Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека

Федеральное казенное учреждение здравоохранения
«Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени
научно-исследовательский противочумный институт»

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ, МИКРОБИОЛОГИИ, ДИАГНОСТИКИ И ПРОФИЛАКТИКИ ХОЛЕРЫ И ДРУГИХ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ
Всероссийской научно-практической конференции
с международным участием, посвященной 90-летию
ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт
Роспотребнадзора
(7–8 ноября 2024 года, г. Ростов-на-Дону)

Ростов-на-Дону
2024

ББК 28+52.6+52.7+53.0
А43

Редакционная коллегия:
В.В. Агафонова, М.В. Полеева, О.Ф. Кретенчук, В.А. Коршенко, Э.А. Москвитина, Л.П. Алексеева, В.Д. Кругликов, Н.В. Павлович, Е.В. Монахова, С.О. Водопьянов, И.А. Иванова, О.В. Дуванова, Е.И. Марковская

Рецензенты: д.м.н., профессор Т.И. Твердохлебова, к.м.н. В.В. Баташев

А43 Актуальные вопросы эпидемиологии, микробиологии, диагностики и профилактики холеры и других инфекционных болезней // Сб. научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора (7–8 ноября 2024 года, г. Ростов-на-Дону) / Под ред. Н.Е. Гаевской. — Ростов-на-Дону, 2024. — 426 с.

ISBN 978-5-98615-636-1

Сборник посвящен широкому кругу актуальных вопросов эпидемиологии, микробиологии, иммунологии, клиники и диагностики особо опасных, природно-очаговых и паразитарных болезней. Представленные в сборнике результаты исследований имеют несомненный научный и практический интерес, окажут помощь в работе специалистов органов и учреждений Роспотребнадзора, практикующих врачей, преподавателей, студентов медицинских вузов, всех специалистов, работающих в сфере охраны здоровья населения.

© ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, 2024
© ООО Мини Тайп, 2024

РОСТОВСКИЙ-НА-ДОНУ ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ: ДОРОГА ДЛИНОЮ В 90 ЛЕТ

Гаевская Н.Е.[1], Агафонова В.В.[1,2], Полеева М.В.[1], Кретенчук О.Ф.[1], Коршенко В.А.[1]

[1] ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия
[2] ФГБОУ ВО Донской государственный технический университет, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

В 2024 г. исполнилось 90 лет со дня основания Ростовского-на-Дону противочумного института, особенностью организации и планирования деятельности которого с момента создания является комплексный подход к реализации поставленных задач и решению вопросов обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения страны. За годы работы институт стал многофункциональным научно-исследовательским учреждением, сотрудники которого решают вопросы совершенствования эпидемиологического надзора, разработки новых средств и методических приемов лабораторной диагностики особо опасных и других инфекционных болезней, изучают молекулярно-генетические свойства возбудителей, взаимодействуя с другими структурами, обеспечивающими санитарно-эпидемиологическое благополучие населения, и оказывая практическую и консультативно-методическую помощь [Носков А.К. и др., 2024].

Цель

Формирование краткого обзора сведений о деятельности Ростовского-на-Дону противочумного института с момента основания до настоящего времени, учитывая роль руководителя, который определял перспективы развития научно-исследовательских работ и пути решения поставленных перед институтом задач.

Материалы и методы

Анализ архивных материалов, библиотечного фонда института и литературных источников из баз данных электронных библиотек *E-library*, КиберЛенинка и др.

Результаты и обсуждение

Ростовский-на-Дону противочумный институт образован в 1934 г. в результате реорганизации Ростовского городского бактериологического института и Ростовской краевой противочумной станции (Приказ НКЗ РСФСР от 14.04.1934 № 152 и Приказ Уполномоченного Совета Труда и Обороны от 05.06.1934 № 1). Директором института был утвержден Любашевский М.И. Цель создания института — планомерная разработка и осуществление мероприятий по ликвидации эпизоотий чумы на территории Азово-Черноморского края и Северного Кавказа. Этот период связан с такими именами крупных ученых, как Жуков-Вережников Н.Н., Руднев Г.П., Ступницкий П.Н., Тинкер И.С. Ростовский-на-Дону противочумный институт стал одним из ведущих противочумных учреждений на юге России. Сотрудники приняли на свои плечи трудную работу по борьбе с природными очагами чумы на юго-востоке нашей страны, проведя в короткий срок исследования особенностей экологии различных грызунов, их эктопаразитов и разработав новые методы борьбы с носителями чумы в природе. Такой опыт активного воздействия на природный очаг чумы получил высокую оценку правительства: девять сотрудников института стали лауреатами Государственной премии [Титова С.В., 2019].

За 90 лет существования института несколько раз менялись его официальное название и подчиненность, но деятельность специалистов всегда была направлена на борьбу с особо опасными и природно-очаговыми инфекционными болезнями, их диагностику и профилактику, а также обеспечение биологической безопасности населения и противодействие биотерроризму. Как известно, эффективность работы учреждения во многом зависит от руководителя, который не только контролирует выполнение плана научно-исследовательских работ, держит в своих руках все нити управления коллективом, но и является орга-

низатором и координатором совместной деятельности. Поэтому говоря об истории института, рассмотрим этапы его развития в соответствии с тем, кто в этот период стоял во главе, принимал самые важные решения (табл.).

Таблица

Руководители Ростовского-на-Дону противочумного института [Носков А.К., 2024]

№ п/п	Период, гг.	Ф.И.О. директора института	Срок полномочий, гг.	Ф.И.О. заместителя директора института	Срок полномочий, гг.
1	1930–1970	Любашевский М.И.	1934–1939	Жуков-Вережников Н.Н.	1936–1941
		Шишкин А.К.	1939–1964	Ступницкий П.Н.	1941–1943
				Тинкер И.С.	1943–1953
				Дрожевкина М.С.	1953–1965
		Домарадский И.В.	1964–1973	Рассудов С.М.	1965–1967
2	1970–2010	Милютин В.Н.	1973–1985	Титенко М.Т.	1967–1986
		Новохатский А.С.	1986–1988	Лебедева С.А.	1986–1988
		Ломов Ю.М.	1988–2010	Мишанькин Б.Н.	1988–2004
				Подосинникова Л.С.	2004–2007
3	с 2010 по н. вр.	Мазрухо А.Б.	2011–2013	Телесманич Н.Р.	2007–2014
		Титова С.В.	2013–2019	Кругликов В.Д.	2014–2015
		Носков А.К.	2019–2024	Чемисова О.С.	2016–2024

В трудные годы Великой Отечественной войны и послевоенный период, когда специалисты института принимали активное участие в обеспечении эпидемического благополучия в войсках Южного направления, в прифронтовой полосе и на освобожденных от оккупантов территориях, институт возглавлял Шишкин А.К., несомненной заслугой которого является сохранение института в это страшное время. С первого дня войны была проведена коррекция в работе: помимо организации мероприятий по местной противовоздушной обороне, активного участия в проведении оборонно-укрепительных работ и в обеспечении нужд фронта, появились новые направления научно-исследовательской деятельности (изучение раневых инфекций, оптими-

зация способов дезинфекции и другие). В 1943 г. после возвращения института из эвакуации в освобожденный Ростов-на-Дону проводили не только восстановительные работы, создавая при этом новые структурные подразделения (противохолерное и противотуляремийное отделение), но и научные исследования, направленные на изучение эпизоотологии чумы, экологии сусликов и способов их истребления, изучение биологии чумного микроба и его бактериофага, изучение патогенеза, клиники чумы и иммунитета к этой инфекции и др. [Носков А.К., 2020].

За образцовое выполнение задания военного командования и Наркомздрава СССР по противоэпидемическому обеспечению войск и населения Шишкин А.К. был награжден орденом «Красной Звезды», 20 сотрудников института — медалью «За оборону Сталинграда», 30 сотрудников — медалью «За доблестный труд в Великой Отечественной войне 1941—1945 гг.».

Мировым достижением является создание на базе института Эльбертом Б.Я., Тинкером И.С., Пучковой Т.И. и Кальк М.Е. на основе штамма Гайского Н.А. живой туляремийной вакцины, использование которой в 1950-е годы для специфической профилактики инфекции существенно снизило заболеваемость туляремией в стране. В дальнейшем изучение влияния ревакцинации живой туляремийной вакциной на показатели иммунитета у людей позволило внести коррективы в сроки ревакцинации [Аронова Н.В. и др., 2014].

С 1964 г. по 1973 г. институт возглавлял Домарадский И.В. Под его руководством были проведены фундаментальные исследования в области биохимии, генетики, молекулярной биологии возбудителей чумы и других особо опасных инфекций. Обеспечение биологической безопасности всегда являлось важной задачей института. Деятельность специалистов в этом направлении привела к идее создания специализированных мобильных противоэпидемических бригад (СПЭБ) (Приказ Министерства здравоохранения СССР от 30.09.1963 № 466). Большая работа проведена специалистами СПЭБ в то время: осуществление комплекса противохолерных мероприятий в 60-е годы в республиках Средней Азии, локализация и ликвидация вспышек холеры в Астрахани (1970 г.), Одессе (1970 г.), Керчи (1970 г.), Донецке (1971 г.), устранение последствий землетрясения в Армении (1988 г.) и др.

Необходимо отметить, что в 1970 г. на юге СССР возникла эпидемия холеры, в борьбе с которой за научные и практические достижения институт в 1971 г. получил статус головного по проблеме «Холера», в связи с чем на него были возложены задачи координации исследований по созданию эффективных средств и методов диагностики, лечения, специфической и неспецифической профилактики, а также обеспечению эпидемиологического надзора за этой инфекцией. Разработка сотрудниками института отечественного препарата «Глюкосолан» для оральной регидратационной терапии холеры была признана крупным достижением медицины XX столетия.

С 1973 г. под руководством директора института Милютина В.Н. получило развитие новое направление по конструированию сухих питательных сред для культивирования и диагностики возбудителей особо опасных инфекций и некоторых других патогенных микроорганизмов; заложены научные основы санитарной охраны границ и территорий страны. За заслуги в организации борьбы с особо опасными инфекционными болезнями в 1984 г. Указом Президиума Верховного Совета СССР Ростовский-на-Дону противочумный институт награжден орденом Трудового Красного Знамени.

С 1986 г. по 1988 г. институт возглавлял Новохатский А.С., который внес весомый вклад в развитие многих научных направлений и способствовал внедрению в работу новых методов исследований (гибридомная технология, ПЦР, ИФА и др.). Наличие квалифицированных специалистов и необходимого оборудования в Ростовском-на-Дону противочумном институте позволили создать коллекцию высокоспецифичных стабильных гибридом-продуцентов моноклональных антител, на основе которых в разные годы были разработаны экспериментальные диагностические препараты для выявления возбудителей туляремии, чумы, холеры и др. [10].

В течение 23 лет (1988–2010) институт возглавлял Ломов Ю.М., который направлял основные усилия на реализацию потенциала института как головного методического центра страны по холере, организацию лабораторной службы, противоэпидемических и профилактических мероприятий в очагах холеры в стране и за рубежом. Юрий Михайлович координировал разноплановые исследования, посвященные всестороннему изуче-

нию возбудителя холеры. В эти годы был разработан принцип районирования нашей страны по типам эпидемических проявлений холеры, что позволило дифференцировать объем и характер противоэпидемических мероприятий. С 1989 г. в институте функционирует Центр патогенных для человека вибрионов. Коллекция фагов позволила специалистам института разработать схему фаготипирования холерных вибрионов, которая была признана ВОЗ и используется в практике.

