Китая. Основные симптомы заболевания в период начальных проявлений у всех больных носили общетоксический характер. Согласно данным лабораторного тестирования (таблица), у 56 пациентов диагностирована ЛД – 43,0 % от числа обследованных лиц. Кроме того, подтверждено по одному случаю ЛЗН и ЛЧ. Ретроспективный анализ 21 парной сыворотки, серонегативной относительно арбовирусов и малярии, выявил у трех больных четырехкратный прирост антител к вирусам гриппа А (2- Н3N2, 1 – Н1N1v). В 70 случаях (53,4 %) лабораторный диагноз установлен не был.

Таблица 1.

Результаты этиологической расшифровки лихорадок неясной этиологии среди лиц, прибывших из туристических поездок, за период 2011-2014 гг.

Лабораторный диагноз	2011 г.	2012 г.	2013 г.	2014 г.	Всего	
					человек	%
Всего обследовано	2	48	68	13	131	100
из них положительных на:						
Лихорадка Денге	1	23	27	5	56	43
Лихорадка Западного Нила	0	1	0	0	1	0,8
Лихорадка Чикунгунья	0	1	0	0	1 из 74	1,4
Грипп А	0	0	3	0	3 из 21	14,3
Не установлен диагноз	1	23	38	8	70	53,4

Этиологический диагноз у 52 больных, обследованных на 5-30-й дни после появления первых симптомов заболевания, установлен по наличию или положительной сероконверсии IgM антител к ВД, титры которых достигали 1:25600. У 24 из них определялись перекрестные IgM к вирусу ЗН, однако их уровень был в четыре и более раз ниже титра IgM антител к ВД. Присутствие IgG (от 1:200 до 1:50000) документировано в 35 случаях, преимущественно у привитых против КЭ, что свидетельствует о перекрестных иммунологических реакциях между представителями флавивирусов. Наряду с присутствием IgM, у 12 из 52 серопозитивных к ВД лиц иммунохроматографическим тестом обнаружен антиген NS1. Основанием для лабораторного подтверждения ЛД у четырех пациентов, обследованных однократно на 2-4 дни болезни, когда серологическая диагностика затруднена, считали наличие в крови антигена NS1 и РНК ВД.

Проведенный ПЦР анализ 163 образцов крови от 85 больных с подозрением на заболевание тропическими лихорадками показал наличие РНК флавивирусов у 17 из них. В одиннадцати случаях удалось протипировать вирус Денге: пять – Денге 1, три – Денге 2 и три – Денге 3. Все ПЦР-позитивные пробы были получены от больных, ранее посещавших Тайланд. Из крови пациентов выделены четыре штамма вируса Денге на КК Vero E6 и один штамм – при заражении мышей-сосунков.

Молекулярное типирование на основании двух локусов флавивирусного генома – фрагментов генов C-preM и NS5 – показало принадлежность четырех штаммов вируса Денге к 1 типу и одного изолята к Денге 3 (GeneBank accession numbers KJ396963–KJ396967, KJ417841–KJ417844).

ЛЗН диагностирована по наличию IgM в титре 1:6400 и вируснейтрализующих антител в титре 1:10 у пациента, вернувшегося из Таиланда. Еще у одного больного, отдохавшего в Индонезии, на 8 день заболевания обнаружены IgM к ВЧ в титре 1:6400, что явилось основанием для постановки этиологического диагноза.

Таким образом, согласно данным комплексных лабораторных исследований, нами было подтверждено 56 завозных случаев лихорадки Денге из Таиланда, Вьетнама, Филиппин, в числе которых 18 жителей Приморского края, 36 – Хабаровского края, два – Сахалинской области, а также по одному случаю ЛЗН и ЛЧ у жителей Приморского края.

Заключение

Впервые на территории Дальневосточного региона зарегистрированы завозные случаи ЛД, ЛЗН и ЛЧ. В этой связи необходима координация взаимодействия между специалистами различного профиля для совершенствования системы раннего выявления, эпидемиологического расследования и дифференциальной лабораторной диагностики не только арбовирусных инфекций, но и заболеваний, обусловленных респираторными и другими патогенами. Чрезвычайно актуальным становится усиление эпидемиологической настороженности практических врачей ЛПУ и их нацеленность на более широкое, с учетом эпиданамнеза, лабораторное обследование лихорадящих больных на маркеры арбовирусных инфекций.

Литература

1. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство / Под ред. Г.Г. Онищенко, В.В. Кутырева – М.: Медицина, 2009. – 472 с.
2. Львов Д.К. Новые и возвращающиеся вирусные инфекции – дремлющий вулкан // Жизнь без опасностей. Здоровье. Профилактика. Долголетие. – 2009. – №1. – С. 52-61.
3. Руководство по медицинской вирусологии / Под ред. Д.К. Львова. – М.: Медицина, 2008. – С. 493-494.
4. Harris E., Roberts G., Smith L., Selle J. et al. Typing of Dengue Viruses in Clinical Specimens and Mosquitoes by Single-Tube Multiplex Reverse Transcriptase PCR // Journal of Clinical Microbiology. – 1998. – Vol. 36. – No. 9. – P. 2634-2639.
5. Scaramozzino N., Crance J., Jouan A. et al. Comparison of Flavivirus Universal Primer Pairs and Development of a Rapid, Highly Sensitive Heminested Reverse Transcription-PCR Assay for Detection of Flaviviruses Targeted to a Conserved Region of the NS5 Gene Sequences // Journal of Clinical Microbiology. – 2001. – Vol. 39. – No. 5. – P. 1922-1927.

Ответственный автор

*Бахметьева Светлана Васильевна – биолог вирусологической лаборатории ФКУЗ Приморская противочумная станция Роспотребнадзора, канд. биол. наук
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru*

УДК: 616.91:578.833.25-022.375(571.53-25)

СЛУЧАИ ЗАВОЗА ЛИХОРАДКИ ДЕНГЕ ПУТЕШЕСТВЕННИКАМИ В ИРКУТСК

Т.И. Борисова¹, Е.А. Сидорова¹, А.В. Севостьянова¹, М.В. Лемешевская²,
И.В. Котова³, К.А. Белых³, Е.И. Андаев¹

¹ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Иркутск;

²ГБОУ ВПО "Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск;

³ОГУЗ "Иркутская областная инфекционная клиническая больница", Иркутск

Проведено лабораторное исследование клинического материала от 14 пациентов, прибывших из Юго-Восточной Азии и поступивших на лечение в Иркутскую областную инфекционную клиническую больницу с подозрением на лихорадку денге. Методом ОТ-ПЦР РНК вируса Денге 3 типа обнаружена у трех больных. Из крови одного больного изолирован вирус Денге 1 типа. Антитела класса М выявлены у трех пациентов, антитела класса G – у девяти, из них четырехкратное нарастание титра антител в парных сыворотках отмечено у двух больных. У двух пациентов антитела к вирусу Денге не обнаружены. С использованием лабораторных серологических (ИФА) и молекулярно-генетических методов (ОТ-ПЦР) диагноз подтвержден у 12 человек.

Ключевые слова: лихорадка денге, вирус Денге, антитела к вирусу, РНК вируса, ОТ-ПЦР.

CASES OF DENGUE FEVER IMPORTATION BY TRAVELLERS TO IRKUTSK

T.I. Borisova¹, E.A. Sidorova¹, A.V. Sevostyanova¹, M.V. Lemeshevskaya²,
I.V. Kotova³, K.A. Belyh³, E.I. Andaev¹

¹Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, Irkutsk

²Irkutsk State Medical University, Irkutsk; ³Irkutsk Regional Infectious Clinical Hospital, Irkutsk

Laboratory examination of clinical material from 14 patients arrived from South Eastern Asia and received treatment in Irkutsk Regional Infectious Clinical Hospital with suspicion to Dengue fever was performed. RNA of Dengue virus type 3 was revealed in 3 patients by RT-PCR method. Dengue virus type 1 was isolated from blood of a patient. M-class antibodies were detected in 3 patients, G-class antibodies – in 9 patients, and four-fold increase of antibody titers in binate sera was noted in 2 patients. Antibodies to Dengue virus failed to find out in 2 patients. Diagnosis was confirmed in 12 patients by laboratory serological (IFA) and molecular-genetic methods (RT-PCR).

Key words: Dengue fever, virus, antibodies, RNA, RT-PCR.

Лихорадка денге природно-очаговая инфекционная болезнь вирусной этиологии с трансмиссивным механизмом передачи. Вирус Денге относится к роду *Flavivirus* семейства *Flaviviridae*. Существует 4 серотипа вируса: Денге 1, 2, 3 и 4, имеющие различное географическое распространение [1, 2].

Заболеваемость лихорадкой денге широко распространена в странах Юго-Восточной Азии и Тихоокеанского региона, а также в странах Карибского бассейна, Южной и Центральной Америке и Африке [1, 2].

По некоторым оценкам, лихорадкой денге ежегодно заболевают десятки миллионов людей – из них 500 тыс. геморрагической лихорадкой денге, причем 90 % составляют дети до 15 лет, летальность достигает 5 %, ежегодно умирает 12 тыс. заболевших, главным образом дети [5].

Первые сведения о заболеваемости относятся к 40-м годам прошлого века, когда эпидемии регистрировались среди военнослужащих Азиатского региона. Дальнейшее распространение возбудителя на острова Тихого океана, Американский континент, Австралию носило заносной характер в связи активным освоением новых территорий. Большое значение в укоренении возбудителя на конкретной территории имеют климатические факторы и наличие переносчиков, основными из которых являются комары рода *Aedes aegypti* и *A. albopictus*.

В последние годы большой популярностью у туристов пользуются страны Юго-Восточной Азии, особенно Тайланд, Филиппины, Вьетнам, Камбоджа, Индонезия, в связи с этим новые сообще-

ния о завозных случаях лихорадки денге заметно участились. Так, в Российской Федерации, заболевшие активно выявлялись среди жителей Новосибирской, Оренбургской и Кемеровской областей, а также Хабаровского и Приморского краев [3, 4].

Цель исследования – анализ завозных случаев лихорадки денге с лабораторным подтверждением клинического диагноза серологическими, молекулярно-генетическими и вирусологическими методами диагностики.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили плазма, кровь и сыворотка крови, взятые в разные сроки от начала заболевания у 14 пациентов Иркутской областной инфекционной клинической больницы, возвратившихся из путешествия по странам Юго-Восточной Азии.

Иммуноглобулины классов М и G к вирусу Денге выявляли в ИФА с использованием тест-системы БиоСкрин-Денге (ЗАО «БиоСервис»), г. Боровск.

Плазму и кровь от больных исследовали в ОТ-ПЦР с применением тест-системы «АмплиСенс Dengue virus type – FL», предназначенной для выявления и дифференциации РНК вируса Денге 1, 2, 3, 4 типов в биологическом материале.

Материалом для вирусологического исследования служила кровь больных, взятая на 5-13 день от начала заболевания. Вирус Денге изолирован из крови одного больного путем интрацеребрального заражения новорожденных белых мышей (НБМ). При пассировании на НБМ суспензий головного мозга мышей, вскрытых на 11 сутки от момента заражения, выделен изолят, который идентифицировали методом ПЦР как вирус Денге 1 типа.

Результаты и обсуждение

В Иркутской областной инфекционной клинической больнице в период с ноября 2013 г. по март 2014 г. на лечении находилось 14 пациентов с диагнозом лихорадка денге в возрасте от 28 до 57 лет, из них 9 мужчин и 5 женщин. Восемь человек поступили в больницу после отдыха в Тайланде (о. Пхукет – 4; о. Патайя – 1), трое – Индонезии (о. Бали), трое – во Вьетнаме. Все больные отмечали множественные укусы комаров. В стационар поступали на 5-13 дни болезни. У всех пациентов отмечалось острое начало заболевания, лихорадка 39-40 °С, озноб, потливость, выраженная слабость, миалгии (чаще в икроножных мышцах). В общем анализе крови установлена лейкопения 1,8-2,0), тромбоцитопения (у двух пациентов критическая – 47×10^9 л, у остальных число тромбоцитов не превышало 5×10^9 л), в лейкоцитарной формуле отмечался относительный лимфоцитоз. У большинства больных наблюдалась макуло-папулезная сыпь на туловище и конечностях. Тяжелого течения не отмечено ни у одного больного.

Антитела класса М выявлены у трех больных, антитела класса G – у девяти, из них четырехкратное нарастание титра в парных сыворотках наблюдалось у двух пациентов. РНК вируса Денге 3 типа обнаружена у трех больных, 11 пациентов обследованы с отрицательным результатом. От одного больного изолирован вирус Денге 1 типа.

Больной С. с 28.12.2013 г. по 11.01.2014 г. находился на отдыхе в Тайланде (Пхукет), укусы комаров отмечал неоднократно. Заболел 9.01.14 г., когда почувствовал слабость и лихорадочное состояние, с его слов температура тела поднималась до 39,0 С. Обследован в госпитале Таиланда, где ему поставлен диагноз лихорадка денге (обнаружение вируса в крови). В Иркутскую областную инфекционную клиническую больницу поступил 13.02.2014 г. Кровь на исследование взята на 8 день от начала заболевания. Лабораторным подтверждением диагноза послужило обнаружение иммуноглобулинов класса М и G в сыворотке крови больного и РНК вируса Денге 1 типа в суспензии головного мозга НБМ, зараженных кровью больного. Положительные результаты исследования сыворотки крови больного и выделенного от него изолята вируса Денге, а также двух проб сывороток крови от других больных подтверждены в референс-центре ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» иммунохроматографическим методом определением наличия NS1 антигена вируса Денге в суспензии головного мозга НБМ и антител класса М и G во всех пробах сывороток крови больных.

Заключение

Таким образом, на территории г. Иркутска за период с ноября 2013 по март 2014 гг. выявлены 14 завозных случаев лихорадки денге у туристов, посещавших эндемичные районы Юго-Восточной Азии. От одного больного изолирован вирус Денге 1 типа, который требует дальнейшего углубленного изучения, у трех больных в биологическом материале обнаружена РНК вируса Денге 3 типа. Показано, что применение комплекса клинико-эпидемиологических и лабораторно-диагностических исследований позволяет своевременно выявлять больных лихорадкой денге, что особенно актуально при развитии туристического бизнеса и доступности отдыха в азиатском регионе у россиян.

Литература

1. Львов Д. К. Медицинская вирусология: Руководство. М.: МИА, 2008. – 655 с.
2. Львов Д. К., Клименко С. М., Гайдамович С.Я. и др. Арбовирусы и арбовирусные инфекции. М.: Медицина, 1989. – 336 с.
3. Найденова Е. В., Куклев В. Е., Ящечкин Ю. И. и др. Современное состояние лабораторной диагностики лихорадки денге (обзор) // Проблемы особо опасных инф. – 2013. – Вып. 4. – С. 89-94.
4. Хохлова Н. И., Краснова Е. И., Есикова Е. Ю. и др. Завозные случаи лихорадки денге у жителей Новосибирска в 2011-2013 гг. // Материалы VI Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. М., 2014. – 382 с.
5. Dengue prevention and control // Wkly. Epidem. Rec. - WHO, Geneva - 2002, N 6, P. 41-44.

Ответственный автор

Т. И. Борисова старший научный сотрудник лаборатории природноочаговых вирусных инфекций ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, к. б. н.
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 599:616.98:578.833.31]-07

ИНДИКАЦИЯ КАПСУЛЬНОГО АНТИГЕНА ЧУМНОГО МИКРОБА В СУСПЕНЗИЯХ ОРГАНОВ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ С ПРИМЕНЕНИЕМ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ

С.А. Белькова, С.В. Балахонов

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора, г. Иркутск

Проведены экспериментальные исследования по применению диагностического препарата «Иммунохроматографическая тест-система *Yersinia pestis*» (разработан ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, п. Оболенск) для серологической диагностики чумы в суспензиях внутренних органов лабораторных животных, отработана методика пробоподготовки исследуемого материала. Способ прост в постановке и легко воспроизводим, относится к экспресс-методам детекции капсульного антигена чумного микроба. Применение тест-системы возможно как в лабораторных, так и полевых условиях, в т.ч. при работе специализированных противозидемических бригад (СПЭБ) и эпидотрядов на территории природных очагов чумы.

Ключевые слова: иммунохроматографическая тест-система, индикация, капсульный антиген (F1) *Yersinia pestis*.

INDICATION OF YERSINIA PESTIS CAPSULAR ANTIGEN IN SUSPENSIONS OF SMALL MAMMAL ORGANS USING IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TEST SYSTEM

S.A. Belkova, S.V. Balakhonov

Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, Irkutsk

Application of a diagnostic preparation «Immunochromatographic test system for *Yersinia pestis*» (State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk) was experimentally analyzed for serological plague diagnostics in suspensions of laboratory animal internals. The technique of a sample preparation was developed. This method is simple for implementation and easily reproduced; it is a quick test for detection of *Y. pestis* capsular antigen. The test-system can be ap-

plied both in laboratory and field conditions including the activities of a specialized anti-epidemic team on the basis of mobile complexes and an epidemic brigade in natural plague foci.

Keywords: immunochromatographic test-system, indication, *Yersinia pestis* capsular antigen (FI).

Арсенал методов специфической индикации *Yersinia pestis* постоянно пополняется [3, 5]. В диагностических лабораториях все чаще исследования проводятся с помощью тестов, в основе которых лежит иммунохроматографический анализ – установление наличия определенных концентраций веществ (антигенов или антител) в биологических материалах. Иммунохроматографическая экспресс-диагностика – новый высокотехнологичный метод, позволяющий в течение 5-20 минут получить достоверный результат обнаружения патогена. С этой целью разработан, апробирован и успешно применяется диагностический препарат «Иммунохроматографическая тест-система *Yersinia pestis*» (производство ФБУН ГНЦ ПМБ, п. Оболенск), позволяющий детектировать содержащие капсульный антиген клетки чумного микроба [2, 5]. При исследовании на наличие возбудителя чумы образцов от мелких млекопитающих, отобранных в природных очагах этой инфекции [4], возникновении чрезвычайных ситуаций [3], проведении учений личного состава специализированных противозаразительных бригад (СПЭБ) или рутинных лабораторных испытаниях приоритетность исследования получают образцы, в которых экспресс-методом будет выявлено наличие капсульного антигена чумного микроба.

Цель работы – апробация ИХ тест-системы для исследования суспензий органов мелких млекопитающих, предположительно содержащих микробные клетки *Y. pestis*.

Материалы и методы

В работе использовали диагностический препарат «Иммунохроматографическая тест-система *Y. pestis*» (ИХ-тест), 17 типичных штаммов *Y. pestis* subsp. *altaica* из Музея живых культур ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, суспензии внутренних органов белых мышей и морских свинок, зараженных возбудителем чумы в дозах 1×10^4 м.кл./0,5 мл и 1×10^9 м.кл./мл соответственно. Контролем служили микробные взвеси штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ(FI⁺, FI⁻) и суспензии паренхиматозных органов интактных лабораторных животных. Все работы проводили в соответствии с требованиями [1].

Результаты и обсуждение

В связи с тем, что специфической мишенью ИХ-теста является капсульный антиген чумного микроба, апробацию варианта непосредственной детекции *Y. pestis* проводили в органах зараженных лабораторных животных, чувствительных (белые мыши) и слабочувствительных (морские свинки) к возбудителю чумы алтайского подвида. Срок наблюдения за лабораторными животными составлял 21 сутки. У павших в течение этого срока животных отмечали патологические изменения и забирали кусочки паренхиматозных органов, из которых готовили суспензию и исследовали *ex tempore* на наличие капсульного антигена *Y. pestis* с применением ИХ тест-системы. В контрольных мазках-отпечатках на стекле с окраской по Граму наблюдали типичные для чумного микроба грамотрицательные палочки-биполяры. В посевах органов отпечатками на чашки с агаром Хоттингера (рН 7,2) через 24 часа отмечали рост колоний в R-форме, морфологически характерных для *Y. pestis*.

В результате проведенных экспериментов установлено, что детекция капсульного антигена чумного микроба в суспензиях органов мелких млекопитающих методом иммунохроматографии с применением испытуемого препарата возможна после специальной фильтрации проб. Ступки с готовыми суспензиями ставили наклонно, прикрывали и оставляли на 3-5 минут для оседания взвешенных эритроцитов и кусочков тканей. Поверх взвесей укладывали приготовленные заранее ватно-марлевые фильтры размером 2,5х4,5 см, толщиной 1,0-1,5 см, и пропитывали суспензиями. Затем пластиковыми пастеровскими пипетками одноразового использования забирали через них супернатант и постепенно вносили в приемное окно ИХ-тестов. При работе с суспензиями органов мелких млекопитающих реакция проходит практически сразу после внесения материала: через 15-30 секунд появляется контрольная полоса, в случае положительного результата через 30-60 секунд появляется вторая (опытная) полоса. В случае исследования несвежего (загнившего) материала, опытная полоса обычно появляется позже – через 5-10 минут, ее цвет может быть менее интенсивным по сравнению с контрольной полосой, но результат учитывается как положительный. Во всех случаях результаты серологической диагностики были подтверждены результатами бактериологических и бактериоскопических исследований. Отрицательные результаты ИХ-теста были зарегистрированы при исследовании суспензий органов интактных животных, полученных по описанной выше методике, и взвеси *Y. pestis* EV НИИЭГ (FI⁻) в концентрации 1×10^7 - 1×10^9 м.кл./мл.

Простота и легкость использования тест-системы, ее высокая специфичность и экспрессность позволяют выявить капсульный антиген чумного микроба непосредственно во вскрыточной, что спо-

способствует направленному отбору образцов для дальнейшего углубленного исследования.

Заключение

Таким образом, высокая информативность и достоверность результатов, полученных при использовании ИХ-теста, показывает, что данный диагностический препарат может быть использован для экспресс-индикации FI чумного микроба непосредственно при вскрытии животных, в том числе при проведении диагностических исследований не только в очагах чумы, но и в работе мобильного комплекса СПЭБ.

Литература

1. Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности): СП 1.3.1285-03. – М., 2003. – 87 с.
2. Белькова С.А., Балахонов С.В., Бикетов С.Ф., Баранова Е.В. Апробация иммунохроматографической тест-системы для экспресс-индикации возбудителя чумы // Журнал инфекционной патологии. – Иркутск, 2009. – Т. 16, № 3. – С. 69-70.
3. Специфическая индикация патогенных биологических агентов. Практическое руководство/ Под ред. акад. РАМН, проф. Г.Г. Онищенко. – М.: ЗАО «МП Гигиена», 2006. – 288 с.
4. Организация и проведение эпидемиологического надзора в природных очагах чумы на территории Российской Федерации: МУ 3.1.3.2355-08. – М., 2008. – 103 с.
5. Belkova S.A., Balakhonov S.V., Biketov S.F. Application of immunocromatographic test-system for laboratory express-detection and identification of *Yersinia pestis*// International Scientific Conference «Current Issues on Zoonotic Diseases». Dedicated to the 80th Anniversary of Establishment of the national Center for Infectious Diseases with Natural Foci in Mongolia 15 september 2011. (Reports) № 19. – Ulaanbaatar, 2011. – P. 124-131.

Ответственный автор

Белькова Светлана Анатольевна – старший научный сотрудник отдела микробиологии чумы ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 614.445:616.9-036.22(574.1)

ЭПИДЕМИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ РОДНИКОВЫХ ВОД В ЗАПАДНО-КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Н.С. Майканов¹, К.М. Ахмеденов², Н.И. Михайлюк¹, Т.З. Аязбаев¹

¹Уральская противочумная станция Агентства Республики Казахстан по защите прав потребителей, Уральск, Казахстан

²Западно-Казахстанский Аграрно-Технический Университет им. Жангир Хана, Уральск, Казахстан

Продолжена инвентаризация родников Западно-Казахстанской области и определена степень их каптажирования. Проведено исследование родниковой воды на наличие холерных вибрионов. Сделано заключение о незначительной роли воды подземных источников в эпидемиологии кишечных инфекций.

Ключевые слова: родник, каптаж, вибрионы.

EPIDEMIC VALUE OF SPRING WATERS IN THE WEST KAZAKHSTAN AREA

N.S. Maikanov¹, K.M. Akhmedenov², N.I. Mikhailiuk¹, T.Z. Ayazbaev¹

¹Ural Antiplague Station of Republic Kazakhstan Agency for Protection of the Consumers' Rights, Uralsk, Kazakhstan

²West-Kazakhstan Agrarian-Technical University by Zhangir Khan, Uralsk, Kazakhstan

Detection of the spring number in the West Kazakhstan area was continued and the degree of its catchment was defined. Spring water was examined for Vibrio cholerae presence. Insignificant role of the underground waters in the epidemiology of intestinal infections was concluded.

Key words: a spring, catchment, vibrios.

Западно-Казахстанская область (ЗКО) семиаридный регион Казахстана, испытывающий недостаток в доброкачественной пресной воде. Основным источником, снабжающим питьевой водой население области является трансграничная река Урал с притоками Чаган и Деркул. Население южных сельских районов ЗКО для хозяйственно-питьевых нужд в 36-54 % случаев использует воду поверхностных водоемов. Территория области по уровню заболеваемости кишечными инфекциями, в том числе и холерой, относится к первому типу.

В рамках научно-технической программы Министерства образования и науки РК «Разработка технологии оценки и паспортизации родниковых вод Западного Казахстана с целью их охраны и рационального использования» проводится инвентаризация родников ЗКО как альтернативных источников водоснабжения.

Цель работы – поиск и регистрация подземных водоисточников (родников) в различных природно-климатических зонах Западно-Казахстанской области с оценкой их санитарно-эпидемиологического состояния, степени биологической (бактериальной) контаминации и уровня инженерного благоустройства (каптажа) родников.

Материалы и методы

При поиске подземных водоисточников использовался метод опроса сельского населения. В период с 14.05.2013 г. по 20.05.2014 г. исследованию подвергалась вода из родников Айбас, Большая Ичка, Дадем-Агаш, Егинды-Булак, Гремячий, Индер, Кожевниково-1, Нияз. Использовались бактериологический, бактериоскопический и молекулярно-генетический (ПЦР) методы. Транспортировка проб (объем 1 литр) осуществлялась в течение 1,5-4 часов. Посевы инкубировались при 37 °С в течение 18 часов. При бактериоскопии использовался микроскоп Zeiss Axiostar plus (увеличение 10×100). Способность культуры к агглютинации проверялась с помощью холерных сывороток O1, RO и O139. Фагочувствительность определялась с использованием холерных фагов С, Эльтор, ДДФ. Постановка полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с мультиплексной тест-системой «Амплиценс[®] *Vibrio cholerae*-FL» – для детекции генов *hly*, *ctxA*, *tcpA*, *wbeT*, *wbf* в формате FRT. Исследование проводилось на шестиканальном амплификаторе Rotor-Gene[™]QG 6000.

Результаты и обсуждение

Из двух проб воды родника Егинды-Булак и его урочища изолированы типичные штаммы *Vibrio cholerae* non O1/O139 серогруппы, 1 группы Хейберга. Изолированные культуры *V. cholerae* non O1/O139 гемолизположительные, чувствительные к фагам ДДФ, имеют ген *hly*, гены *ctxA*, *tcpA*, *wbeT*, *wbf* не обнаружены, следовательно, штаммы нетоксигенные и эпидемическую опасность не представляют. Из воды остальных обследованных родников холерных вибрионов не выявлено (табл.). На питательных средах отмечен рост посторонней микрофлоры, таксономическая принадлежность которой не определялась.

Таблица 1.

Некоторые показатели обследованных на наличие вибрионов родников ЗКО

№ п/п	Родник	pH	Температура °С	Наличие каптажа	Уровень загрязнения	Количество выделенных штаммов <i>V. cholerae</i> non O1/O139
1	Айбас	8,30	15	частично	средний	0
2	Большая Ичка	6,78	6,4	частично	средний	0
3	Гремячий	7, 20	17	нет	средний	0
4	Дадем-Агаш	6,75	14	каптаж	низкий	0
5	Егинды-Булак	7,83	16	нет	высокий	2
6	Индерский	-	17	частично	низкий	0
7	Кожевниково-1	7,40	15	нет	высокий	0
8	Нияз	7,78	16	нет	высокий	0

Всего за период наблюдения (2011-2014 гг.) в западной (Общий Сырт), южной (Прикаспийская низменность) и восточной (Подуральское плато) частях ЗКО зарегистрировано 32 подземных водоисточника, в том числе в зоне Общего Сырта (ОС) – 18 (56,3 %), в Прикаспийской низменности (Пн) – три (9,4 %) и в Подуральском плато (Пп) – 11 (34,4 %).

Важное эпидемиологическое значение имеет санитарное состояние и уровень благоустройства (каптажа) родников и их урочищ. Так четыре (22,3 %) родника ОС имеют каптаж, шесть (33,4 %) частично каптированы (обозначены подручными средствами) и восемь (44,5 %) не обустроены; в Пп три (27,3 %) источников имеют каптаж, пять (45,5 %) частично каптированы и три (27,3 %) не имеют каптажа; в Пн два (67 %) подземных водоисточника не имеют каптажа и один (33,3 %) благоустроен. Родники, вода из которых исследовалась на наличие холерных вибрионов, не имели каптажа, за исключением родника Дадем-Агаш. Площадь сбора родниковых вод (урочищ) в среднем варьировала от 0,1 до 1,5 км² и напрямую связана с дебитом водоисточников (0,0026-11,2 литр/сек). Большая часть родников находится в непосредственной близости или в черте (чаще на окраинах) населенных пунктов. Окрестности родниковых урочищ активно используются как для рекреационных целей, так и для хозяйственно-бытовых нужд. Не имея соответствующего ограждения, родники часто используются для водопоя сельскохозяйственных животных, что приводит к высокой биологической контаминации водоема.

Три родника Дадем-Ата, Дадем-Агаш и Индерский (Тилепбулак) обладают лечебными свойствами и являются местами паломничества. Эти родники и их родниковые урочища имеют ограждения, регулярно производится расчистка устьев родников и окружающей территории. Санитарное состояние водоисточников удовлетворительное.

Ранее бактериологическое исследование родниковой воды и оценка ее эпидемиологического значения в области не проводились, не существовало учета и паспортизации родников. Важным санитарно-эпидемиологическим показателем является микробиологическое состояние родников. Исследования показали, что на выходе на поверхность вода подземных источников, пройдя естественную фильтрацию является не загрязненной. Бактериальная контаминация родников зависит от таких факторов как локализация их в окрестностях населенных пунктов, степени благоустройства, дебита, состояния родникового урочища. Не исключается возможность влияния уровня грунтовых вод, который повышается при паводках, приводя к загрязнению подпочвенных вод, используемых для нецентрализованного водоснабжения [1].

Родник Егинды-Булак и его урочище, находящиеся в центре одноименного поселка Егиндыколь, не имеют каптажа и других защитных инженерных сооружений. В момент забора проб воды окрестности урочища имели высокую степень биологического загрязнения и как следствие, здесь установлено наличие холерных вибрионов. Местное население для питья воду из родника не употребляет, а пользуется индивидуальными колодцами [2].

По многолетним данным контаминация проб воды открытых водоемов области *V. cholerae* не O1 составляет 55,4 %. Ежегодно регистрируются случаи инфицирования людей холерными вибрионами не O1/O139 серогруппы, показатель заболеваемости на 100 тысяч населения варьирует в течение последних 10 лет в пределах 0,32 – 1,9.

Заключение

Таким образом, основной эпидемиологической особенностью родниковых вод ЗКО является их интенсивное вторичное биологическое (бактериальное) загрязнение. Родниковой водой пользуется 1-2 % процента населения области. Низкий уровень инженерного благоустройства способствует высокой бактериальной контаминации родников. Выделение из воды родников штаммов *V. cholerae* по O1/O139, имеющих этиологическое значение в заболеваемости людей острыми кишечными инфекциями, подтверждает интенсивную бактериальную контаминацию обследованных родников. Для использования родниковой воды в качестве питьевой необходимо инженерное благоустройство водоисточников.