С 2011 г. по 2013 г. директором института был Мазрухо А.Б., который провел актуальную широкомасштабную работу по модернизации института с учетом современных требований биологической безопасности по преобразованию и переоснащению СПЭБ согласно новым задачам. Алексей Борисович продолжает трудиться в институте, возглавляя лабораторию питательных сред.

В течение шести лет во главе института стояла Титова С.В. (2013–2019), под руководством которой были продолжены традиционные научные направления, активизированы исследования по определению эпидемического и персистентного потенциала штаммов холерного вибриона. Основной областью деятельности Светланы Викторовны было и остается изучение экологии холерных вибрионов. Титова С.В. продолжает трудиться в институте в лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций.

Под руководством Носкова А.К., который возглавлял институт с 2019 г. по 2024 г., проведены исследования по совершенствованию тактики и разработки алгоритмов обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия на территории субъекта Российской Федерации, в том числе в условиях экстраординарного события на территории сопредельного государства и в условиях пандемического распространения болезней. Алексей Кимович активно внедрял в работу института высокопроизводительное секвенирование и переход к геномному эпидемиологическому надзору. Необходимо отметить вклад Носкова А.К. в работу Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (ВНПОЭМП). Под его председательством увеличилось количество членов Ростовского отделения ВНПОЭМП и к 2024 г. составило 342 спе-

циалиста (на 40% больше, чем в 2018 г.), повысилась посещаемость научно-практических и образовательных мероприятий, организованных в последние годы под эгидой ВНПОЭМП при участии профильных учреждений Донского региона. Особое внимание Алексей Кимович уделял молодым специалистам: был организован научно-практический кружок для студентов, регулярно проводились конкурсы научных работ молодых ученых. Активно развивалось международное сотрудничество: специалисты института принимали участие в ликвидации вспышки острых кишечных инфекций в Республике Конго, в рабочих поездках в институт гигиены им. Рафаэля Ранхеля в г. Каракас (Боливарианская Республика Венесуэла). Безвременный уход из жизни Носкова А.К. вызвал искреннюю скорбь у сотрудников института. Весомый вклад в обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения страны принесли глубокое уважение и признание коллег. Алексей Кимович «победил» смерть, потому что специалисты различных учреждений нашей страны продолжают его дело.

Заключение

В настоящее время в ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора функционируют два референс-центра — по мониторингу за холерой и туляремией, Центр индикации возбудителей инфекционных болезней I–II групп патогенности и обеспечения противоэпидемической готовности, Испытательный лабораторный центр, организация-депозитор по депонированию фагов патогенных бактерий. Специалисты Ростовского-на-Дону противочумного института под руководством врио директора Н.Е. Гаевской продолжают решать широкий спектр задач по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения Ростовской и вновь обазованных областей (ЛНР, ДНР и др.), бережно храня и передавая традиции от одного поколения ученых к другому.

Список литературы

1. *Аронова Н.В., Оноприенко Н.Н., Цимбалистова М.В., Павлович Н.В.* Сравнительный анализ показателей гуморального и клеточного специфического иммунитета у людей, иммунизированных живой туляремийной вакциной //

Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2014. — № 5. — С. 32–37.
2. *Кретенчук О.Ф.* Отечественные средства диагностики особо опасных инфекций на основе моноклональных антител // Проблемы особо опасных инфекций. — 2021. — № 4. — С. 35–45. — DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-35-45
3. *Носков А.К., Ковалев Е.В., Карпущенко Г.В., Чемисова О.С., Кретенчук О.Ф., Полеева М.В., Носкова О.А., Глущенко Е.И., Твердохлебова Т.И., Квасов А.Р.* Научно-практическое сотрудничество Ростовского-на-Дону противочумного института длиною в 90 лет // Медицинский вестник Юга России. — 2024. — № 15(2). — С. 135–141. — DOI: 10.21886/2219-8075-2024-15-2-135-141
4. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт — 85 лет / Под ред. С.В. Титовой. — Ростов н/Д: Мини Тайп, 2019. — 368 с.
5. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Довоенный период и годы Великой Отечественной войны. Исторические хроники / Под ред. директора института А.К. Носкова. — Ростов н/Д: Мини Тайп, 2020. — 104 с.
6. Ростовский-на-Дону противочумный институт: связь поколений (к 90-летию ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора) / Под ред. А.К. Носкова. — Ростов н/Д: Мини Тайп, 2024. — 426 с.

О НАПРАВЛЕНИЯХ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ, ВЫПОЛНЯЕМЫХ В 2023 г. В РАМКАХ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ПРОБЛЕМНОЙ КОМИССИИ «ХОЛЕРА И ПАТОГЕННЫЕ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА ВИБРИОНЫ» И ПЕРСПЕКТИВАХ НА 2024 г.

Носков А.К., Гаевская Н.Е., Полеева М.В., Кретенчук О.Ф., Чемисова О.С.

ФКУЗ Ростовский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Приказом министра здравоохранения СССР Петровского Б.В. от 08.09.1971 № 649 на Ростовский-на-Дону противочумный институт была возложена функция координации работы по созданию эффективных средств и методов диагностики, лечения, специфической и неспецифической профилактики, а так-

же обеспечения эпидемического надзора за холерой. С этого момента исследования, посвященные этой инфекции, постепенно приобретают приоритетный характер. В соответствии с приказом государственного комитета РСФСР санитарно-эпидемиологического надзора от 20.03.1992 № 27 учреждена проблемно-тематическая комиссия «Холера и патогенные для человека вибрионы» (ПК «Холера»), осуществляющая научно-консультативное обеспечение планирования, координацию и внедрение результатов исследований в области эпидемиологии, микробиологии, лабораторной диагностики, профилактики и лечения холеры. В настоящее время ПК «Холера» (48.04) является научно-методическим органом Координационного научного совета (КНС) по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации (РФ), управление деятельностью которого осуществляют Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и Российская академия наук.

ПК выполняет следующие функции: экспертиза и обсуждение материалов по планируемым и завершаемым научно-исследовательским работам (НИР), анализ переходящих НИР; обсуждение и утверждение планов и отчетов противочумных институтов и других учреждений о внедрении результатов НИР по проблеме «Холера и патогенные для человека вибрионы» в практику. В настоящее время в состав ПК входят 30 специалистов.

Основными направлениями деятельности ПК являются следующие:

1) эпидемиология и эпидемиологический надзор за холерой;
2) особенности экологии холерных вибрионов;
3) микробиологические, молекулярно-биологические и генетические аспекты характеристики холерных вибрионов;
4) фундаментальные основы патогенеза и иммуногенеза холеры и других заболеваний, вызываемых патогенными вибрионами;
5) разработка современных медико-иммунобиологических препаратов и методов для диагностики, лечения и профилактики холерных и других заболеваний, вызываемых патогенными вибрионами.

Цель

Формирование краткого обзора сведений о перспективных направлениях научных исследований, выполняемых в 2023 г. в рамках деятельности Проблемной комиссии «Холера и патогенные для человека вибрионы».

Материалы и методы

Анализ материалов КНС и литературных источников из баз данных электронных библиотек E-library, КиберЛенинка и др.

Результаты и обсуждение

В 2023 г. в работе ПК 48.04 приняли участие специалисты 15 организаций: ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора; ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора, ФГКУЗ «Противочумная станция Республики Крым» Роспотребнадзора, ФКУЗ Причерноморская противочумная станция Роспотребнадзора; Сочинское ПЧО ФКУЗ «Причерноморская ПЧС» Роспотребнадзора, ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора; Управление Роспотребнадзора по Ростовской области; ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области» Роспотребнадзора; ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздравсоцразвития России.

К обсуждению были представлены промежуточные результаты по пяти НИР и одна новая НИР, планируемая с 2024 г. Завершающихся в 2023 г. НИР не было.

Задача совершенствования эпидемиологического надзора за холерой на территории РФ решается в рамках комплексной межучрежденческой научной темы 220-4-21 «Совершенствование организации мониторинга за холерой в Российской Федерации с учетом эпидемиологической обстановки в мире, риска завоза возбудителя из неблагополучных по холере стран». В ходе выполнения данного направления исследований проведен поиск и обработка еженедельной информации о заболеваемости холерой в мире, чрезвычайных ситуациях (ЧС) и факторах эпидемиологического риска с использованием сайтов ВОЗ и различных интернет-ресурсов. Мониторинг заболеваемости холерой в мире, по континентам, регионам и странам использован для оперативного эпидемиологического анализа в 2023 г., для оценки в динамике заболеваемости за 2014–2023 гг., для прогноза [Носков А.К. и др., 2023]. Установлены эпидемиологические риски, ассоциированные с ЧС различного происхождения и факторами эпидемиологического риска, влияющими наактивизацию/продолжение эпидемического процесса при холере в странах Азии, Африки, Америки, регионе Карибского бассейна, Европе. В ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора проводится полногеномное секвенирование и биоинформационный анализ штаммов холерных вибрионов, выделенных не только от людей, но и из воды поверхностных водоемов и других объектов окружающей среды [Монахова Е.В. и др., 2023]. Еженедельно направляются в Роспотребнадзор информационные бюллетени о холере в мире. Кроме того, формируются базы данных [Москвитина Э.А. и др., 2023; Соболева Е.Г. и др., 2023] и создаются новые, например, для выявления происхождения штаммов в случае завоза инфекции на территорию нашей страны [Водопьянов А.С. и др., 2023].

Изучение особенностей генетической организации и биологически активных компонентов холерных вибрионов различного происхождения для выявления факторов, определяющих их патогенные и персистентные свойства, проводится специалистами ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора в рамках переходящей НИР 221-4-21 «Молекулярные основы реализации возбудителями холеры патогенных свойств и способности к выживанию в различных экологи-

ческих нишах». Авторами разработаны методические рекомендации для идентификации различных типов гена холерного токсина методом фрагментарного секвенирования. Получены предварительные данные о роли ионов тяжелых металлов в персистенции холерных вибрионов на различных биотических и абиотических объектах, в том числе и в составе биопленки. С помощью отечественного программного обеспечения у холерного вибриона выявлены новые типы ICE элементов, типовой представитель нового типа депонирован в GenBank. Изучены распределения INDEL-типов, генов *csh1/arcBy* разных групп штаммов холерных вибрионов, структура гена алкилсульфатазы *Vibrio cholerae* [Дуванова О.В. и др., 2023]. Проводится комплексная характеристика штаммов *V. cholerae* различных R-вариантов [Левченко Д.А. и др., 2023; Подойницына О.А. и др., 2023]. На модели культуры клеток CHO-K1 и HuTu 80 оценена биологическая активность очищенного холерного токсина, супернатантов штаммов геновариантов и везикул. Изучены профили белков препаратов внешней мембраны и везикул, установлено наличие холерного токсина в составе везикул.

В ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора с целью расширенной характеристики коллекционных штаммов рода *Vibrio* на основе новых молекулярно-биологических технологий, средств и методов для анализа их изменчивости, совершенствования идентификации и внутривидовой дифференциации по маркерам патогенности исполнители переходящей НИР 222-4-21 «Расширенная характеристика коллекционных штаммов рода *Vibrio* на основе новых молекулярно-биологических технологий, средств и методов» подобрали и сконструировали праймеры к генам *tcpA* и *wbf V. cholerae* для петлевой изотермической амплификации (LAMP) [Чемисова О.С. и др., 2023]. Метод изотермической амплификации с использованием разработанных праймеров предложен для видовой идентификации и внутривидовой дифференциации, в том числе по токсигенности, *V. cholerae* в ходе мониторинга за холерой. Также осуществлена оценка спектра генов антибиотикоустойчивости штаммов *V. cholerae* O1 и *Vibrio parahaemolyticus*, выделенных в период с 2000 по 2022 г. на территории Красно-

дарского края из клинического материала и объектов окружающей среды; молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Vibrio vulnificus*, выделенных на территории юга России. Кроме того, разработаны схема INDEL-типирования вирулентных и авирулентных штаммов *V. vulnificus* и селективно-дифференциальная питательная среда для определения гемолитической активности парагемолитических вибрионов, которая может быть использована для поддержания коллекции патогенных вибрионов и изучения культуральных и биохимических свойств холерных вибрионов при паспортизации штаммов и пополнении коллекции.