Литература

1. Захаров А. В., Михайлюк Н. И., Гражданов А.К., Рахманкулов Р. Р. О связи между паводками реки Урал и выделением от людей холерных вибрионов не O1 группы // Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане. – Алматы, 2001. – С. 107-110.
2. Майканов Н.С., Ахмеденов К. М., Михайлюк Н. И., Аязбаев Т.З. Предварительные результаты исследования родников Западно-Казахстанской области // Национальные приоритеты России. – Омск, 2013. – С. 109-111.

Ответственный автор

Майканов Нурбек Смагулович – зам. начальника по противозидемической работе Уральской противочумной станции Агентства Республики Казахстан по защите прав потребителей.
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.932:579.843.1Vibrio-07

ПРИМЕНЕНИЕ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХОЛЕРНОГО ТОКСИНА

В.Г. Германчук, А.Н. Спицын, Д.В. Уткин

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

Определен масс-спектр холерного токсина с помощью времяпролетной MALDI масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS), выявлены специфические пики масс-спектров, изучена возможность его определения в объектах окружающей среды (водопроводной воде).

Ключевые слова: токсины, холерный токсин, масс-спектр, MALDI-TOF MS.

APPLICATION OF MALDI-TOF MASS SPECTROMETRY FOR DEFINITION OF CHOLERA TOXIN
V.G. Germanchuk, A.N. Spitsyn, D.V. Utkin

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia

The mass spectrum of cholera toxin is defined by MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass-Spectrometry), specific peaks of mass spectra are revealed, the possibility of its definition in the environments (tap water) is studied.

Key words: toxins, cholera toxin, mass spectrum, MALDI-TOF MS.

В настоящее время угроза возникновения чрезвычайных ситуаций различного характера является актуальной проблемой для всех государств мирового сообщества, не исключая и Российскую Федерацию. Сохраняется потенциальная опасность применения патогенных биологических агентов в качестве агентов биотерроризма [2].

Существующая потенциальная угроза применения биологических токсинов, в том числе и при актах биотерроризма, диктует необходимость иметь средства экспрессной индикации биологических токсинов. Такие биологические токсины как ботулинический, рицин, холерный, столбнячный, стафилококковый входят в перечень агентов, выявляемых в лабораториях специализированных противочумных бригад [3].

Времяпролетная MALDI масс-спектрометрия (MALDI-TOF MS) является новой технологией в лабораторной диагностике инфекционных болезней, позволяющей проводить идентификацию микроорганизмов, определять таксономическое положение неизвестных возбудителей и представляет альтернативу традиционным методам их определения. Данный метод включает прямой масс-спектрометрический анализ белковой фракции лизата микробной клетки («прямое белковое профилирование»), предметом которого служат преимущественно рибосомальные белки, являющиеся консервативными в пределах вида микроорганизма.

Наряду с этим, MALDI-TOF MS использовалась для идентификации биологических токсинов: ботулинического нейротоксина, столбнячного токсина, стафилококкового энтеротоксина [1] и шигатоксина *E. coli* O157 [4]. Для выявления холерного токсина по имеющимся литературным данным, этот метод не использовался.

Цель работы – определение масс-спектра холерного токсина с помощью MALDI-TOF MS и возможности его определения в объектах окружающей среды (водопроводной воде).

В работе использовали коммерческий препарат холерного токсина – «Cholera toxin from *Vibrio cholerae*» (Sigma-Aldrich, USA).

В качестве матрицы для MALDI-TOF-анализа использовали 10 мг/мл α -циано-4-гидроксикоричной кислоты (Bruker, Германия) в 50 % растворе ацетонитрила и 2,5 % растворе трифторуксусной кислоты. Сбор спектров проводили на масс-спектрометре Microflex™ LT (Bruker Daltonics, Германия) в диапазоне масса/заряд 2000 – 20000 Да.

На основании полученных данных выделены маркеры (спектральные пики с определенным значением m/z), соответствующие коммерческому препарату холерного токсина (значения m/z 2899 \pm 1, 3868 \pm 1, 5803 \pm 4, 7738 \pm 6, 11603 \pm 7).

Спектральный пик с m/z , равным 11603 \pm 7, предположительно, соответствовал мономеру B-субъединицы холерного токсина с молекулярной массой ~11,6 кДа [5].

Для оценки индикации токсинов в объектах окружающей среды использовали водопроводную воду контаминированную коммерческим препаратом холерного токсина и определяли масс-спектр

исследуемого образца.

Спектральные пики с определенным значением m/z , соответствующие водопроводной воде контаминированной коммерческим препаратом холерного токсина (значения m/z 2899±1, 3868±1, 5803±4, 7739±6, 11605±7), совпадали с пиками полученными при исследовании чистого холерного токсина (наиболее характерны спектральные пики 3868±1, 5803±4, 11603±7).

Метод MALDI-TOF MS позволил определить наличие холерного токсина в водопроводной воде в концентрации 0,1-0,01 мкг/мл (для сравнения индикаторный иммунохроматографический элемент дает положительную реакцию при нанесении образца, содержащего холерный токсин в концентрации не менее 1 мкг/мл).

Таким образом, в результате проведенного исследования определен масс-спектр холерного токсина с помощью MALDI-TOF MS, выявлены специфические пики масс-спектров, установлена возможность определения холерного токсина в водопроводной воде. При наработке базы данных по токсинам биологического происхождения, возможно использование данного метода для индикации токсинов в объектах окружающей среды.

Литература

1. Дубровский Я. А., Подольская Е.П. Определение токсинов пептидной природы методом MALDI-MS (обзор) // Научное приборостроение. – 2010. – Т. 20, №4. – С. 21-35.
2. Онищенко Г.Г., Пальцев М.А., Зверев В.В., Иванов А.А., Киселев В.И., Нетесов С.В. и др. Биологическая безопасность. – Москва: Медицина, 2006. – 304 с.
3. Регламент (стандарт) функционирования специализированных противоэпидемических бригад (СПЭБ) при ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера. Утв. приказом Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека № 330 от 22.11.2007 г.
4. Fagerquist C.K., Sultan O. Top-Down Proteomic Identification of Furin-Cleaved α -Subunit of Shiga Toxin 2 from *Escherichia coli* O157:H7 Using MALDI-TOF-TOF-MS/MS // Journal of Biomedicine and Biotechnology. – 2010. – Vol. – 2010. – P. 11.
5. Jonathan P. Williams, Daniel C. Smith, Brian N. Green, Brian D. Marsden, Keith R. Jennings, Lynne M. Roberts, James H. Scrivens. Gas Phase Characterization of the Noncovalent Quaternary Structure of Cholera Toxin and the Cholera Toxin B Subunit Pentamer // Biophysical Journal. – 2006. – Vol. 90, № 9. – P. 3246-3254.

Ответственный автор

Германчук Валерий Геннадьевич – сотрудник ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «микроб» Роспотребнадзора. Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 579.843Vibrionaceae-093/098

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ БАКТЕРИОФАГОВ ХОЛЕРНЫХ И ПАРАГЕМОЛИТИЧЕСКИХ ВИБРИОНОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ ИХ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ

Н.Е. Гаевская, Т.А. Кудрякова, Л.Д. Македонова, Г.В. Качкина
ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону

Определены основные признаки дифференциации бактериофагов холерных и парагемолитических вибрионов, что повышает возможность определения видовой принадлежности фагов и может быть использовано в научно-исследовательских целях и при решении прикладных задач по совершенствованию лабораторной диагностики. Создана общая идентификационная схема, по которой осуществляется дифференциация бактериофагов холерных и парагемолитических вибрионов.

Ключевые слова: бактериофаги, холерные и парагемолитические вибрионы, биологические показатели, дифференциация.

BIOLOGICAL INDICATORS OF CHOLERA AND PARAHEMOLYTIC VIBRIO BACTERIOPHAGES USED IN ITS DIFFERENTIATION

N.E. Gaevskaya, T.A. Kudryakova, L.D. Makedonova, G.V. Kachkina
Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don

The basic features of bacteriophage differentiation in cholera and parahemolytic vibrios are defined. It raises a possibility for detection of species belonging of the phages. These signs can be used in the research purposes and for solving of the applied problems to improve the laboratory diagnostics. The general identification scheme is created for the bacteriophage differentiation in cholera and parahemolytic vibrios.

Key words: bacteriophage, cholera and parahemolytic vibrios, biological indicators, differentiation.

Мир бактериофагов патогенных вибрионов сложен, изучен недостаточно и требует систематизации сведений о них. Важность проблемы заключается в выявлении общих закономерностей строения биологических структур, которые затем используются для их определения и классификации [5].

Изучение бактериофагов патогенных вибрионов проводилось параллельно с изучением самих микроорганизмов и послужило основой для их типирования, а также обеспечивало возможность проведения более быстрой идентификации и дифференциации выделяемых штаммов микроорганизмов [2, 4, 7]. Точности лабораторной диагностики холеры и пищевых токсикоинфекций, вызванных парагемолитическими вибрионами, способствует совершенствование идентификации и дифференциации бактериофагов с последующим их применением для внутривидовой дифференциации холерных и парагемолитических вибрионов, что дополняет имеющиеся данные литературы по биологической характеристике бактериофагов [3, 6].

Вместе с тем, для проведения научных исследований и решения практических задач важно выбрать свойства бактериофагов, позволяющие устанавливать сходство и различия между ними [3, 4]. Проблема идентификации и дифференциации большой группы бактериофагов, патогенных для человека вибрионов, до настоящего времени остается не решенной.

Цель работы – определение основных биологических показателей бактериофагов холерных и парагемолитических вибрионов, используемых при их дифференциации.

В работе применяли фаги *Vibrio cholerae classical* – 16, *V. cholerae El Tor* – 32, *V. cholerae* O139 – 8, *V. parahaemolyticus* – 19. Размножение холерных фагов осуществляли на индикаторных культурах *V. cholerae classical* 145 (*ctx⁺ tcp⁺*), *V. cholerae El Tor* 75M (*ctx⁺ tcp⁺*), КМ-199 (P-13169) (*ctx⁺ tcp⁺*), *V. cholerae* O139 серогруппы – КМ-152 (P-16373) (*ctx⁺ tcp⁺*). Размножение бактериофагов галофильных вибрионов проводили на индикаторных штаммах *V. parahaemolyticus* КМ-97 и КМ-184. Специфичность бактериофагов испытывали на 133 штаммах бактерий близкородственных родов и семейств (*Vibrionaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*). Антифаговые сыворотки получали путем внутривенной иммунизации кроликов по методу Ю.Н. Марьиной [8] соответствующими фагами: холерными бактериофагами I – XII серогрупп и парагемолитическими бактериофагами I – XI серогрупп (№ 23, 67,

109, 227, 536, 616, 824). В работе использовали 0,7 %, 1,5 % агар и бульон Мартена, pH 7,6-7,8, и те же среды, но с добавлением 1,5 % или 3 % NaCl для работы с галофильными вибрионами. Обнаружение бактериофага и изучение биологических свойств осуществляли общепринятыми методами [1].

Результаты и обсуждение

Выбор таксономических критериев в результате сравнительного анализа свойств различных по происхождению фагов позволил решить вопрос о возможности их внутривидовой дифференциации. Материалы исследования показали, что бактериофаги патогенных вибрионов представляют собой неоднородную по свойствам группу.

Многолетние наблюдения за серологическими свойствами исследованных бактериофагов подтвердили стабильность их антигенной структуры – наиболее важного признака при типизации. Установлен факт сходства антигенного строения у фагов, выделенных из штаммов холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп (фаги II серотипа). Бактериофаги *V. parahaemolyticus* не имели перекрестных реакций с антисыворотками к фагам *V. cholerae*. Холерные фаги представлены 12 серотипами, у *V. parahaemolyticus* – 11. Наиболее значительные различия у фагов патогенных вибрионов были подтверждены при определении серологической специфичности. В разнородной группе фагов на основании оригинальных антигенных свойств выделены самостоятельные группы, состоящие и не состоящие в генетическом родстве. Строение холерных фагов II, XI, XII серотипов подтвердило родство фагов внутри каждого из них. К V морфогруппе были отнесены холерные фаги II серотипа, к III – XI серотипа, к I – фаги XII серотипа.

Специфичность фагов соответствовала таксономическим группам, они не лизировали представителей микроорганизмов семейств *Vibrionaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*.

В процессе исследования литической активности фагов были подобраны индикаторные штаммы к определенным морфогруппам фагов. На этой основе осуществлен способ дифференциации холерных фагов I и V морфогрупп [9] (штаммы *V. El Tor* KM-199 и *V. cholerae* O139 KM-152), фагов *V. parahaemolyticus* I, III, IV, V морфогрупп [5] (штаммы KM-184 и KM-97). Как правило, различия между фагами I и III-V морфогрупп подтверждались и другими тестами.

Из дополнительных методов для дифференциации фагов I морфогруппы от остальных (III-V) использовали действие инактивирующих агентов – хлороформа и повышенной температуры (65-70 °C).

Величина и морфология негативных колоний изученных фагов *V. cholerae classical*, *V. cholerae El Tor*, *V. cholerae* O139 серогруппы, *V. parahaemolyticus* были разнообразными, так как имели негативные колонии округлой формы, мутные или прозрачные, диаметром 0,3-2 мм. Данные одиночного цикла развития вышеперечисленных фагов не давали каких-либо значительных отличий. В отношении исследуемых фагов к действию мочевины и цитрата натрия различий обнаружено не было.

При сравнительном изучении бактериофагов патогенных вибрионов учитывали следующие признаки их сходства и отличия (табл. 1).

- а) специфичность литического действия, подтверждаемая на соответствующих видах микроорганизмов, применение тест-штаммов вибрионов;
- б) характерная морфология бактериофагов в электронном микроскопе – определение морфогруппы;
- в) отсутствие антигенного родства с бактериофагами других видов;
- г) устойчивость, либо чувствительность к хлороформу и повышенной температуре.

Заключение

Таким образом, для исследовательских целей и решения прикладных задач определены основные признаки для дифференциации бактериофагов патогенных вибрионов, что повышает возможность определения видовой принадлежности фагов и сравнения с фагами, зарегистрированными в Базе данных «Коллекция бактериофагов и тест-штаммов патогенных для человека вибрионов» (Свидетельство №2010620549). Отмеченные чёткие таксономические показатели, полученные при сравнительном изучении бактериофагов патогенных вибрионов, легли в разработанную нами схему идентификации и дифференциации.

Таблица 1.

Идентификация и дифференциация бактериофагов холерных и парегемолитических вибрионов

Вид бактериофага	Идентификация						Дифференциация			
	индикаторные штаммы						морфогруппа	серотип	чувствительность групп фагов	
	<i>V. cholerae</i> <i>El Tor</i> 75M	<i>V. cholerae</i> <i>El Tor</i> KM-199	<i>V. cholerae</i> O139 KM-152	<i>V. cholerae</i> <i>classical</i> 145	<i>V. parahaemolyticus</i>				хлороформ	температура 70 °C
				KM-184	KM-97					
<i>V. cholerae</i> O1	+	+	+	+	-	-	I	XII	+	-
	+	+	-	+	-	-	II-V	I-XI	-	+
<i>V. cholerae</i> O139	+	+	+	+	-	-	I	XII	+	-
	+	+	-	+	-	-	V	II	-	+
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	-	-	-	+	-	I	I	+	-
	-	-	-	-	+	+	III, IV, V	II-XI	-	+

Примечание: «+» – наличие признака, «-» – отсутствие признака

Литература

1. Адамс М. Бактериофаги. – М., 1961 – 522 с.
2. Гаевская Н.Е. Биологические свойства и диагностическое применение холерных и паразитических бактериофагов // Современные технологии обеспечения биол. безопасности: Матер. науч.-практич. школы-конф. молод. ученых и специалистов науч.-исслед. организаций Роспотребнадзора. – Оболенск, 2011 – С.169-172.
3. Гаевская Н.Е., Кудрякова Т.А., Македонова Л.Д., Качкина Г.В. Комплекс биологических признаков для идентификации и дифференциации бактериофагов патогенных для человека вибрионов // Актуальные проблемы болезней общих для человека и животных. – Ставрополь, 2012. – С. 118-119.
4. Гаевская Н.Е., Кудрякова Т.А., Македонова Л.Д., Качкина Г.В. Применение фагов паразитических вибрионов в лабораторной диагностике заболеваний, вызванных галофильными вибрионами // Матер. IV Ежегодного Всерос. Конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2012. – Т. 10, Прил № 1. – С. 92.
5. Кудрякова Т.А. Лизогения холерных и паразитических вибрионов и её практическое значение: Автореф. дис.... д-ра мед. наук. – Ростов-на-Дону, 1996. – 42 с.
6. Кудрякова Т.А., Ломов Ю.М., Гаевская Н.Е. и др. Бактериофаги патогенных вибрионов: идентификация и дифференциация // Холера и патогенные для человека вибрионы: Матер. пробл. комиссии. – Ростов-на-Дону, 2004. – Вып.17. – С.73-75.
7. Либинзон А.Е., Ус З.И., Гальцева Г.В. и др. Фаги галофильных вибрионов // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 1995. – № 1. – С. 15-18.
8. Марьина Ю.Н. Получение антифаговой сыворотки и изучение антигенной структуры фага // Тр. Ростовского противочум. ин-та. – 1941. – Т. 2. – С.3-7.
9. Тихоненко А.С. Ультраструктура вирусов бактерий.– М., 1968. – 90 с.

Ответственный автор:

Гаевская Наталья Евгеньевна – старший научный сотрудник ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 615.371:[579.842.23Yersinia+579.841.95Francisella]-07

МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ ДОКЛИНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ ВАКЦИН ПРОТИВ ЧУМЫ И ТУЛЯРЕМИИ

С.А. Бугоркова

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора», Саратов

Для повышения объективности и информативности доклинического этапа оценки вакцин против чумы и туляремии дополнительно введен сравнительный морфометрический анализ состояния функциональных систем организма с определением ряда параметров, характеризующих адаптационно-компенсаторные процессы у биомоделей.

Ключевые слова: вакцины, чума, туляремия, морфометрия.

METHODOLOGICAL ASPECTS OF APPLICATIONS OF QUANTITATIVE MORPHOLOGICAL STUDIES IN PRECLINICAL EVALUATION OF PLAGUE AND TULAREMIA VACCINES

S.A. Bugorkova

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rosпотребнадzor, Saratov

Comparative morphometric analysis of the functional systems with the definition of a number of pa-

rameters characterizing the adaptive-compensatory processes in biomodels was additionally performed to improve the objectivity and information value of preclinical evaluation of anti-plague and tularemia vaccines.

Keywords: *vaccine, plague, tularemia, morphometry.*

Для объективной информации о качестве разрабатываемой вакцины на этапах ее доклинического изучения необходимо применение достаточно информативных лабораторных методов оценки, позволяющих получать данные, способные коррелировать с результатами применения уже существующих препаратов у людей.

Количественная характеристика специфической активности и безопасности разрабатываемых вакцин необходима как для объективного анализа их потенциальных возможностей, так и для оценки преимуществ новых препаратов в сравнении с уже применяющимися.

Ранее предложенная система морфологической оценки безопасности и эффективности разрабатываемых вакцин против чумы и туляремии, закрепленная в соответствующих действующих нормативных документах [4, 5], строилась на характеристике реактогенности предлагаемых в качестве вакцинных аттенуированных и авирулентных штаммов чумного и туляремиального микробов. В основном учитывался характер изменений в первичном комплексе – место введения культуры штамма – кандидата в вакцинный, оценивалась реакция в группе регионарных и отдаленных лимфатических узлов, выявлялись грубые морфологические нарушения во внутренних органах (некрозы, гранулемы, инфильтраты) [3].

В современных условиях ключевым моментом в оценке качества разрабатываемых вакцин является поиск и создание системы объективных формализованных признаков и принципов верификации адаптационно-компенсаторных реакций макроорганизма, позволяющих объективизировать процесс доклинического исследования препарата.

Цель работы – расширение стандартного набора морфологических методов исследования за счет дополнительного введения сравнительного морфометрического анализа состояния функциональных систем организма с определением ряда параметров, характеризующих адаптационно-компенсаторные процессы у биомоделей, для повышения качества оценки разрабатываемых вакцин.

Материалы и методы

В работе использовали стандартные гистологические и гистохимические методы. Морфометрические исследования выполняли с помощью аппаратно-программного комплекса МЕКОС-Ц и программы ДММ -2.1.0.0.

Результаты и обсуждение

Методически решение вопросов характеристики течения вакцинного процесса, обусловленного препаратами для специфической профилактики чумы и туляремии, связано с разработкой экспертной системы (ЭС) – системы поддержки принятия решения, аккумулирующей знания высококвалифицированных специалистов.

На начальном этапе проводился поиск информативных морфометрических показателей для количественной характеристики безвредности (отсутствие токсичности) и эффективности вакцинирующего препарата. А затем уже новые данные интегрировались в существующую схему оценки вакцин для специфической профилактики чумы и туляремии.

При оценке вакцинного препарата необходимо было количественно оценить повреждающее действие вакцины (остаточную вирулентность для живых вакцин и/или токсичность) и возможные побочные реакции макроорганизма на него: стресс-реакцию макроорганизма; состояние нейроэндокринных клеток APUD-системы (НЭК), как системы реагирования и контроля, в реализации защитного потенциала макроорганизма при вакцинном процессе; ряд морфометрических параметров, определяющих специфическую активность вакцины на основании оценки устойчивости функционально значимых систем организма биомодели к повреждающему действию соответствующего возбудителя. Для решения этой задачи стандартная схема гистологического исследования была расширена за счет применения гистохимических методов окраски – импрегнации срезов серебром, методов морфометрического анализа и апробирована нами ранее [1, 2].

Для оценки вакцин был предложен ряд формализованных признаков:

- Определение функционального состояния паренхиматозных элементов и характера инфильтративных процессов в печени. Так было показано, что изменение ядерно-цитоплазматического индекса для гепатоцитов, характер реакции звездчатых ретикулоэндотелиоцитов (клеток Купфера), уровень показателя деструктивного индекса отражают степень нарушения дезинтоксикационной, синтетической и защитной функций органа.

- Учет количества НЭК в легких, обеспечивающих местную регуляцию функций дыхательной

системы – приспособление кровотока к вентиляции легких и изменений перфузионно-вентиляционного отношения объективно характеризуют состояние дыхательной системы.

- Оценка микроциркуляторных нарушений в ренальном звене – функциональное состояние почечных телец и эпителия канальцев позволяет охарактеризовать адекватную работу выделительной системы.

- Анализ морфофункционального состояния НЭК в лимфоидных органах, выступающих в роли неспецифических регуляторов иммунологических процессов в организме биомодели, в определенной мере, позволяет оценить эффективность иммунологических реакций макроорганизма.

- Количественная характеристика изменений в надпочечниках – органе, ответственном за формирование адаптационных реакций организма биомодели, направлена на учет общей стресс-реакции организма.

На основании изложенного выше, в дополнение к существующим методам и тестам, предлагается эффективность защитной реакции биомодели оценивать по изменению состояния ряда морфометрических параметров, характеризующих работу ключевых систем жизнеобеспечения организма в динамике (временной интервал до 45-х суток включительно). В настоящий момент предложенная методология используется для создания информационных баз по формированию ЭС унифицированной оценки качества вакцин против чумы и туляремии.

Заключение

В результате проводимой работы ожидаемым результатом будет создание ЭС оценки качества вакцин против чумы и туляремии, а применение аппаратно-программных компьютерных комплексов для решения проблем экспериментальной морфологии упростит доклиническую характеристику создаваемых вакцин и позволит нивелировать зависимость качества конечного результата исследования от квалификации конкретного специалиста.

Литература

1. Бугоркова С.А., Емелина Д.Г. Морфометрическая характеристика туляремийного инфекционного процесса в организме иммунизированных морских свинок // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2012. – № 1. – С. 76-80.
2. Бугоркова С.А., Кутырев В.В. Морфофункциональная оценка состояния клеток APUD-системы биомодели при характеристике противочумного вакцинного процесса // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2013. – № 4. – С. 49-55.
3. Исупов И.В., Бугоркова С.А., Кутырев В.В. Патоморфологические аспекты доклинических испытаний различных вакцин против чумы, сибирской язвы и холеры. – Саратов: ОАО «Приволжское книжное изд-во». – 2004. – 180 с.
4. Методические указания (МУ 3.3.1.1113-02): Основные требования к вакцинным штаммам чумного микроба. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России. – 2002. – 63 с.
5. Методические указания (МУ 3.3.1.2161-07): Основные требования к вакцинным штаммам туляремийного микроба. // Бюллетень нормативных и методических документов Госсанэпиднадзора. – 2007. – Вып. 2 (28). – С. 111-148.

Ответственный автор:

*Бугоркова Светлана Александровна – зав. лабораторией патоморфологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора докт. мед. наук.
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru*

УДК: 615.371: 579.841.95Francisella-07

ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ СВОЙСТВ ВАКЦИННОГО ШТАММА *FRANCISELLA TULARENSIS* 15 НИИЭГ РАЗНЫХ ЛЕТ ХРАНЕНИЯ

Е.А. Соловьев¹, Л.В. Саяпина¹, А.А. Горяев¹, Н.А. Осина²,
М.П. Рудник¹, Д.С. Давыдов¹, В.П. Бондарев¹

¹ ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Минздрава России, Москва

²ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт
«Микроб» Роспотребнадзора, Саратов

Выявлена вариабельность культурально-морфологических, биохимических, генетических и иммунобиологических свойств штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ 1953, 1966, 1969, 1987, 1990, 2003, 2012 гг. высушивания, хранящегося в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения». Показана необходимость постоянного поддержания стабильности штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ при хранении.

Ключевые слова: вакцинный штамм *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ, основные свойства, стабильность.

STUDY OF FRANCISELLA TULARENSIS NIIEG-15 VACCINE STRAIN STABILITY AFTER DIFFERENT STORAGE PERIODS

E.A. Solovyev¹, L.V. Sayapina¹, A.A. Goryaev¹, N.A. Osina², M.P. Rudnik¹, D.S. Davydov¹,
V.P. Bondarev¹

¹Scientific Center on expertise of medical application products of Ministry of Health of Russian Federation, Moscow

²Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov

Variability of cultural, morphological, biochemical, genetic and immunobiological properties of *Francisella tularensis* 15 NIIEG strains dried in 1953, 1966, 1969, 1987, 1990, 2003 and 2012 and stored in a National collection of pathogenic bacteria (Russia) was detected. These data confirmed the need for a continuing study to maintain the stability of the *F. tularensis* 15 NIIEG strain.

Key words: *Francisella tularensis* NIIEG-15 vaccine strain, phenotypic properties, stability.

В России для профилактики туляремии применяется вакцина туляреминая живая на основе штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, полученного путем 10 кратного пассирования на морских свинках культуры штамма *F. tularensis* № 15-восстановленного. История создания штамма *F. tularensis* № 15 уходит в 40-е годы прошлого столетия, когда Н.А. Гайский, используя метод аттенуации туляреминого микроба на искусственных питательных средах, получил 2 штамма *F. tularensis* № 15 и Ондатра IV, в качестве кандидатов в вакцинные. Однако в ходе дальнейших исследований установлено, что более устойчивым при хранении оказался только штамм *F. tularensis* № 15, который и был рекомендован для производства туляреминой вакцины. Указанный штамм на протяжении многих лет применяется для изготовления живой туляреминой вакцины, при этом трижды (1954, 1962, 2003 гг.) де-факто подвергался восстановлению иммуногенных свойств [1, 2, 3].

Цель работы – изучение стабильности культурально-морфологических, биохимических, генетических и иммунобиологических свойств вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, хранящегося в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России.

Материалы и методы

В работе с использованием микробиологических, молекулярно-биологических и иммунобиологических методов было изучено 7 штаммов *F. tularensis* 15 НИИЭГ 1953, 1966, 1969, 1987, 1990, 2003 и 2012 гг. высушивания, хранящихся при температуре от минус (17±1) до (22±2) °С.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что по внешнему виду штаммы *F. tularensis* 15 НИИЭГ в ампулах имели вид пористой массы, беловато-кремового цвета. Сравнительное изучение культурально-морфологических свойств 7 штаммов *F. tularensis* 15 НИИЭГ показало, что на FT-агаре с 5 % дефибринированной кроличьей кровью и без крови после инкубирования при температуре (37 ± 1) °C в течение 5 сут все штаммы вырастали в виде беловато-серых, блестящих, круглых колоний. При этом отмечено, что на FT-агаре с кровью колонии были более однородные диаметром от 1 до 2,5 мм, без крови – от 1 до 3 мм. В мазках, окрашенных по Граму, культура штаммов *F. tularensis* 15 НИИЭГ представляла собой полиморфные, неподвижные, грамтрицательные коккобактерии.

При определении степени диссоциации туляремийного микроба установлено, что штаммы 1953, 1966, 1969, 2003 и 2012 гг. высушивания по содержанию иммуногенных SR-колоний соответствовали требованиям нормативной документации и имели в своем составе от 87 до 99 % иммуногенных колоний (норма не менее 80 %). В то же время штамм 1987 г., выращенный на обеих питательных средах, содержал пониженное количество SR-колоний (70-75 %); штамм 1990 г. высушивания на FT-агаре с 5 % содержанием крови имел в своем составе 82 %, а без крови – всего 68 % SR-колоний, что подтверждает нестабильность свойств вакцинного штамма.

Биохимические свойства штаммов *F. tularensis* 15 НИИЭГ изучали на среде Dawns. Выявлено, что все штаммы имели типичные для голарктического подвида свойства, ферментировали с образованием кислоты без газа глюкозу, мальтозу, маннозу с разной степенью активности и не ферментировали глицерин. Все штаммы образовывали сероводород и не образовывали индол. Наиболее активными были штаммы 1953 и 1966 гг. высушивания, так как при ферментации сахаров наблюдалось типичное желтое окрашивание среды. При посеве штаммов других годов высушивания среда Dawns приобретала желтовато-зеленый цвет. Выявлена существенная вариабельность спектра ферментативной активности штаммов, изучаемых с помощью коммерческих тест-систем.

Изучение стабильности штаммов по генетическим свойствам показало, что туляремийные штаммы имеют практически одинаковые RAPD-профили. Вариабельность, касающаяся единичных фрагментов ДНК, свидетельствует о возможных изменениях генетических свойств штаммов в процессе их хранения. По серологической активности все штаммы были одинаковы – агглютинировались туляремийной сывороткой в разведении 1:1600, что было ниже установленной нормы (1:3200).

Остаточная вирулентность туляремийных штаммов была изучена на белых мышах, которым подкожно вводили дозы от 5 до 5×10^6 м.к./мл. За животными наблюдали в течение 21 сут. Павших животных вскрывали. В ходе вскрытия были выявлены типичные для туляремии изменения внутренних органов (инфильтрат на месте введения, гиперемия сосудов подкожной клетчатки и паховых лимфатических узлов, увеличение и уплотнение печени и селезенки). При высеве селезенки на плотную питательную среду у всех животных была выделена культура туляремийного микроба. Штаммы 1953, 1969, 1987, 1990, 2003 и 2012 гг. имели сходную степень остаточной вирулентности (от 100 до 250 м.к.). В то же время штамм 1966 г. высушивания примерно в 3000 раз уступал другим по этому показателю, при этом значение показателя находилось в пределах нормы (от 100 до 1×10^6 м.к.). Патоморфологические изменения в органах животных по сравнению с другими штаммами были менее выражены.

Безвредность штаммов исследовали путем введения морским свинкам подкожно дозы 5×10^9 м.к./мл, с последующим наблюдением за ними в течение 15 сут. У всех морских свинок на месте введения отмечался некроз тканей, при этом 6 штаммов были безопасными для животных. Введение штамма 1987 г. высушивания привело на 11 сут к гибели морской свинки.

Важным этапом при изучении протективных свойств является определение прививаемости штамма, выражающейся прививочной реакцией у морских свинок в виде появления через 2-5 сут на месте введения вокруг насечек инфильтрата и гиперемии диаметром от 5 до 15 мм. Все штаммы имели умеренно выраженную реакцию (от 5 до 10 мм), развивающуюся при накожном введении доз 5×10^6 и 5×10^7 м.к./мл.

Ретроспективный анализ паспортов и протоколов ежегодного изучения туляремийных штаммов показал, что по данному показателю иммуногенность штаммов составляла от 25 до 200 м.к. (норма не более 1000 м.к.). Экспериментальным путем определяли иммуногенность штамма 2012 г. высушивания. ЕД₅₀ штамма для иммунизированных подкожно морских свинок против их заражения вирулентным штаммом *F. tularensis* 503 дозой 1000 DCL (dosis certa letalis) составила 158,5 м.к., что указывает на наличие ярко выраженной его иммуногенной активности.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о вариабельности основных свойств лиофилизированных штаммов *F. tularensis* 15 НИИЭГ при хранении, что обуславливает значимость его постоянного изучения, а при необходимости и коррекцию иммуногенных свойств.

Литература

1. Мещерякова И.С. Туляремия: современная эпидемиология и вакцинопрофилактика // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2010. – № 2 (51). – С. 17-22.
2. Олсуфьев Н.Г., Емельянова О.С., Угловой Г.П., и др. Сравнительные испытания на людях вариантов вакцинного туляремийного штамма 15 Гайского // Журн. микробиол. и иммунобиол. – 1971. – № 5. – С. 55-57.
3. Профилактика туляремии. Санитарно-эпидемиологические правила. СП 3.1.7.2642-10 // Бюлл. норм. и метод. документов Госсанэпиднадзора. – 2010. – Вып. 3. – С. 15-35.

Ответственный автор

Саяпина Лидия Васильевна – Главный эксперт ФГУБ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения России докт. мед. наук/
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 579.841.93Brucella-07

ПРИМЕНЕНИЕ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ *BRUCELLA SPP.*

Д.В. Ульшина, Д.А. Ковалев, С.И. Головнева, Е.В. Чеботарева
ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный
институт Роспотребнадзора, Ставрополь

Разработан проект пополняемой электронной базы данных масс-спектрометрических белковых профилей штаммов возбудителя бруцеллеза в среде программы MALDI Biotyper v 3.0 (Bruker Daltonics, США). На основании анализа репрезентативных масс-спектров 39 штаммов бруцелл выявлены 12 возможных родоспецифичных фрагментов в диапазоне масс 2000 – 20000 Да.

Ключевые слова: масс-спектрометрия, белковое профилирование, возбудитель бруцеллеза.

APPLICATION OF MALDI-TOF MASS SPECTROMETRY TO BRUCELLA SPP. IDENTIFICATION
D.V. Ulshina, D.A. Kovalev, S.I. Golovneva, E.V. Chebotareva
Stavropol Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor, Stavropol

The project of refillable electronic database of mass spectrometric protein profiles of brucellosis strains in the environment of the program MALDI Biotyper v 3.0 (Bruker Daltonics, USA) has been developed. On the basis of analysis of representative mass spectra of 39 Brucella strains, 12 possible genus-specific fragments in the mass range 2000 - 20000 Da were identified.

Key words: mass spectrometry, protein profiling, brucellosis causative agent.

Одним из перспективных современных методов идентификации и дифференциации бактерий является времяпролетная масс-спектрометрия с матричной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS), основанная на исследовании специфичных белковых профилей отдельных микроорганизмов [1]. Исходя из возможных угроз здоровью населения, актуальной задачей является разработка эффективного стандартизированного метода экспресс-идентификации возбудителя бруцеллеза с использованием MALDI-TOF MS.

Основными преимуществами использования MALDI-TOF масс-спектрометрии по сравнению с

классическими методами идентификации микроорганизмов являются: высокая точность дифференциации до вида (до 99 %), специфичность (97,6 %), экспрессность, низкая стоимость и возможность автоматизации анализа [3].

В настоящее время созданы базы данных белковых профилей большинства патогенных микроорганизмов для рутинной лабораторной идентификации с использованием соответствующего масс-спектрометра. Однако имеющаяся информация о протеомных профилях *Brucella spp.* не включена в большинство доступных баз данных, что определяет необходимость получения качественных масс-спектров референсных штаммов бруцелл для создания современной системы детекции и идентификации возбудителя с помощью масс-спектрометрии.

Цель работы – разработка проекта пополняемой электронной базы данных масс-спектрометрических белковых профилей штаммов возбудителя бруцеллеза и поиск родоспецифичных фрагментов в области 2000-20000 Да на масс-спектрах бруцелл.

Материалы и методы

Обеззараживание и подготовку проб культур возбудителя бруцеллеза проводили по методике, описанной ранее Lista et al. [2], в который в ходе исследования были внесены незначительные модификации.

В работе использованы 39 штаммов бруцелл пяти основных патогенных видов (*Brucella melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*), 13 из которых являются референтными. Масс-спектры получали в линейном режиме на MALDI-TOF масс-спектрометре Microflex (Bruker Daltonics, США) при следующих параметрах: частота лазера 60 Гц, интенсивность лазера 10-50 %, 110 нс PIE, напряжение первого источника ионов 19,4 kV, второго – 17,3 kV, напряжение линзы 8 kV, напряжение линейного детектора 2,500 kV, диапазон масс 2000-20000 Да. Суммарный масс-спектр генерировали из 20 случайно выбранных позиций каждой капли мишени (всего по 4000 выстрелов лазера). Перед каждой серией анализов проводили внутреннюю калибровку с использованием бактериального тест-стандарта MBT (Bruker Daltonics, США). Сбор исходных данных с формированием масс-спектров проводили в программах Bruker Daltonics flexControl v 3.3.64, предварительный анализ спектров – flexAnalysis v 3.3.65. Визуализацию и анализ полученных масс-спектров проводили в программе mMass v 5.5.0.

Нами были получены 859 масс-спектров для 39 исследуемых штаммов бруцелл. Из полученной коллекции были отобраны репрезентативные масс-спектры для каждого штамма с целью дальнейшего включения в проект электронной базы данных в среде программы MALDI Biotyper v 3.0 (Bruker Daltonics, США).

Анализ спектров в базе данных Biotyper DB v 3.1.2 показал низкие значения показателя score (менее 1,397) для всех штаммов возбудителя бруцеллеза относительно других микроорганизмов (4613 референсных масс-спектров), что позволяет сделать вывод об уникальности исследуемых белковых профилей. С другой стороны, сравнение коллекции масс-спектров штаммов бруцелл между собой подтвердило высокую степень родства изучаемых бактерий (score в интервале 1,946-2,845).

Сравнительный анализ совокупности пиков на полученных масс-спектрах позволяет предположить существование набора родоспецифичных фрагментов в интервале масс 2000-20000 Да. На всех изученных спектрах установлено наличие 12 идентичных сигналов, отличающихся по интенсивности и имеющих следующие значения m/z (± 3 Da): 2422, 2581, 3023, 3336, 3523, 3754, 4542, 5170, 6672, 7048, 9080, 16068. Вероятно, по наличию указанного комплекса специфичных фрагментов можно определить принадлежность исследуемого микроорганизма к роду *Brucella*. Нами планируется проверить это предположение при изучении достаточного количества проб культур бруцелл с помощью описанного метода.

Заключение

Таким образом, на основании полученных результатов можно предположить, что MALDI-TOF MS позволяет быстро проводить идентификацию бруцелл на уровне рода и, в ряде случаев, дифференциацию до уровня штамма. Для эффективного применения метода необходимо создание представительной электронной базы данных масс-спектров коллекционных штаммов бруцелл. Не менее актуальным является поиск и отбор родо-, видо- и штаммоспецифичных маркерных фрагментов, наличие которых в масс-спектрах позволит эффективно проводить идентификацию и типирование возбудителя бруцеллеза в пробе.

Литература

1. Ferreira L., Vega S., Sanchez-Juanes F. et al. Identifying bacteria using a matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometer. Comparison with routine methods used in clinical microbiology laboratories // *Enferm. Infec. Microbiol. Clin.* – 2010. – Vol. 28. – P. 492-497.

2. Lista F., Reubsaet FA, De Santis R et al. Reliable identification at the species level of *Brucella* isolates with MALDI-TOF-MS. BMC Microbiology. – 2011. – Vol. 11. – P. 267.

3. Veen S., Claas E., Kuijper E. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories // J. Clin. Microbiol. – 2010. – Vol. 48. – P. 900-907.

Ответственный автор

Ульшина Диана Васильевна – младший научный сотрудник подготовки специалистов ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 577:579.852.11B.anth

ПРОДУКЦИЯ БЕЛКОВ S-СЛОЯ И ПРОТЕКТИВНОГО АНТИГЕНА РАЗЛИЧНЫМИ ШТАММАМИ *BACILLUS ANTHRACIS*

**А.М. Барков, А.В. Новоженина, И.А. Баркова,
С.В. Порохня, Г.А. Ткаченко, А.В. Липницкий**

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград

*Изучена продукция белков изогенными вариантами штаммов *Bacillus anthracis* с различным набором плазмид вирулентности. Показано, что однотипные варианты штаммов различаются по продукции белков S-слоя и протективного антигена, что следует учитывать при отборе штаммов-продуцентов.*

Ключевые слова: *изогенные варианты штаммов *Bacillus anthracis*, реакция иммунодиффузии с растущими культурами (РИДПК), электрофорез, гель-хроматография.*

PRODUCTION OF S-LAYER PROTEINS AND PROTECTIVE ANTIGEN BY DIFFERENT *BACILLUS ANTHRACIS* STRAINS

A.M. Barkov, A.V. Novozhenina, I.A. Barkova, S.V. Porohnya, G.A. Tkachenko, A.V. Lipnitsky
Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd

*In this paper we studied protein production by *Bacillus anthracis* isogenic variants with different set of virulence plasmids. It was shown that homotypic strains differed by S-layer protein and protective antigen production that should be taken into account in the selection of producer strains.*

Key words: *isogenic *Bacillus anthracis* variants, immunodiffusion with growing cultures (IDGC), electrophoresis, gel-chromatography.*

Предметом протеомных исследований является сравнительный анализ секреции белков *Bacillus anthracis*, поиск иммунодоминантных антигенов, что может иметь значение при определении патогенности, терапевтических и диагностических маркеров, разработке вакцин. Для этого исследователями были использованы изогенные варианты штаммов возбудителя сибирской язвы, с различным содержанием плазмид вирулентности, выращенные в определенных условиях [2, 3, 8]. В предыдущих исследованиях нами получены сыворотки, содержащие антитела преимущественно к одному из белков S-слоя или протективному антигену (ПА), что позволило проводить внутривидовую дифференциацию штаммов [1, 2].

Цель работы – изучение продукции белков S-слоя и протективного антигена изогенными штаммами *B. anthracis* с различным профилем плазмид вирулентности.

Материалы и методы

В работе использованы вирулентные штаммы *B. anthracis* 81/1 и 575/122, вакцинные штаммы *B. anthracis* СТИ-1, Stern34F₂ и 55 ВНИИВВиМ. Удаление плазмид осуществляли путем температурной элиминации, а также при выращивании на среде с канамицином [7, 9]. Отбор вариантов проводили по продукции ПА и белков S-слоя с использованием реакции иммунодиффузии с растущими культурами (РИДРК). Для этого R-варианты, отобранные со среды для продукции капсулы, засеивали на токсин- и капсуло- продуцирующую среду. После выращивания в атмосфере CO₂, в течение 18 ч, в лунки, пробитые против газонов выросших культур, вносили соответствующие сыворотки. По сформировавшимся иммунопреципитатам судили о продукции белков Sap, EA1 и ПА [1, 2]. Для выявления плазмид вирулентности *B. anthracis* использовали набор реагентов мультиплексной амплификационной тест-системы для идентификации и дифференциации *B. anthracis* [5]. Культуральные фильтраты (КФ) авирулентных вариантов получали с использованием среды Ристроф. Гельхроматографию культуральных фильтратов полученных вариантов проводили на сефакиле S-300HR. Электрофорез в ПААГ в присутствии ДСН проводили по методике, изложенной в руководстве «Hoefler Scientific Instruments 1988 – 1989» [2].

Результаты и обсуждение

Для получения капсулопродуцирующих вариантов вирулентные штаммы *B. anthracis* 81/1 и 575/122 пассировали в L – бульоне при температуре 42,5 °С в течение 10-15 суток с регулярными контрольными высевами на сывороточный агар. После пассажа на среду для капсулообразования в атмосфере CO₂ штаммы вырастали в RS-форме, разделить которые на R- и S- формы при последующих пассажах не удалось. При окраске мазков по Ребигеру у отдельных клеток капсула определялась в виде узкой зоны.

В РИДРК штаммы образовывали иммунопреципитаты только с сыворотками к антигенам S-слоя, что свидетельствовало об элиминации плазмиды рХО1 и содержании плазмиды рХО2 (*B. anthracis* 81/1 R02 и 575/122 R02). Штаммы были вирулентны для белых мышей при подкожном введении 100 и более спор. Животные погибали в течение 4-5 суток. В мазках-отпечатках органов павших животных обнаруживали капсульные формы, которые на сывороточной среде в атмосфере CO₂ вырастали в RS-форме.

По-видимому, недостаточное образование *in vitro* капсулы обусловлено отсутствием плазмиды рХО1, несущей ген AtxA, который координирует экспрессию ряда белков и капсулы [6]. Вирулентность этих штаммов для белых мышей, возможно, обусловлена чувствительностью животных к капсулосодержащим штаммам *B. anthracis*. Незавершенный фагоцитоз, при котором поглощенные микроорганизмы не подвергаются внутриклеточному перевариванию, сохраняются или размножаются в фагоцитах, приводит к нарушению обменных процессов, быстрой деградаци и гибели клеток [4].

Для получения моноплазмидных токсинпродуцирующих вариантов штаммы *B. anthracis* 81/1 и 575/122 инкубировали на среде с канамицином в течение 20 суток. При пересевах со среды с канамицином на содовый агар в атмосфере CO₂ получали рост штаммов в R-форме, у которых при окраске мазков по Ребигеру капсула не определялась. В РИДРК эти штаммы продуцировали ПА и белки S-слоя, что свидетельствовало об элиминации плазмиды рХО2 и сохранении плазмиды рХО1 (*B. anthracis* 81/1 R01 и 575/122 R01). При подкожном заражении белых мышей этими штаммами в дозе 1×10⁶ спор пали три из пяти мышей в течение пяти суток. В мазках-отпечатках органов отдельных павших животных определялись бескапсульные формы *B. anthracis*. Контрольные животные, зараженные *B. anthracis* 81/1 и 575/122, пали от пяти спор в течение трех суток. В мазках-отпечатках органов павших животных контрольной группы выявляли капсульные формы *B. anthracis*.

Гибель отдельных белых мышей, зараженных высокими дозами токсинпродуцирующих штаммов, обусловлена действием сибиреязвенного токсина, что характерно для вакцинного штамма *B. anthracis* СТИ-1 и известно как остаточная вирулентность [4].

С целью получения бесплазмидных штаммов проведены последующие пассажи *B. anthracis* 81/1 R01 и 575/122 R01, вакцинных штаммов *B. anthracis* СТИ-1, 55 ВНИИВВиМ, Stern34F₂ в сердечно-мозговом бульоне при 42,5 °С в течение 10 суток. Получены варианты этих штаммов, выроставшие в оптимальных для формирования капсулы в R-форме условиях, у которых, при окраске мазков по Ребигеру, капсулу не визуализировали. В РИДРК эти штаммы продуцировали белки S-слоя и не продуцировали ПА и капсулу, что свидетельствовало об элиминации обеих плазмид (*B. anthracis* 81/1 R00 и 575/122 R00, СТИ-1 R00, 55 ВНИИВВиМ R00, Sterne34F₂ R00). При подкожном введении белым мышам 1×10⁶ спор культур бесплазмидных вариантов животные не погибали.

Наличие генов плазмид рХО1, рХО2 и хромосомного маркера sap гена у вирулентных, вакцинных штаммов и их вариантов подтверждено методом ПЦР [5].

При гелехроматографическом разделении культуральных фильтратов полученных вариантов установлено, что токсинпродуцирующие варианты *B. anthracis* 81/1 R01 и 575/122 R01, СТИ-1 и 55ВНИИВВиМ преимущественно содержали ПА (5 пик) и белки, которые элюировались в свободном объеме (1 пик). При этом культуральный фильтрат *B. anthracis* Stern34F₂, в отличие от токсинпродуцирующих вариантов других штаммов, содержал преимущественно белки, элюировавшиеся в свободном объеме, что обусловлено протеазной активностью штамма. В связи с вирулентностью для белых мышей капсулосодержащих штаммов их культуральные фильтраты не получали.

Бесплазмидные варианты *B. anthracis* 81/1 R00 и 575/122 R00, СТИ-1 R00, Stern34F₂ R00 и 55 ВНИИВВиМ R00 содержали белки, которые элюировались в свободном объеме. При этом культуральные фильтраты бесплазмидных вариантов вакцинных штаммов *B. anthracis* СТИ-1 и 55ВНИИВВиМ, в отличие от *B. anthracis* 81/1 R00 и 575/122 R00, содержали значительное количество белков, которые элюировались в объеме выхода ферритина (3 пик).

При электрофоретическом разделении в 10 % ПААГ с СДС установлено, что культуральные фильтраты авирулентных токсинпродуцирующих штаммов содержали главным образом белки молекулярной массой 90 кДа, что характерно для белков сибиреязвенного токсина. Культуральные фильтраты бесплазмидных штаммов содержали белки молекулярной массой 94 и 87 кДа, которые соответствуют молекулярным массам белков S-слоя – EA1 и Sap.

Заключение

Изучение продукции белков изогенными вариантами штаммов *B. anthracis* с различным набором плазмид вирулентности показало, что однотипные варианты штаммов различаются по продукции белков S-слоя и ПА, что следует учитывать при отборе штаммов-продуцентов.

Литература

1. Барков А.М., Алексеев В.В., Липницкий А.В. Способ идентификации *Bacillus anthracis* с дифференциацией штаммов по продукции капсулы, протективного антигена и антигенов S-слоя // Патент на изобретение № 2376385. – 2009. – 12 с.
2. Баркова И.А., Алексеев В.В., Липницкий А.В. и др. Продукция белков S-слоя разными штаммами *Bacillus anthracis* // Пробл. особо опасн. инф. – 2008. – Вып. 4 (98). – С. 29-32.
3. Микшис Н.И., Корсакова А.Ю., Болотникова М.Ф. и др. Продукция белков S-слоя штаммами *Bacillus anthracis* // Биотехнология – 2004. – № 5. – С. 22-23.
4. Попов С.Ф., Липницкий А.В., Барков А.М. Особенности взаимодействия *Bacillus anthracis* с фагоцитами хозяина в зависимости от плазмидного спектра возбудителя // Журн. микробиол. – 1996. – № 2. – С. 13-16.
5. Цыганкова О.И., Еременко Е.И., Рязанова А.Г., Цыганкова Е.А. Мультиплексная амплификационная тест-система для идентификации и дифференциации *Bacillus anthracis* // Журн. микробиол. – 2005. – № 3. – С. 69-74.
6. Drysdale M., Bourgogne A., Bourgogne T. Transcriptional Analysis of the *Bacillus anthracis* Capsule Regulators // J. Bacteriol. – 2005. – Vol. 187, № 15. – P. 5108-5114.
7. Green B.D., Laurie Battisti, Kochler T.M. et al. Demonstration of capsule in *B. anthracis* // Infect. Immun. – 1985. – Vol. 49, № 2. – P. 291-297
8. Lamonica J.M., Wagner M.A., Echenbrenner M. Comparative secretome analyses of the *Bacillus anthracis* strains with variant plasmid contents // Infect. Immun. – 2005. – Vol. 73, № 6. – P. 3646-3658.
9. Mikesell P., Ivins B.E., Ristoph J.D., Dreiter T.M. Evidence for Plasmid – mediated Toxin Production in *Bacillus anthracis* // Infect. Immun. – 1983. – Vol. 39. – P.371-376.

Ответственный автор

Барков Анатолий Макарович – старший научный сотрудник ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский потивочумный институт Роспотребнадзора канд. мед. наук.
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.61-002.151-07(571.61)“2013”

ВЫЯВЛЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ И СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ В КЛИНИЧЕСКОМ И ПОЛЕВОМ МАТЕРИАЛЕ В АМУРСКОЙ ОБЛАСТИ В ПЕРИОД НАВОДНЕНИЯ 2013 ГОДА

Е.А. Сидорова¹, М.О. Горина¹, С.А. Борисов¹, А.Я. Никитин¹,
А.В. Самчук², Е.В. Кравец¹, Е.А. Разенькова¹, Т.Ю. Нехрюк²,
О.П. Курганова³, Е.И. Андаев¹

¹ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Иркутск

²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Амурской области», Благовещенск

³Управление Роспотребнадзора по Амурской области, Благовещенск

*В ходе эпизоотолого-эпидемиологического обследования районов Амурской области в период паводка 2013 г. собраны сыворотки крови людей, проведены учеты численности мелких млекопитающих. Установлено, что в природных биотопах и населенных пунктах преобладает (68 %) полевая мышь (*Apodemus agrarius*). При лабораторном исследовании антитела к возбудителю ГЛПС обнаружены в сыворотках крови людей в 5,3 %, РНК хантавируса комплекса ГЛПС у 7,2 % мелких млекопитающих.*

Ключевые слова: Амурская область, ГЛПС, антитела к хантавирусам, РНК хантавируса, *Apodemus agrarius*.

DETECTION OF THE CAUSATIVE AGENT AND SPECIFIC ANTIBODIES TO HAEMORRAGIC FEVER WITH RENAL SYNDROME IN CLINICAL AND FIELD SAMPLES IN THE AMUR REGION DURING THE FLOOD IN 2013

E.A. Sidorova¹, M.O. Gorina¹, S.A. Borisov¹, A.Ya. Nikitin¹, A.V. Samchuk², E.V. Kravets¹, E.A. Razenkova¹, T.Yu. Nekhruk², O.P. Kurganova³, E.I. Andaev¹

¹*Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, Irkutsk*

²*Center of Hygiene and Epidemiology in the Amur region, Blagoveshchensk*

³*Administration of Rospotrebnadzor in the Amur region, Blagoveshchensk*

*Human blood sera were collected and a number of small mammals was recorded in epizootological-epidemiological examination of the Amur region during a high water of 2013. It was established that a field mouse (*Apodemus agrarius*) prevailed in natural biotops and human settlements (68 %). Analysis of clinical and field samples revealed antibodies to the causative agent of haemorrhagic fever with renal syndrome in human blood sera (5,3 %) and RNA of Hantavirus complex in 7,2 % of small mammals.*

Key words: the Amur region, haemorrhagic fever with renal syndrome, antibodies to Hantavirus, Hantavirus RNA, *Apodemus agrarius*.

В июле-августе 2013 г. территория Амурской области подверглась мощному наводнению в связи с аномальным количеством выпавших осадков. В результате большая часть территорий и населенных пунктов были затоплены, многие дороги и мосты разрушены. Для предупреждения возникновения санитарно-эпидемиологических осложнений, вызванных паводковой ситуацией в области, а так же минимизации последствий ЧС была выдвинута специализированная противозидемическая бригада (СПЭБ-1) Иркутского научно-исследовательского противочумного института, одним из направлений деятельности которой явилось исследование материала на природно-очаговые инфекционные болезни.

Цель работы – исследование сывороток крови людей на наличие антител к хантавирусам и органов мелких млекопитающих на инфицированность возбудителем ГЛПС в период ликвидации последствий наводнения в Амурской области.

Материалы и методы

Сыворотки крови людей в количестве 171 пробы доставлены для исследования в СПЭБ-1 из различных лечебных учреждений Амурской области, расположенных в зоне паводка.

Отловы мелких млекопитающих проведены в семи районах Амурской области силами зоологов и паразитологов СПЭБ-1 и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Амурской области» Роспотребнадзора из различных природных стаций (лесной, лугово-полевой и околородный биотопы) и населенных пунктов Белогорского, Благовещенского, Архаринского, Михайловского, Октябрьского, Серышевского, Свободненского, Мазановского районов, г. Белогорска и г. Благовещенска. Мелких млекопитающих отлавливали давилками Геро, выставленными в учетные линии с интервалом пять метров между ловушками на стандартную приманку. В ходе проведенных работ отработано 1144 ловушко-суток, отловлено 285 мелких млекопитающих.

Для определения инфицированности грызунов хантавирусами исследовали 10 % суспензию легких в иммуноферментном анализе (ИФА) и полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для этого легкие растирали индивидуально стерильно в фарфоровой ступке пестиком с добавлением 1,0 мл 0,15 М физиологического раствора.

В сыворотках крови людей выявляли антитела класса G с применением иммуноферментной тест-системы «ВектоХанта-Ig G» (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск). Антиген хантавирусов в суспензиях млекопитающих определяли с помощью тест-системы «Хантагност» (ФГУП ПИПВЭ им. М.П. Чумакова, г. Москва) в соответствии с Инструкцией производителя.

Экстракцию РНК проводили с помощью наборов реагентов «РИБО-золь-С» и «РИБО-сорб» (ФБУН ЦНИИЭ, г. Москва) в соответствии с Инструкциями к наборам. Получение кДНК на матрице РНК осуществляли набором реагентов «Реверта-L» (ФБУН ЦНИИЭ, г. Москва). ПЦР проводили с использованием коммерческого набора «АмплиСенс Hantavirus-Eph» на амплификаторе «Терцик» («ДНК-технология») по предложенной производителем программе. Результаты учитывали методом электрофореза в агарозном геле по наличию специфичных полос амплифицированной кДНК.

Результаты и обсуждение

На территории Амурской области природные очаги ГЛПС зарегистрированы в 17 районах из 28. Наибольшая заболеваемость среди населения и выявление инфицированных хантавирусами млекопитающих отмечается в пяти наиболее неблагоприятных по ГЛПС районах (Бурейский, Архаринский, Тамбовский, Благовещенский, Михайловский). Природные очаги расположены в основном на юге области и занимают более 40 % ее площади. Практически ежегодно отмечаются единичные случаи заболевания ГЛПС: с 2000 по 2013 гг. зарегистрировано 57 случаев, средний многолетний показатель заболеваемости – 0,4 ‰₀₀₀₀ [2].

Работа СПЭБ-1 осуществлялась в круглосуточном режиме. Пробоподготовка и исследование доставленного из подтопленных районов материала проводилась в течение 24 часов. Полученные результаты в ежедневных донесениях доводились до сведения руководства Иркутского противочумного института и Управления Роспотребнадзора по Амурской области.

При исследовании сывороток крови людей антитела выявлены в девяти пробах (5,3 %), что является косвенным подтверждением инфицированности населения и согласуется с данными Управления Роспотребнадзора по Амурской области: частота выявления серопозитивных сывороток к возбудителю ГЛПС за последние три года находилась в диапазоне от 2 до 10 %.

В результате учетов численности мелких млекопитающих в семи районах Амурской области отловлено 17 различных видов, доминирующим (68,8 %) среди которых являлась полевая мышь (*Apodemus agrarius*).

Всего на хантавирусы обследовано 139 экз. мелких млекопитающих. Методом ИФА исследовано 104 пробы – антиген хантавирусов не обнаружен. При исследовании методом ПЦР 139 проб легких мелких млекопитающих (табл. 1). РНК хантавируса комплекса ГЛПС выявлена в 10 случаях (7,2 %). Распределение положительных находок по районам следующее: наибольшее число приходится на Михайловский (4) и Благовещенский (3) районы; в Белогорском, Мазановском и Серышевском районах – по одной. В Свободненском и Архаринском районах положительных находок не обнаружено. Все положительные пробы были определены от полевой мыши, что подтверждает ее важную роль как резервуара хантавирусов в природных очагах ГЛПС Амурской области, где она является переносчиком дальневосточного геноварианта хантавируса – Hantaan, ассоциированного с тяжелыми клиническими проявлениями болезни [1, 4].

Заключение

На основании результатов исследований, проведенных в период ликвидации паводка, установлено наличие иммунной прослойки к хантавирусам у 5,8 % населения, проживающего на территории районов Амурской области, подвергшихся подтоплению. Инфицированность мелких млекопитающих хантавирусами составила 7,2 %, что свидетельствует об активности природных очагов хантавирусной инфекции. Имеет место осложнение эпидемиологической обстановки по ГЛПС, возникшее в

результате паводка [3]. С учетом наших данных и особенностей поведения полевых мышей, активно заселяющих в осенний период дома, складские и прочие помещения, можно предположить обострение эпидемиологической обстановки в этот сезон.

Таблица 1.

Исследование на хантавирусы методом ПЦР мелких млекопитающих, отловленных в различных районах Амурской области

Район обследования	Количество обследованных грызунов	Из них положительных	
		количество	%
Благовещенский	46	3	6,5
Михайловский	40	4	10
Архаринский	2	отрицательно	-
Серышевский	7	1	14,3
Свободненский	6	отрицательно	-
Мазановский	12	1	8,3
Белогорский	26	1	3,8
Всего	139	10	7,2

В связи с этим необходим дальнейший мониторинг состояния природных очагов ГЛПС на подтопленных территориях Амурской области в послепаводковый период и проведение на них, в случае необходимости, дополнительных мероприятий по истреблению грызунов.

Литература

1. Кушнарера Т.В., Слонова Р.А., Максема И.Г. и др. Особенности эпизоотического процесса в популяциях эпидемически значимых мышей рода *Apodemus* – природных хозяев возбудителей ГЛПС // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2012. – № 20. – С. 57-64.
2. Материалы Государственного доклада «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2012 году» по Амурской области: Благовещенск, 2013. – 128 с.
3. Онищенко Г.Г., Балахонов С.В., Носков А.К. и др. Анализ эпидемиологической ситуации по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в Хабаровском крае и Еврейской автономной области, прогноз ее развития на послепаводковый период 2013-2014 гг. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2014. – № 1. – С. 56-59.
4. Слонова Р.А., Ткаченко Е.А., Иванис В.А. и др. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом: Владивосток, 2006. – 246 с.

Ответственный автор

Е.А. Сидорова – Врач-вирусолог лаборатории природно-очаговых вирусных инфекций ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора
Тел.: (3952) 22-13-12; E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: [616.98:578.835.1Enterovirus+57.065](571.6)“2013”

МЕТОДЫ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА В ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ РАССЛЕДОВАНИЯХ СЛУЧАЕВ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ НА ТЕРРИТОРИЯХ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПОДВЕРГШИХСЯ ПОДТОПЛЕНИЮ В 2013 ГОДУ

Е.Ю.Сапега², О.Е.Троценко², О.П.Курганова⁴, В.А.Отт³,
Н.В. Коршунова⁸, Т.В.Корита², В.О.Котова², В.А.Янович⁵, Ю.А.Гарбуз⁶,
П.В.Копылов⁷, Л.В.Бутакова², Т.А.Зайцева³, А.А.Перепелица⁴,
Т.Н.Каравянская³, Е.Н.Присяжнюк⁶, Е.М.Голубева³, В.И. Резник⁶,
Е.С.Мироненко⁵, Л.А.Балахонцева², А.П.Бондаренко²,
А.Н.Лукашев⁹, С.В.Балахонов¹⁰, А.К.Носков¹⁰, С.А.Косилко¹⁰,
Н.А.Новикова¹¹, Л.Н.Голицына¹¹, М.Е.Игнатъева¹²,
А.А.Рубцова¹³, Б.Б.Дарижапов¹⁴, Г.Г.Онищенко¹

¹Российская Академия Наук,

²ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора,

³Управление Роспотребнадзора по Хабаровскому краю,

⁴Управление Роспотребнадзора по Амурской области,

⁵Управление Роспотребнадзора по Еврейской автономной области,

⁶ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае»,

⁷ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Еврейской автономной области»,

⁸Амурская государственная медицинская академия,

⁹ФГБУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова» РАМН,

¹⁰ФБУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора,

¹¹ФБУН «Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. И.Н.Блохиной» Роспотребнадзора,

¹²Управление Роспотребнадзора по Республике Саха (Якутия),

¹³Управление Роспотребнадзора по Магаданской области,

¹⁴Управление Роспотребнадзора по Сахалинской области

Чрезвычайная ситуация, вызванная массивным подтоплением территорий Хабаровского края, Амурской и Еврейской автономной областей, потребовала более широкого использования молекулярно-генетических методов типирования и изучения происхождения энтеровирусов, вызвавших значительный подъем заболеваемости энтеровирусной инфекцией в 2013 году. Филогенетическому анализу подвергнуты наиболее часто выявляемые в 2013 году энтеровирусы Коксаки В-5, Коксаки А-6, А-9, А-10, А-16, ЕСНО-6. Степень генетического родства и возможность установления эпидемиологической связи проанализированы и для энтеровируса 71 типа, способного к активному эпидемическому распространению. Проведенные исследования позволили предположить различное происхождение энтеровирусов, в том числе «завозной» характер распространения возбудителей, преимущественно из стран Азиатско-Тихоокеанского региона.