Специалисты ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора в рамках переходящей НИР 013-4-22 «Молекулярно-биологические аспекты совершенствования эпидемиологического надзора за инфекциями, обусловленными микроорганизмами рода *Vibrio*, в Сибири и на Дальнем Востоке» в 2023 г. провели с целью оценки рисков завоза холеры на территорию Хабаровского края анализ миграционных потоков за период с 2020–2022 гг.; изучили изолированные в ходе мониторинга штаммы холерных вибрионов; получили данные о составе микробных сообществ в точках ежегодного выделения микроорганизмов рода *Vibrio* в Забайкальском крае; секвенировали геномы 237 штаммов *V. cholerae* [Пономарева А.С. и др., 2023; Федотова И.С. и др., 2023].

В ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора в рамках НИР 100-4-23 «Молекулярная эпидемиология и молекулярная экология *Vibrio cholerae* O1, циркулирующих и завозимых на территорию Российской Федерации» авторами в 2023 г. проведено изучение присутствия и структуры генов антибиотикорезистентности, расположенных на SXT элементе и в коровой части генома, в 155 токсигенных штаммах *V. cholerae* O1 El Tor, изолированных в эндемичных по холере регионах и завезенных в Россию в период 1961-2022 гг. Исследована структура восьми генов, кодирующих белки-эффекторы и иммунные белки, у токсигенных и нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 El Tor. Кроме того,

проведен фенотипический анализ геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor, изолированных во время вспышки холеры в 2011 г. в Мариуполе. Показано разнообразие штаммов по продукции дополнительных факторов патогенности, а также подвижности и питательным потребностям. В результате выполненных исследований получены новые сведения о наличии и структуре фагоиндуцируемых PLE-островов в составе генома штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, ранее завезенных на территорию РФ и сопредельных стран, что расширяет сведения об их генетической организации [Заднова С.П. и др., 2023].

К планированию на 2024 г. специалистами ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора совместно с ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора заявлена одна НИР 228-4-24 «Разработка экспериментального сочетанного лечебно-профилактического препарата против холеры на основе иммуноглобулинового комплекса и коктейля бактериофагов», которая, получив положительную оценку экспертов, была утверждена членами ПК 48.04.

Анализ представленных результатов свидетельствует о том, что все НИР, противочумными институтами в рамках ПК 48.04, соответствуют направлениям Отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2021–2025 гг. «Научное обеспечение эпидемиологического надзора и санитарной охраны территорий Российской Федерации. Создание новых технологий, средств и методов контроля и профилактики инфекционных и паразитарных болезней», утвержденной Приказом Роспотребнадзора от 28.12.2023 № 1061. Однако необходима активизация работы по внедрению результатов НИР, в том числе патентов и зарегистрированных препаратов в производство.

Заключение

В ходе работы ПК 48.04 одобрен ход выполнения переходящих на 2024 г. НИР, утверждена планируемая с 2024 г. НИР, отчет о выполнении плана и план внедрения результатов НИР в практику здравоохранения на 2024 г., а также деятельность ФКУЗ

Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора как ведущего по проблеме «Холера и патогенные для человека вибрионы» и Референс-центра по мониторингу за холерой на территории РФ. На основании проведенного анализа современного состояния научных исследований по ПК 48.04 и тенденций их развития в стране и за рубежом, приоритетными направлениями исследований являются мониторинг и прогнозирование тенденций в динамике заболеваемости холерой в мире с учетом ЧС и эпидемиологических факторов риска; совершенствование организации и порядка проведения диагностики холеры в лабораториях различного территориального уровня; изучение молекулярных особенностей реализации факторов патогенности и персистенции возбудителем холеры; углубленное изучение изменчивости и эволюции геномов возбудителя холеры и других патогенных для человека вибрионов на основе данных полногеномного секвенирования и мультилокусного анализа генов эпидемической значимости, с привлечением высокоразрешаюших методов генетического типирования; изучение и решение проблемы преодоления антибиотикоустойчивости у холерных вибрионов; протеомные исследования штаммов возбудителя холеры и других патогенных для человека вибрионов с использованием технологий двумерного электрофореза, высокоэффективной жидкостной хроматографии и других современных аналитических методов; разработка и внедрение новых диагностических препаратов и методов; изучение на современном методическом уровне иммуногенеза холеры и совершенствование вакцинопрофилактики.

Список литературы

1. *Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Писанов Р.В.* INDEL-генотипы токсигенных штаммов *V. cholerae* O1. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2023624325 от 01.12.2023.
2. *Дуванова О.В., Подойницына О.А., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Шипко Е.С., Кругликов В.Д., Чемисова О.С., Носков А.К.* Алкилсульфатаза холерных вибрионов // Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 3. — С. 73–79. — DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-73-79
3. *Заднова С.П., Плеханов Н.А., Спирина А.Ю., Швиденко И.Г., Савельев В.Н.* Выявление фагоиндуцируемых мобильных генетических элементов в штаммах *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор // Проблемы особо опасных

инфекций. — 2023. № 2. — С. 112–119. — DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-112-119
4. *Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Подойницына О.А., Непомнящая Н.Б., Селянская Н.А., Водопьянов А.С., Ежова М.И., Ренгач М.В., Носков А.К.* Комплексная характеристика штаммов *Vibrio cholerae* — R-вариант // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. — 2023. — № 1. — С. 6–13.
5. *Монахова Е.В., Носков А.К., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Селянская Н.А., Меньшикова Е.А., Ежова М.И., Непомнящая Н.Б., Швиденко И.Г., Подойницына О.А., Писанов Р.В.* Генотипическая характеристика клональных комплексов CTX–VPI+ *Vibrio cholerae* O1, обнаруживаемых в водоемах Ростовской области // Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 3. — С. 99–107. — DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-99-107.
6. *Москвитина Э.А., Соболева Е.Г., Носков А.К.* Холера Эль-Тор. Мир. Чрезвычайные ситуации различного происхождения. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022620141 от 18.01.2022.
7. *Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Соболева Е.Г., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Меньшикова Е.А., Подойницына О.А., Ежова М.И., Евтеев А.В.* Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз на 2023 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 1. — С. 56–66. — DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66
8. *Подойницына О.А., Кругликов В.Д., Левченко Д.А., Водопьянов А.С., Ежова М.И., Носков А.К.* Изучение структуры липополисахаридного кластера в геномах штаммов *Vibrio cholerae* R-вариантов. Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 3. — С. 118–122. — DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-118-122
9. *Пономарева А.С., Федотова И.С., Хунхеева Ж.Ю., Миронова Л.В.* Анализ полногеномных последовательностей штаммов *V. cholerae*, выделенных на территории Сибири и Дальнего Востока. Молекулярная диагностика и биобезопасность — 2023: сборник тезисов Конгресса с международным участием. — М., 2023. — С. 138–139.
10. *Соболева Е.Г., Москвитина Э.А., Носков А.К.* Холера Эль Тор. Сезонность. Помесячная заболеваемость. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022622451 от 10.10.2022.
11. *Федотова И.С., Миронова Л.В.* Биоинформационный анализ геномных маркеров адаптации *Vibrio cholerae*. Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены: сборник материалов XV Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора. — Нижний Новгород: Медиаль, 2023. — С. 221–224.
12. *Чемисова О.С., Цырулина О.А., Трухачев А.Л., Носков А.К., Морозова И.В.* Анализ специфичности праймеров для выявления генов *Vibrio cholerae* методом изотермической петлевой амплификации (LAMP) in silico и in vitro. Клиническая лабораторная диагностика. — 2023. — № 68(3). — С. 178–184. — DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-3-178-184

ЦЕЛЕВОЕ ОБУЧЕНИЕ В ФКУЗ РОСТОВСКИЙ-НА-ДОНУ ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ РОСПОТРЕБНАДЗОРА

Коршенко В.А., Кретенчук О.Ф., Полеева М.В., Гаевская Н.Е.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

В настоящее время на рынке труда наиболее уязвимой категорией являются лица, не имеющие опыта и стажа работы — выпускники ВУЗов. Именно поэтому вопросы профессиональной ориентации, трудоустройства, конкурентоспособности выпускников, а также развития подходов взаимодействия образовательных организаций с предприятиями, позволяющие трудоустраивать выпускников по специальности, являются актуальными и своевременными. Обучающийся по целевому договору получает гарантированное трудоустройство после окончания ВУЗа в организацию, направившую на обучение. Программа целевого обучения позволит ликвидировать дефицит кадров в Российской Федерации [Федорова Е.С., 2020].

Цель

Формирование краткого обзора сведений об основных направлениях реализации целевого обучения, осуществляемого в ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора.

Материалы и методы

Анализ литературных источников из баз данных электронных библиотек *E-library*, КиберЛенинка и др.

Результаты и обсуждение

В последнее время тема целевого обучения особенно актуальна в связи с дефицитом профильных квалифицированных

кадров, особенно в некоторых регионах нашей страны [Аникин В.М. и др. 2019; Нищев К.Н., 2018; Кинчагулов А.М., 2021; Волохов С.П., 2018]. Играя важную социальную роль в молодежной политике государства [Елина Е.Г., и др. 2018], целевое обучение заняло достойное место в системе профессионального образования, продолжая нарабатывать опыт по устранению противоречий между всеми заинтересованными сторонами [Алексеенко С.Н., и др. 2023].

Серьезной проблемой является отток студентов и молодых специалистов из провинциальных городов в центральные регионы России. Подобная тенденция обусловливает серьезный кадровый голод и «утечку умов» с развивающихся территорий. Реализация целевого обучения позволит справиться с решением данной проблемы [Боровской И.Г. и др., 2021].

Кроме того, наиболее часто озвучиваемой претензией работодателей к молодым соискателям является существенное несоответствие между полученными в вузе знаниями и практическими навыками. Это проявляется в неспособности решать реальные практические задачи, в неумении пользоваться современным оборудованием, в психологической неподготовленности к реалиям работы на производстве и в коллективе [Блинникова А.В., и др. 2021].

Зародившееся еще в дореволюционной России целевое обучение в последнее десятилетие получило новый виток развития. На сегодняшний день целевое обучение — это сложная, юридически оформленная договором структура, учитывающая интересы предприятий, учебных заведений, абитуриентов и государственных структур для совершенствования процессов формирования трудовых ресурсов предприятия и региона одновременно.

Как и любая форма образования, целевое обучение имеет свои преимущества и недостатки. Главное преимущество — решение проблемы трудоустройства, кроме того получение необходимого опыта работы по специальности, социальная поддержка от будущего работодателя, прохождение практики на будущем месте работы, помощь работодателя в учебном процессе (материал для курсовых, научных статей, дипломной работы). Главный недостаток состоит в том, что если студент решит сме-

нить специальность или бросить учебу, то, по условиям договора, он будет обязан возместить затраченные на его обучение расходы. Кроме того, по окончании учебного заведения договор обязывает специалиста отработать на заказчика определенное время.

В связи с тем, что целевое обучение один из важных механизмов ликвидации дефицита кадров в Российской Федерации[1], решению проблем, возникающих при функционировании данного процесса уделяется особое внимание на правительственном уровне. Так, в своем выступлении на заседании Президиума Совета законодателей в Государственной думе глава Минобрнауки Валерий Фальков заявил, что механизм целевого приема эффективен с точки зрения подготовки и закрепления кадров в конкретных отраслях экономики и социальной сферы. Кроме того, министр указал на ряд проблем механизма целевого приема и озвучил пути их решения[2].

Существенные изменения в механизме целевого обучения произошли с 1 мая 2024 г. вместе со вступлением в силу Федерального закона № 124-ФЗ от 14 апреля 2023 г. «О внесении изменений в Федеральный закон «Об образовании в Российской Федерации» и Постановления правительства Российской Федерации от 27 апреля 2024 г. № 555 «О целевом обучении по образовательным программам среднего профессионального и высшего образования». Документы регламентируют правила приема на целевое обучение, начиная с 2024/2025 учебного года, условия заключения договора, меры поддержки студентов.

В соответствии с новым Положением о целевом обучении размещение информации о возможности возмещения кадровой потребности путем привлечения граждан на условиях целевого обучения, будет осуществляться на Единой цифровой платформе в сфере занятости и трудовых отношений «Работа в России».

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора развивает целевое направление с 2016 г., заключая договоры на целевое обучение с выпускниками средних школ.

Ежегодно, в период приемной кампании, по запросу Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей

---

1 http://social.council.gov.ru/activity/activities/round_tables/158285

2 https://skillbox.ru/media/education/glava-minobrnauki-rasskazal-o-problemakh-tselevogo-obucheniya-v-rossii

и благополучия человека, осуществляется сбор сведений о мониторинге приема граждан на целевое обучение в пределах квоты, заключивших в отчетном году целевой договор по программам специалитета и ординатуры. Систематически направляются сведения по зачислению, отчислению и трудоустройству студентов целевого обучения. Кроме того, своевременно подаются сведения о потребности в целевой подготовке специалистов, а также производится расчет потребности в бюджетных ассигнованиях на предоставление мер поддержки граждан, заключивших (планируемых к заключению) договоры о целевом обучении.

Помимо специалитета, с 2020 г. реализуется и целевая ординатура по специальностям 32.08.14 Бактериология и 32.08.12 Эпидемиология в ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.

За этот период времени институт заключил 10 договоров на целевое обучение по специальности «Медико-профилактическое дело» в ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, один по специальности «Информационные системы и технологии» в ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет». В ординатуре по специальностям 32.08.14 «Бактериология» и 32.08.12 «Эпидемиология» заключено 8 договоров. Обучение окончили два выпускника специалитета по специальности «Медико-профилактическое дело» и два выпускника ординатора по специальностям 32.08.14 «Бактериология» и 32.08.12 «Эпидемиология». Один из ординаторов продолжает свое обучение в аспирантуре по специальности 1.5.11 Микробиология.

В соответствии с заключенным договором регулярно осуществляется контроль успеваемости студентов, организовывается прохождение ими практики на базе профильных отделов института. Студенты и ординаторы, обучающиеся по договору целевого обучения, регулярно принимают участие в научно-практических конференциях, проводимых ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора в качестве докладчиков и слушателей. Все ординаторы являются полноценными сотрудниками ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, успешно совмещая работу и учебу.

Заключение

Сотрудники ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора активно занимаются профориентационной работой в рамках целевого обучения, что способствует эффективному отбору, поддержке и подготовке молодых специалистов, заинтересованных в научно-исследовательской деятельности как в процессе обучения в вузе, так и в дальнейшей карьере ученого. Это направлено на обеспечение института молодыми квалифицированными кадрами.

Список литературы

1. *Алексеенко С.Н., Гайворонская Т.В., Дробот Н.Н.* Профессионально ориентирванное обучение студентов медицинского вуза, зачисленных по целевому набору // Педагогический научный журнал. — 2023. — № 6(2). — С. 145–151.
2. *Аникин В.М., Пойзнер Б.Н., Соснин Э.А.* Целевое обучение как целенаправленная система деятельности // Высшее образование в России. — 2019. — № 28(3). — С. 35–49.
3. *Блинникова А.В., Большедворская М.В.* Целевое обучение как способ обеспечения образовательных организаций психолого-педагогическими кадрами // Экономические и гуманитарные исследования регионов. — 2021. — № 6. — С. 35–41.
4. *Боровской И.Г., Носова М.Г.* Риски целевого обучения и пути их преодоления. В сборнике: Современное образование: повышение конкурентоспособности университетов. Материалы международной научно-методической конференции: в 2 ч. — Томск, 2021. — С. 17–20.
5. *Волохов С.П.* Целевое обучение как инновационный механизм кадрового обеспечения региональной системы образования // Вестник Алтайского государственного педагогического университета. — 2018. — № 3. — С. 44–49.
6. *Елина Е.Г., Аникин В.М.* Целевое обучение: социальные риски и их преодоление // Известия Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Социология. Политология. — 2018. — № 18(4). — С. 373–377.
7. *Кинчагулов А.М.* Роль целевого обучения в кадровом обеспечении сельского здравоохранения. В книге: Социокультурные аспекты устойчивого развития сельских территорий. Сборник тезисов Региональной научно-практической онлайн-конференции. — 2021. — Ишим. — С 61–62.
8. *Нищев К.Н.* Целевая подготовка специалистов в системе взаимодействия образовательных и производственных структур // Интеграция образования. — 2018. — № 4. — С. 104–106.
9. *Федорова Е.С.* Повышение эффективности трудоустройства выпускников ВУЗов через развитие целевого обучения. В сборнике: Кластеризация цифровой экономики: Глобальные вызовы. Сборник трудов национальной научно-практической конференции с зарубежным участием. В 2 т. / Под ред. Д.Г. Родионова, А.В. Бабкина. — 2020. — С. 420-424.

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ХОЛЕРОЙ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Попова А.Ю.[1,2], Носков А.К.[3]

[1] Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Москва, Россия
[2] ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», г. Москва, Россия
[3] ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Основные направления совершенствования эпидемиологического надзора за холерой РФ лежат в плоскости решения следующих задач, стоящих перед Роспотребнадзором:

1) риск-ориентированное многофакторное прогнозирование развития эпидемиологической ситуации в эндемичных по холере странах, распространения на не эндемичных территориях, в т.ч. в странах ближнего зарубежья, а также своевременное выявление и идентификация потенциальных угроз эпидемического проявления холеры в РФ;
2) международное сотрудничество в сфере борьбы с холерой, в т.ч. направленное на минимизацию рисков осложнения эпидемиологической ситуации в РФ;
3) оперативное реагирование на муниципальном, региональном и федеральном уровнях в случаях завоза и угрозе распространения холеры в РФ.

Риски завоза холеры из эндемичных стран в любое время и на любую административную территорию Российской Федерации

(РФ) обусловлены динамикой и интенсивностью эпидемического процесса по этой инфекции в странах Юго-Восточной Азии, Восточного Средиземноморья и Африки.

В современных условиях ведущим критерием в определении новых подходов к дифференциации (районированию) территории страны по рискам осложнений эпидемиологической ситуации по холере становится риск завоза холеры в крупные города авиационным транспортом. Наиболее уязвимой категорией населения РФ риск завоза холеры на территорию страны являются лица, посещающие эти страны с туристическими, деловыми и коммерческими целями, а также трудовые мигранты и эндемичных и неблагополучных по холере стран.

Предупреждение рисков завоза этой инфекции в нашу страну напрямую связано с развитием международного сотрудничества в области совместного противодействия угрозам эпидемий.

Принимая во внимание значительный опыт России по предупреждению, выявлению и реагированию на угрозы биологической безопасности Роспотребнадзором осуществляется поступательное развитие взаимодействия на международном уровне с дружественными нам странами. Расширение сотрудничества необходимо для предотвращения трансграничного распространения холеры, повышения противоэпидемического потенциала и выстраивание системы реагирования в странах-партнерах. Созданы научные центры в Гвинее, Венесуэле, Вьетнаме, Бурунди, показавшие свою эффективность в ликвидации последствий опасных инфекций, в предотвращении их распространения и в организации мониторинговых исследований, не только в этих странах, но и в регионах Восточной Африки, Южной Америки, Юго-Восточной Азии.

Роспотребнадзор оказал помощь Республике Конго в борьбе с распространением острой кишечной инфекции, и в исключении подозрения на холеру.

Роспотребнадзор продолжает оказывать содействие Венесуэле в наращивании потенциала страны в сфере мониторинга и профилактики вспышек опасных инфекционных болезнях, в том числе холеры.

Сохранятся потенциальные риски завоза холеры через автомобильные и железнодорожные и другие пункты пропуска через

Государственную границу РФ из сопредельных стран, образующих «пояс» территорий со стабильной эпидемиологической ситуацией. Однако риски завоза холеры могут значительно возрасти в случаях активизации эпидемического процесса в этих странах.

Так, в связи с эпидемиологической ситуацией в мире по холере Минздравсоцзащиты Таджикистана обратился к Роспотребнадзору за содействием в организации профилактического мониторинга этого заболевания, повышения готовности к возможному осложнению эпидемиологической обстановки, особенно в приграничных районах страны. Проводится совместная работа, включающая обучение таджикистанских профильных специалистов силами российской стороны, усовершенствование лабораторных возможностей Таджикистана, проведение совместных исследований, а также учения. Для содействия партнерам был организован выезд сотрудников Роспотребнадзора в Таджикистан. Участие в указанной работе приняли сотрудники ФКУЗ «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, а также ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора.

Необходимо учитывать, что потенциальные риски будут иметь особенности в их реализации для каждого конкретного случая (для определенного места, обстановки, условий). Поэтому следует предусмотреть оперативную коррекцию алгоритма основных противоэпидемических (профилактических) мероприятий в рамках эпидемиологического надзора за холерой, адекватную складывающейся и меняющейся ситуации. Это является особенно актуальным в условиях «скрытых» рисков, например, в условия ЧС различного генеза, или при ликвидации последствий ЧС, или при проведении массовых (с международным участием) и других мероприятий.

Основной целью эпиднадзора в РФ, реализуемой в ходе геномного мониторинга, является своевременное обнаружение не

типичных для не эндемичной территории субъектов РФ токсигенных штаммов холерных вибрионов О1/О139 серогрупп в пробах клинического материала и объектов окружающей среды.

Оперативное реагирование и противодействие в случае осложнения эпидемической обстановки, своевременная расшифровка вспышек, включая индикацию, быструю идентификацию возбудителя на ранних этапах лабораторного исследования. Это подразумевает преимущественное использование ПЦР – анализа и его внедрение в работу лабораторий филиалов ЦГиЭ Роспотребнадзора и МО Минздрава России для обеспечения индикации возбудителя в течение суток со времени поступления клинического материала.

Все выделенные в России штаммы холерных вибрионов были секвенированы в Референс-центре по мониторингу за холерой. В результате референс-центр по мониторингу за холерой располагает геномными портретами токсигенных, завезенных в страну, а также нетоксигенных штаммов, циркулирующих в водных объектах на территории субъектов РФ.

Геномный эпиднадзор позволил определить, что в подавляющем большинстве выделенные из воды нетоксигенные штаммы являются естественными обитателями водоемов и не имеют заносного происхождения, а их обнаружение свидетельствует о риске подключения водного фактора в распространении инфекции.