Ключевые слова: чрезвычайная ситуация, энтеровирусная инфекция, штаммы энтеровирусов, секвенирование, филогенетический анализ

Methods of genotyping and phylogenetic analysis of epidemiological investigations of enter-

ovirus infection on the territory of the Far Eastern Federal District of the Russian Federation, that were exposed to flood in 2013

*E. Yu. Sapega², O. E. Trotsenko², O. P. Kurganova⁴, V. A. Ott³,
N. V. Korshunova⁸, T. V. Korita², V. O. Kotova², V. A. Yanovich⁵, Yu. A. Garbuz⁶,
P. V. Kopilov⁷, L. V. Butakova², T. A. Zaitseva³, A. A. Perepelitsa⁴,
T. N. Karavyanskaya³, E. N. Prisyazhnyuk⁶, E. M. Golubeva³, V. I. Reznik⁶,
E. S. Mironenko⁵, L. A. Balahontseva², A. P. Bondarenko²,
A. N. Lukashov⁹, S. V. Balakhonov¹⁰, A. K. Noskov¹⁰, S. A. Kosilko¹⁰,
N. A. Novikova¹¹, L.N. Golitsina¹¹, M. E. Ignat'eva¹²,
A. A. Rubtsova¹³, B. B. Darizhapov¹⁴, G.G. Onishchenko¹*

¹Russian Academy of Sciences,

²Khabarovsk research institute of epidemiology and microbiology of Federal service on customer's rights protection and human well-being surveillance,

³Administration of Federal service on customer's rights protection and human well-being surveillance of Khabarovsk Region,

⁴Administration of Federal service on customer's rights protection and human well-being surveillance of Amur Oblast,

⁵Administration of Federal service on customer's rights protection and human well-being surveillance of Jewish Autonomous Region,

⁶Khabarovsk Region Hygiene and Epidemiology Center,

⁷Jewish Autonomous Region Hygiene and Epidemiology Center,

⁸Amur State Medical Academy,

⁹Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitides of RAMS,

¹⁰Irkutsk antiplague research institute of Siberia and Far East of Federal service on customer's rights protection and human well-being surveillance,

¹¹Blokhina Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod,

¹²Administration of Federal service on customer's rights protection and human well-being surveillance of Republic of Sakha (Yakutia),

¹³Administration of Federal service on customer's rights protection and human well-being surveillance of Magadan Oblast,

¹⁴Administration of Federal service on customer's rights protection and human well-being surveillance of Sakhalin Oblast

Flood emergency on the territory of Khabarovsk region, Amur Region and Jewish Autonomous Region necessitated wider application of molecular-genetic methods of typing and evaluation of origin of enteroviruses. The most commonly detected enteroviruses in 2013, such as Coxsackie B-5, A-6, A-9, A-16 and ECHO-6 were subjected to phylogenetic analysis. The level of genetic similarity and possibility of epidemiological relationship were analyzed for Enterovirus 71. Performed studies indicate different origin of enteroviruses including importation of viruses, most likely from countries of Asia-Pacific Region.

Key words: *emergency, enterovirus infection, sequencing, phylogenetic analysis.*

Введение

Для ряда территорий Дальневосточного федерального округа (ДФО) Российской Федерации 2013 год ознаменовался беспрецедентным подтоплением, вызванным, в основном, затяжными и интенсивными осадками, приведшими к выходу речной воды за пределы её русла. Наибольшему бедствию подверглись регионы, расположенные в бассейне реки Амур и её притоков – Амурская область, Еврейская автономная область и Хабаровский край. Частичное подтопление территорий произошло также и в других субъектах ДФО - в Приморском крае, республике Саха (Якутия) и Магаданской области.

Чрезвычайная гидрологическая обстановка поставила под угрозу санитарно-эпидемиологическое благополучие проживающего в зоне бедствия населения и потребовала принятия срочных предупредительных мер санитарно-гигиенического и противоэпидемического характера. В числе первоочередных задач оказалась своевременная и достоверная лабораторная диагностика как эндемичных инфекционных заболеваний, так и инфекций «завозного» характера. При этом, особого внимания заслуживала энтеровирусная инфекция (ЭВИ), поскольку еще до наступления паводковой ситуации эпидемический процесс ЭВИ значительно активизировался в Хабаровском крае и Амурской области. Своевременная диагностика ЭВИ и типирование энтеровирусов были особенно необходимы для выявления источника заражения, его лечения и устранения опасности дальнейшего распространения инфекции.

Риск дальнейшего осложнения эпидемической ситуации, связанной с наступлением паводка,

потребовал выбора оптимальных методов индикации и идентификации энтеровирусов (ЭВ), т.е. более широкого использования молекулярно-генетических технологий при расследовании случаев ЭВИ на пострадавших территориях ДФО. В последние годы возможности молекулярной эпидемиологии энтеровирусных инфекций значительно расширились. Так, анализ нуклеотидной последовательности части генома энтеровирусов (прямое секвенирование) позволяет идентифицировать возбудителя инфекции, выявлять типовое и субтипное разнообразие различных штаммов ЭВ, проводить мониторинг географического распространения вариантов ЭВ, а филогенетический анализ – определять степень генетического родства и возможной эпидемиологической связи штаммов ЭВ при эпидемических вспышках, обусловленных, в том числе, чрезвычайными ситуациями, или при сезонных подъемах заболеваемости энтеровирусной инфекцией, наблюдаемых ежегодно в отдельно взятом регионе.

Цель исследования

Изучить филогенетическое происхождение штаммов энтеровирусов, циркулирующих на подвергшихся подтоплению территориях ДФО и ответственных за существенный подъем заболеваемости ЭВИ в 2013 году.

Материалы и методы

При проведении исследований по молекулярно-генетическому изучению штаммов энтеровирусов использовались возможности Дальневосточного регионального центра эпидемиологического надзора за полиомиелитом и острыми вялыми параличами, расположенного на базе ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае» (методы типирования энтеровирусов на культуре тканей, ПЦР-диагностика ЭВ), Дальневосточного регионального научно-методического центра по изучению энтеровирусных инфекций Хабаровского НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора (ПЦР-диагностика, секвенирование, филогенетический анализ), и в случае с выявлением штаммов энтеровируса 71 типа – возможности Приволжского референс-центра по надзору за энтеровирусной инфекцией Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора (секвенирование и филогенетический анализ). Консультирование по вопросам оптимального выбора методик секвенирования и филогенетического анализа штаммов ЭВ осуществлялось специалистами Национального центра по лабораторной диагностике полиомиелита Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова РАМН.

Аналізу подвергнуты результаты исследований фекалий, отобранных у 206 человек с клиническими проявлениями энтеровирусной инфекции и взятые для секвенирования. В данном исследовании использован клинический материал, поступавший из республики Саха (Якутия), Хабаровского края, Амурской, Еврейской автономной, Магаданской и Сахалинской областей.

Выделение РНК неполомиелитных энтеровирусов (НПЭВ) осуществляли с помощью коммерческого набора «Рибо-Преп» «Амплисенс» (производства ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора). Реакция обратной транскрипции проводилась с использованием набора *Reverta-L «Амплисенс»* (производства ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора).

Аmplификацию и секвенирование участков VP1-кодирующего региона генома НПЭВ проводили с помощью нескольких наборов праймеров, рекомендуемых M.S. Oberste и соавторами [5]. Для типового определения штаммов проводилось секвенирование участка генома VP1 на автоматическом ДНК-анализаторе «Applied Biosystems 3500 Avant» (Amersham Biosciences).

Поиск прототипных штаммов в базе данных GenBank осуществлялся с помощью онлайн-программы BLAST. Компьютерный анализ последовательностей осуществлялся с помощью программы MEGA, версии 6 [7]. Генетические расстояния между последовательностями определяли на основании модели нуклеотидных замен Tamura-Nei [6]. Реконструкция филогенетических древ проводилась с помощью алгоритма neighbor-joining.

Нуклеотидные последовательности части генома VP1 были депонированы в базу данных GenBank для 16 штаммов вируса Коксаки А-9 под номерами KJ735396, KJ735397, KJ735398, KJ735399, KJ735400, KJ735401, KJ735402, KJ735403, KJ735404, KJ735405, KJ735406, KJ735407, KJ735408, KJ735409, KJ735410, KJ735411; а также для двух штаммов энтеровируса 71 типа – под номерами KF975670, KF975671.

Результаты и обсуждение

В отличие от других территорий ДФО, до 2012 года включительно для Хабаровского края ежегодные сезонные подъемы заболеваемости ЭВИ являлись закономерными [2]. В 2013 году существенный подъем заболеваемости этой инфекцией был отмечен не только в Хабаровском крае, но и в Амурской области. Оба этих субъекта, а также Еврейская автономная область (ЕАО) попали в зону крупномасштабного затопления. Во всех трех субъектах в 2013 г. произошла вторая волна подъема заболеваемости ЭВИ, совпавшая по времени с началом чрезвычайной ситуации. При этом в Хабаровском крае и Амурской области были зарегистрированы очаги групповой заболеваемости в организованных детских коллективах и пунктах временного проживания пострадавшего от наводнения насе-

ления [1, 3, 4]. По итогам 2013 года общая заболеваемость ЭВИ составила в Хабаровском крае 102,6, в Амурской области – 21,1, в ЕАО – 34,9 случаев на 100 тысяч населения.

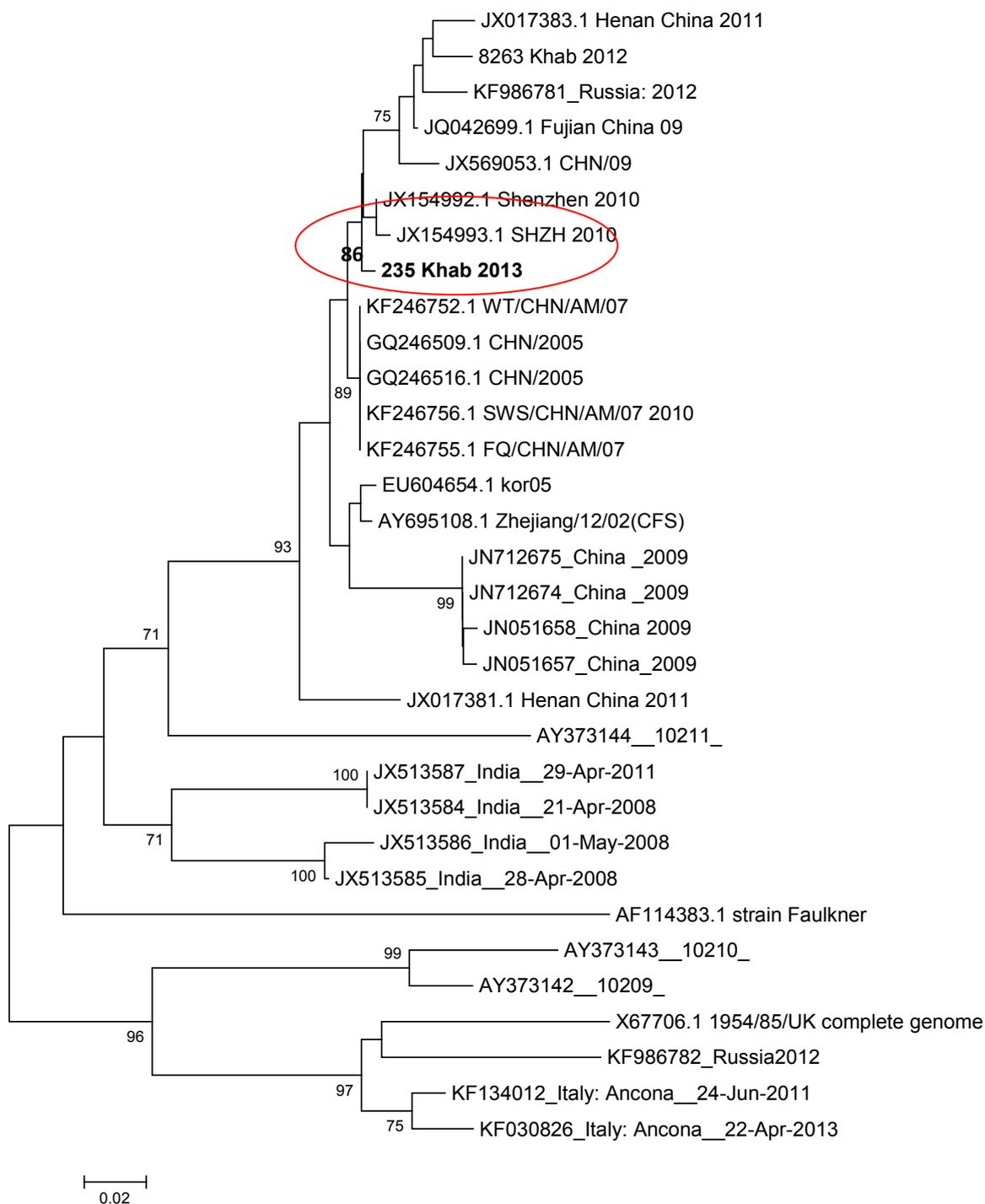


Рис.1. Дендрограмма, построенная на основе сравнения нуклеотидных последовательностей штаммов вирусов Коксаки В-5, выделенных в Хабаровском крае в 2013 году, и нуклеотидных последовательностей, размещенных в GenBank.

Примечание: цифры в узлах древа – процент псевдореплик, поддерживающих данную топологию. Внизу слева – шкала генетического расстояния.

Вирусологическими и молекулярно-генетическими методами было установлено, что подъем заболеваемости энтеровирусной инфекцией в 2013 году был вызван разными серотипами энтеровирусов. Так в Хабаровском крае идентифицировано 15 серотипов энтеровирусов (Коксаки А-4, 5, 6, 7,

10, 16, Коксаки В-1, 2, 5, ЕСНО-6, 9, 13, 14, 15, 30), в Амурской области – 4 серотипа (ЕСНО-6, Коксаки А-4, 6 и Коксаки В-5), в ЕАО – 15 генотипов, однако спектр их несколько отличался от хабаровских (Коксаки А-2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 16, 17, Коксаки В-2, ЕСНО-6, 13, 18, 29 и энтеровирус 71 типа). Молекулярно-эпидемиологический анализ проведен для наиболее часто встречаемых в ДФО в 2013 году энтеровирусов типов Коксаки В-5, Коксаки А-6, А-9, А-10, А-16 и ЕСНО-6, а также для энтеровируса 71 типа, как наиболее значимого в этиологии эпидемии ЭВИ в Китайской Народной Республике, непосредственно граничащей с субъектами ДФО РФ, попавшими в зону интенсивного подтопления.

Наибольший процент выделения вируса Коксаки В-5 из материала от больных ЭВИ пришелся на Хабаровский край, в пределах которого данный тип ЭВ циркулирует практически ежегодно. Молекулярно-генетическое исследование ЭВ Коксаки В-5 показало высокую (95,0-96,0%) степень его генетического сходства со штаммами, выделенными в Китае в 2009-2010 годах (рис. 1).

В филогенетический анализ были включены вирусы Коксаки А-9, выделенные в 2013 году в ЕАО, Магаданской, Сахалинской областях и республике Саха (Якутия). Штаммы Коксаки А-9 из ЕАО имели высокую степень сходства между собой и со штаммами, полученными из Сахалинской области, которая не подвергалась затоплению (рис. 2).

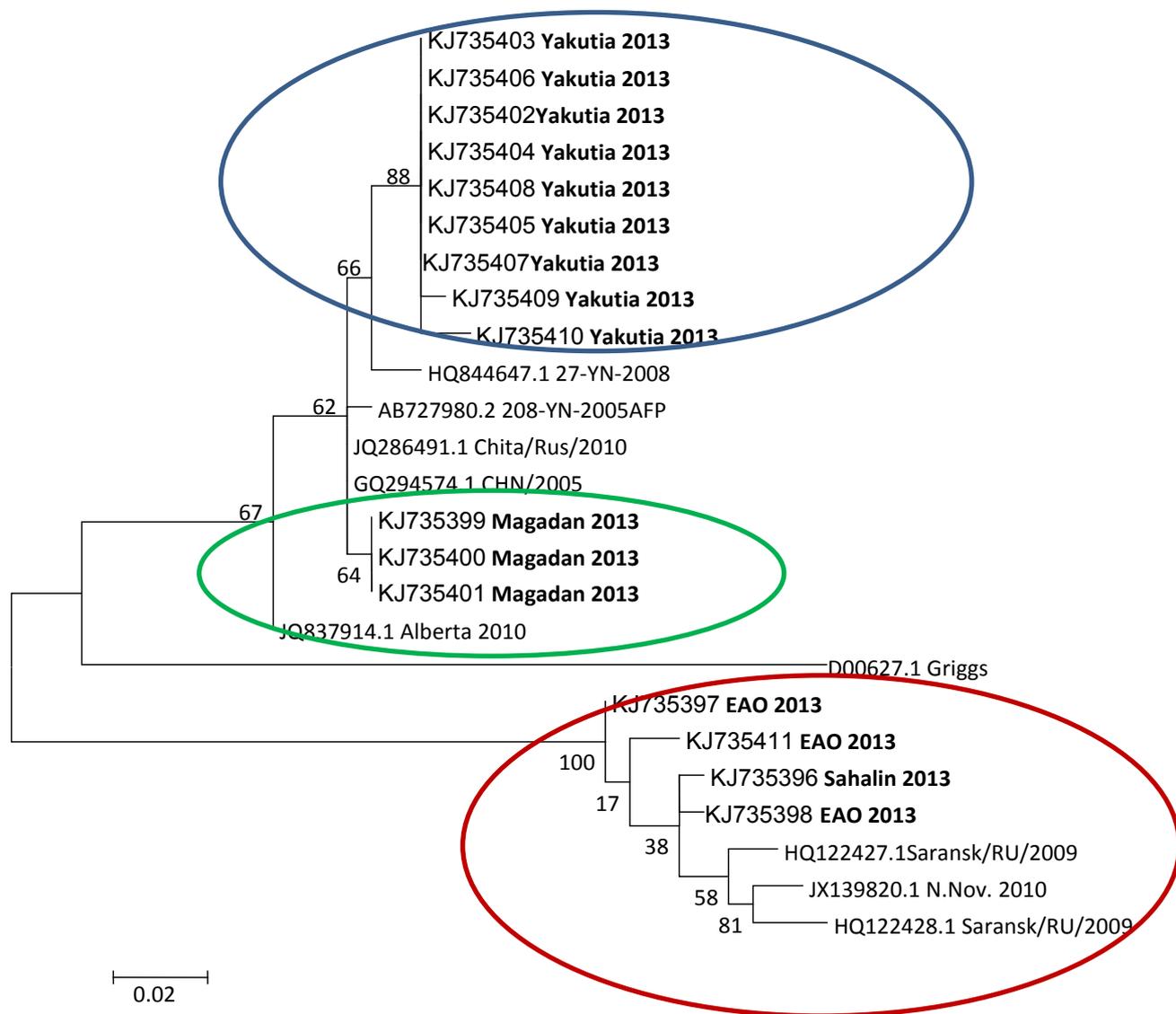


Рис. 2. Филогенетические взаимоотношения штамма Коксаки А-9, выделенного в Магаданской, Еврейской Автономной и Сахалинской областях, а также в республике Саха (Якутия). Цифры в узлах древа – процент псевдореплик, поддерживающих данную топологию. Внизу слева – шкала генетического расстояния.

Вместе они сформировали единую группу, сходную со штаммами, изолированными в евро-

пейской части Российской Федерации (в г. Нижнем Новгороде в 2009 г. и в г. Саранске республики Мордовия в 2011 г.).

Напротив, вирусы Коксаки А-9, выделенные в Магаданской области и республике Саха (Якутия), принадлежали к другой, более крупной эволюционной линии и сформировали единый кластер с вирусами, выделенными в последние 10-11 лет в странах Европы и Азии. При этом в пределах данного кластера дальневосточные изоляты образовали два различных субкластера (рис.2).

Первый субкластер составили магаданские штаммы вируса Коксаки А-9, возможными предшественниками которых были штаммы, выделенные в Китае в 2005 году и нами в Забайкалье в 2010 (проиндексированы в GenBank под №IQ837914.1).

Штаммы энтеровируса Коксаки А-9 из Якутии сформировали второй обособленный субкластер, возможными предшественниками которых оказались вирусы, выделенные в Китае в 2008 году.

Таким образом, по результатам филогенетического анализа можно сделать вывод о том, что на территории российского Дальнего Востока в 2013 году циркулировало три разных, эпидемиологически не связанных между собой варианта вирусов Коксаки А-9, два из которых также выявлялись в последнее время на территории других стран, т.е. имели возможное трансграничное происхождение.

Вероятность трансграничного переноса ЭВ подтверждают также молекулярно-эпидемиологические исследования и филогенетический анализ штаммов одного из широко циркулировавших в 2013 г. на подтопленных территориях энтеровирусов - вируса Коксаки А-6 (рис. 3).

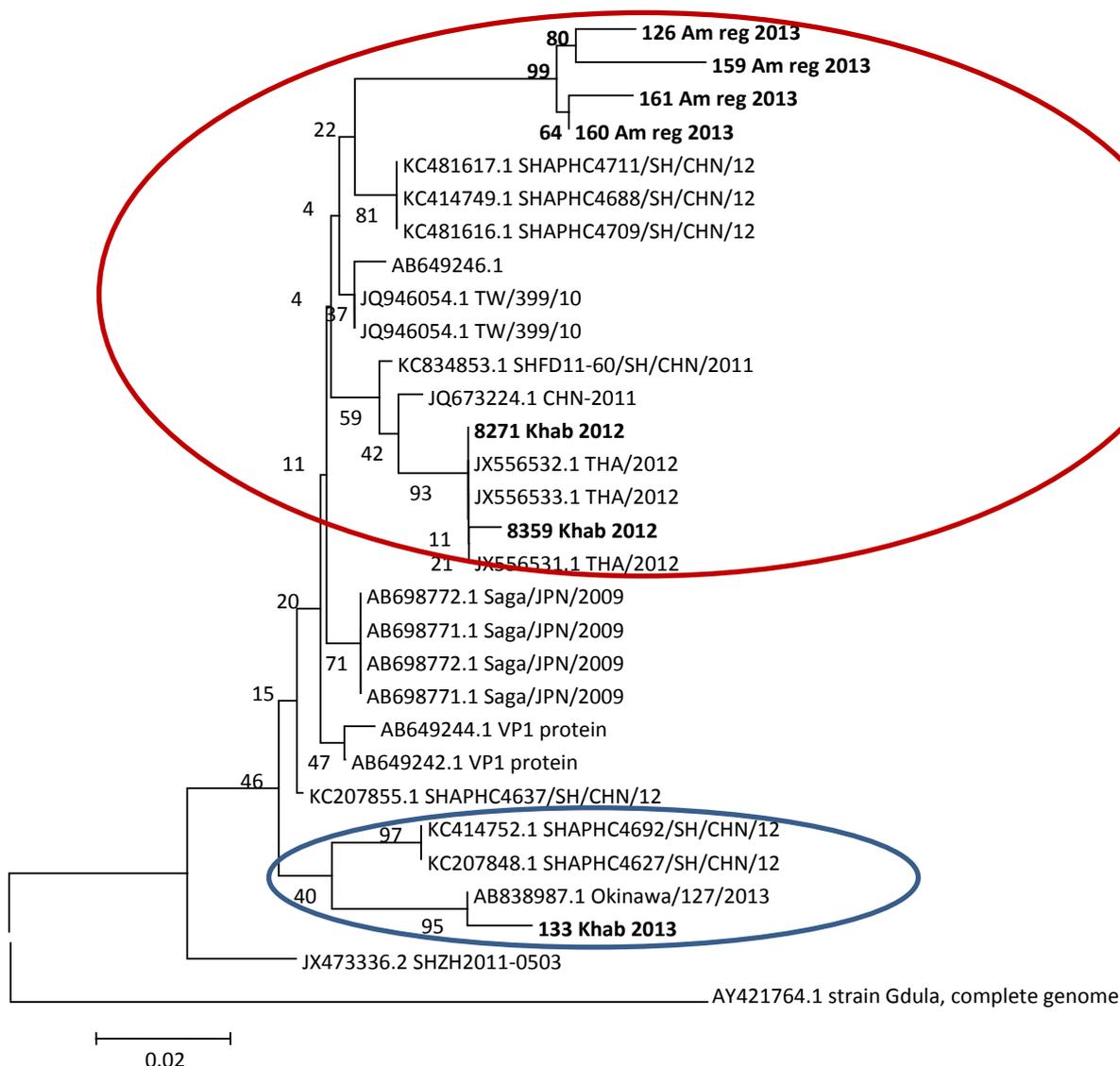


Рис. 3. Дендрограмма, построенная на основе сравнения нуклеотидных последовательностей штаммов вирусов Коксаки А-6, выделенных в Амурской области и Хабаровском крае в 2013 году, и нуклеотидных последовательностей, размещенных в GenBank.

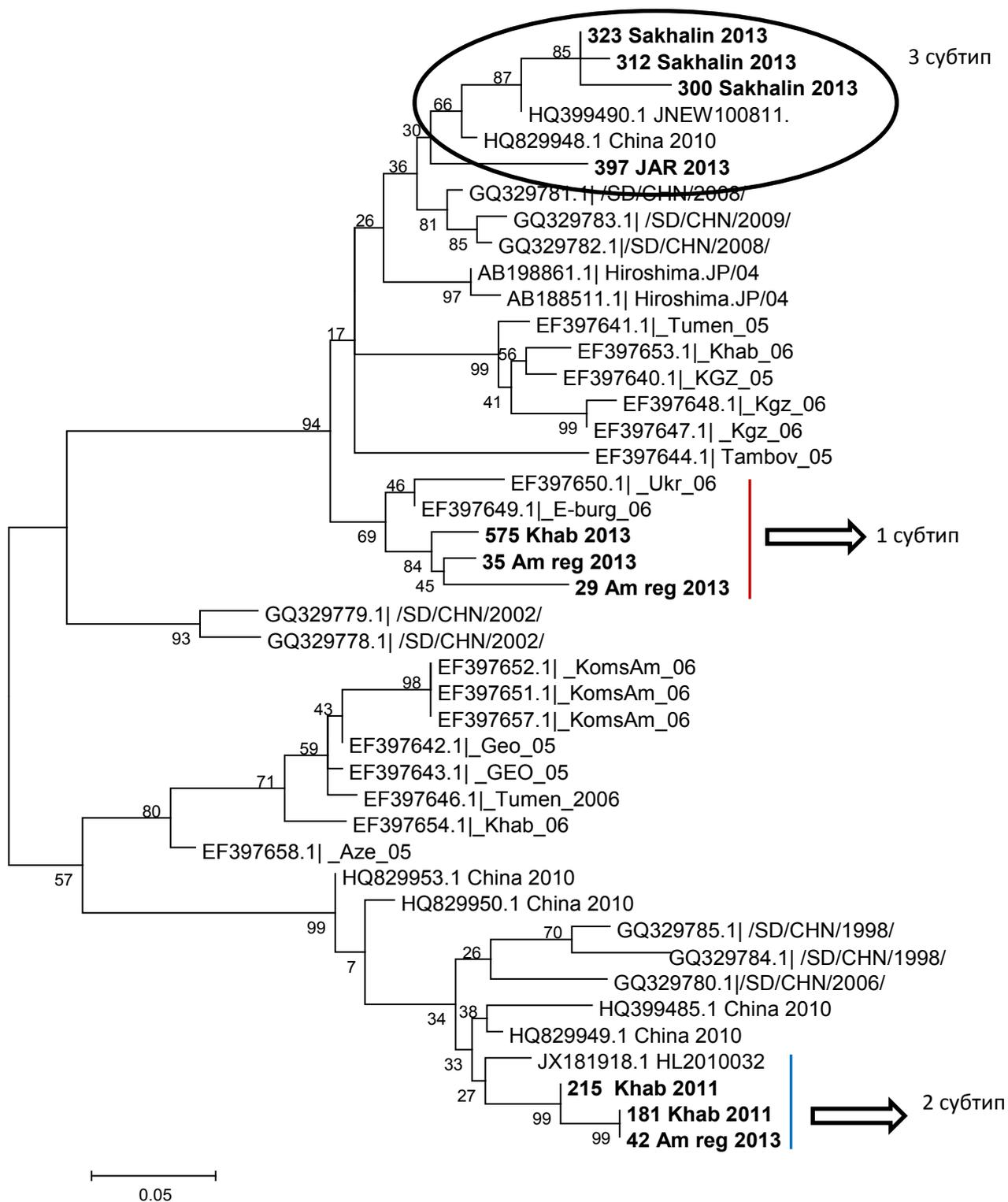


Рис. 4. Дендрограмма, построенная на основе сравнения нуклеотидных последовательностей штаммов вирусов ЕСНО-6, выделенных в Хабаровском крае, Амурской, Сахалинской и Еврейской автономной областях, и нуклеотидных последовательностей, размещенных в GenBank.

Вирусы Коксаки А-6, выделенные на территории Хабаровского края и Амурской области в

2013 году образовали два генетических варианта. К первому варианту относились вирусы, выделенные во время вспышки ЭВИ в городе Райчихинск Амурской области в 2013 г. Они сформировали единую группу, эволюционно близкими к ним оказались штаммы, изолированные в китайской провинции Шанхай и в Таиланде в 2012 году. На возможность завоза ЭВИ из Таиланда в город Райчихинск указали и эпидемиологические данные. Так, родители одного из заболевших в Райчихинске детей накануне его заболевания прибыли из Таиланда, где была зарегистрирована крупная вспышка ЭВИ, вызванная вирусом Коксаки А-6, имеющим высокую степень гомологии с райчихинскими штаммами [8]. Следовательно, генетическое родство сравниваемых штаммов в сочетании с данными эпидемиологического расследования позволили предположить участие прибывшего из Таиланда источника в инфицировании в очаге групповой заболеваемости энтеровирусной инфекцией.

Второй генетический вариант представлен вирусом Коксаки А-6, выделенным в Хабаровском крае от больного с герпетической ангиной, и вирусом, изолированным в Японии в июне 2013 г. от ребенка, больного экзантемной формой ЭВИ. Вероятными предшественниками хабаровского и японского штаммов Коксаки А-6 2013 г. были энтеровирусы, выделенные в КНР в 2011-2012 гг., что указывает на возможную эпидемиологическую связь заболеваемости ЭВИ, вызванной вирусом Коксаки А-6, в Хабаровском крае, Японии и КНР.

Также были исследованы вирусы ЕСНО-6, циркулировавшие в четырех регионах ДФО в 2013 году. Было выделено три генетических варианта ЕСНО-6, два из которых определены в материале, отобранном от больных во время вспышки ЭВИ в поселке Усть-Уркима Амурской области [3], что указывает на существование не менее двух разных источников заражения (рис. 4). На филограмме первый вариант ЕСНО-6 представлен штаммами, выделенными в пос. Усть-Уркима Амурской области и в Хабаровском крае в 2013 г., которые сформировали монофилетическую группу, наиболее сходную с изолятами из Екатеринбурга 2006 г.