Объемы молекулярно-биологических исследований имеют очевидную тенденцию к увеличению за счет развития технологических платформ высокопроизводительного секвенирования, а также филодинамики, связывающей генетические, эволюционные и эпидемиологические аспекты возбудителя холеры. Перспективным является переход на выявление в любом образце биологического материала или в пробе из внешней среды метагенома – всего многовидового спектра генетического материала с последующей его идентификацией по видам, субтипам, генетическим линиям.

В этой связи, одним из направлений совершенствования геномного эпиднадзора является развитие Центров секвенирования на базе противочумных организаций и центров гигиены и эпидемиологии с подготовкой соответствующих специалистов.

Необходимо создание новых и улучшение существующих единых онлайн-баз данных, технологически независимых, унифицированных отечественных программных платформ биоинформационного анализа результатов полногеномного секвенирования.

Определение геномной организации возбудителя, в свою очередь, расширяют возможности для более гибкой и быстрой корректировки диагностических тест-систем в случаях появления атипичных штаммов или вновь выявленных возбудителей холеры.

Таким образом, современный этап развития проактивного эпидемиологического надзора за холерой ставит перед специалистами Роспотребнадзора новые серьезные задачи, своевременное и динамичное решение которых обеспечивает санитарно-эпидемиологическое благополучие населения и биобезопасность по этой инфекции на территории РФ.

ПРОАКТИВНЫЙ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР ЗА ХОЛЕРОЙ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Носков А.К.[1], Попова А.Ю.[2,3], Ежлова Е.Б.[2], Кругликов В.Д.[1], Чемисова О.С.[1], Пичурина Н.Л.[1], Гаевская Н.Е.[1], Москвитина Э.А.[1], Савина И.В.[1], Ежова М.И.[1], Евтеев А.В.[1], Меньшикова Е.А.[1], Дуванова О.В.[1], Селянская Н.А.[1], Сокиркина О.Н.[1]

[1] ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия
[2] Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, г. Российская Федерация
[3] ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», г. Москва, Россия

Проактивный эпидемиологический надзор за холерой базируется на рискологическом подходе, который включает многофакторный анализ массива данных о развитии эпидемической ситуации по холере в мире и реалистичный прогноз с конкрети-

зацией пространственной и временной конфигурации рисков завоза инфекции в Россию на сегодняшний день и на ближайшую перспективу. Это обеспечивает оперативное реагирование в случае завоза этой инфекции из эндемичных стран и предотвращение вероятных тяжелых последствий.

В последнее десятилетие наблюдается активизация эпидемического процесса в эндемичных по холере странах Азии (Индия, Бангладеш, Таиланд и др.), а также в странах Африки (Сомали, Бурунди, Замбия, Зимбабве, Нигерия, Эфиопия, Кения, Камерун, ДРК, Мозамбик). С 2014 по 2023 г. холера зарегистрирована в 87 странах, на 500 административных территориях, из которых 94 — эндемичны, а остальные — неблагополучные (пораженные) по этой инфекции (табл.). В 2023 г. 38 стран сообщили о 856 308 случаях холеры [Попова А.Ю. и др., 2024].

Таблица

Заболеваемость холерой в мире. Страны и административные территории, пораженные холерой и эндемичные по холере

Континент	2023 г.		2014–2023 гг.	
	Число стран, пораженных холерой/ эндемичных по холере	Число адм. территорий пораженных холерой/ эндемичных по холере	Число стран, пораженных холерой/ эндемичных по холере	Число адм. территорий пораженных холерой/ эндемичных по холере
Азия	13/3	45/6	25/4	143/18
Африка	18/8	158/44	36/15	296/66
Америка	4/0	21/0	9/1	44/8
Европа	3/0	3/0	15/0 (Океания 2/0)	15/0 (Океания 2/0)
Всего	38/10	227/50	87/21	500/94

В структуре общей заболеваемости по-прежнему наибольший удельный вес занимали страны Азии, на которые приходилось 73 % случаев холеры.

В этой связи в рамках проактивного эпидемиологического надзора осуществляется в ежедневном режиме поиск, аккумулирование и дифференцированный информационный анализ всего доступного массива данных ВОЗ, СМИ, интернет-ресурсов по заболеваемости холерой. Устанавливаются и отслежива-

ются по времени различия в динамике и интенсивности эпидемического процесса по холере в странах мира, факторы и условия, способствующие его активизации, а также наиболее актуальные на сегодняшний день для нашей страны направлениях транспортных связей и интенсивных миграционных процессах. Вся информация обобщается и систематизируется в формате объективного ретроспективного и оперативного анализа в режиме реального времени.

Это дало основание дать прогноз о вероятности завоза холеры на территорию нашей страны в 2023 г. [Носков А.К. и др., 2023]. На основании прогноза Руководителем Федеральной службой в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека было инициировано проведение дополнительного комплекса противоэпидемических (профилактических) мероприятий во всех 89 субъектах РФ на случай выявления больных и массовой заболеваемости холерой. Это было своевременной мерой, так как прогноз, данный на в 2023 г., подтвердился, и были зарегистрированы два завоза холеры из Индии на территорию России (рис. 1, 2).

В первом случае завоз осуществлен гражданином Индии, который в составе группы трудовых мигрантов из 74 человек 13 июля прибыл из Дели в Москву авиарейсом, на борту которого находилось 240 пассажиров и девять членов экипажа. Выявлен один больной и два вибриононосителя (это трудовые мигранты) из числа 416 контактных по маршруту следования, месту проживания и трудовой деятельности, а также среди медицинского персонала.

Во втором случае завоз холеры связан с группой российских граждан, которые с рабочей поездкой в течение пяти суток посетили три эндемичные по холере страны Южно-Азиатского региона (Индонезия, Бангладеш, Индия) и 11 сентября прибыли в г. Москву специальным авиарейсом из Индии — города Дели. При обследовании 137 контактных по пути следования, по месту работы и проживания выявлены два случая заболевания с выделением нетоксигенного холерного вибриона О1, шесть случаев — с выделением *V. cholerae* nonO1/nonO139 (НАГ-вибрионы), а в 11 случаях (без клинических проявлений ОКИ) в

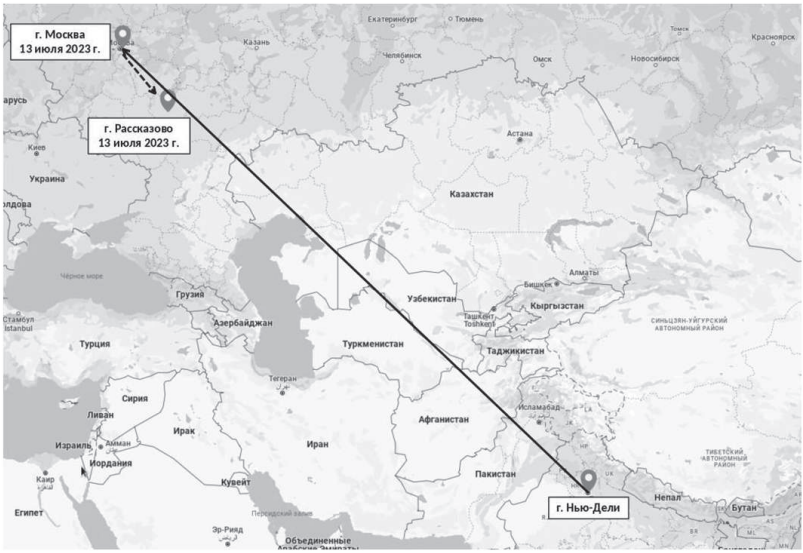


Рис. 1. Завоз холеры в г. Москву, июль 2023 г. Маршрут следования группы трудовых мигрантов

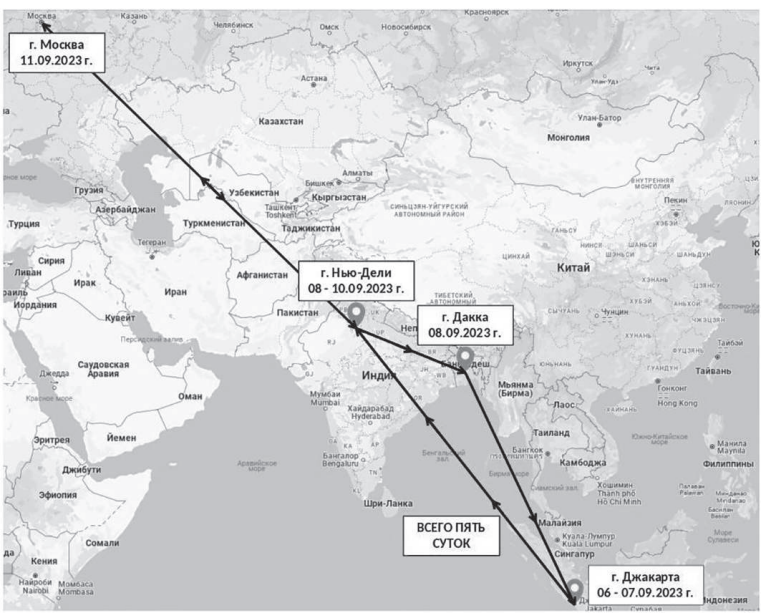


Рис. 2. Завоз холеры в г. Москву, сентябрь 2023 г. Маршрут, сроки посещения стран и время пребывания в деловой поездке группы российских граждан

биоматериале молекулярно-генетическим методом установлен НАГ-вибрион.

Оперативное реагирование и своевременная расшифровка случаев завоза, включающая индикацию, быструю идентификацию(в течение суток со времени поступления клинического материала с преимущественным использованием методов ПЦР), геномную и филогенетическую характеристику в течение двух суток возбудителей (путем секвенирования и биоинформационного анализа); а также локализация и ликвидация очагов с предотвращением распространения инфекции в г. Рассказово и мегаполисе — г. Москве и в стране в целом показали, что система проактивного эпидемиологического надзора за холерой сработала.

С 1998 г. по 2023 г. включительно эпидемические проявления холеры на территории России были связаны только с единичными завозами инфекции без дальнейшего распространения. Были зарегистрированы завозы: из Индии в г. Омск (1998 г.); из Индии в Башкортостан (2004 г.), из Таджикистана в Москву (2005 г.), из Таджикистана в Тверскую область (2005 г.), из Таджикистана в г. Москву, из Индии в г. Мурманск (2006 г.); из Индии в г. Москву (2010 г., 2012 г., 2014 г., 2023 г.).

Основным риск-формирующим фактором завоза холеры в РФ является миграция населения (трудовая, вынужденная, деловая, туристическая, в т.ч. связанная с проведением массовых мероприятий с международным участием, и другие). Не исключается вероятность завоза холеры из стран, формирующих вокруг РФ «пояс» территорий со стабильной эпидемиологической ситуацией по холере, Отдельным фактором риска остается ЧС на южных границах, которая обусловливает нестабильную санитарно-эпидемиологическую ситуацию на территориях новых субъектов РФ.

При этом наиболее выраженными остаются потенциальные риски завоза холеры авиационным транспортом в города с международными аэропортами, принимающими рейсы из стран Юго-Восточной Азии, Восточного Средиземноморья и Африки. Вместе с тем не исключается вероятность последующего распространения инфекции вследствие передвижения не выяв-

ленных больных холерой (вибриононосителей) другими различными видами транспорта.

Обнаружение и идентификация токсигенных штаммов холерных вибрионов на не эндемичной территории России осуществляется в ходе геномного мониторинга. Результаты систематизируются с помощью IT-технологий, которые доступны на сайте референс-центра. Биоинформационный анализ геномов проводится с использованием технологически независимых отечественных программам, рекомендованных МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры». В референс-центре по мониторингу за холерой установлены генотипы и дана филогенетическая характеристика всем штаммам холерных вибрионов, изолированным на территории РФ.