Второй вариант ЕСНО-6 сформирован как штаммами из пос. Усть-Уркима 2013 г., так и хабаровскими вирусами, выделенными в 2011 году, возможными предшественниками которых были вирусы ЕСНО-6, циркулировавшие на территории Китая в 2010 году (рис. 4).

Следовательно, проникновение в Амурскую область вирусов ЕСНО-6, ответственных за вспышечную заболеваемость ЭВИ в пос. Усть-Уркима в 2013 г., вероятнее всего произошло как из КНР, так и с других территорий РФ. Выявление в исследуемых образцах фекалий различных субгенотипов ЕСНО-6 свидетельствует о формировании данной вспышечной заболеваемости за счет разных источников и об отсутствии эпидемиологической связи между ними.

К третьему варианту ЕСНО-6 относились вирусы, циркулировавшие в 2013 году на территориях ЕАО и Сахалинской области, которые оказались эволюционно близкими штаммам, выделенным в Китае в 2010-2011 годах.

В филогенетический анализ были также включены нуклеотидные последовательности (в области региона VP1) вирусов Коксаки А-16 и Коксаки А-10. При этом выявлены 92%-ная степень родства изолированных в Хабаровском крае в 2013 г. штаммов вируса Коксаки А-16 с китайскими штаммами 2009, 2010, 2012 гг., а для Коксаки А-10 – 91%-ное сходство с российскими штаммами (Йошкар-Ола, 2010 г.), испанскими (2008 г.) и французскими (2011 г.) штаммами.

Особое внимание было уделено штаммам энтеровируса 71 типа, выделенным в ЕАО в пробах 3-х детей с малыми формами ЭВИ в период наводнения в августе 2013 г., поскольку этот серотип характеризуется высокой нейровирулентностью. Филогенетический анализ данных штаммов, проведенный совместно с Нижегородским референс-центром по изучению энтеровирусов, показал, что биробиджанские энтеровирусы 71 типа относились к подтипу С4а, имели 100%-ную гомологию между собой и 97%-ную гомологию с китайскими штаммами 2010-2011 гг., что подтверждает возможность распространения энтеровируса 71 типа из КНР в дальневосточные регионы России.

Таким образом, секвенирование и последующий филогенетический анализ, основанный на сравнении вирусных геномов, позволяют установить не только гено- или субгенотип, но и генетическое сходство или различие между вариантами энтеровирусов. Изучение молекулярно-генетических характеристик штаммов ЭВ, циркулирующих во время вспышечной заболеваемости, в том числе в период наводнения, даёт ценную дополнительную информацию для доказательства или опровержения эпидемиологической связи случаев ЭВИ на основе определения их эволюционных взаимоотношений.

Исследования, проведенные в 2013 г. в ряде регионов ДФО РФ, достоверно значимых причин роста заболеваемости ЭВИ, обусловленного наводнением, не выявили, что является прогностически благоприятным признаком. Распространение заболеваемости произошло как за счет циркуляции энтеровирусов российского происхождения, так и «завозных» штаммов, при этом «завозной» характер вспышечной заболеваемости был обусловлен преимущественно тесными миграционными связями со странами Азиатско-Тихоокеанского региона.

Однако, ввиду перенесенного стресса и возникшей в связи с этим высокой восприимчивости населения к инфекциям, в 2014 году не исключено возникновение вспышечной заболеваемости ЭВИ

и за счёт стабильно циркулирующих в регионах штаммов энтеровирусов среди пострадавших от наводнения лиц.

Литература

1. Сапега Е.Ю., Янович В.А., Троценко О.Е., Онищенко Г.Г., Корита Т.В., Никулина О.Н., Копылов П.В., Мироненко Е.С., Бутакова Л.В., Балахонов С.В., Носков А.К., Севостьянова А.Н., Новикова Н.А., Голицына Л.Н. Эпидемиологические особенности энтеровирусной инфекции в условиях паводка на территории Еврейской автономной области // Проблемы особо опасных инфекций. – 2014. – Выпуск 1. – С. 71-74.
2. Троценко О.Е., Т.Н.Каравянская, Отт В.А., Онищенко Г.Г., Резник В.И., Сапега Е.Ю., Корита Т.В., Гарбуз Ю.А., Зайцева Т.А., Присяжнюк Е.Н., Лукашев А.Н., Чистяк В.М., Голубева Е.М., Котова В.О., Лебедева Л.А., Балахонцева Л.А., Бутакова Л.В. Многолетний анализ проявлений эпидемического процесса энтеровирусной инфекции в Хабаровском крае и основные факторы, определяющие ухудшение эпидемиологической ситуации в условиях наводнения // Проблемы особо опасных инфекций. – 2014. – Выпуск 1. – С.75-78.
3. Троценко О.Е., Онищенко Г.Г., Курганова О.П., Сапега Е.Ю., Перепелица А.А., Корита Т.В., Котова В.О., Бутакова Л.В., Балахонов С.В., Косилко С.А. Ретроспективный анализ заболеваемости энтеровирусной инфекцией в Амурской области и особенности эпидемического процесса в период крупномасштабного наводнения // Проблемы особо опасных инфекций. – 2014. – Выпуск 1. – С. 79-82.
4. Троценко О.Е., Отт В.А., Онищенко Г.Г., Каравянская Т.Н., Гарбуз Ю.А., Сапега Е.Ю., Зайцева Т.А., Присяжнюк Е.Н., Резник В.И., Корита Т.В., Лебедева Л.А., Голубева Е.М., Котова В.О., Бутакова Л.В., Балахонцева Л.А., Атаманчук И.Л., Балахонов С.В., Носков А.К., Севостьянова А.В. Эпидемиологическая характеристика энтеровирусной инфекции в Хабаровском крае в условиях чрезвычайной гидрологической ситуации // Проблемы особо опасных инфекций. – 2014. – Выпуск 1. – С. 83-86.
5. Oberste M. S. Maher K, Kilpatrick DR, Pallansch MA. Molecular evolution of the human enteroviruses: correlation of serotype with VP1 sequence and application to Picornavirus classification // J. Virol. - 1999. - Vol. 73. - № 3. - P. 1941–1948.
6. Tamura K. Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees // Mol. Biol. Evol. - 1993. - Vol. 10. - P. 512–526.
7. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. // Molecular Biology and Evolution. - 2013. – Vol. 30. – P. 2725-2729.
8. Пуера J., Chieochansin T., Linsuwanon P. et al. Hand, foot and mouth disease caused by coxsackievirus A6, Thailand, 2012 // J. Emerging Infect. Disease. – 2013. – Vol. 19 (7). – P. 641-643.

Ответственный автор

*Сапега Елена Юрьевна – к.м.н., руководитель Дальневосточного регионального научно-методического центра по изучению энтеровирусных инфекций.
Тел.: (4212) 46-18-52; E-mail: evi.khv@mail.ru.*

УДК: 616.982.27:54-41]-07-001.8

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРОВ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ МЕЛИОИДОЗА ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ВНУТРЕННЕГО КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В РЕФЕРЕНС-ЦЕНТРЕ ПО МОНИТОРИНГУ ЗА ВОЗБУДИТЕЛЯМИ САПА И МЕЛИОИДОЗА

Е.В. Прохвятилова¹, В.А. Антонов^{1,2}, Д.В. Викторов^{1,2}, В.И. Илюхин¹, Н.П. Храпова^{1,2}, Г.А. Ткаченко^{1,2}, И.Б. Захарова^{1,2}, Н.Г. Плеханова¹, И.В. Новицкая^{1,2}, М.Я. Кулаков¹, Т.В. Замарина^{1,2}, И.И. Корсакова^{1,2}, С.С. Савченко^{1,2}, О.С. Бондарева¹, А.А. Батурин^{1,2}, Л.В. Лемасова¹, Н.Н. Тетерятникова¹, Л.И. Белицкая¹

¹ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград;

²ГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград

Для подтверждения надлежащего качества лабораторных исследований в Референс-центре по мониторингу за возбудителями сапа и мелиоидоза организован и осуществлен внутренний контроль качества применения различных наборов реагентов для диагностики *in vitro* возбудителя мелиоидоза и других близкородственных видов буркхольдерий. При проведении этапов специфической индикации возбудителя мелиоидоза оценены диагностические возможности коммерческих и экспериментальных наборов реагентов для методов экспресс- и ускоренного анализа (МФА, ПЦР, ТИФМ, РНГА). Результаты испытаний проб с помощью ПЦР-анализа подтвердили эффективность применения различных наборов реагентов и позволили в течение 5-6 ч осуществить индикацию, идентификацию и дифференциацию трех видов близкородственных микроорганизмов.

Ключевые слова: мелиоидоз, буркхольдерии, полимеразная цепная реакция, иммунологические методы, бактериологическое исследование.

EVALUATION OF THE DIAGNOSTIC VALUE OF THE REAGENT KIT FOR DETECTION OF MELIOIDOSIS CAUSATIVE AGENT AT CONDUCTING OF INTERNAL QUALITY CONTROL OF THE LABORATORY RESEARCH IN THE REFERENCE CENTER FOR MONITORING OF GLANDERS AND MELIOIDOSIS AGENTS

E.V. Prokhvatilova¹, V.A. Antonov^{1,2}, D.V. Viktorov^{1,2}, V.I. Ilyukhin¹, N.P. Khrapova^{1,2}, G.A. Tkachenko^{1,2}, I.B. Zakharova^{1,2}, N.G. Plehanova¹, I.V. Novitskaya^{1,2}, M.Ya. Kulakov¹, T.V. Zamarina^{1,2}, I.I. Korsakova^{1,2}, S.S. Savchenko^{1,2}, O.S. Bondareva¹, A.A. Baturin^{1,2}, L.V. Lemasova¹, N.N. Teteryatnikova¹, L.I. Belitskaya¹

¹Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd; ²Volgograd State Medical University, Volgograd

Internal quality control of application of different reagent sets for *in vitro* diagnostics of the melioidosis agent and other closely related species of *Burkholderia* was organized and implemented to confirm the proper laboratory quality in the Reference centers for monitoring of glanders and melioidosis agents. The diagnostic capabilities of commercial and experimental kits for rapid and express-analysis (FIA, PCR, TIFM, RIHA) were evaluated during specific stages of the melioidosis agent indication. The test results of samples using PCR analysis confirmed the efficacy of the various reagent kits and permitted to conduct the indication, identification and differentiation of three species of closely related organisms for 5-6 hours.

Key words: melioidosis, *Burkholderia*, polymerase chain reaction, immunological methods, bacteriological examination.

Цель работы – конструирование, испытание и сравнительная оценка диагностических коммерческих (зарегистрированных в Росздравнадзоре) и экспериментальных наборов реагентов для обнаружения возбудителей мелиоидоза и других близкородственных видов буркхольдерий, разработанных сотрудниками ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (всего 16 медицинских изделий). Испытания наборов реагентов проводили с помощью МФА, ПЦР, ТИФМ, РНГА на базе лабораторий Референс-центра по мониторингу за возбудителями сапа и мелиоидоза: лабораторий диагностики и химиотерапии, иммунодиагностики и биотехнологии, генной диагностики и типирования микроорганизмов, функциональной геномики.

Материалы и методы

В соответствии с ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025-2006 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий», ГОСТ Р ИСО 9001 «Система качества. Термины и определения» система управления качеством испытаний должна, как обязательный элемент, предусматривать организацию и осуществление внутреннего контроля качества лабораторных исследований (испытаний), основной задачей которого является обеспечение надлежащего качества исследований, точности и сопоставимости результатов исследований, безопасности работы с патогенными биологическими агентами (ПБА). Испытания медицинских изделий проводили согласно Схеме индикации патогенных биологических агентов (СИ ПБА) [6], и в соответствии с требованиями СП 1.3.1285-03 [5].

По результатам экспресс-анализа нативного материала (ПЦР, МФА, ТИФМ, РНГА) выдавался предварительный ответ, после анализа выделенных культур бактериологическим методом и повторного исследования с помощью всех вышеперечисленных экспресс-методов – окончательный ответ с указанием вида буркхольдерий [6].

Для исследований использовали штаммы *Burkholderia pseudomallei*, *B. thailandensis*, *B. seracía*, полученные из коллекционного центра ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Подготовка контрольных образцов, стандартизация проб по концентрации (1×10^6 м.к./мл в 0.9 % хлориде натрия) проводилась с обязательным контролем КОЕ/мл. Серии проб из взвесей бактериальных клеток (по 5 типичных штаммов каждого вида буркхольдерий) шифровали и передавали в лаборатории Референс-центра для исследования с помощью различных методов [5].

Постановка методик бактериологического исследования воспроизведена в традиционном виде для всех глюкозоферментирующих грамотрицательных бактерий в соответствии с МУ 4.2.2787-10. После идентификации выделенных культур и повторного исследования проб с помощью перечисленных выше методов выдан окончательный ответ с указанием вида буркхольдерий.

Для МФА использовали коммерческий набор «Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие мелиоидозные моноклональные», серия 52/13 и экспериментальные серии флуоресцирующих иммуноглобулинов, полученных на основе разноэпитопных моноклональных антител (МКА) 1F₄ и 3C₆, 5C₂, 5C₉, 6B₇, 7A₈, 4A₁₀ (по 1 серии каждого типа), приготовленных на основе МКА к антигену 200 kDa (7 серий).

РНГА ставили с коммерческим набором реагентов «Диагностикум эритроцитарный сапной и мелиоидозный иммуноглобулиновый сухой», серия 90/13. Для подтверждения специфичности РНГА ставили реакцию ее торможения – РТНГА. Результаты учитывали через 2-3 ч и окончательно на следующие сутки.

Для постановки ТИФМ использовали экспериментальный набор реагентов «Тест-система иммуноферментная моноклональная для выявления антигена 200 kD возбудителя мелиоидоза». Целевое назначение тест-системы – выявление гликопротеина капсулы возбудителя мелиоидоза, одного из факторов вирулентности *B. pseudomallei*.

Для проведения исследований с помощью ПЦР использовали 2 коммерческих набора реагентов:

1. Набор реагентов для выявления ДНК возбудителей сапа (*Burkholderia mallei*) и мелиоидоза (*Burkholderia pseudomallei*) методом полимеразной цепной реакции «Burk23S - Eph», серия 1-13.
2. Набор реагентов для выявления ДНК возбудителей сапа (*Burkholderia mallei*) и мелиоидоза (*Burkholderia pseudomallei*) методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «Амплиген Burk».

Кроме того, четыре экспериментальных набора реагентов:

1. Набор праймеров Bps1s/ Bps 2as для обнаружения ДНК возбудителя мелиоидоза методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией.
2. Набор праймеров BCR1-BCR2 для обнаружения ДНК бактерий комплекса *B. seracía* методом ПЦР.
3. Набор праймеров Burt1s-Burt2as для обнаружения ДНК *B. thailandensis*.
4. Набор реагентов для детекции и типирования генов устойчивости к антибиоти-

кам β-лактамно́го ряда у патогенных бактерий рода *Burkholderia* с помощью мультиплексного ПЦР-анализа.

Пробоподготовка для проведения ПЦР проводилась в соответствии с СП 1.3.1285-03 и МУ 1.3.2569-09 [3,5]. Постановку реакций осуществляли с использованием амплификаторов «Терцик» (ЗАО «НПФ ДНК-технология», Россия), Rotor-Gene 6000 («Corbett Research», Австралия), С1000 (Bio-Rad, США). В случае элетрофоретической детекции продукты ПЦР анализировали с помощью электрофореза в 1.5 % агарозном геле и визуализировали окрашиванием бромистым этидием [2]. При гибридационно-флуоресцентной детекции результатов накопление специфического продукта амплификации участка ДНК *Burkholderia mallei* и *Burkholderia pseudomallei* детектировалось по каналу FAM/Green, накопление продукта амплификации ДНК внутреннего контрольного образца (ВКО) - по каналу Cy5/Red.

Результаты и обсуждение

СИ ПБА предполагает проведение индикации и идентификации микроорганизмов в неизвестных бактериальных взвесьях с помощью обязательных (табельных) методов лабораторной диагностики, в соответствии с перечнем наиболее вероятных ПБА [6]. Поскольку длительность проведения анализа регламентирована возможно короткими сроками (48 ч), основными критериями для оценки диагностической ценности наборов реагентов являлись чувствительность, специфичность, а также время проведения исследований и выдачи результатов.

На этапе проведения специфической индикации с вышеперечисленными наборами установлено, что в МФА сигнальный ответ о наличии в сериях проб возбудителей мелиоидоза или близкородственных буркхольдерий выдается через 6 ч, при этом не осуществляется дифференциация до вида *B. pseudomallei* и *B. thailandensis* из-за наличия родственных антигенных детерминант в структуре бактерий. В пробах с *B. cepacia* зарегистрирован отрицательный результат, что свидетельствует о специфичности испытуемых флуоресцирующих моноклональных мелиоидозных иммуноглобулинов. Кроме того, в работе использовано 7 типов моноклональных флуоресцирующих мелиоидозных иммуноглобулинов к различным антигенным детерминантам *B. pseudomallei* МКА1F₄ и 3С₆, 5С₂, 5С₉, 6В₇, 7А₈, 4А₁₀. Однако преимуществ в МФА, в сравнении с коммерческим препаратом по параметрам специфической активности и специфичности, у какого-либо из них выявлено не было, дифференциацию возбудителя до вида с помощью МФА провести не представлялось возможным.

В течение 4-6 ч от начала проведения исследований результаты ТИФМ с использованием экспериментального набора реагентов «Тест-система иммуноферментная моноклональная для выявления водорастворимых антигенов возбудителя мелиоидоза», приготовленной на основе моноклональных антител к гликопротеину капсулы возбудителя мелиоидоза (200 kDa), были зарегистрированы как отрицательные со всеми нативными пробами с *B. pseudomallei*, *B. thailandensis*, *B. cepacia*.

Через 72 ч на этапе идентификации при работе со взвесьями чистых культур (концентрацией 1×10^7 - 10^9 м.к./мл), изолированных из серии проб, содержащих *B. pseudomallei* и *B. thailandensis*, апробированы два варианта экспериментальной тест-системы, описанные выше. С одним из них была достигнута чувствительность 1×10^7 м.к./мл в детекции штаммов *B. pseudomallei* при отрицательном результате реакции с клетками *B. thailandensis*, с другим вариантом – наоборот, выявлялись штаммы *B. thailandensis* в концентрации 5×10^6 м.к./мл. В целом, результаты исследований свидетельствовали о недостаточной чувствительности экспериментального набора для ТИФМ. На сегодняшний день данные тест-системы могут быть рекомендованы в качестве средства обнаружения растворимых антигенов возбудителя мелиоидоза на этапах идентификации и дифференциации выделенных культур буркхольдерий II и III-IV групп патогенности.

При использовании вариантов ПЦР-анализа на этапе индикации через 5 ч был выдан положительный результат о наличии возбудителей в соответствующих пробах, и определен в каждой из них вид микроорганизма: *B. pseudomallei*, *B. thailandensis*, *B. cepacia*.

Праймеры Burt1s-Burt2as, помимо ДНК *B. thailandensis*, с высокой чувствительностью обнаруживали ДНК возбудителя мелиоидоза, поэтому установление вида микроорганизма в пробах, содержащих *B. pseudomallei*, было проведено методом вычитания результатов амплификации, полученных в реакции с другими праймерами.

Следует отметить, что использование наборов реагентов с гибридационно-флуоресцентной детекцией позволило получить результат на 1-1,5 часа быстрее, так как при таком способе детекции исключается этап электрофореза. Флуоресцентные технологии более безопасные и позволяют снизить риск контаминации продуктами ПЦР.

Большой диагностический интерес представляли результаты с экспериментальным «Набором реагентов для детекции и типирования генов устойчивости к антибиотикам β-лактамно́го ряда у патогенных бактерий рода *Burkholderia* с помощью мультиплексного ПЦР-анализа». Результаты испытаний свидетельствовали о диагностической эффективности, чувствительности и специфичности тест-системы. Следует отметить, что данный набор реагентов отличался экономичностью расходования реагентов, экспрессностью и информативностью в получении результатов и позволил при одно-

моментной постановке ПЦР осуществить идентификацию и дифференциацию всех 3 видов близкородственных микроорганизмов уже на первом этапе через 6 ч. Проведенная ранее апробация мультиточечной тест-системы на широком наборе штаммов *B. pseudomallei*, *B. mallei*, *B. thailandensis* и штаммов различных геноваров *seracia*-комплекса продемонстрировала возможность дифференциации между различными видами рода *Burkholderia* по набору генов β -лактамаз молекулярных классов В и D, а также отсутствие детекции ДНК видов отдаленной гетерологии (псевдомонады, вибрионы, различные виды энтеробактерий, грам-положительные кокки и бациллы) [1].

Таким образом, при проведении СИ ПБА, положительные результаты МФА и ПЦР дали основание зарегистрировать наличие в пробах возбудителя мелиоидоза. С помощью различных вариантов ПЦР через 5-6 ч после поступления проб на исследование была проведена идентификация до вида *B. pseudomallei*, *B. thailandensis*, *B. seracia* в соответствующих образцах и выдан предварительный ответ.

Постановка методик бактериологического исследования позволила идентифицировать *B. seracia*, *B. thailandensis*, *B. pseudomallei* в соответствующих пробах через 72 ч [4]. После идентификации выделенных культур и повторного исследования материала с помощью перечисленных выше методов был выдан окончательный ответ с указанием вида буркхольдерий.

Заключение

При проведении СИ ПБА основными регламентированными методами являются МФА, РНГА, ТИФМ и ПЦР [6]. В свою очередь, диагностические препараты к ним должны обеспечивать установление видовой принадлежности возбудителя в кратчайшие сроки, что особенно важно в условиях чрезвычайных ситуаций.

Проведенные Референс-центром по мониторингу за возбудителями сапа и мелиоидоза контрольные испытания имеющихся наборов реагентов показали, что в первые часы от момента поступления проб выявление *B. pseudomallei* и филогенетически близких видов буркхольдерий с помощью иммунологических методов РНГА, МФА, ТИФМ было недостаточно эффективно, поскольку МФА-анализ не позволил идентифицировать буркхольдерии II и III-IV групп патогенности, а РНГА и ТИФМ с испытываемыми наборами реагентов – обнаружить буркхольдерии в пробах с низкой концентрацией бактерий. Основным недостатком бактериологического метода являлась длительность проведения анализа, для выполнения которого в полном объеме требовалось 3-4 сут.

Большое значение при диагностике мелиоидоза могут представлять молекулярно-генетические методы, главным образом, различные варианты ПЦР. Диагностические возможности наборов реагентов для различных вариантов ПЦР значительно превышали соответствующие показатели чувствительности и специфичности для иммунологических методов, а диагностическая ценность (за счет отсутствия ложноположительных результатов) была выше по основным показателям. После завершения этапов сравнительных испытаний и государственной регистрации данные тест-системы могут быть рекомендованы в качестве средств экспресс-обнаружения возбудителя мелиоидоза и дифференциации буркхольдерий II и III-IV групп патогенности.

Вышеизложенное, на наш взгляд, объективно обосновывает необходимость более широкого использования ПЦР в рамках деятельности Референс-центра по мониторингу за возбудителями сапа и мелиоидоза и лабораторий различного уровня на этапах индикации проб, подозрительных на зараженность патогенными бактериями рода *Burkholderia*. Дальнейшие контрольные сравнительные испытания наборов реагентов для различных вариантов ПЦР на широком наборе штаммов гомологичных и гетерологичных видов микроорганизмов позволят принять окончательное решение об их преимуществах и алгоритмах их применения в схемах лабораторной диагностики патогенных буркхольдерий.

Литература

1. Романова А.В., Захарова И.Б., Замараев В.С., Викторов Д.В. Конструирование праймеров для детекции и типирования генов β -лактамаз патогенных видов рода *Burkholderia* // Пробл. особо опасных инф. – 2012. – 2(112). – С. 59-61.
2. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование // М.: Мир. – 1984. – 480 с.
3. МУ 1.3.2569 -09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I – IV групп патогенности».
4. МУ 4.2.2787-10 «Лабораторная диагностика мелиоидоза».
5. СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I - II групп патогенности (опасности)».
6. Специфическая индикация патогенных биологических агентов: Практическое руководство. Под редакцией академика РАМН Г.Г.Онищенко. – М., 2006. – 288 с.

Ответственный автор

Прохватилова Елена Валерьевна – зам. директора по научно-производственной работе ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора канд. мед. наук, доцент. Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 579.841.11Pseudomonas:57.083

АНАЛИЗ ПРАЙМЕРОВ И ЗОНДОВ, ПОЗВОЛЯЮЩИХ ДИФФЕРЕНЦИАЦИРОВАТЬ *BURKHOLDERIA MALLEI* И *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* МЕТОДОМ ПЦР

Л.В. Лемасова, С.С. Савченко, Г.А. Ткаченко, В.А. Антонов

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Волгоград

*Проведено сравнение праймеров и зондов, комплементарных к разным ДНК-мишеням, позволяющих дифференцировать возбудителей сапа и мелиоидоза между собой с помощью ПЦР в реальном времени. В работе представлены результаты исследований с оригинальными олигонуклеотидами на основе фрагмента гена *fliP* для идентификации *B. mallei*, а так же олигонуклеотидными затравками, комплементарными участку гена, кодирующего белок *gp68* для идентификации *B. pseudomallei*.*

Ключевые слова: *B. pseudomallei, B. mallei, полимеразная цепная реакция.*

EVALUATION OF PCR PRIMERS AND PROBES FOR *BURKHOLDERIA MALLEI* AND *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* DIFFERENTIATION

L.V. Lemasova, S.S. Savchenko, G.A. Tkachenko, V.A. Antonov

Volgograd Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor, Volgograd

*We compared several primer and probe sets developed for real-time PCR method enabling specific differentiation of glanders and melioidosis causative agents. The oligonucleotides constructed in this study were based on the sequence of the *fliP* gene and *gp68*-protein coding sequence for identification of *B. mallei* and *B. pseudomallei*, respectively.*

Key words: *B. pseudomallei, B. mallei, polymerase chain reaction.*

Burkholderia mallei и *Burkholderia pseudomallei* относятся к возбудителям особо опасных инфекционных заболеваний II группы патогенности – сапа и мелиоидоза, являющихся потенциальными агентами биотерроризма группы В. Высокий уровень сходства геномов этих бактерий определяет трудности при конструировании амплификационных тест-систем, с помощью которых возможно дифференцировать возбудителей сапа и мелиоидоза друг от друга. Многими авторами проводятся исследования по поиску видоспецифичных ДНК-мишеней. В качестве целевой ДНК для создания такой тест-системы может стать участок генома, присутствующий у *B. pseudomallei*, но отсутствующий *B. mallei*.

В настоящее время в Российской Федерации не зарегистрированы ПЦР тест-системы для дифференциации патогенных буркхольдерий. Важная роль в обеспечении этих исследований отводится созданному на базе ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский институт Роспотребнадзора Референс-центру по мониторингу за возбудителями сапа и мелиоидоза, в задачи которого входит изучение биологических, молекулярно-генетических и биохимических свойств *B. mallei* и *B. pseudomallei*, в том числе разработка идентификационных тестов для дифференциации штаммов патогенных буркхольдерий.

Цель работы – сравнительный анализ различных праймеров, сконструированных на основе видоспецифических последовательностей генома *B. mallei* и *B. pseudomallei* для диагностики методом полимеразной цепной реакции.

Материалы и методы

В ходе исследований было протестировано 10 штаммов возбудителя сапа, 20 штаммов возбудителя мелиоидоза и по пять штаммов гетерологичных микроорганизмов *B. cepacia* и *B. thailandensis*, полученные из коллекционного центра ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Штаммы буркхольдерий выращивали на плотных питательных средах в течение 1-2 суток при 37 °С. Готовили бактериальные взвеси клеток в 4 мл 0,15 М раствора натрия хлорида в концентрации 1×10^9 м.к./мл по отраслевому стандартному образцу мутности ГИСК им. Л.А. Тарасевича (ОСО 42- 28-85 П) и разводили таким образом, чтобы концентрация возбудителей сапа, мелиоидоза и гетерологичных микроорганизмов составляла от 1×10^9 до 1×10^4 м.к./мл.

В работе проведен анализ специфичности праймеров и зондов, предложенных в 2013 г. J. Janse et al. [3]. Одна из ДНК-мишеней на основе нуклеотидной последовательности транспозазы ISBma2 для обнаружения двух видов патогенных буркхольдерий одновременно и две другие мишени, позволяющие дифференцировать возбудителей сапа и мелиоидоза между собой. Праймеры и зонд на основе гена *psu* для идентификации *B. pseudomallei*, кодирующего ацетилтрансферазу, которая является частью кластера генов, ассоциированных с системой секреции III типа генов, а также гена *tau* для идентификации *B. mallei*, кодирующего белок семейства фаговых интеграз.

В ходе исследований нами подобраны оригинальные праймеры и зонд на основе фрагмента гена *fliP* *B. mallei*, кодирующего белок биосинтеза флагеллина, а так же комплементарные участку гена, кодирующего белок *gr68* *B. pseudomallei*, которые позволяют дифференцировать возбудителей сапа и мелиоидоза между собой.

Олигонуклеотидные праймеры синтезированы в ЗАО «Синтол», г. Москва. ПЦР с изучаемыми олигонуклеотидными затравками проводили на приборе Rotor-Gene 6000 («Corbett Research», Австралия). Результат амплификации каждого штамма *B. pseudomallei*, *B. mallei* считался положительным, в случае если кривая накопления флуоресценции по каналу детекции пересекала пороговую линию на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции, на цикле, не превышающем граничное значение порогового цикла реакции (Ct) в соответствующей графе в таблице результатов.

Пробоподготовка для проведения ПЦР проводилась в соответствии с СП 1.3.1285-03 и МУ 1.3.2569-09 [1]. Обеззараживание исследуемых проб проводили добавлением раствора мертиолята натрия до конечной концентрации 0,01 % и прогреванием в течение 30 мин при температуре 56 °С. Выделение ДНК из чистых культур буркхольдерий, близкородственных и гетерологичных микроорганизмов проводили путем нуклеосорбции и лизиса клеток гуанидинтиоцианатом с помощью набора «ДНК-сорб В» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора).

Результаты и обсуждение

При сравнительном исследовании специфичности олигонуклеотидов, предложенных Janse I. et al. показано, что праймеры и зонд, комплементарные гену *psu*, позволяли обнаруживать ДНК *B. pseudomallei* только у 17 из 20 штаммов. Олигонуклеотидные затравки, комплементарные гену *tau* возбудителя сапа, позволяли обнаруживать ДНК *B. mallei* у 10 штаммов, однако также выявлены положительные результаты ПЦР с ДНК двух штаммов возбудителя мелиоидоза. Следовательно, при их использовании есть вероятность получения ложноположительных результатов ПЦР. Праймеры, сконструированные для одновременного выявления возбудителей сапа и мелиоидоза, детектировали ДНК *B. pseudomallei* только у 16 штаммов из 20 и ДНК *B. mallei* у всех 10 штаммов. Вышеуказанные пары праймеров и зонды не выявляли ДНК гетерологичных видов микроорганизмов даже в концентрации 10^7 м.к./мл.

Результаты исследований с разработанными нами оригинальными праймерами и зондом на основе фрагмента гена *fliP* *B. mallei* и гена, кодирующего белок *gr 68* *B.pseudomallei*, позволили осуществить идентификацию 10 штаммов возбудителя сапа, 20 штаммов возбудителя мелиоидоза и дифференциацию их между собой. Получены отрицательные результаты с ДНК *B. cepacia* и *B. thailandensis*, что свидетельствовало об аналитической специфичности тест-системы.