Практически каждая крупная вспышка инфекции в мире вызывается генетически отличающимися вариантами.

Наиболее эпидемически опасными в настоящее время считаются штаммы, условно названные как «гаитянские» и «постгаитянские», причем последние проявляют тенденцию к вытеснению первых. Об этом свидетельствует их причастность к масштабным эпидемиям в Танзании, Йемене, крупным вспышкам в Индии и периодическим завозам в ряд других стран Азии и Африки. За последние 13 лет такие риски завоза в нашу страну были реализованы пять раз, в том числе в прошлом году.

Токсигенные штаммы, выделенные от больных, прибывших из Индии в 2023 г. в г. Рассказово Тамбовской области в Москву, относились именно к «постгаитянской» группе (генотип *ctx*B7), доминирующий в мире в настоящее время. Такие штаммы циркулировали в Индии с 2011 по 2019 г. и в свое время вызывали массовые заболевания людей. Факт завозов в Россию в 2023 г. именно таких геновариантов возбудителей дает основание утверждать, что оницркулируют в Индии и в настоящее время. Тем более что эти геновариенты преобладали в пограничном с Индией Бангладеш до 2021 г., а в 2022 г. они вызвали самую масштабною за последние пять лет эпидемическую вспышку холеры.

Из биологического материала от больных ОКИ, прибывших в г. Москву одним рейсом с больным холерой, были изолированы нетоксигенные штамма холерных вибрионов О1 серо-

группы,которые обладали уникальным генотипом, что подтверждает их завозной характер.

Наряду с этим в 2023 г. от больного ОКИ в г. Мелитополь (Запорожская область) и из содержимого надворного туалета их этого очага также были изолированы нетоксигенные штаммы холерных вибрионов О1 [Попова А.Ю. и др., 2023]. Эти штаммырадикально отличались от клинических нетоксигенных штаммов, завезенных в Москву из Индии. Вместе с тем они кластеризовались со штаммами, циркулирующими в воде поверхностных водоемов на территории РФ (Республика Калмыкия, 2013 г.), что, при отсутствии характерных данных эпиданамнеза, свидетельствовало об их не заносном характере.

Завоз холеры в г. Москву в 2023 г. также сопровождался обнаружением НАГ-вибрионов в пробах клинического материала от лиц из рабочей группы наших граждан, прибывших из Индии. По результатам биоинформационного анализа сиквенсов было определено, что из пяти штаммов от больных, выделенных в Москве, три образовали отдельный кластер, что позволяет предположить единый источник заражения. Два других штамма, равно как и штамм, выделенный от человека в Ставропольском крае, также контактного по завозу из Индии, оказались уникальными и не вошли ни в один из кластеров, что говорит о разных вероятных источниках инфицирования. Эти штаммы отличались от водных штаммов, обнаруженных в водоемах города Москвы.

Кроме того, НАГ-вибрионы выделялись от больных ОКИ, в основном жителей южных регионов нашей страны — Донецкая Народная Республика, Ростовская и Запорожская области. Это свидетельствует о наличии на этих административных территориях риск-формирующих факторов и условий, способствующих контакту населения с контаминированными холерными вибрионами объектами окружающей среды.

Риски распространения холеры выявляются в ходе мониторинговых исследований проб из объектов окружающей среды (из поверхностных водоемов и сточных вод), направленных на своевременное обнаружение токсигенных штаммов холерных вибрионов. Ежегодно на не эндемичной по холере территории

России проводятся более 100 тысяч таких исследований, выделяются десятки нетоксигенных штаммов и единичные заносные токсигенные.

Так, в 2023 г. на фоне эпидемического благополучия по ОКИ в Ростове-на-Дону из воды реки Темерник был выделен токсигенный штамм холерного вибриона О1. Штамм имел генотип, который сформировался в 90-х годах прошлого века иотносился к «предгаитянской» группе (*ctx*B1). В настоящее время штаммы этой группы не склонны к эпидемическому распространению и практически вытеснены новыми геновариантами, однако изредка встречаются даже среди клинических (Южная Корея, 2016; Бангладеш, 2018).

Возможно, выявление штамма с таким генотипом в Ростове-на-Дону в 2023 г. связано с неустановленным завозом из-за рубежа без распространения и свидетельствует о том, что данные изоляты все еще сохраняются на отдельных эндемичных территориях азиатских стран.

Наряду с этим, в 2023 г. из проб из водных объектов окружающей среды в ходе мониторинга на территориях 11 субъектов РФ было изолировано 52 нетоксигенных штамма холерного вибриона О1 серогруппы, что на 18 % больше, чем в прошлом году [Носков А.К. и др., 2023].

Водные штаммыв определенных условиях потенциально могут вызывать спорадические заболевания или вспышки с клиническими проявлениями гастроэнтерита, что подтверждается выделением уже упомянутого штамма от больного ОКИ в городе Мелитополь. По результатам биоинформационного анализа штаммы 2023 г. распределились по кластерам, соответствующим их генетической близости и сформированным вместе со штаммами из поверхностных водоемов разных сроков и различных мест выделения на территории РФ, что указывает на существование в стране гетерогенной популяции этих микроорганизмов и на отсутствие новых заносов.

Риски завоза и распространения холеры в условиях повышенного потенциала их реализации, например, в условиях ЧС различного генеза, или при ликвидации последствий ЧС, или при проведении массовых (с международным участием) и других мероприятий требуют особого внимания.

Для их выявления необходимо усилить санитарно-карантинный контроль. Определить наиболее эпидемиологически значимые объекты. Ввести дополнительные точки отбора сточных вод до очистки на «адресных» объектах: самолетах, в инфекционных стационарах, в местах проживания, размещения и работы лиц, прибывших в течение 10 суток с эндемичной по холере территории. Обследование этих объектов даст с повышенной вероятностью информацию о не выявленных завозах, а в регламент лабораторных исследований с использованием ПЦР необходимо включить комплексное исследований проб из объектов окружающей среды не только на холеру, но и на другие возбудители ОКИ, в том числе вирусной этиологии.

Данная методика выявления рисков с эффективностью была апробирована в 2023 г. специалистами Ставропольского и Ростовского-на-Дону противочумных институтов в период подготовки и проведения Всемирного фестиваля молодежи, проходивший на а федеральной территории «Сириус»: определены дополнительные точки отбора, и методом ПЦР на холерные вибрионы, полио- и энтеровирусы исследована 141 проба сточных вод из объектов эпидемиологического риска: гостиниц проживания гостей, сливных систем авиалайнеров и инфекционных больниц. После начала фестиваля выявлено 13 % положительных проб на возбудителей ОКИ. Возбудителей холеры не обнаружено.

Таким образом, риск-ориентированный проактивный эпидемиологический надзор, включающий геномный мониторинг, позволяет:

- прогнозировать и устанавливать завозы холеры в нашу страну из неблагополучных по холере стран.
- выявлять неустановленные заносы возбудителя на территорию страны.

Список литературы

1. *Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Соболева Е.Г., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Меньшикова Е.А., Подойницына О.А., Ежова М.И., Евтеев А.В.* Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз

на 2023 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 1. — С. 56–66. — DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66
2. *Попова А.Ю., Носков А.К., Ежлова Е.Б., Кругликов В.Д., Монахова Е.В., Чемисова О.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Подойницына О.А., Водопьянов А.С., Левченко Д.А., Савина И.В.* Эпидемиологическая ситуация по холере в Российской Федерации в 2023 г. и прогноз на 2024 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2024. — № 1. — С. 76–88. — DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-76-88
3. *Попова А.Ю., Носков А.К., Ежлова Е.Б., Кругликов В.Д., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Чемисова О.С., Подойницына О.А., Хунхеева Ж.Ю., Водопьянов А.С., Галачьянц Ю.П.* Ретроспективный анализ эпидемиологической ситуации по холере в Донбасском регионе, Запорожской и Херсонской областях // Здоровье населения и среда обитания. — 2023. — № 31 (11). — С. 82–93. — DOI: 10.35627/2219-5238/2023-31-11-82-93

ТАКТИКА И АЛГОРИТМ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХОЛЕРЫ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Носков А.К., Кругликов В.Д., Чемисова О.С., Москвитина Э.А., Ежова М.И., Евтеев А.В., Меньшикова Е.А., Дуванова О.В., Селянская Н.А., Егиазарян Л.А., Савина И.В., Дегтерева О.Н., Горох А.М., Могиленко В.С.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Лабораторная диагностика холеры — одно из ключевых звеньев в системе эпидемиологического надзора за этой инфекцией. Объектами лабораторного исследования, которое проводится ускоренными и бактериологическим методами, являются пробы клинического материала и пробы из объектов окружающей среды.

Современные тактика и алгоритм лабораторной диагностики холеры выстраиваются адекватно имеющимся в настоящее время рискам заноса холеры в Российскую Федерацию и распространения инфекции на территории страны [Носков А.К. и др., 2023; Попова А.Ю. и др. 2024].

Тактика и алгоритм исследований на холеру регламентируются действующими нормативно-методическими и распорядительными документами [СанПиН 3.3686-21, Приказ Роспотребнадзора № 1116 от 01.12.2017, МУК 4.2.3745-22, МУК 4.2.3746-22, Письма Роспотребнадзора руководителям территориальных органов и подведомственных организаций Роспотребнадзора «Об организации лабораторного обследования на холеру» от 01.08.2023 № 02/12899-2023-27 в дополнение к письму «Об организации медицинского наблюдения за лицами, прибывающими на территорию Российской Федерации из неблагополучных в эпидемиологическом отношении стран» от 25.07.2022 № 02/12425-2023-27 и «О ходе выполнения мероприятий по профилактике холеры» от 11.03.2024 г. № 02/4025-2024-27.

При выделении от больных (вибриононосителей) холерных вибрионов О1 и О139 серогрупп, содержащих гены холерного токсина (*ctxAB*+*tcpA*+) обследуются на холеру ускоренными и бактериологическим методами:

- трехкратно (с интервалом 3 часа) до начала лечения антибиотиками больные с диареей и рвотой при активном выявлении, госпитализации в учреждение, выполняющее функцию провизорного госпиталя;
- однократно до начала лечения антибиотиками (экстренной профилактики) лица, контактировавшие с больным холерой или вибриононосителем, в том числе оставленные на дому, а также прибывшие из неблагополучных по холере стран в течение десяти календарных дней после прибытия;
- однократно ежедневно до получения трех последовательных отрицательных результатов лица, контактировавшие с больным или вибриононосителем, через 24 часа после окончания курса экстренной профилактики.

При выделении от больных (вибриононосителей) холерных вибрионов О1 и О139 серогрупп, не содержащих гены холерного токсина (*ctxAB*–*tcpA*–) обследуются на холеру ускоренными и бактериологическим методами:

- однократно (до начала лечения антибиотиками — экстренной профилактики) лица, контактировавшие с больным или вибриононосителем;

- однократно (до начала лечения антибиотиками — экстренной профилактики) лица, находившиеся в одинаковых условиях по риску инфицирования, работающие на предприятиях общественного питания, пищевой промышленности, объектах торговли, реализующих пищевую продукцию, и других эпидемиологически значимых объектах;
- однократно ежедневно все вышеуказанные контингенты через 24 ч после завершения экстренной профилактики до получения трех последовательных отрицательных результатов.

При выписке больного, перенесшего холеру (вибрионосительство) проводятся обследования ускоренными и бактериологическим методами:

- трехкратно (с интервалом 3 часа) и получения трех отрицательных результатов.

Результаты лабораторного исследования являются основополагающими при решении вопроса о начале проведения противоэпидемических (профилактических) мероприятий.

При появлении первых случаев подозрения на заболевание холерой в лабораторной диагностике необходимо в обязательном порядке использовать методы ускоренной диагностики (метод полимеразной цепной реакции (далее — ПЦР), метод флюоресцирующих антител (далее — МФА), а также в сочетании с этими методами экспресс-метод иммунохроматографического анализа (далее — ИХА) на первом, втором и последующих этапах исследования.

В случае выявления больного с подозрением на холеру среди прибывших из неблагополучных по холере стран в течение 10 дней со дня прибытия незамедлительно проводится отбор (трехкратно, с интервалом 3 ч до начала этиотропной терапии) и доставка нативного материала в лабораторию медицинской организации МО, имеющей разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III–IV групп патогенности (опасности), для ПЦР-диагностики (с целью выявления маркеров возбудителя) и бактериологического исследования на холеру. При отсутствии возможности проведения ПЦР-исследования на холеру на базе МО аликвота нативного материала доставляется в лабораторию ФБУЗ Центр гигие-

ны и эпидемиологии или в лабораторию Центра индикации (противочумное учреждение), имеющую разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей II–IV или I–II групп патогенности (опасности), соответственно, для исследования ускоренными и бактериологическим методами сразу при поступлении в лабораторию».

При выявлении маркеров возбудителя холеры, положительных результатах, полученных при использовании ускоренных методов (не менее двух), может быть выдан предварительный положительный ответ на следующих этапах:

- на этапе исследования проб нативного материала или после его подращивания в пептонной воде по результатам ускоренной диагностики (ПЦР, МФА и др.);
- на этапе отбора подозрительных на холерный вибрион колоний (характерные морфологические признаки и наличие индофенолоксидазы) по результатам слайд-агглютинации с сыворотками холерными диагностическими О1 и О139 и (или) по положительным результатам ускоренной и экспресс диагностики (ПЦР, МФА, ИХА и др.) и в сочетании с этими методами (при наличии): метод MALDI-ToF масс-спектрометрии (определение родовой и видовой принадлежности) и (или) метод иммуноферментного анализа на холерный токсин (ИФА-тест).

Предварительный ответ, в случаях проведения срочных анализов, сообщают устно и только при совпадении результатов не менее двух методов.

Такой ответ дает право на проведение противоэпидемических мероприятий.

Окончательный положительный ответ выдают:

- по результатам идентификации выделенной культуры через 36–48 ч;
- во время проведения исследований в очаге заболеваний холерой, когда первые культуры холерных вибрионов уже идентифицированы по полной схеме, допустимо давать окончательный ответ по результатам определения характерных морфологических признаков (грамотрицательные аспорогенные полиморфные прямые или слегка изогнутые палочки); по

результатам слайд-агглютинации с сыворотками холерными диагностическими О1 (Огава, Инаба), О139 и RO; при наличии индофенолоксидазы, подвижности и по положительным результатам ускоренных (экспрессных) методов (ПЦР, МФА, ИХА и др.).

Отрицательный ответ может быть дан только по окончании исследования по схеме через 36–48 часов в условиях круглосуточного режима работы.

При обследовании контактного с больным (с подозрением на холеру) в том числе среди прибывших из неблагополучных по холере стран в течение 10 дней после прибытия:

- нативный материал от контактного с больным (вибриононосителем) отбирается однократно до начала экстренной профилактики;
- проводится параллельное исследование отобранных образцов нативного материала сразу при поступлении в лабораторию методом ПЦР (с целью выявлении маркеров возбудителя холеры) и бактериологическим методом;
- при получении положительного результата при исследовании методом ПЦР нативного материала от контактного исследование бактериологическим методом продолжается;
- положительный результат исследования методом ПЦР в сочетании с положительным или отрицательным результатом бактериологического исследования нативного материала от контактного (при отсутствии клинических проявлений) оценивается как вибриононосительство;
- при отсутствии возможности проведения ПЦР-исследования проводится бактериологическое исследование нативного материала на холеру от контактного;
- положительный результат бактериологического исследования нативного материала от контактного (при отсутствии клинических проявлений) оценивается как вибрионосительство;
- обследование контактного методом ПЦР проводится через 24 часа после окончания курса экстренной профилактики антибактериальными препаратами ежедневно однократно до получения трех последовательных отрицательных результатов;

- при получении положительного результата о выявлении маркеров возбудителя холеры при исследовании нативного материала от контактного метода ПЦР после окончания курса экстренной профилактики проводят исследование бактериологическим методом.

Плановый мониторинг за контаминацией холерными вибрионами О1 и О139 серогрупп поверхностных водоемов и других объектов окружающей среды осуществляется по срокам дифференцированно, с учетом типов территорий по эпидемическим проявлениям холеры [приложение 20 к СП 3.3686-21].

Риск завоза и распространения холеры в нашу страну обусловил начало мониторинговых исследований в более ранний срок (апрель) в 2024 г. в Донецкой Народной Республике, Луганской Народной Республике, Запорожской области, Херсонской области, а также в городах с высокой численностью населения (более 1 млн человек), в портовых городах, в населенных пунктах курортов Азовского и Черного морей, что регламентировано письмом Роспотребнадзора «О ходе выполнения мероприятий по профилактике холеры» от 11.03.2024 № 02/4025-2024-27.

При изменении сроков проведения мониторинга водных объектов окружающей среды учитывается их географическое расположение, а, следовательно, достижение температуры воды водоемов +15 °С.

Алгоритм лабораторного исследования проб из объектов окружающей среды аналогичен таковому при исследовании клинического материала, но отличается только на первом этапе (нативный материал и первая накопительная среда) [МУК 4.2.3745-22].

Вместе с тем для работы в условиях ЧС, а также с учетом увеличения количества исследуемых проб в связи с введением по эпидемиологическим показаниям дополнительных точек и с увеличением кратности обследования, сотрудниками ФКУЗ Ростовского-на-Дону института предложена сокращенная схема лабораторного исследования на холеру проб из объектов окружающей среды, адаптированная для работы в условиях ЧС, а также с учетом специфики работы сотрудников в мобильных комплексах (МК) СПЭБ [Соболева Е.Г. и др., 2023]. Оптимизи-

рованная схема предусматривает определение генетических детерминант *V. cholerae* (*wbe, wbf, hly, ctx*A, *tcp*A) в аликвотах нативного материала и первой среды накопления (I пептон) методом ПЦР [Миронова Л.В. и др. 2021]. В случае получения отрицательных результатов в ПЦР дальнейшее исследование проб не проводится. При положительном результате в ПЦР осуществляется дальнейшее бактериологическое исследование с целью выделения культуры. Идентификация изолированных культур включает определение индофенолоксидазы (ОКСИ-тест), а также установление родовой, видовой принадлежности, серогруппы, серовара и эпидемической значимости по результатам ускоренных методов (ПЦР, ИХА — при наличии тест-полосок) и слайд-агглютинации (СА).

Таким образом, в основе современного подхода к порядку проведения исследований на наличие холерных вибрионов — использование ускоренных и экспресс-методов диагностики в бактериологических лабораториях территориального уровня (медицинских организаций и филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии») для выявления в кратчайшие сроки больного (вибриононосителя) и для своевременного начала и эффективного проведения противоэпидемических (профилактических) мероприятий в очаге холеры.

Список литературы

1. Методические указания «Методы лабораторной диагностики холеры»: МУК 4.2.3745-22.
2. Методические указания «Организация и проведение лабораторной диагностики холеры в лабораториях различного уровня»: МУК 4.2.3746-22.
3. Методические указания «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности»: МУ 1.3.2569-09.
4. *Миронова Л.В., Пономарева А.С., Басов Е.А., Федотова И.С., Хунхеева Ж.Ю., Фортунатова А.В., Бочалгин Н.О., Гладких А.С., Урбанович Л.Я., Балахонов С.В.* Оценка эффективности детекции генетических детерминант *Vibrio cholerae* в системе мониторинга вибриофлоры водных объектов // Проблемы особо опасных инфекций. — 2021. — № 3. — С. 89–97. — https://doi.org/10.21055/0370-1069-2021-3-89-97
5. *Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Соболева Е.Г., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Меньшикова Е.А., Подойницына О.А., Ежова М.И., Евтеев А.В.* Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Про-

гноз на 2023 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 1. — С. 56–66. — DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66
6. *Попова А.Ю., Носков А.К., Ежлова Е.Б., Кругликов В.Д., Монахова Е.В., Чемисова О.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Подойницына О.А., Водопьянов А.С., Левченко Д.А., Савина И.В.* Эпидемиологическая ситуация по холере в Российской Федерации в 2023 г. и прогноз на 2024 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2024. — № 1. — С. 76–88. — DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-76-88
7. Постановление Главного государственного санитарного врача от 26.04.2022 г. № 14 «О дополнительных мерах по профилактике холеры в Российской Федерации». Зарегистрировано в Минюсте РФ 28.04.2022 № 68354.
8. Приказ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 01.12.2017 № 1116 «О совершенствовании системы мониторинга, лабораторной диагностики инфекционных и паразитарных болезней и индикации ПБА в Российской Федерации».
9. «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» СанПиН 3.3686-21.
10. *Соболева Е.Г., Кузнецова Д.А., Кругликов В.Д., Пичурина Н.Л., Добровольский О.П., Сокиркина Е.Н., Тихонов С.Н., Пеньковская Н.А., Носков А.К.* Тактические особенности функционирования СПЭБ Роспотребнадзора на территории Республики Крым в условиях, характерных для чрезвычайной ситуации сочетанного характера // Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 2. — С. 153–159. — https://doi.org/10.21055/0370-1069-2023-2-153-159

АКТУАЛЬНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Ахапкина И.Г.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, г. Москва, Россия

Введение

В настоящее время патологические состояния, обусловленные инфекционными агентами, к сожалению, довольно широко распространены в человеческой популяции. Поэтому каче-

ство жизни людей во многом зависит от своевременной и современной медицинской помощи. В связи с этим крайне важной является задача проведения эпидемиологических исследований для контроля и разработки профилактических и лечебных мероприятий. В 1990 году профессор Б.Л. Черкасский предложил рассматривать эпидемический процесс как сложную многоуровневую целостную систему, обеспечивающую существование, воспроизведение и распространение паразитических видов микроорганизмов в человеческом обществе [Черкасский Б.Л., 1990]. Соответственно, важным аспектом эпидемического процесса является инфицирование человека с развитием заболевания в той или иной форме — острой, хронической, латентной. Очевидно, что при проведении эпидемиологических исследований особое внимание следует уделять инфекциям, не способным вызывать мощный провоспалительный ответ. В этих случаях заболевания чаще принимают вялотекущие формы, но в случае снижения иммунной защиты могут переходить в острую форму. Многим таким инфекционным агентам присуща способность поражать разные органы, ткани и системы организма человека, причем отмечается отсутствие специфических клинических симптомов. Длительное персистирование патогенного или условно-патогенного возбудителя в макроорганизме в невысоких концентрациях проявляется в изменении функциональной активности пораженных органов, последнее чаще всего и является причиной обращения в медицинское учреждение. Например, простейшие *Toxoplasma gondii* являются облигатными внутриклеточными паразитами и способны размножаться в любых ядерных клетках. Следовательно, воспалительные процессы могут развиваться в тканях практически любых органов — лимфатических узлах, скелетных и сердечных мышцах, печени, глазах, селезенке, легких и др., поражается даже нервная система человека. Можно отметить, что в последнее время некоторые неврологические и психические заболевания связывают именно с инфицированием токсоплазмами [Sutterland A. et al., 2015]. В тех случаях, когда развивается хронический процесс или латентная форма токсоплазмоза клиническая картина не имеет ярко выраженный характер. Однако снижение, по разным при-