Заключение

В результате проведенного исследования установлено, что праймеры и зонды, сконструированные на основе последовательности гена *fliP* *B. mallei*, а так же олигонуклеотидные затравки, комплементарные участку гена, кодирующего белок *gr68* *B.pseudomallei*, оказались наиболее эффективными для создания видоспецифических амплификационных тест-систем. Быстрая и точная дифференциальная диагностика патогенных буркхольдерий методом ПЦР позволит правильно установить

этиологию заболевания, подобрать лечение и проводить эпидемиологический мониторинг.

Литература

1. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности): Санитарно-эпидемиологические правила. СП 1.3.1285-03
2. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I – IV групп патогенности: Методические указания. МУ 1.3.2569-09
3. Janse I., Hamidjaja R.A., Hendriks AC, van Rotterdam BJ. Multiplex qPCR for reliable detection and differentiation of *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei* // BMC Infect Dis. – 2013. – Vol. 13. – P. 86.

Ответственный автор:

Лемасова Людмила Викторовна – научный сотрудник ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 579.61:616.982.27-078

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ФЛУОРЕСЦИРУЮЩИХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ НА ОСНОВЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К АНТИГЕНУ 200 KDA *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI*

Е.Э. Ким¹, Н.П. Храпова^{1,2}, Т.В. Замарина¹

¹ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград;

²ГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград

Представлена детальная характеристика флуоресцирующих иммуноглобулинов на основе моноклональных антител к антигену 200 kDa капсулы возбудителя мелиоидоза. Статья содержит данные об их применении для исследования материала, полученного от биопробных животных.

***Ключевые слова:** мелиоидоз, антиген 200 kDa, моноклональные антитела, метод флуоресцирующих антител.*

DIAGNOSTIC CAPABILITIES OF EXPERIMENTAL FLUORESCENT IMMUNOGLOBULINS BASED ON MONOCLONAL ANTIBODIES TO *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* ANTIGEN 200KDA

E.E. Kim¹, N.P. Khrapova^{1,2}, T.V. Zamarina¹

Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd¹; Volgograd State Medical University, Volgograd²

Detailed characteristic of experimental fluorescent immunoglobulins based on monoclonal antibodies

against 200 kDa antigen of Burkholderia pseudomallei was presented. This article contains information about its applicability for samples from experimental animal models.

Key words: melioidosis, antigen 200 kDa, monoclonal antibodies, method of fluorescent antibodies.

Возбудитель мелиоидоза (*Burkholderia pseudomallei*) – микроорганизм II группы патогенности. В общей схеме лабораторного анализа проб клинического материала и объектов внешней среды иммунодиагностическому тестированию отводится важная роль, особенно в первые часы от момента их поступления на исследование. Одним из наиболее востребованных регламентированных иммунодиагностических экспресс-методов обнаружения микроорганизмов в различных объектах является метод флуоресцирующих антител (МФА) [1].

В рамках совершенствования средств индикации и идентификации возбудителя мелиоидоза получило развитие направление исследований по созданию высокоэффективных диагностических препаратов, в том числе и для МФА, базирующееся на экспериментальных доказательствах того, что гликопротеин капсулы с м.м. 200 kDa является характерным признаком вирулентных штаммов возбудителя мелиоидоза [2].

Цель работы – изучение диагностических свойств панели моноклональных иммуноглобулинов к антигену *B. pseudomallei* с м.м. 200kDa, меченных флуорохромом, в МФА при работе с чистыми культурами микроорганизмов и с мазками-отпечатками органов биопробных животных, зараженных коллекционными штаммами буркхольдерий II и III-IV групп патогенности.

Материалы и методы

Источником получения моноклональных антител (МКА) к эпитопам поверхностных антигенов микробных клеток *B. pseudomallei* являлись гибридомы-продуценты из коллекции лаборатории иммунодиагностики и биотехнологии ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

Метку иммуноглобулинов, очистку конъюгата ФИТЦ-белок выполняли по методике [3]. Готовые конъюгаты характеризовали по параметрам качества, затем ампулировали и хранили при минус 20 °С.

В работе использовали штаммы буркхольдерий II (*B. pseudomallei* – 49 штаммов, *B. mallei* – 10 штаммов) и III-IV (*B. thailandensis* – пять штаммов, *B. cepacia* – пять штаммов, *B. gladioli* – три штамма) групп патогенности, полученные из коллекционного центра ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Буркхольдерии выращивали на агаре, приготовленном на основе гидролизата казеина, с 5 % глицерина, рН 6,8, при 37 °С в течение 48 ч. Работу с бактериями выполняли в соответствии с положениями СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)» и СП 1.3.2518-09 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» Дополнения и изменения № 1 к СП 1.3.2322-08».

Результаты и обсуждение

После очистки конъюгатов и расчета основных показателей результативности конъюгирования для последующей работы был отобран ряд экспериментальных серий, охарактеризованных по показателям концентрации белка в препарате, молярного соотношения ФИТЦ/белок и величине рабочего разведения.

Полученные данные показали, что из 10 типов МКА лишь четыре по своим параметрам перспективны для дальнейшего изучения.

Следующим этапом работы явилась оценка спектра специфической активности для выбранной группы экспериментальных препаратов. Для этого использовали широкий набор музейных штаммов возбудителей мелиоидоза. В качестве контроля был взят производимый в настоящее время стандартный препарат на основе МКА к термостабильному поверхностному антигену возбудителя мелиоидоза (1F₄).

В ходе экспериментов установлено, что препараты на основе МКА 3С₆, 5С₂, 5Н₁₁, 6А₁₁ обладали наиболее широким спектром специфической активности. Они взаимодействовали с антигеном 200 kDa, локализованным на поверхности микробных клеток.

Специфичность всех экспериментальных образцов иммуноглобулинов флуоресцирующих моноклональных оценивали по результатам окрашивания мазков-препаратов, приготовленных из взвесей гетерологичных микроорганизмов II и III-IV групп патогенности: *B. thailandensis*, *B. cepacia*, *B. allicola*, *B. gladioli*, *B. marginata*, *P. putida*.

Контрольный препарат обнаруживал все штаммы *B. pseudomallei*. Специфичность экспериментальных образцов была различной. Три из четырех вновь приготовленных препаратов (3С₆, 5Н₁₁ и 6А₁₁) проявили себя как специфические диагностические средства, не взаимодействующие ни с одним

из взятых в работу штаммов гетерологичных микроорганизмов. Только конъюгат 5C₂ обладал перекрестной активностью в отношении одного штамма *B. thailandensis* и одного штамма *B. ceracia*. Наибольший интерес представляют данные об отсутствии кросс-реактивности МКА 3C₆, 5H₁₁, 6A₁₁ в отношении *B. thailandensis* – буркхольдерии, наиболее близкой в антигенном отношении к *B. pseudomallei*. Этот факт заслуживает внимания, так как по данным литературы, подавляющее большинство экспериментальных препаратов и тест-систем, предназначенных для обнаружения возбудителя мелиоидоза, не позволяют дифференцировать эти два вида буркхольдерий.

Анализ представленных данных позволяет сделать вывод о том, что конъюгаты, приготовленные на основе МКА к антигену 200 kDa возбудителя мелиоидоза, обладают высокими показателями специфичности.

При воспроизведении регламентированной схемы индикации возбудителей особо опасных инфекций одним из обязательных этапов работы является исследование биопробного материала, в частности, мазков-отпечатков селезенки [1, 4].

В опытах использовали штаммы *B. pseudomallei* 101 и *B. pseudomallei* 102. Животных заражали с учётом LD₅₀ внутрибрюшинным способом введения бактерий и вскрывали на 3 и 21 сутки после заражения. Данные представлены в таблице.

При использовании всех вариантов конъюгатов возбудитель мелиоидоза не был обнаружен в отпечатках селезенки животных, зараженных *B. pseudomallei* 101 спустя трое суток. Через указанный промежуток времени три конъюгата из пяти выявляли микробные клетки *B. pseudomallei* 102 в пробах биологического материала. К 21 суткам количество антигена 200 kDa возрастало, и все варианты конъюгатов МКА-ФИТЦ давали положительный результат при просмотре мазков.

Таблица 1.

Результаты обнаружения возбудителя мелиоидоза в мазках-отпечатках селезенки биопробных животных с помощью МФА

Объект исследования	Инфицирующий агент	Срок после заражения (сут)	Конъюгаты МКА-ФИТЦ				
			3C ₆	5C ₂	5H ₁₁	6A ₁₁	1F ₄
Мазки-отпечатки селезенки золотистых хомячков	<i>B. pseudomallei</i> 101	3	-	-	-	-	-
		21	+	+	+	+	+
	<i>B. pseudomallei</i> 102	3	-	-	+	+	+
		21	+	+	+	+	+

Примечание:

1. « - » – отрицательный результат МФА;
2. «+» – положительный результат реакции, соответствующий 3+ и 4+.

Таким образом, на основе МКА различной эпитопной направленности были получены экспериментальные образцы диагностических препаратов для МФА, охарактеризованные по параметрам качества, пригодные для работы как с чистыми культурами буркхольдерий, так и с пробами биологического материала.

Литература

1. Специфическая индикация патогенных биологических агентов. Практическое руководство / Под ред. Г. Г. Онищенко. – М., 2006. – 288 с.
2. Anuntagool N., Panichakul T., Aramsri P., Sirsinha S. Shedding of lipopolysaccharide and 200-kDa surface antigen during the in vitro growth of virulent Ara – and avirulent Ara+ *Burkholderia pseudomallei* // Acta Tropica. – 2000. – V. 74. – P. 221-228.
3. Храпова Н.П., Тихонов Н.Г., Прохвятилова Е.В. Применение МКА в лабораторной диагностике природноочаговых и труднодиагностируемых инфекций // Природно-очаговые инфекции в Нижнем Поволжье: Сб. науч. тр. / под ред. Н.Г. Тихонова. – Волгоград, 2000. – С. 318-327.
4. Храпова Н.П., Пивень Н.Н., Корсакова И.И. и др. Получение моноклональных антител к гликопротеину 200 kDa *Burkholderia pseudomallei* и перспективы их применения для совершенствования лабораторной диагностики мелиоидоза// Матер. IX Межгос. науч.-практ. конф. – Волгоград, 2008.

– С.147-148.

Ответственный автор

Ким Екатерина Эдуардовна – младший научный сотрудник ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора
Тел. (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 579.61:616.982.27-078

ПРИМЕНЕНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ АНТИГЕНА 200 KDA *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* В РЕАКЦИИ ИММУНОДИФФУЗИИ В ГЕЛЕ

Т.В. Замарина¹, Н.П. Храпова^{1,2}, И.И. Корсакова^{1,2}

¹ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград;

²ГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград

Описаны условия постановки реакции иммунодиффузии в геле с моноклональными антителами (МКА), специфичными к антигену 200 kDa возбудителя мелиоидоза. Определены варианты моноклональных антител с высокой специфической активностью в данной реакции.

Ключевые слова: мелиоидоз, диагностика, моноклональные антитела, реакция иммунодиффузии в геле.

APPLICATION OF MONOCLONAL ANTIBODIES FOR DETECTION OF *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* ANTIGEN 200 KDA BY DOUBLE IMMUNODIFFUSION TEST

T.V. Zamarina¹, N.P. Khrapova^{1,2}, I.I. Korsakova^{1,2}

¹Volgograd Plague Control Research Institute, ²Volgograd; Volgograd State Medical University, Volgograd

The conditions for performing a double immunodiffusion test using monoclonal antibodies (MAb) against antigen 200 kDa of *Burkholderia pseudomallei* were described. The variants of high specific MAbs were identified.

Keywords: melioidosis, diagnostics, monoclonal antibodies, double immunodiffusion test.

Реакция иммунодиффузии (РИД) в геле не входит в схему лабораторной диагностики мелиоидоза и чаще всего ее применяют для аналитического изучения различных антигенных препаратов *Burkholderia pseudomallei* [2]. Несмотря на то, что моноклональные антитела (МКА) в качестве ингредиентов для постановки РИД на этапах идентификации различных микроорганизмов успешно применяли уже вскоре после внедрения гибридной технологии [4], на отечественном и международном рынке коммерческие высокоактивные ингредиенты для постановки данной реакции отсутствуют.

Цель работы – изучение эффективности использования МКА для обнаружения гликопротеина 200 kDa возбудителя мелиоидоза – маркера вирулентных штаммов *B. pseudomallei* [3] при постановке РИД с водно-солевыми экстрактами (ВСЭ), антигенов возбудителей сапа, мелиоидоза и гете-

рологических микроорганизмов.

Материалы и методы

В работе использовали антигены буркхольдерий II и III групп патогенности (*B. pseudomallei*, *B. mallei*, *B. thailandensis*, *B. ceracia*) и гетерологичных микроорганизмов (*Pseudomonas allicola*, *P. marginata*). Работу с живыми культурами бактерий проводили в соответствии с СП 1.3.1285-03.

Водно-солевые экстракты получали из обеззараженных и высушенных ацетоном микробных клеток. Гликопротеин капсулы *B. pseudomallei* 100 с м.м. 200 kDa, который являлся контрольным антигеном, был получен с помощью модифицированного метода Фуллера [1].

В качестве ингредиентов для постановки РИД использовали панель из 10 вариантов МКА к гликопротеину 200 kDa различной эпитопной направленности, вырабатываемые гибридомами-продуцентами из коллекций лаборатории иммунодиагностики и биотехнологии ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Гибридомы были выведены из состояния глубокого холода, культивированы при 37 °С в атмосфере 5 % CO₂ и 70-80 % влажности с использованием среды RPMI-1640 с добавлением 15 % эмбриональной телячьей сыворотки, L-глутамина, пирувата натрия; МКА накоплены в препаративных количествах *in vitro*. Отбор позитивных клонов, секретирующих МКА в среду выращивания, осуществляли с помощью непрямого варианта ТИФМ.

Накопление МКА *in vivo* осуществляли внутрибрюшинным введением 5·10⁶ клеток гибридом линейным мышам BALB/c, иммуноглобулины выделяли из асцитической жидкости мышей методом трёхкратного переосаждения белка сульфатом аммония. Специфическая активность МКА была оценена с помощью непрямого метода флюоресцирующих антител.

Для выполнения реакции двойной иммунодиффузии в геле использовали агар Difco (1,5 г), который расплавляли в 100 мл забуференного 0,9 % раствора NaCl, pH 7,2 и разливали порциями в чашки Петри. Через сутки после застывания слоя агара в нем с помощью стандартного перфоратора делали лунки для внесения МКА и исследуемых антигенных препаратов. Объем ингредиентов в каждой лунке не превышал 30-35 мкл. МКА были взяты в концентрации от 12 до 15 мг/мл, а водно-солевые экстракты (ВСЭ) микробных штаммов – от 10 до 12 мг/мл. После внесения ингредиентов чашки помещали во влажную камеру и оценивали результат через 24-48 ч по наличию или отсутствию между лунками с образцами компонентов реакции линий преципитата. Положительный результат РИД свидетельствовал об образовании иммунных комплексов (антиген+гомологичные МКА).

Эффективность использования МКА для обнаружения антигена 200 kDa возбудителя мелиоидоза была изучена при постановке реакции преципитации с антигенами возбудителей сапа и мелиоидоза, а также гетерологичных микроорганизмов. С помощью РИД с ВСЭ возбудителя мелиоидоза было установлено, что 7 из 10 типов из панели МКА к антигену 200 kDa в разной степени обладали преципитирующей активностью.

Результаты и обсуждение

Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Сводные данные эффективности обнаружения антигена 200 kDa в ВСЭ штаммов возбудителя мелиоидоза (n=17)

Показатели обнаружения антигена 200 kDa	Наименование МКА						
	C ₆	A ₁₀	C ₂	A ₁₁	E ₇	F ₉	A ₈
Относительные значения (%)	1	2	6	1	2		6

Полученные данные позволили сделать вывод о том, что МКА 3C₆, 4A₁₀, 6A₁₁, 6E₇ дают возможность обнаружить антиген 200 kDa в РИД у 72-81 % типичных штаммов *B. pseudomallei*, в то время как мноклональные иммуноглобулины 5C₂ и 7A₈ выявляли антиген у 36 % штаммов. Интересно отметить, что все семь вариантов МКА преципитировали только с ВСЭ *B. pseudomallei* и не обнаруживали антиген 200 kDa в ВСЭ возбудителей сапа и гетерологичных микроорганизмов. Специфичность и воспроизводимость РИД с исследуемой панелью МКА практически приближалась к 100 %.

Полученные сведения о способности МКА образовывать преципитаты значимы для решения вопроса об их применении в иммунохимическом анализе (Dot-иммуноанализ, иммуноблоттинг). Кроме

того, РИД с использованием описанных МКА может быть применена в качестве дополнительного метода для выявления антигена 200 кДа возбудителя мелиоидоза в различных антигенных смесях.

Литература

1. Корсакова И.И., Храпова Н.П., Напалкова Г.М. и др. Сравнительный анализ иммунохимических методов исследования антигенов патогенных буркхольдерий // Проблемы особо опасных инф.– 2012.– Вып. 113.– С. 82-85.
2. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней: Практическое руководство / Под редакцией академика РАМН Г.Г. Онищенко, академика РАМН В.В. Кутырева. Изд. 2-е, переработанное и дополненное. М.: ЗАО «Шико», 2013. – 560 с.
3. Anuntagool N., Panichakul T., Aramsri P., Sirsinha S. Shedding of lipopolysaccharide and 200-kDa surface antigen during the in vitro growth of virulent Ara⁻ and avirulent Ara⁺ *Burkholderia pseudomallei* // Acta Tropica. – 2000. – V. 74. – P. 221-228.
4. Use of monoclonal antibody to increase sensitivity and specificity in quantitative immunodiffusion assay/ Glodel M., Montgomery R. R., Smith C.G. et al. // J. Immunol. Meth. – 1982. – Vol.48, N1. – P. 13-22.

Ответственный автор:

Замарина Татьяна Валерьевна – научный сотрудник ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Тел. (395-2) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 579.61:616.982.27-07

КОНСТРУИРОВАНИЕ ДИАГНОСТИКУМА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МЕЛИОИДОЗА В РЕАКЦИИ ЛАТЕКС-АГГЛЮТИНАЦИИ

А.М. Куделина¹, И.В. Новицкая², Е.В. Прохвятилова¹

¹ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград,

²Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград

Проведены исследования по разработке нового латексного препарата, способного идентифицировать *Burkholderia pseudomallei*. Подобрана концентрация блокирующего буфера. Оптимальная нагрузка мелиоидозных иммуноглобулинов на полистирольных частицах составила 4 мг/мл. Определены аналитические характеристики полученного диагностикума. **Ключевые слова:** реакция латекс-агглютинации, мелиоидоз, латексный диагностикум, сенситин, иммобилизация.

DEVELOPMENT OF DIAGNOSTICUM FOR THE DETECTION OF MELIOIDOSIS AGENTS IN LATEX AGGLUTINATION REACTION

A. M. Kudelina¹, I.V. Novitskaya², E.V. Prokhvatilova¹

Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd¹, Volgograd State Medical University, Volgograd²

Studies on the development of recent latex diagnosticum capable to identify *Burkholderia pseudomallei* were conducted. The concentration of blocking buffer was chosen. Optimal capacity of melioidosis immunoglobulins on polystyrene particles was 4 mg/ml. Analytical descriptions of the resulted diagnosticum were determined.

Key words: reaction of latex-agglutination, melioidosis, latex diagnosticum, sensitine, immobiliza-

tion.

В современной лабораторной диагностике особо опасных инфекций, в частности мелиоидоза, необходимы простые и доступные методы исследования, направленные на сокращение времени проведения анализа и увеличение достоверности полученных результатов при высоких аналитических и диагностических характеристиках препаратов. Одним из таких методов является реакция латекс-агглютинации (РЛА), находящая в последнее время все более широкое распространение в мировой практике [2, 3]. На данный момент на территории Российской Федерации не существует зарегистрированных латексных препаратов, способных выявлять возбудителей мелиоидоза *B. pseudomallei* на различных этапах лабораторного анализа.

Цель работы – получение латексного иммуноглобулинового мелиоидозного диагностикума для индикации и идентификации *B. pseudomallei*.

Материалы и методы

В качестве носителя использовали коммерческие полистирольные частицы диаметром 0,8 мкм фирмы *Sigma*. На микросферах иммобилизовали иммуноглобулины, выделенные каприловой кислотой из гипериммунной мелиоидозной козьей сыворотки.

Схема иммунизации животных-продуцентов (коз) включала несколько месячных циклов четырехкратных инъекций антигенной взвеси в возрастающих дозах ($1,25 \cdot 10^8$; $2,5 \cdot 10^8$; $5 \cdot 10^8$; $1 \cdot 10^9$ м.к./мл) подкожно в паравертебральную область в смеси с неполным адъювантом Фрейнда. На 7-10 день после последней инъекции осуществляли забор крови. В работе использовали сыворотку с титром в РИД 1:256.

Для определения оптимальной нагрузки мелиоидозных иммуноглобулинов на полистирольные микросферы использовали концентрации сенситина от 0,03 до 4 мг/мл. При этом к латексным носителям добавляли взвеси иммуноглобулинов, пробы тщательно перемешивали и оставляли на два часа при 37 °С в условиях термостата. После инкубации нагруженные частицы дважды отмывали от несвязавшегося сенситина блокирующим свободные поверхности микросфер буфером путем двукратного центрифугирования при 5000 об/мин в течение 10 мин. В качестве блокирующего буфера использовали раствор бычьего сывороточного альбумина фирмы *Sigma* (БСА) [4]. Испытывали две концентрации БСА (0,5 % и 1 %) для сравнения их влияния на характер иммобилизации сенситина на латексе. Сенсибилизированные полистирольные частицы уравнивали в блокирующем буфере и оставляли на ночь при +4 °С, затем с полученными пробами ставили РЛА в слайдовом варианте.

Постановку РЛА проводили на чистой обезжиренной стеклянной пластинке: к капле исследуемого материала (10 мкл) добавляли латексный диагностикум (в том же объеме) и тщательно перемешивали. В присутствии гомологичного иммунореакта наблюдали агглютинацию в виде белых хлопьев и участков просветления. При отрицательном результате реакции суспензия оставалась гомогенно мутной [1]. Чувствительность, специфическую активность и специфичность препарата проверяли с восьмью штаммами возбудителей мелиоидоза: *B. pseudomallei* C-141, *B. pseudomallei* 56770, *B. pseudomallei* 56638, *B. pseudomallei* 135, *B. pseudomallei* 51274, *B. pseudomallei* 60631, *B. pseudomallei* 61563, *B. pseudomallei* 100 и пятью штаммами условно-патогенных близкородственных микроорганизмов: *B. pseudoalcaligenes* ВКМВ-1300, *B. cepacia* АВ-1934, *Pseudomonas fragii* 4002, *P. aeruginosa* РАО-1, *P. ovalis* ВКМВ-899, выделенных из различных источников на территории Европы и Азии и хранящихся в Коллекционном центре ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

Результаты и обсуждение

В ходе исследований было установлено, что чувствительность диагностикума увеличивается пропорционально количеству сенситина, поэтому для оптимальной нагрузки на латексные частицы применяли концентрацию иммуноглобулинов 4 мг/мл (табл. 1).

Использование БСА для приготовления блокирующего буфера оказалось оптимальным при его концентрации 0,5 мг/мл 0,15 М фосфатно-буферного раствора. Увеличение нагрузки нейтрального белка, по-видимому, препятствовало взаимодействию антиген-антитело и отрицательно сказывалось на результатах реакции.

При изучении аналитических характеристик препарата применяли уравновешенные в 0,5 % блокирующем буфере полистирольные микросферы с иммобилизованными на них мелиоидозными иммуноглобулинами в концентрации последних 4 мг/мл. В РЛА были использованы инактивированные взвеси возбудителей мелиоидоза, а также псевдомонозов и буркхольдериезов III-IV группы патогенности. С целью определения специфической активности проведена РЛА с набором инактивированных штаммов *B. pseudomallei* (*B. pseudomallei* C-141, *B. pseudomallei* 56770, *B. pseudomallei* 56638, *B. pseudomallei* 135, *B. pseudomallei* 51274, *B. pseudomallei* 60631, *B. pseudomallei* 61563, *B. pseudomallei* 100). Оказалось, что пять штаммов взаимодействовали с диагностикумом в концентрации

1,56·10⁶ м.к./мл и три штамма – в концентрации 3,12·10⁶ м.к./мл.

Таблица 1.

Чувствительность диагностикума в зависимости от различной нагрузки сенситином для выявления возбудителей мелиоидоза в РЛА

№ п/п	Концентрация иммуноглобулинов (мг/мл)	Концентрация <i>B. pseudomallei</i> (м.к./мл)						
		5·10 ⁷	2,5·10 ⁷	1,25·10 ⁷	6,25·10 ⁶	3,12·10 ⁶	1,56·10 ⁶	7,8·10 ⁵
1	0,03	-	-	-	-	-	-	-
2	0,05	-	-	-	-	-	-	-
3	0,1	+/-	-	-	-	-	-	-
4	0,2	+	+	+/-	-	-	-	-
5	0,4	+	+	-	-	-	-	-
6	0,8	+	+	+	+	+/-	-	-
7	1	+	+	+	+	+	-	-
8	2	+	+	+	+	+	+	-
9	4	+	+	+	+	+	+	+/-

Примечание: (+) – положительный результат;
 (+/-) – сомнительный результат;
 (-) – отрицательный результат реакции.

Для определения специфичности были использованы наборы инактивированных взвесей *B. pseudoalcaligenes* (ВКМВ-1300), *B. ceracia* (АВ-1934), *P. fragii* (4002), *P. aeruginosa* (РАО-1), *P. ovalis* (ВКМВ-899). Положительные реакции с возбудителями мелиоидоза отмечались в концентрации последних от 3,12·10⁶ м.к./мл, при этом возбудители условно-патогенных буркхолдеризов и псевдомонозов не взаимодействовали с мелиоидозным латексным диагностикумом в концентрациях от 10⁸ м.к./мл.

Заключение

Таким образом, нами получена экспериментальная серия латексного иммуноглобулинового мелиоидозного диагностикума, способного специфически выявлять различные штаммы *B. pseudomallei* в концентрациях от 3,12·10⁶ м.к./мл и выше.

Литература

1. Бровкина А.Н. Разработка метода и тест-системы выявления бактерий рода *Salmonella* на основе латекс-агглютинации // Научный журнал КубГАУ – 2011. – № 72 (08). – С. 51
2. Шубин Г.Г., Ларионова Л.В., Карбышев Г.Л. и др. Конструирование и испытания листериозного антигенного полимерного диагностикума // Биотехнология. – 2009. – № 3. – С. 91-95.
3. Duval B.D., Elrod M.G., Gee J.E. et al. Evaluation of a Latex Agglutination Assay for the Identification of *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei* // The American journal of tropical medicine and hygiene – 2014. – 14 (0025). – С. 48
4. Garcia V.S., Gonzalez V.D., Marcipar I.S. et al. Optimisation and standardisation of an immunoagglutination assay for the diagnosis of Trypanosomacruzi infection based on latex-(recombinant antigen) complexes // Tropical medicine and internatiol Health. – 2014. – 19(1) – P. 37-46.

Ответственный автор

Куделина А.М. научный сотрудник ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.982.27:579.841.11Pseudomonas]-076

АНАЛИЗ АНТИГЕННОГО СОСТАВА ПАТОГЕННЫХ БУРКХОЛЬДЕРИЙ МЕТОДОМ ИММУНОБЛОТТИНГА СО СПЕЦИФИЧЕСКИМИ КРОЛИЧЬИМИ СЫВОРОТКАМИ ПРОТИВ ЖИВЫХ КЛЕТОК, КЛЕТОЧНЫХ И ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНЫХ АНТИГЕНОВ

А.А. Будченко, И.Ю. Мазурова

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград

Иммуноблоттинг суммарных клеточных белков с сыворотками к живым клеткам и клеточным протеинам позволил выявить у патогенных буркхольдерий антигены (молекулярная масса 20, 60, 88 kDa), которые вызывают секрецию антител независимо от варианта иммунизации и предположительно располагаются на поверхности клеток.

Ключевые слова: иммуноблоттинг, буркхольдерии, мелиоидоз.

ANALYSIS OF ANTIGEN STRUCTURE BY IMMUNOBLOTTING METHOD WITH SPECIFIC RABBIT SERA AGAINST LIVE CELLS, CELLULAR AND EXTRACELLULAR ANTIGENS OF PATHOGENIC BURKHOLDERIAS

A.A. Budchenko, I.Yu. Mazurova

Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd

Immunoblotting of total cellular proteins with sera to live cells and cellular proteins permitted to reveal antigens (molecular weight 20, 60, 88 kDa) in pathogenic burkholderias caused secretion of antibodies independently of an immunization variant and presumably located on cell surfaces.

Key words: immunoblotting, burkholderia, melioidosis.

Актуальность точной и своевременной диагностики сапа и мелиоидоза обусловлена возможностью завоза возбудителей этих инфекций в Россию из стран, где они являются эндемичными. Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА) и твердофазный иммуноферментный анализ (ТИФА) по-прежнему в этих странах считаются основными диагностическими методами мониторинга сапа и мелиоидоза [4]. При этом чувствительность и специфичность методов зависит от антигенов, используемых для сенсibilизации эритроцитов (РНГА) и поливинилхлоридных пластин (ТИФА). До настоящего времени добиться 100 % значений названных характеристик не удалось. Поэтому поиск антигенов, при использовании которых обеспечиваются необходимые максимальные чувствительность и специфичность, является актуальным.

Цель работы – провести сравнительный анализ состава иммуногенных антигенов патогенных буркхольдерий методом иммуноблоттинга со специфическими кроличьими сыворотками, полученными иммунизацией животных живыми клетками, клеточными и экстрацеллюлярными антигенами (ЭЦА).

Материалы и методы

В работе использовали типичные штаммы видов *Burkholderia pseudomallei* C-141, *B. pseudomallei* 107 (авирулентный), *B. mallei* 10230, *B. thailandensis* 264, *B. cepacia* 25416 из коллекционного центра ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Для решения поставленной задачи реализовывали алгоритм: фракционировали суммарные клеточные белки взятых в работу штаммов с помощью электрофореза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия (ПААГ) и проявляли их на геле: а) окрашиванием Кумасси G-250, б) обработкой иммунными сыворотками (иммуноблоттинг). Затем сопоставлением электрофореграмм суммарных клеточных белков (после окраски Кумасси G-250) и антигенов (после иммуноблоттинга) выявляли и оценивали иммуногенные белковые фракции.

Сыворотки получали путем иммунизации кроликов: а) живыми клетками *B. pseudomallei* 107 (10⁹ м.к./мл животным вводили подкожно), через семь суток – указанный корпускулярный антиген вводили повторно, и ещё через 14 суток – внутривенно); б) цельноклеточными и экстрацеллюлярными

антигенами *B. pseudomallei* C141, *B. mallei* 10230, *B. thailandensis* 264, *B. cepacia* 25416 (1 мг/мл) в смеси с неполным адъювантом Фрейнда («Calbiochem», США) в соотношении 1:1. Иммунизацию антигенной смесью осуществляли в/к вдоль позвоночника в 10 точек четырехкратно с интервалом в семь дней [1]. Цельноклеточные антигены (супернатант) получали после ультразвуковой обработки суспензии бактериальной массы в 0,15 М NaCl (pH 7,2) и центрифугирования (10000 g, 25 мин). Для получения ЭЦА бактериальную массу, росшую в течение 18 часов на агаре, покрытом целлофаном, смывали раствором 0,15 М NaCl, центрифугировали (15000 g 25 мин). Супернатант фильтровали (размер пор фильтра 0,45 мкм). ЭЦА осаждали из суспензии охлажденным ацетоном (-30°C) в соотношении 1:3 [1]. Кровь отбирали при титрах сывороток в реакции иммунодиффузии 1:32. Электрофорез в ПААГ с SDS ставили по Laemmli в вертикальных пластинах (14x16 см) [3]. Пробы получали путем обработки бактериальной массы лизирующим раствором (0,0625 М Трис-Cl, pH 8, 1 % ДСН, 10% глицерола, 5 % 2-меркаптоэтанола). Нагрузка на трек составляла 12 мкг антигена. Концентрацию протеина измеряли методом Бредфорда. Одну часть геля после электрофореза окрашивали раствором Кумасси G-250, вторую часть переносили на мембрану (размер пор 0,45 мкм). Фракции антигенов выявляли иммуноферментным методом, используя полученные сыворотки и меченные пероксидазой хрена антитела против кроличьих иммуноглобулинов («Медгамал», Россия) в разведении 1:8000 [5]. В качестве субстрата применяли тетраметилбензидин.

Результаты и обсуждение

Визуально было выявлено на протеинограммах после электрофореза в ПААГ с ДСН от 32 до 36 фракций, на электрофореграммах после иммуноблоттинга с сыворотками к цельноклеточным антигенам 31-32 фракции, на электрофореграммах после иммуноблоттинга с иммунными сыворотками к живым клеткам 21-24 фракции. Также на электрофореграммах были подсчитаны крупные «мажорные» фракции.

Сравнительный анализ полученных спектров фракций суммарных белков (окраска Кумасси G-250) и спектра антигенных фракций после иммуноблоттинга с сывороткой к цельноклеточным белкам показал, что большинство белковых фракций иммуногенны. Однако не всегда крупные фракции на электрофореграммах (окраска Кумасси G-250) обеспечивают столь же значительную фракцию на электрофореграммах после иммуноблоттинга. Так, мажорная фракция с молекулярной массой 29 кДа на иммуноэлектрофореграмме имеет фракцию с низкой интенсивностью окраски. В тоже время фракция с низкой интенсивностью окраски на протеинограмме с молекулярной массой 20 кДа имеет высокую интенсивность окрашивания на иммуноэлектрофореграммах.

Также наблюдаются отличия в составе антигенных фракций сравниваемых штаммов буркхольдерий на иммуноэлектрофореграммах после иммуноблоттинга с сыворотками к цельноклеточным белкам. Используя компьютерные программы цифровой обработки и кластерного анализа по этим признакам, возможна дифференциация видов.

Сравнительный анализ полученных спектров фракций суммарных белков (окраска Кумасси G-250) и спектра антигенных фракций после иммуноблоттинга с сывороткой к живым клеткам позволил выявить иммуногенные фракции, не обладающие большим количеством белка (20 и 88 kDa). Anuntagool N. с соавт. (1993 г.) сообщали о применении фракции 20 kDa для сенсibilизации ячеек пластин в ТИФА при диагностике мелиоидоза, что обеспечивало в этом методе чувствительность – 92 %, специфичность – 91 % [2]. В тоже время видно, что антигены мажорной фракции 88 kDa вызывают образование соответствующего количества антител, которое и обеспечивает образование на протеинограмме после иммуноблоттинга мажорную фракцию. Такие различия в иммуногенности, возможно, связаны с тем, что при введении живых клеток в организм животного, антитела в большем количестве образуются к антигенам или их эпитопам, расположенным на поверхности клеток и с тем, что не происходит глубокой деструкции клеток возбудителя мелиоидоза в организме иммунизированного животного. Аналогичные результаты были получены и с сыворотками к клеточным и ЭЦА антигенам других изучаемых нами буркхольдерий.

Таким образом, применение иммуноблоттинга и сывороток к живым клеткам и клеточным антигенам позволило выявить у патогенных буркхольдерий комплекс антигенов, которые вызывают ответ животного – секрецию антител независимо от варианта иммунизации.

Литература

1. Будченко А.А., Мазурова И.Ю., Илюхин В.И. Исследование внеклеточных антигенов иммунодиффузионными методами в дифференциации патогенных буркхольдерий. // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2012. – Вып. 1. – С. 54-60.
2. Anuntagool N., Rugdech P., Sirisinh S. Identification of Specific Antigens of *Pseudomonas pseudomallei* and Evaluation of Their Efficacies for Diagnosis of Melioidosis. // J. of clinical microbiology. – 1993. – P. 1232-1236.
3. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacterio-

phage T4 / U.K Laemmli // Nature. – 1970. – Vol. 227. – № 15. – P. 680-685.

4. Sermswan R.W., Wongratanacheewin S., Anuntagool N. Comparison of the polymerase chain reaction and serologic tests for diagnosis of septicemic melioidosis. // J. Trop Med Hyg. – 2000. – 63:146-149.

5. Towbin, H., T. Staehelin, and J. Gordon. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1979. – 76:4350-4354.

Ответственный автор

Будченко Анатолий Александрович – старший научный сотрудник ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 579.841.11Pseudomonas:57.063-8:615.33

ИЗМЕНЕНИЕ АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ШТАММОВ ПАТОГЕННЫХ БУРКХОЛЬДЕРИЙ ПРИ ПАССИРОВАНИИ НА ЖИВОТНЫХ И ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Т.В. Сенина, Е.В. Илюхин, Е.В. Шубникова

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград

В процессе пассирования шести штаммов *Burkholderia pseudomallei*, четырех – *B. mallei* и пяти – *B. thailandensis* на животных и питательных средах менялись морфология колоний и вирулентность культур. Антибиотикочувствительность культур, пассированных на животных, имеет тенденцию к повышению, а после пассажа на питательных средах отмечено разнонаправленное изменение резистентности. Повышение вирулентности культур ведет к стабилизации морфологии колоний и в большинстве своем снижает их устойчивость к антибактериальным препаратам.

Ключевые слова: буркхольдерии, вирулентность, антибиотики.

CHANGING OF ANTIBIOTIC SENSITIVITY IN PATHOGENIC BURKHOLDERIA STRAINS BY PASSAGING TO ANIMALS AND NUTRIENT MEDIA

T.V. Senina, E.V. Ilyukhin, E.V. Shubnikova

Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd

Colony morphology and culture virulence has changed at passage of 6 *Burkholderia pseudomallei*, 4 - *B. mallei* and 5 - *B. thailandensis* strains to animals and nutrient media. Antibiotic sensitivity of cultures passed to animals tended to increase but after a passage to nutrient media was noted differently directed change of resistance. Increase of culture virulence caused stabilization of colony morphology and in most cases reduced resistance to antibacterial preparations.

Key words: *Burkholderia*, virulence, antibiotics.

Три вида бактерий рода *Burkholderia* – *B. mallei*, *B. pseudomallei* и *B. thailandensis* являются филогенетически родственными микроорганизмами, близкими по своим фенотипическим и генотипическим свойствам [1, 2, 4]. При этом данные виды буркхольдерий существенно отличаются по своей патогенности для человека и животных. *B. mallei* является возбудителем сапа, это сформированный

паразитический вид, в природных условиях резервуаром инфекции считаются только больные животные. *B. pseudomallei* и *B. thailandensis* – сапрофиты, обитающие в регионах с влажным субтропическим климатом. *B. pseudomallei*, попадая в организм млекопитающих, вызывает тяжелое инфекционное заболевание – мелиоидоз, а *B. thailandensis* относится к непатогенным микроорганизмам IV группы [1, 2, 3]. Существенное значение имеет характер изменчивости вирулентности и антибиотикочувствительности патогенных буркхольдерий в процессе инфекции и при многократных пересевах на питательных средах в лабораторных условиях.

Цель работы – изучение антибиотикочувствительности при пассировании штаммов патогенных буркхольдерий для решения конкретных задач лечения инфекционных болезней и расшифровки эпидемиологических процессов.

Материалы и методы

В работе исследованы шесть штаммов *B. pseudomallei*, четыре – *B. mallei*, 5 – *B. thailandensis*. Все рабочие посевы производили на триптиказо-соевом агаре (ТСА). Определение антибиотикочувствительности штаммов буркхольдерий проведено диско-диффузионным методом или с использованием Е-тестов на агаре Мюллер-Хинтона HiMedia (India).

Пассирование культур проводили на белых мышах, исходное заражение начинали введением им $5 \cdot 10^8$ м.к., погибших мышей вскрывали, селезенку и печень дезинтегрировали в растворе 0,9 % NaCl и полученную суспензию в объеме 0,5 мл вводили подкожно следующим в пассаже животным. Первые пять белых мышей заражали на фоне введения гидрокортизона (5 мг/мышь), последующие заражения проводили на интактных животных. Всего для каждого штамма проведено от 10 до 30 пассажей, прекращение заражения и выделение окончательной пассированной культуры с последующей лиофилизацией проводили после определения DIm. Пассажи на питательных средах проводили путем многократных (20-30) пересевов двухсуточных культур на ТСА.

Результаты и обсуждение

Вирулентность культур в опытах на золотистых хомячках подтвердила видовую патогенность *B. pseudomallei* и *B. mallei* (DIm = 10^1 м.к.) и непатогенность для *B. thailandensis* (DIm $\geq 10^7$ м.к.). При заражении белых мышей штаммами *B. pseudomallei* гибель животных отмечалась в широком диапазоне доз заражения (DIm от 10^4 до $\geq 10^8$ м.к.), гибель отдельных мышей при введении культур *B. mallei* и *B. thailandensis* отмечена только при дозах $> 10^8$ м.к. После 15-20 пассажей DIm пассированных культур снижалась на 4-5 lg.

Пассирование на питательных средах практически не влияло на уровень чувствительности к антибиотикам, изменения носили разнонаправленный характер, существенно не отражаясь на оценке чувствительности данных культур по сравнению с исходными данными. В то же время, пассирование через организм животных приводило не только к повышению вирулентности культур, но и, как правило, к достоверному снижению устойчивости патогенных буркхольдерий к изученным химиотерапевтическим препаратам, используемым в настоящее время в практике лечения сапа и мелиоидоза. Снижение показателей антибиотикорезистентности в парах исходных и пассированных штаммов по критерию знаков характеризовалось величиной $z = 8$ при $n = 30$, что соответствует уровню различий при $P = 0,01$.

Пассирование культур буркхольдерий через организм животных и на питательных средах в определенной мере моделирует динамику приспособляемости микроорганизмов в ходе инфекционного процесса и в условиях поддержания культур в лабораториях. Вирулентность длительно пассированных на животных штаммов существенно повышается (на 4-5 lg), при этом у культур *B. pseudomallei* происходит стабилизация морфологии колоний, отмечаемая в исходном варианте диссоциация сменяется популяцией в R-форме [5]. Пассирование культур на питательных средах приводило к выраженной диссоциации колоний и одновременному падению вирулентности культур.

Особое значение при лечении больных сапом и мелиоидозом имеет оценка антибиотикочувствительности выделяемых культур в процессе химиотерапии, при этом спектр эффективных препаратов может в динамике лечения изменяться [1, 5]. Как известно, соотношение факторов вирулентности и антибиотикорезистентности у патогенных микроорганизмов имеет неоднозначный характер, однако чаще всего повышение вирулентности культур сопровождается снижением резистентности к антибиотикам. В наших исследованиях процесс длительного пассирования буркхольдерий через организм животных привел к существенному повышению вирулентности, резистентность к антибиотикам этих культур достоверно снизилась. Одной из причин этого феномена считается ускоренное размножение штаммов с повышенной вирулентностью, показано одновременное укорочение lag-фазы и ускорение продолжительности генерации [5]. Замедление фаз роста микробной популяции в свою очередь существенно повышает устойчивость к антибактериальным средствам, так при резком снижении O_2 в среде, до анаэробных условий, буркхольдерии прекращают свой рост на длительный период (> 14 дней) и становятся рефрактерными к действию антибиотиков, затем при восстановлении

аэробных условий вновь происходит размножение [5]. Пассирование буркхольдерий на питательных средах, как правило, ведет к снижению вирулентности культур, чувствительность к антибактериальным средствам при этом может меняться разнонаправлено. Дальнейшие исследования по изучению корреляции вирулентности культур буркхольдерий и их устойчивости к химиопрепаратам, безусловно, интересны как со стороны понимания биологической сути патогенности микробов, так и для решения конкретных задач лечения инфекций и расшифровки эпидемиологических процессов.

Литература

1. Илюхин В.И., Алексеев В.В., Королев Ю.С. Буркхольдерии – возбудители сапа и мелиоидоза // Руководство по медицинской микробиологии, под ред. А.С. Лабинской и др., М. – 2010. – Книга 2. – С. 755-787.
2. Илюхин В.И., Сенина Т.В., Плеханова Н.Г., Антонов В.А., Меринова Л.К., Сеимова И.К. *Burkholderia thailandensis*: биологические свойства, идентификация и таксономическая позиция // Мол. генет., микробиол. и вирусол. – 2002. – № 1. – С. 7-11.
3. Brett P.F., Dezhazer D., Woods D.E. *Burkholderia thailandensis* sp. nov. a *Burkholderia pseudomallei* – like species // Intern. Bacteriol. – 1998. – Vol. 48. – P. 317-320.
4. Palleroni N.J. Family of *Pseudomonadaceae* // Bergey's manual of systematic bacteriology. – Baltimore, 1984. – Vol. 1. – P. 141-199.
5. Tandhavanant S., Thanwisai A., Limmathurotsakul D. Effect of colony morphology variation of *Burkholderia pseudomallei* on intracellular survival and resistance to antimicrobial environments in human macrophages *in vitro* // BMC Microbiol. – 2010. – Vol. 10. – P. 303-315.

Ответственный автор

Сенина Татьяна Васильевна – старший научный сотрудник ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.98:579.852.13-076

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИПА БОТУЛОТОКСИНА В КЛИНИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ ОТ БОЛЬНЫХ ЛЮДЕЙ МЕТОДОМ ДОТ-ИММУНОАНАЛИЗА

Т.Ю. Загоскина¹, С.В. Балахонов¹, Е.А. Чапоргина¹, Е.Ю. Марков¹,
О.Б. Бодрых², Т.А. Иванова¹, О.В. Гаврилова¹, Т.М. Долгова¹,
Т.С. Тайкова¹, Ю.О. Попова¹, А.В. Корнева¹

¹ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Иркутск

²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области» Роспотребнадзора, Иркутск

Разработана высокочувствительная специфичная тест-система для дот-иммуноанализа, позволяющая в течение двух часов обнаруживать ботулотоксины типов А, В, Е в клиническом материале от больных людей.

Ключевые слова: ботулинический токсин, биологическая проба, реакция биологической нейтрализации токсина, дот-иммуноанализ.

DEFINITION OF BOTULOTOXIN TYPE IN CLINICAL MATERIAL FROM PATIENTS BY DOT-IMMUNOASSAY

T.Yu. Zagoskina¹, S.V. Balakhonov¹, E.A. Chaporgina¹, E.Yu. Markov¹, O.B. Bodrykh², T.A. Ivanova¹, O.V. Gavrilova¹, T.M. Dolgova¹, T.S. Taikova¹, Yu.O. Popova¹, A.V. Korneva¹

¹Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, Irkutsk;

²Center of Hygiene and Epidemiology in Irkutsk region of Rospotrebnadzor, Irkutsk

High-sensitive, specific test-system for dot-immunoassay is developed. This method permits to reveal botulotoxins of A, B, E types within two hours in a clinical material from patients.

Key words: botulinic toxin, biological test, reaction of biological toxin neutralization, dot-immunoassay.

Ботулизм – тяжелая токсикоинфекция с высокой летальностью (35-85 %). Ботулизм встречается во всех регионах земного шара, но чаще регистрируется в странах, где население употребляет большое количество различных консервированных продуктов. Вместе с тем, ботулизм привлекает все более пристальное внимание не только как угроза для производителей продуктов питания и потребителей, но и из-за потенциальной возможности использования ботулотоксина (БТ) в качестве поражающего агента при совершении актов биологического и химического терроризма, а также как возможная причина внезапной смерти младенцев, наркоманов, принимающих внутривенные препараты.

Ботулотоксины – продукты жизнедеятельности вегетативных и споровых культур *Clostridium botulinum*, относятся к ядам биологического происхождения II группы патогенности, являются очень мощными нейротоксинами. Смертельная доза ботулотоксина для человека составляет 1нг/кг массы тела.

Стандартным методом обнаружения ботулотоксина является биопроба на белых мышах (БП). Постановка БП является ориентировочным исследованием, чувствительность ее составляет около 30-40 пг/мл ботулотоксина [1].

Тип токсина определяется в реакции биологической нейтрализации токсина (РБНТ) на белых мышах [4]. За время исследования мыши, не защищенные тем типом антитоксина, которым вызвано заболевание у пациента, погибают. Остаются живыми лабораторные животные, которым вводили исследуемый материал в смеси с сывороткой, соответствующей типу токсина, циркулирующего в крови больного. Чувствительность РБНТ составляет около 30-40 пг/мл ботулотоксина.

В клинических микробиологических лабораториях анализ проводят с фекальными, сывороточными, желудочными, раневыми и пищевыми образцами. Однако анализ достаточно трудоёмкий и дорогой, представляет этическую дилемму из-за использования лабораторных животных. Лишь ограниченное число лабораторий за рубежом проводят биоанализ на мышах [5], несмотря на то, что он признан «золотым» стандартом детекции БТ. При подозрении на ботулизм, когда необходимо немедленное лечение, биоанализ может быть слишком медленным методом диагностики. Успех лечения больных антитоксином напрямую зависит от времени его введения: если токсин уже связался с рецепторами на поверхности пресинаптической мембраны двигательных нейронов периферической нервной системы и вызвал в нейронах протеолиз белков, входящих в состав аппарата нейроэксцитоза, то время упущено и такое лечение будет не эффективным.

В связи с этим, актуальным является развитие альтернативных методов обнаружения ботулинических токсинов. Последние успехи касаются скорости и чувствительности анализа; самые быстрые тесты сегодня выполняются за 20 минут, а ряд разработанных методов по чувствительности превосходит биопробу на мышах [5].

У нас в стране индикацию БТ проводят согласно единой схеме индикационного анализа двумя методами: постановкой реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) и РБНТ. Лабораторное подтверждение может проводиться также (при наличии необходимых реагентов и оборудования) с использованием ИФА и ПЦР [4].

К сожалению, возможность проведения работ с лабораторными животными в ряде случаев ограничена, сроки получения результатов биоанализа длительны (2-8 сут). Время постановки РПГА – 2-3 часа, но чувствительность реакции составляет ~ 50 мкг/мл, что не позволяет обнаруживать невысокие концентрации токсина в образцах.

Одним из надежных экспрессных и информативных методов обнаружения ботулотоксинов *in vitro* является дот-иммуноанализ (ДИА) [2, 3]. Достаточно высокие специфичность и чувствительность, простота постановки, миниатюризация (объем пробы ~ 1 мкл), получение результатов в течение 2 ч, отсутствие потребности в дорогостоящих реактивах, оборудовании и специальной подготовке персонала делают ДИА перспективным для использования даже в лабораториях с минимальной оснащённостью.

Цель работы – конструирование тест-систем для детекции и определения типов ботулотоксина (А, В, Е) в клиническом материале от больных людей методом ДИА.

Материалы и методы

В качестве источника специфических антител использовали коммерческие поливалентные диагностические ботулинические лошадиные очищенные сыворотки против типов А, В, С, Е, F для реакции биологической нейтрализации производства НПО «Микроген» (г. Ставрополь) активностью 5000-10000 МЕ и моносpezifические ботулинические сыворотки типов А активностью 10000 МЕ, В – активностью 5000 МЕ, Е – активностью 10000 МЕ. Выбор моносpezifических сывороток обусловлен наибольшей частотой регистрации указанных типов ботулотоксина в Иркутской области.

Иммуноглобулины G (IgG) выделяли из специфических сывороток путем фракционирования каприловой кислотой и сульфатом аммония. Перед использованием полученные IgG диализовали в течение 16-18 ч против дистиллированной воды, прогревали и осветляли центрифугированием.

Золь серебра готовили путем смешивания равных объемов водных растворов боргидрида натрия и азотнокислого серебра [2]. С помощью флокуляционного теста определяли количество IgG, способных стабилизировать золь серебра. Рассчитанное количество антител (АТ) вносили в золь, перемешивали на магнитной мешалке 20 мин, затем полученный комплекс (диагностикум) стабилизировали добавлением равного объема фосфатного буфера, содержащего бычий сывороточный альбумин (БСА), нормальную кроличью сыворотку и водный раствор полиэтиленгликоля-20000. Далее в диагностикум добавляли NaCl и азид натрия и дополнительно перемешивали в течение 10 мин на магнитной мешалке.

По указанной прописи готовили диагностикумы с использованием противоботулинических IgG из поливалентной и моносpezifических каждого типа (А, В, Е) сывороток.

Постановку ДИА осуществляли в «сэндвич» варианте. При этом нитроцеллюлозные мембранные фильтры «Millipore» с размером пор 0,22 мкм персонально нагружали противоботулиническими поливалентными и моносpezifическими IgG, выдерживая их в соответствующих растворах в течение 20 мин. Далее подложки высушивали на воздухе, на каждую из них наносили исследуемый материал в объеме 1 мкл, и, после дополнительного блокирования свободных участков на мембране раствором БСА, погружали в соответствующие приготовленные моносpezifические и поливалентный диагностикумы. После часовой экспозиции и последующей промывки мембран физиологическим раствором и дистиллированной водой, образовавшийся иммунный комплекс (ботулотоксин+сpezifическое АТ, меченное коллоидным серебром) выявляли водным раствором проявителя, состоящего из лимонной кислоты, метола и азотнокислого серебра. Учет результатов – визуальный: места нанесения проб, содержащих ботулотоксин, окрашивались в виде пятен в темно-серый цвет. В отрицательных контролях и образцах, не содержащих ботулинические токсины, окрашенные пятна не формировались [2, 3].

Исследования проведены на клиническом материале (рвотные массы, промывные воды желудка, клизменные воды) от 7 больных с установленным диагнозом «ботулизм» в трех повторностях, отмечалась стопроцентная воспроизводимость результатов.

Результаты и обсуждение

В ходе экспериментов установлено, что в ДИА с использованием диагностикума на основе поливалентных IgG, меченных коллоидным серебром (КС) (поливалентный IgG+КС), все исследованные образцы от 7 больных были положительными, что полностью совпадало с результатами биопробы на мышцах (табл. 1).

Таблица 1.

Сравнительные результаты исследования клинического материала от больных с диагнозом «ботулизм» в ДИА, РБНТ и БП

Исследуемый материал от больных	Поливалентный IgG+КС	IgG тип А+КС	IgG тип Е+КС	IgG тип В+КС	РБНТ	БП
Больной 1	1:1280	1:640	1:160	1:160	А	+
Больной 2	1:640	1:160	1:640	1:80	Е	+
Больной 3	1:640	1:80	1:640	1:80	Е	+
Больной 4	1:640	1:80	1:80	1:640	В	+
Больной 5	1:640	1:80	1:640	1:80	Е	+
Больной 6	1:640	1:80	1:160	1:640	В	+
Больной 7	1:1280	1:160	1:1280	1:160	Е	+

Примечание: В РБНТ и БП исследовался цельный материал.

При раститровке материала установлено, что у пяти больных в ДИА ботулотоксин определялся в разведении исходных образцов 1:320 – 1:640; у двух больных – в разведении 1:1280.

При исследовании клинического материала от больных в тест-системе с использованием IgG тип А+КС у одного больного ботулотоксин определялся в разведении исходного образца 1:640, при этом остальные пробы клинического материала были положительными в разведениях 1:80 – 1:160. Исследование клинических образцов в ДИА с использованием тест-системы на основе IgG тип Е+КС показало наибольшее количество положительных находок: от четырех больных в пробах обнаруживался ботулотоксин в разведениях 1:640 – 1:1280, остальные образцы были положительными в разведениях 1:80 – 1:160. В ДИА с использованием тест-системы на основе IgG тип В+КС в материале от двух больных ботулотоксин регистрировался в разведениях 1:640, остальные образцы – в разведениях 1:80 – 1:160.

В параллельных исследованиях материала в ДИА и РБНТ наблюдалось стопроцентное совпадение результатов, т.е. у одного больного был обнаружен ботулотоксин тип А, у четырех – ботулотоксин тип Е и у двух больных – ботулотоксин тип В.

Таким образом, результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о возможности использования ДИА для экспресс-детекции и типирования ботулинического токсина в клиническом материале от больных людей, что позволит повысить эффективность лабораторной диагностики ботулизма, будет способствовать более быстрой постановке диагноза и спасению больного. Разработанные тест-системы экономичны, технически просты в приготовлении, постановка ДИА легко выполнима в лабораториях инфекционных стационаров, а также в условиях работы санитарно-противоэпидемических бригад (СПЭБ) в режиме чрезвычайных ситуаций.

Литература

1. ГОСТ 10444.7-86 Продукты пищевые. Методы выявления ботулинических токсинов и *Clostridium botulinum*. – М.: Стандартинформ, 2010. – 18 с.
2. Загоскина Т.Ю., Субычева Е.Н., Носырева Л.И., Бодрых О.Б., Марков Е.Ю., Вейде А.А., Долгова Т.М., Тайкова Т.С., Балахонов С.В. Конструирование тест-системы для скрининга пищевых продуктов и клинического материала на ботулотоксин в дот-иммуноанализе // Журн. инф. патол. – 2009. – Т. 16, № 3. – С. 20-23.
3. Носкова О.А., Загоскина Т.Ю., Субычева Е.Н., Марков Е.Ю., Лекомцева С.Е., Бодрых О.Б., Балахонов С.В. Клинико-эпидемиологические особенности и совершенствование лабораторной диагностики ботулизма в Иркутской области // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 2 (90), Ч. 1. – С. 102-106.
4. Практическое пособие для подготовки врачей-бактериологов и эпидемиологов по вопросам противодействия биотерроризму / Г. Г. Онищенко, Ю. М. Федоров, Н. Я. Жилина и др. – Волгоград, 2004. – С. 44-52.
5. Lindström M., Korkeala H. Laboratory diagnostics of botulism // Clin. Microbiol. Rev. – 2006. – Vol. 19, N. 2. – P. 298-314.

Ответственный автор

Загоскина Татьяна Юрьевна – д.м.н., зав. отделом подготовки и усовершенствования специалистов ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.
E.mail: confirk2014@mail. Тел.: (3952) 22-13-12

УДК: 615.383:579.834.115Leptospira-001.8

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕПТОСПИРОЗНОЙ СЫВОРОТКИ, ПОЛУЧЕННОЙ К ЖИВЫМ ВИРУЛЕНТНЫМ И ИНАКТИВИРОВАННЫМ ШТАММАМ

Н.М. Андреевская, В.А. Михайлова, Н.В. Бренёва,
Е.Ю. Киселева, А.Г. Атлас

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора, Иркутск

Получены кроличьи лептоспирозные высокоактивные и высокоспецифичные сыворотки с использованием в качестве антигенов живых вирулентных и инактивированных прогреванием культур. Применение стабилизатора увеличивает срок годности сывороток лептоспирозных сухих до 5 лет.

Ключевые слова: сыворотки к штаммам лептоспир, специфическая активность и специфичность, стабилизатор.

EVALUATION OF THE LEPTOSPIROSIS SERUM EFFICIENCY TO LIVE VIRULENT AND INACTIVATED STRAINS

N.M. Andreevskaya, V.A. Mikhailova, N.V. Breneva, E.Yu. Kiseleva, A.G. Atlas
Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, Irkutsk

Highly active and specific rabbit leptospirosis sera were prepared using live virulent and heat inactivated cultures as antigens. The stabilizer application increased expiration date of dry *Leptospira* sera till 5 years.

Key words: sera to *Leptospira* strains, specific activity and specificity, the stabilizer.

Среди зоонозных инфекций лептоспирозы занимают одно из первых мест по тяжести клинического течения, частоте летальных исходов и отдаленных клинических последствий. Низкие показатели регистрируемой заболеваемости в большинстве стран мира, включая Россию, обусловлены неудовлетворительным состоянием дифференциальной клинической и лабораторной диагностики. Лабораторные методы исследования играют решающую роль в постановке диагноза. При этом наряду с бактериологическими методами дополнительно проводят идентификацию лептоспир в реакции микроагглютинации (РМА) со специфической лептоспирозной сывороткой [3]. Выделенные штаммы лептоспир идентифицируют до серогруппы с помощью набора диагностических агглютинирующих сывороток, выпускаемых ФГУП «Армавирская биофабрика», которые получают путем иммунизации кроликов культурой лептоспир и имеют срок годности 2 года.

Цель работы – получение кроличьих лептоспирозных сывороток к эталонным штаммам *Leptospira borgpetersenii* серовар *javanica* *Veldrat Bataviae* 46 и *Leptospira kirschneri* серовар *hebdomadis* *Kabura* против живых вирулентных и инактивированных культур возбудителя, оценка их активности и специфичности.

Материалы и методы

В качестве животных–продуцентов диагностической лептоспирозной сыворотки использовали кроликов породы шиншилла весом 2,5–3 кг. Иммунизацию проводили живой вирулентной культурой лептоспир из эталонных штаммов серогрупп *Javanica* и *Hebdomadis*, выращенной в жидкой среде Элленгаузена-МакКалоха в модификации Джонсона-Харриса – ЕМЖН (*Becton Dickinson*) в течение 10–14 суток при температуре 28 ± 1 °С, и культурами этих же штаммов, выращенных при тех же условиях, инактивированных прогреванием при температуре 56 ± 1 °С в течение 30 мин. Рост микроорганизмов определяли в жидкой среде по 3–4 балльной системе, что соответствовало 70–100 микробных клеток в поле зрения микроскопа ($\times 400$) при активной их подвижности.

Процесс получения лептоспирозных сывороток путем заражения кроликов живой вирулентной культурой необходимо проводить в заражном блоке с соблюдением санитарных правил [1].

Для получения лептоспирозной сыворотки провели опыт на восьми кроликах, которых разделили на две группы. Кроликов обеих групп иммунизировали по одинаковой схеме живой вирулентной культурой лептоспир и инактивированной прогреванием эталонных штаммов *Veldrat Bataviae* 46 и *Ka-*

bura, выращенных в жидкой среде. Животным вводили культуру трёхкратно внутривенно в объёме 1 мл, 1,5 мл и 2 мл с интервалом 4 суток. Через семь дней после последней инъекции у всех кроликов проводили забор крови, и в сыворотках определяли титр специфических антител. Тотальное кровопускание кроликов проводили при титре антител в РМА не ниже 1:12800.

Активность полученных сывороток проверяли с использованием референсных штаммов лептоспир серогрупп *Javanica*, *Hebdomadis*, а специфичность – М-20 *Icterohaemorrhagiae*, Каширский *Canicola*, Помона *Pomona*, Москва V *Grippotyphosa*, 3705 *Sejroe*, Перепелицин *Tarassovi*, Akiyami A *Autumnalis*, Еж 1 *Australis*, HS 26 *Bataviae* в соответствии с МУ [4].

Сыворотку консервировали добавлением борной кислоты и стабилизировали смесью тиосульфата натрия и сахарозы до проведения стерилизующей фильтрации, разливали в ампулы по 1 мл и лиофилизировали.

Для изучения стабильности сывороток применяли множественный изотермический тест на ускоренное разрушение антител [5].

Результаты опытов подвергали статистической обработке по В. Монцевичюте-Эрингене [2].

Результаты и обсуждение

При определении специфической активности лептоспирозных сывороток к серогруппам *Javanica* и *Hebdomadis* выявили, что титры антител сывороток, полученных при иммунизации кроликов живой вирулентной и инактивированной прогреванием культурами, практически не отличались и достигали 1:12800 – 1:51200.

При изучении специфичности установлено, что лептоспирозные сыворотки, полученные при иммунизации кроликов живой вирулентной и инактивированной прогреванием культурами штамма *Veldrat Bataviae* 46 (серогруппа *Javanica*), не реагировали со штаммом *Kabura* (серогруппа *Hebdomadis*), и наоборот. Кроме того, сыворотки не реагировали с референсными штаммами других серогрупп: М-20 *Icterohaemorrhagiae*, Каширский *Canicola*, Помона *Pomona*, Москва V *Grippotyphosa*, 3705 *Sejroe*, Перепелицин *Tarassovi*, Akiyami A *Autumnalis*, Еж 1 *Australis*, HS 26 *Bataviae*.

Стабильность специфической активности является основным показателем выпускаемых диагностических сывороток. Поэтому посчитали целесообразным изучить термостабильность сывороток лептоспирозных сухих в тесте ускоренного разрушения антител при температуре 70 °С. Показатели термостабильности сывороток представлены в таблице.

Показано, что все кроличьи сыворотки проявили исключительную стабильность в течение 30 суток, титр антител оставался на уровне исходного. Используя результаты множественного изотермического теста и применив экспоненциальную регрессию [5] спрогнозировали, что срок годности сывороток лептоспирозных сухих составляет ≈ 5 лет. Установлено, что в тесте ускоренного разрушения антител стабилизатор повышает их устойчивость при хранении в условиях повышенных температур.

Таблица

Термостабильность лептоспирозных сывороток сухих в тесте ускоренного разрушения антител при температуре 70 °С

№№ кроликов	Иммунизация кроликов штаммами		Исходный титр антител	Обратные значения среднеарифметических титров антител в РМА через интервалы времени в сутках				Титры антител при температуре хранения 8 °С в течение 30 суток (контроль)
				10	20	25	30	
1	Живой культурой	<i>Veldrat Bataviae</i> 46	1:12800	11900±250	12600±256	11898±676	12200±176	1:12800
2			1:6400	7000±320	6985±500	6355±758	7245±350	1:6400
3		<i>Kabura</i>	1:12800	13300±381	12930±273	12672±101	12890±023	1:12800
4			1:12800	14440±325	13522±305	12744±656	12999±116	1:12800
5	Инактивированной культурой	<i>Veldrat Bataviae</i> 46	1:12800	14800±603	13563±212	13542±527	13963±802	1:12800
6			1:6400	7200±511	6800±509	6547±399	6809±301	1:6400
7		<i>Kabura</i>	1:25600	23900±330	25900±222	24566±452	25985±212	1:25600
8			1:51200	53800±425	54095±333	51453±526	50950±333	1:51200

Заключение

Специфическая активность и специфичность сывороток кроличьих лептоспирозных, полученных при иммунизации живой вирулентной и инактивированной прогреванием культурами возбудителя, не отличаются.

В экспериментальном производстве лептоспирозных сывороток возможно использование в качестве антигена биологически безопасных инактивированных штаммов, что исключает необходимость проведения работ в заражном блоке.

Срок годности кроличьей лептоспирозной лиофилизированной сыворотки с применением стабилизатора составляет 5 лет.

Литература

1. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней: СП 1.3.2322-08. – М.: Минздрав России, 2008. – 44 с.
2. Монцевичюте-Эрингене В. Статистическая обработка результатов // Патология, физиология и экспериментальная терапия. – 1964. – № 4. – С. 71-78.
3. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней // Практ. руководство. – М.: Шико, 2013. – С. 489-490.
4. Эпидемиология, диагностика и профилактика заболевания людей лептоспирозами: МУ 3.1.1128-02. – М.: Минздрав России, 2002. – 44 с.
5. Jameson P., Creiff D., Sidney E., Crossber C. Thermal stability of freeze-dried mammalian interferons: analysis of freeze-drying conditions and accelerated storage test for murine interferon // J. Criobiology. – 1979. – № 16. – P. 301-314.

Ответственный автор

Андреевская Нина Михайловна – старший научный сотрудник научно-производственного отдела ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора
Тел.: (3952)-22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.932:579.843.1Vibrio:57.063.8]-07(470+571)

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДЕТЕКЦИЯ ICE_s ЭЛЕМЕНТОВ СЕМЕЙСТВА SXT/R391 В ШТАММАХ *VIBRIO CHOLERAЕ*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РФ

М.В. Подшивалова¹, И.Б. Захарова¹, Я.А. Лопастейская¹, Л.М. Веркина²,
Н.А. Селянская², Д.В. Викторov¹

¹ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград;

²ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону

В работе представлены результаты исследований антибиотикорезистентных штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных на территории РФ в период 2009 – 2013 гг. В штаммах, устойчивых к триметоприму/сульфаметоксазолу, детектирован интегративный элемент (ICE) семейства SXT/R391. При типировании выявленных ICE в мультилокусной ПЦР показана их принадлежность к SXT^{ET} вариантам, несущим последовательности *suIII* и *dfrA1*.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, SXT элемент, полимеразная цепная реакция.

MOLECULAR DETECTION OF SXT/R391 ICES IN VIBRIO CHOLERAE STRAINS ISOLATED ON THE TERRITORY OF THE RUSSIAN FEDERATION

M. V. Podshivalova¹, I. B. Zakharova¹, Ya. A. Lopasteyskaya¹, L. M. Verkina², N. A. Selyanskaya², D. V. Viktorov¹

¹Volgograd Plaque Control Research Institute, Volgograd; ²Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don

The results of the studies of antibiotic resistant *Vibrio cholerae* strains isolated in Russia in 2009-2013 are presented. The presence of integrative element ICE of SXT/R391 family was detected trimethoprim/sulfamethoxazole-resistant strains. Using multilocus polymerase chain reaction the presence of SXTET variants carrying *sullIII*, *dfrA1* sequence was revealed.

Key words: *Vibrio cholerae*, SXT element, polymerase chain reaction (PCR)

Одними из известных типов мобильных генетических элементов бактерий являются ICEs (integrative conjugative elements). Данные элементы имеют в своем составе набор генов конъюгативного переноса и систем контроля удаления из хромосомы и интеграции в нее [1]. За счет этого ICEs способны к горизонтальному генетическому переносу, в результате которого могут передаваться детерминанты вирулентности, а также формироваться множественная устойчивость к антибиотикам. В настоящей работе основное внимание было уделено семейству элементов SXT/R391, встречающихся преимущественно у *Vibrio cholerae* и имеющих важное значение в распространении генов лекарственной устойчивости в популяциях холерного вибриона.

Целью данного исследования являлся анализ наличия последовательностей SXT/R391 в штаммах *V. cholerae*, выделенных в различных регионах РФ в 2009-2013 гг.

Материалы и методы

В работе использовали 54 штамма *V. cholerae* Eltor O1 из коллекции Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института, выделенные в различных регионах РФ в 2009 – 2012 гг., а также 65 штаммов *V. cholerae* non O1/O139, изолированных из внешней среды на территории Волгоградской области в 2013 г. Культуры *V. cholerae* выращивали на щелочном агаре (pH 7.8) при 37 °С. ДНК выделяли методом протеиназного лизиса по руководству [2]. Для ПЦР-детекции SXT/R391 элементов использовали праймеры, специфичные гену интегразы *int_{SXT}*. Амплификацию мишеней проводили по программе: прогрев 94 °С 2 мин, 40 циклов (94 °С 30 сек, 55 °С 30 сек, 72 °С 45 сек), финальная элонгация 72 °С 10 мин. Для молекулярного типирования вариантов SXT/R391 нами была использована мультипраймерная система, включающая набор олигонуклеотидов, специфичных гену интегразы *int_{SXT}*, гену устойчивости к сульфаметоксазолу *sullIII*, гену устойчивости к стрептомицину *strB* и детерминантам устойчивости к триметоприму – дигидрофолатредуктазам *dfr18* и *dfrA1*, характерным для вариантов SXT^{MO10} и SXT^{ET}, соответственно. Продукты ПЦР анализировали в 1,5 % агарозных гелях по стандартной методике [3].

Результаты и обсуждение

ПЦР-скрининг исследуемых штаммов с праймерами, специфичными *int_{SXT}*, выявил 3 штамма *V. cholerae* O1 Eltor, несущих ICE элементы семейства SXT/R391. Анализ данных штаммов в мультилокусной ПЦР продемонстрировал, что *V. cholerae* O1 Eltor 13740, 17827, 18826 содержат ICE элемент SXT^{ET} - типа, несущий последовательности *sullIII* и *dfrA1*. Сопоставление выявленных генетических профилей SXT элементов с профилями чувствительности к антибиотикам различных классов продемонстрировало наличие ожидаемых фенотипов резистентности у SXT⁺ штаммов.

В штаммах *V. cholerae* non O1/O139 ICE элемент семейства SXT/R391 содержался практически во всех исследуемых образцах, однако результаты типирования продемонстрировали его принадлежность к варианту ICE, отличному от типичных SXT^{MO10} и SXT^{ET}.

Заключение

Обнаружение последовательностей ICEs, принадлежащих к различным типам SXT/R391 элементов в исследованных антибиотикорезистентных штаммах *V. cholerae*, подтверждает важную роль данных генетических структур в формировании множественной устойчивости возбудителя холеры к антимикробным соединениям. Широкая распространенность ICEs семейства SXT/R391 у резидентной вибриофлоры свидетельствует о потенциальной возможности образования рекомбинантных ICEs, несущих новые комбинации детерминант устойчивости к антибиотикам.

Литература

1. Hastings P., Rosenberg S., Slack A. Antibiotic-induced lateral transfer of antibiotic resistance. – Trends Microbiol. – 2004. – Vol. 12, № 9. – P. 401-404.
2. Gene Print STR System. Technical Manual. – Promega Corp. – Madison, USA.
3. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д. Молекулярное клонирование. – Пер. с англ., М.: Мир, 1984. – 392 с.

Ответственный автор

М.В. Подшивалова – научный сотрудник Волгоградского противочумного института
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

ИНСТРУКЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ

При оформлении статей для публикации в «Дальневосточном журнале инфекционной патологии», редакционная коллегия просит соблюдать следующие правила

1. Редакционная коллегия принимает на рассмотрение статьи по вопросам медицинской микробиологии и биотехнологии, эпидемиологии, вакцинологии, экологии микроорганизмов, иммунологии, диагностики, клиники, лечения и профилактики инфекционных заболеваний человека.

2. Содержание всех статей, поданных в «Дальневосточный журнал инфекционной патологии», должно быть четким и понятным. Поставленные цели статьи должны соответствовать выводам. Текст и остальной материал статьи следует тщательно выверить.

3. Статья, поданная для возможной публикации в «Дальневосточный журнал инфекционной патологии», не должна быть ранее опубликована или стоять на рассмотрении для публикации в других журналах.

4. Все материалы, посланные для печати в «Дальневосточный журнал инфекционной патологии», будут рассмотрены рецензентами, выбранными из редакционной коллегии журнала. Рецензенты оставляют за собой право исправить стиль и грамматику поданной рукописи. Имена рецензентов конфиденциальны.

5. Статьи в «Дальневосточный журнал инфекционной патологии» подаются в электронном и бумажном виде. В электронном формате – по адресу bovlad@email.kht.ru или на электронном носителе (CD, DVD диск, флеш-накопитель). Бумажный вариант (2 экземпляра) высылается обычной почтой по адресу 680610, г. Хабаровск, ул. Шевченко, 2, Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора.

6. Перед тем как подать статью, пожалуйста, убедитесь, что её стиль соответствует стилю статей, опубликованных в «Дальневосточном журнале инфекционной патологии», а также правилам, описанным ниже. Тщательно проверьте свою работу на наличие ошибок и неточностей, так как они потенциально могут присутствовать в опубликованной рукописи.

7. При подаче статьи необходимы следующие документы:

7.1. Официальное сопроводительное письмо учреждения, в котором выполнена данная работа, заверенное подписью руководителя и круглой печатью. В сопроводительном письме авторы должны указать, что данная работа не была ранее опубликована и не стоит на рассмотрении для публикации в других журналах.

7.2. Статья набирается шрифтом Times New Roman, размером 14 пт, междустрочный интервал – 1,5, отступ первой строки абзаца 1,25 см., все поля на листе – 2 см. Электронный вариант документа представляется в формате Microsoft Word версии 97 и выше. Текстовый файл должен быть сохранён с расширением doc. Файл именуется по фамилии первого автора (Иванов.doc).

7.3. Листок «Сведения об авторах» с собственноручными подписями каждого из авторов.

7.4. В случае повторной подачи исправленной статьи, должны быть приложены комментарии рецензентов (подаётся исправленный вариант рукописи, а не оригинал).

8. На титульном листе указываются следующие данные по порядку: название статьи (заглавными буквами, полужирным начертанием), колонтитул, имена авторов с указанием принадлежности авторов надстрочными цифрами, принадлежность авторов (полное название учреждения, город), от 3 до 5 ключевых слов, полный почтовый адрес, адрес электронной почты, телефон и факс ответственного автора. Название статьи должно быть коротким и информативным, отражающим сущность рукописи.

9. Объем оригинальных статей не должен превышать 4500 слов, не считая титульного листа, резюме, списка литературы и объяснения к рисункам. Статьи, превышающие данный объем, по решению редакционной коллегии возвращаются авторам на исправление.

10. Обзорная статья не должна превышать 6000 слов, не считая титульного листа, резюме, списка литературы и объяснения к рисункам.

11. «Случай из практики» должен представлять новую информацию или крайне редкий случай, получивший единичные описания в мировой литературе. «Случай из практики» не должен превышать 2500 слов, не считая титульного листа, резюме, списка литературы и объяснения к рисункам.

12. «Письмо редакционной коллегии» не должно превышать 500 слов со списком литературы не более 5 источников, возможно наличие иллюстрации и таблиц (не более двух), если они помогают

раскрытию темы письма. «Письмо редакционной коллегии» должно содержать важную информацию в определённой научной области.

13. Статья должна содержать резюме и список ключевых слов. Для оригинальной статьи объём резюме не должен превышать 250 слов, для «Случая из практики» - 150 слов.

14. Оригинальные исследования должны иметь следующие разделы: резюме и ключевые слова, введение, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, благодарность (при наличии), литература.

14.1. Резюме и ключевые слова. Резюме следует писать без дробления на разделы и без ссылок на литературные источники. По прочтению резюме у читателя должно сложиться понимание о проделанной исследовательской работе авторов.

14.2. Введение. Включает суть рассматриваемой проблемы, актуальность и цель исследования.

14.3. Материалы и методы. Необходимо детально описывать проводимые исследования для их возможного воспроизведения в другом институте. Однако допускается ссылка(и) на литературный источник(и) касательно методов, используемых в статье, если они были подробно описаны ранее. При применении медицинского оборудования, инструментария, играющего важную роль в получении результатов исследования, авторам следует указать имя производителя. При описании лекарственных средств следует написать их название (международное и коммерческое), а также имя производителя. Статистический анализ применяется во всех случаях, когда это возможно с приведением названия использованных статистических методов.

14.4. Результаты и обсуждение. Таблицы и рисунки в данном разделе не должны быть чрезмерно описаны в тексте статьи для того, чтобы избежать возможных повторов. В обсуждении показать значение полученных результатов и их связь с результатами предыдущих авторов. Не следует повторять данные, описанные выше в разделе «результаты».

14.5. Заключение. Заключение должно согласовываться с поставленной целью исследования. В данном разделе следует указать дальнейшие пути по реализации изучаемой проблемы, если это приемлемо.

14.6. Благодарность (при наличии). Также следует указать источник финансирования исследования, включая спонсорскую помощь.

14.7. Список литературы. Авторы ответственны за точность написания списка литературы. Подробная инструкция по стилю написания списка литературы представлена ниже.

14.8. Таблицы следует нумеровать в порядке их упоминания в тексте и размещать их в основном тексте статьи в месте упоминания. Нумерация и заголовки таблиц пишутся сверху неё. Содержание таблицы не должно дублировать содержание основного текста рукописи. Таблицы должны состоять как минимум из двух столбцов, имеющих заглавие. При наличии аббревиатур в таблице их следует объяснить в пояснении к ней. Авторам рекомендуется сверить соответствие данных в таблице с данными, представленными в рукописи, включая % и значение *P*.

14.9. Объяснения к рисункам должны чётко описывать представленные изображения.

15. Рисунки следует нумеровать в порядке их упоминания в тексте и размещать их в основном тексте статьи в месте упоминания. Нумерация и названия рисунков пишутся ниже рисунка. Не допускается наличие рисунка без его упоминания. Приемлемое разрешение для цветных рисунков составляет 300 dpi, для черно-белых рисунков - 1200 dpi, выполненных в формате TIF. Заимствованные рисунки и изображения должны сопровождаться письменным разрешением, которое подаётся в редакцию журнала вместе со статьёй (смотри ниже раздел «Заимствование»). Кроме того, следует указать изначальный литературный источник заимствованного материала в объяснении к рисункам, с библиографической ссылкой на источник. Для обозначения секторов и столбцов на диаграммах используется черно-белая штриховка. Применение трёхмерных гистограмм не рекомендуется, если одно из измерений гистограмм не несёт в себе информации. При гистологических окрасках следует указывать используемую технику окраски в описании. Все рисунки и графические изображения, а также обозначения в них должны быть чёткими с высоким контрастом.

16. Авторы могут использовать общепринятую аббревиатуру без разъяснений. При использовании нестандартной аббревиатуры авторам следует расшифровать её значение при первом появлении в тексте. Просим принять во внимание, что чрезмерное использование аббревиатур приводит к затруднению понимания статьи.

17. В публикациях, изданных в «Дальневосточном журнале инфекционной патологии», используются только единицы СИ.

18. Авторам рекомендуется избегать голословности, каждое значимое смысловое высказывание следует подтверждать литературным источником. Библиографические ссылки должны быть пронумерованы, в тексте рукописи они даются в квадратных скобках в строгом соответствии со списком литературы. Список составляют строго по алфавиту (сначала работы отечественных авторов, затем - иностранных). Работы отечественных авторов, опубликованные на иностранных языках, помещаются среди работ иностранных авторов в алфавитном порядке. Работы иностранных авторов, опубликованные на русском языке и кириллице, помещаются среди работ отечественных авторов. Ссылки

на несколько работ одного автора указывают в порядке возрастания даты публикации. В статье, написанной коллективом от 2 до 4 авторов, указывают фамилии всех и помещают в список по фамилии первого автора. Статья, написанная коллективом авторов более 4 человек, помещается в списке литературы по фамилии первого автора с добавлением фамилий еще двух авторов, далее указывают «и др.». При описании журнальных статей приводят общепринятое сокращенное название журнала, год, том, номер страницы; при описании книг – название, место и год издания. Собственные неопубликованные наблюдения должны быть указаны в тексте как «неопубликованные наблюдения», и не включаются в список литературы.

19. Заимствование. Заимствованные рисунки, таблицы, длинные цитаты являются интеллектуальной собственностью авторов и издательств, опубликовавших ту или иную работу, включающую заимствованный материал, поэтому для использования данного материала необходимо письменное согласие автора и издательства, присланное во время подачи статьи.

20. Статьи, оформленные не по правилам, непрофильные и отклоненные по рецензии, авторам не возвращаются (посылается сообщение о решении редакционной коллегии и рецензия).

21. Плата за публикацию статей не взимается.

22. Авторам, получившим право на публикацию в «Дальневосточном журнале инфекционной патологии», высылается бесплатно один номер журнала, содержащего их статью.

Правила оформления литературы

Предлагаем Вашему вниманию правила оформления списка литературы, используемой при написании статьи.

1. Общие положения

1.1. В тексте ссылки на список литературы должны быть указаны арабскими цифрами, помещенными в квадратные скобки. Например, [1, 2].

1.2. Работы, находящиеся в печати, в список литературы не включаются.

1.3. Номерные ссылки на литературу в тексте приводятся в соответствии со списком литературы.

1.4. Списки литературы составляются в алфавитном порядке, сначала приводятся работы отечественных авторов, затем — иностранных.

1.5. Работы отечественных авторов, опубликованные на иностранных языках, помещаются среди работ иностранных авторов в алфавитном порядке. Работы иностранных авторов, опубликованные на русском языке и кириллице, помещаются среди работ отечественных авторов.

1.6. Ссылки на несколько работ одного автора приводятся в порядке возрастания даты публикаций.

1.7. На каждый источник списка литературы должна быть ссылка в тексте.

2. Описание статей, опубликованных в журналах, сборниках и других изданиях

2.1. Если статья написана одним, двумя, тремя или четырьмя авторами, указывают фамилии всех авторов.

2.2. Статья, написанная коллективом более четырех авторов, помещается в списке литературы по фамилии первого автора, затем приводятся еще два автора, а далее пишут "и др.". В случае цитирования иностранных источников вместо "и др." пишется "et al.". Например: McKinsty KK, Strutt TM, Buck A, et al. IL-10 deficiency unleashes an influenza-specific Th17 response and enhances survival against high-dose challenge // J. Immunol. – 2009. – № 182, Vol. 12. – P. 7353-7363.

2.3. Сокращение названий иностранных журналов должно соответствовать общепринятому сокращению в соответствии с International List of Periodical Title World Abbreviations.

2.4. При описании статей из журналов и других изданий приводятся фамилии и инициалы авторов, название журнала (или другого источника), год, том, номер, страницы от и до. Все данные отделяются друг от друга точкой и тире, номер от тома отделяется запятой. После названия статьи перед названием журнала ставятся две косые черты.

2.5. В ссылках на отечественные источники том обозначается буквой Т, страница буквой С. (буквы заглавные). При ссылках на иностранные источники том обозначают Vol., страницы заглавной буквой Р.

2.6. При описании статей из сборников указываются в следующей последовательности: фамилия, инициалы автора, полное название сборника, место (город) издания, год издания, страницы от и до. Место издания отделяется от года издания запятой, остальные данные — точкой и тире.

3. Описание книг

3.1. Выходные данные монографий указываются в следующей последовательности: фамилия, инициалы автора, полное название книги, номер повторного издания (при необходимости), эти

данные отделяются друг от друга точкой и тире. Далее указываются место и год издания, которые отделяются друг от друга запятой.

3.2. В монографиях, написанных двумя, тремя или четырьмя авторами, указываются все авторы. В библиографическом списке такая монография размещается по фамилии первого автора.

3.3. Монографии, написанные коллективом более четырех авторов, помещаются в списке литературы по первому слову заглавия книги. После заглавия книги ставится косая черта, указываются фамилии первых трех авторов, далее "и др.". В этих случаях инициалы указываются после фамилий авторов, далее указываются место и год издания.

3.4. В монографиях иностранных авторов, изданных на русском языке, после фамилии автора и заглавия книги ставится двоеточие и указывается язык оригинала.

3.5. Титульных редакторов книг (отечественных и иностранных) указывают вслед за заглавием книги через косую черту после слов Под ред., Ed., Hrsg. Инициалы ставят перед фамилией редактора. В списке литературы такие ссылки размещаются по первому слову названия книги.

4. Описание авторефератов диссертаций

4.1. При описании автореферата диссертаций осуществляется следующая последовательность: фамилия, инициалы автора, полное название автореферата. После двоеточия с заглавной буквы сообщается, на соискание какой степени защищается диссертация и в какой области науки, место и год издания.

5. Описание авторских свидетельств и патентов

5.1. Описание осуществляется в следующей последовательности: сокращенно слова Авторское свидетельство (А. с.) или Патент (Пат.), номер авторского свидетельства или патента, страна, название; через косую черту указываются фамилия, инициалы автора, источник публикации.

АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ АВТОРОВ

Агапитов Д.С. 9	Василенко Н.Ф. 30, 66	Иванов Л.И. 91
Агафонов А.П. 88	Вержущкий Д.Б. 18, 22	Иванова Т.А. 146
Адъяасаурэн З. 22	Веркина Л.М. 152	Игнатъева М.Е. 119
Алленов А.В. 33	Верхозина М.М. 82	Избанова У.А. 63
Амагырова С.Ю. 76	Викторов Д.В. 71, 128, 152	Илюхин В.И. 128
Амгаланбаяр Б. 77	Воронцова А.Д. 39, 47	Илюхин Е.В. 144
Андаев Е.И. 94, 116	Высочина Н.П. 85	
Андреевская Н.М. 150		Казанова В.Б. 82
Антонов В.А. 71, 128, 132	Гаврилова О.В. 146	Казорина Е.В. 73
Атлас А.Г. 150	Гаевская Н.Е. 103	Каравянская Т.Н. 119
Ахмеденов К.М. 98	Галацевич Н.Ф. 18	Карнаухов И.Г. 39
Аязбаев Т.З. 98	Ганболд Д. 22	Касьян Ж.А. 73
	Ганхуяг Ц. 22	Качкина Г.В. 103
Байгаламаа Б. 36	Гарбуз Ю.А. 119	Кизима О.С. 42
Байронова Л.В. 76	Германчук В.Г. 101	Ким Е.Э. 134
Балахонов С.В. 22, 96, 119, 146	Голицина Л.Н. 119	Кириллова А.В. 85
Балахонцева Л.А. 119	Головнева С.И. 111	Киселева Е.Ю. 50, 150
Барков А.М. 113	Голубева Е.М. 119	Ковалев Д.А. 111
Баркова И.А. 113	Гордейко Н.С. 33	Ковалева Н.И. 18
Батурин А.А. 128	Горина М.О. 116	Ковальский А.Г. 85
Батцэцэг Ж. 36	Горшенко В.В. 53, 60	Козлова И.В. 82
Бахметьева С.В. 91	Горяев А.А. 109	Копылов П.В. 39, 47, 119
Баяр Ц. 22, 36	Грижебовский Г.М. 9	Корзун В.М. 11, 15
Безгодов И.В. 82		Корита Т.В. 119
Белицкая Л.И. 128	Давыдов Д.С. 109	Кормилицына М.И. 58
Белозерова Н.Б. 91	Данчинова Г.А. 82	Корнева А.В. 146
Белых К.А. 94	Дарижапов Б.Б. 119	Короткоручко О.И. 42
Белькова С.А. 96	Демидова Т.Н. 53, 58, 60	Корсакова И.И. 128, 137
Билько Е.А. 73	Денисов А.В. 11, 15	Коршунова Н.В. 119
Богомазова О.Л. 82	Дмитриева Г.М. 68	Косилко С.А. 119
Боднев С.А. 88	Добровольский А.А. 53	Котова В.О. 119
Бодрых О.Б. 146	Долгова Т.М. 146	Котова И.В. 94
Бойко И.А. 42		Кравец Е.В. 116
Болдырев А.Н. 88	Евтушок Г.А. 68	Красовская Т.Ю. 73
Бондарев В.П. 109	Евченко Ю.М. 9	Крахмалев К.В. 26, 42
Бондарева О.С. 128	Егембердыева Р.А. 28	Куделина А.М. 139
Бондаренко А.П. 119	Ермаков А.В. 66	Кудрякова Т.А. 103
Борисов С.А. 42, 50, 116		Куклев В.Е. 73
Борисова Т.И. 94	Жуков К.В. 79	Кулаков М.Я. 128
Бородай Н.В. 71, 79	Журавлев Я.А. 91	Куличенко А.Н. 66
Бренёва Н.В. 50, 150		Кумпан Л.В. 28
Бугоркова С.А. 106	Загоскина Т.Ю. 146	Куница Т.Н. 63
Будченко А.А. 142	Зайцева Т.А. 119	Курганова О.П. 26, 116, 119
Бурдинская Е.Н. 26, 42	Замарина Т.В. 128, 134, 137	Курепина Н.Ю. 15
Бутакова Л.В. 119	Захарова И.Б. 128, 152	Кутырев В.В. 39
	Зверева Н.Г. 68	
	Зверева Т.В. 33	
	Здановская Н.И. 91	

Ларичев В.Ф. 91	Пак В.А. 71, 79	Тайкова Т.С. 146
Лемасова Л.В. 128, 132	Перепелица А.А. 26, 42, 119	Таран Т.В. 30
Лемешевская М.В. 94	Пивоварова И.Г. 85	Тарасов М.А. 39, 47
Липницкий А.В. 113	Плеханова В.И. 128	Терехова И.В. 73
Лопастейская Я.А. 152	Погасий Н.И. 71, 79	Терновой В.А. 88
Лукашев А.Н. 119	Подшивалова М.В. 152	Тетерятникова Н.Н. 128
Лялина О.К. 42	Попов В.П. 53	Ткаченко Г.А. 71, 113, 132
Ляпустина Л.В. 9	Попов Н.В. 39, 47	Ткаченко С.В. 18, 128
Мазурова И.Ю. 142	Попова Ю.О. 146	Толоконникова С.И. 39
Майканов Н.С. 63, 98	Порохня С.В. 113	Топорков А.В. 39
Македонова Л.Д. 103	Поршаков А.М. 39, 47	Топорков В.П. 39
Малецкая О.В. 30, 66	Присяжнюк Е.Н. 85, 119	Транквилевский Д.В. 58
Мананков В.В. 71, 79	Прохватилова Е.В. 128, 139	Троценко О.Е. 85, 119
Марков Е.Ю. 146	Путинцева Е.В. 71, 79	Туманов Ю.В. 88
Мека-Меченко В.Г. 63	Пуховская Н.М. 91	Удовиков А.И. 47
Мещерякова И.С. 53, 58, 60	Пьянков О.В. 88	Ульшина Д.В. 111
Мжельская Т.В. 85	Разенькова Е.А. 116	Успенский В.Б. 82
Микрюкова Т.П. 88	Резник В.И. 119	Уткин Д.В. 101
Мироненко Е.С. 119	Романенко Е.Г. 82	Уткина О.М. 91
Миряшкин Н.А. 82	Рубцова А.А. 119	Уянга Б. 36
Михайлова В.А. 150	Рудаков Н.В. 28	Филатов Е.И. 15
Михайлова Т.В. 58	Рудник М.П. 109	Фомина Л.А. 11
Михайлюк Н.И. 98	Савченко С.С. 128, 132	Ханхареев С.С. 76
Морозов И.М. 42	Садовская В.П. 63	Харченко Т.В. 30
Мягмар Ж. 22	Самойленко И.Е. 28	Храпова Н.П. 128, 134, 137
Найденова Е.В. 73	Самчук А.В. 42, 116	Цэрэнноров Д. 22, 36
Нехрюк Т.Ю. 26, 42, 116	Сапега Е.Ю. 119	Чапоргина Е.А. 146
Никитин А.Я. 18, 33, 42 116	Саяпина Л.В. 109	Чеботарева Е.В. 111
Новикова Н.А. 119	Севостьянова А.В. 94	Чепижко Т.Г. 68
Новицкая И.В. 128, 139	Селянская Н.А. 152	Чипанин Е.В. 15
Новоженина А.В. 113	Семенко О.В. 66	Чумаков А.В. 18
Носков А.К. 50, 119	Сенина Т.В. 144	Чумакова Н.А. 18
Нямсурэн М. 36	Сеничкина А.М. 73	Шаракшанов М.Б. 50
Окунев Л.П. 42	Сидорова Е.А. 94, 116	Шестопалов Н.П. 39, 47
Онищенко Г.Г. 119	Смелянский В.П. 71, 79	Шилов М.М. 47
Орешкина Н.Д. 68	Соколов С.Н. 88	Шобоева Р.С. 46
Осина Н.А. 109	Соловьев Е.А. 109	Шпынов С.Н. 28
Осипова Т.Н. 82	Солодкий В.В. 88	Шубникова Е.В. 144
Отгонбаатар Д. 22, 77	Спицын А.Н. 101	Щербакова С.А. 73
Отт В.А. 119		Янович В.А. 39, 47, 119
Очековская Н.Ю. 68		Ярыгина М.Б. 11



www.vector-best.ru

НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ:

- ВИЧ-инфекция
- Вирусные гепатиты В и С
- Инфекции, передаваемые половым путем
- TORCH-инфекции
- Герпесвирусные инфекции
- Папилломавирусные инфекции
- Природно-очаговые инфекции
- Мультиплексные наборы
- Наборы для выделения нуклеиновых кислот

*Всегда точно,
всегда во**ВРЕМЯ!***

 РеалБест



www.vector-best.ru

НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ:

- Ферменты
- Липиды
- Субстраты
- Электролиты
- Калибровочные образцы
- Контрольные материалы

*Лучшее решение
для профессионалов!*



Подписано в печать 03.06.2014

Сдано в набор 06.06.2014

Бумага писчая. Печать офсетная. Формат 60x84

Тираж 500 экз. Бесплатно

Издательство: ООО «Агора»

Адрес издательства: 681024, г. Комсомольск-на-Амуре, ул. Ленина, 39