чинам, иммунной защиты организма может привести к обострениям различной степени тяжести [Alharazi T. et al., 2023] При этом образование некрозированных участков или инфильтратов в тканях снижает функциональность пораженных органов. Соответственно и клиническая картина заболевания будет зависеть от локализации очага воспаления. В качестве другого примера инфекционного агента можно рассмотреть дрожжевые грибы рода *Candida*, которые относятся к условно-патогенным грибам и способны инфицировать также практически все органы и ткани человека [Mayer F.L. et al., 2013]. Как и в случае токсоплазмоза, кандидоз может протекать в различных формах по степени тяжести. В частности бессимптомное носительство кандид широко распространено среди разных возрастных групп людей. В современной практике считается, что выявление кандид в анализах в таких количествах, как 103-104 КОЕ, следует относить к состоянию носительства, которое не требует лечения антимикотиками в случае отсутствия клинических симптомов микоза [Федеральные клинические рекомендации. 2013]. Более того, в настоящее время кандиды признают участниками нормофлоры человека, несмотря на то, что им присвоен статус нозокомиальной инфекции и степень смертности от кандидасепсиса высока во всем мире [Pfaller M.A. et al., 2007]. Еще в качестве примера можно рассмотреть инфицирование макроорганизма оппортунистическими микроорганизмами — *Chlamydia sp*. При заражении *Chlamydia sp*. может сохраняться в организме в течение длительного времени, что вызывает неравномерное распределение, хроническое воспаление инфицированных тканей [Hogan R.J. et al., 2004]. Бессимптомный характер хламидийной инфекции часто приводит к несвоевременной диагностике, а отсутствие надлежащей антибактериальной терапии вызывает тяжелое повреждение различных тканей — слизистых, легочных, мышечных и т.д. [Geisler W., 2010]. Приведенные примеры показывают, что многие инфекционные агенты могут провоцировать такие клинические симптомы, как некоторое повышение температуры, слабость, головная боль, характерные практически для всех инфекций в начале заболевания. Однако своевременно не выявленная инфекция в дальнейшем может привести к развитию очагов хронического воспаления, локали-

зованных в тех или иных органах и тканях. В таких случаях клинические симптомы будут указывать на пораженный орган, но не на инфекционный агент. Последнее усложняет постановку дифференциального диагноза без привлечения инструментальных и лабораторных методов. Поэтому, при проведении экспериментальных эпидемиологических исследований, в частности для выявления фактора риска, в данном случае инфекционного агента, необходимо привлечение результатов лабораторных исследований, особенно тогда, когда в группу входят люди, не предъявляющие каких-либо жалоб. Безусловно, классическими методами определения инфекционного агента являются его микробиологическое выделение или микроскопическое выявление в образце. Но такой подход требует высокой квалификации персонала, значительного времени, причем, как и в случае использования ПЦР-метода, отмечается высокая зависимость точности определения от возможности получения качественного образца для исследования. Заметим, что взятие образца для исследования часто производится весьма травмирующим способом. Отбор образца крови вызывает меньший дискомфорт у пациента, по сравнению с взятием, например, образца ткани из очага воспаления. Поэтому, на наш взгляд, привлечение серологических методов, позволяющих выявлять антигены инфекционного агента или антитела против него, может быть достаточно информативным и эффективным для проведения эпидемиологических исследований. Причем в этом случае в качестве исследуемого образца используется небольшое количество сыворотки крови.

В настоящее время на рынке представлен широкий спектр тест-наборов для иммуноферментного способа выявления в сыворотке крови человека специфических иммуноглобулинов разных классов. Причем качественная или количественная оценка уровня тех или иных антител позволяет подтвердить факт инфицирования, определить стадию развития воспалительного процесса, проконтролировать успешность лечения, убедиться в полной элиминации инфекционного агента либо выявить скрытое носительство, хроническую форму заболевания, особенно при проведении исследований относительно вялотекущих инфекций. Безусловно, в таких исследованиях следует учитывать

присутствие в сыворотках крови иммуноглобулинов, обусловленных вакцинными препаратами. Каждый класс иммуноглобулинов синтезируется иммунной системой человека в определенный период инфекционного заболевания. Длительность присутствия и концентрация разных классов антител в сыворотке крови человека на разных этапах воспалительного процесса в настоящее время достаточно хорошо изучена для многих вирусов, бактерий, грибов, простейших, а также триггеров аллергических реакций из окружающей среды. Поэтому выявление антител против инфекционных агентов в сыворотке крови серологическими методами может быть удобным способом контроля распространения тех или иных заболеваний в разных группах людей (территория, возраст, пол и др.).

Заключение

Анализ изменений в структуре патологии населения является важной составляющей предоставления медицинской помощи. Выявление факторов риска при проведении экспериментальных эпидемиологических исследований становится особенно важным в случаях инфицирования человека микроорганизмами, не отличающимися специфическими клиническими симптомами, но длительное персистирование которых в макроорганизме изменяет суммарный иммунный ответ, снижает функциональную активность пораженных органов, систем и тканей и, соответственно, негативно сказывается на комфортности жизни человека в социуме. Использование с этой целью серологических методов для выявления специфических антител разных классов при помощи стандартных тест-наборов позволяет проводить одномоментное обследование больших групп населения. Значимый интерес будут представлять результаты исследований, направленных на анализ распространенности вялотекущих инфекций, хронических или латентных форм заболеваний инфекционного характера. Для подтверждения диагноза необходимо проведение анализа парных сывороток крови.

Список литературы

1. Федеральные клинические рекомендации. Диагностика и лечение заболеваний, сопровождающихся патологическими выделениями из половых путей женщин. Российское общество акушеров-гинекологов ФГБУ «Науч-

ный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» МЗ РФ. Москва, 2013 год.
2. *Черкасский Б.Л.* Эпидемиологический диагноз. — Л.: Медицина, 1990. — 208 с.
3. *Alharazi T., Alcantara J.C., Dando L.L., Pangket P.* Seroprevalence of toxoplasmosis at referral hospitals in the northwestern region, Saudi Arabia J Educ Health Promot. 2023; 12(1):391. DOI: 10.4103/jehp.jehp_490_23
4. *Geisler W.* Duration of untreated, uncomplicated Chlamydia trachomatis genital infection and factors associated with Chlamydia resolution: a review of human studies. J. Infect. Diseases. 2010; 201(2): 104–113. https://doi.org/10.1086/652402
5. *Hogan R.J., Mathews S.A., Mukhopadhyay S., Summersgill J.T., Timms P.* Chlamydial persistence: beyond the biphasic paradigm. Infection and Immunity. 2004; 72 (4): 1843–1855. https://doi.org/10.1128/iai.72.4.1843-1855.2004, 2-s2.0-1842432037
6. *Mayer F.L., Wilson D., Hube B.* Candida albicans pathogenicity mechanisms. Virulence. 2013; 4(2): 119–128. DOI: 10.4161/viru.22913
7. *Pfaller M.A., Diekema D.J.* Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. Epidemiology of Invasive Candidiasis: a Persistent Public Health Problem.Clin Microbiol Rev. 2007; 20(1): 133–163. DOI: 10.1128/CMR.00029-06
8. *Sutterland A.., Fond G., Kuin A., Koeter M., Lutter R., Gool T., Yolken R., Szoke A., Leboyer M., de Haan L.* Beyond the association. Toxoplasma gondii in schizophrenia, bipolar disorder, and addiction: systematic review and meta-analysis. Acta Psychiatr Scand. 2015; 132(3): 161–79. DOI: 10.1111/acps.12423

СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕВЫХ БОРРЕЛИОЗОВ

Березняк Е.А., Тришина А.В., Хаметова А.П., Пичурина Н.Л.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Эпидемиологический надзор за инфекционными болезнями направлен на выявление тенденций развития эпидемического процесса, выявления территорий, времени и групп риска, а также патогенов. Серологические обследования определенных групп населения являются значимым компонентом при изуче-

нии распространения циркулирующих в регионе возбудителей. Лабораторно подтвержденные сведения об уровне популяционного иммунитета в отношении актуальных инфекций позволяют проводить оценку риска и степени их эпидемиологической опасности [Негоденко А.О. и др., 2019].

Актуальность настоящего исследования определяется наличием в Ростовской области (РО) природных очагов Крымской геморрагической лихорадки, лихорадки Западного Нила, иксодовых клещевых боррелиозов (ИКБ). Для оценки распространения ИКБ на территории РО проведено изучение уровня иммунной прослойки среди здорового населения.

Цель

Оценка результатов серологического мониторинга иксодовых клещевых боррелиозов на территории Ростовской области.

Материалы и методы

В работе использованы результаты поперечных исследований уровня иммунной прослойки здорового населения Ростовской области с 2020 г. по 2022 г. Сыворотки крови тестировали с использованием коммерческих наборов производства АО «Вектор-Бест» (Новосибирск) «ЛаймБест-IgG» к возбудителям иксодовых клещевых боррелиозов (болезнь Лайма). Результаты учитывали в соответствии с инструкцией изготовителя. За указанный период исследована 1231 сыворотка крови (2020 г. — 355; 2021 г. — 424; 2022 г. — 452). Возраст доноров составил от 8 до 90 лет. Доверительные интервалы для доли серопозитивных сывороток рассчитывали по методу Уилсона при доверительной вероятности $p \geq 0{,}95$ с использованием программных средств, предоставляемых сайтом https://epitools.ausvet.com.au.

Результаты и обсуждение

В настоящее время на территории Ростовской области расположены природные и антропургические очаги ИКБ. Нозоареал включает 24 административные территории: 11 городских округов (Ростов-на-Дону, Азов, Батайск, Волгодонск, Донецк, Каменск-Шахтинский, Новочеркасск, Сальск, Таганрог, Шахты, Гуково) и 13 административных районов (Тарасовский, Ка-

менский, Белокалитвинский, Багаевский, Матвеево-Курганский, Куйбышевский, Мясниковский, Азовский, Аксайский, Родионово-Несветайский, Зерноградский, Сальский, Орловский) [Хаметова А.П. и др., 2019]. В 2020 г. случаи заболевания ИКБ не регистрировали, в 2021 г. зарегистрировано пять, в 2022 г. — 15 случаев.

Для оценки распространения ИКБ в РО проведено исследование уровня иммунной прослойки среди здорового населения. В 2020 г. удельный вес положительных проб составил у доноров, проживающих в городе Ростов-на-Дону — 8,3%, в Таганроге — 5,1%; единичные позитивы отмечены среди обследуемых из Волгодонска, Сальского, Ремонтненского и Неклиновского районов. В 2021 г. наибольшая доля серопозитивных результатов выявлена в Неклиновском районе — 8,6%, городах Ростове-на-Дону — 5,9% и Морозовске — 5,9%; единичные положительные находки выявлены в городах Каменск-Шахтинский, Шахты и в Сальском районе. В 2022 г. положительные пробы обнаружены в Неклиновском районе — 6,1%, Ростове-на-Дону — 3,6%, единичные — в Азовском районе.

Серологическое тестирование сывороток крови доноров, проведенное в 2020–2022 гг., показало наличие контактов местного населения с компонентами паразитарных систем и выявило иммунную прослойку к ИКБ среди здоровых доноров. Суммарная доля серопозитивных проб составила 3,1% [1,7–5,5], 2,6% [1,5–4,6] и 2,0% [1,1–3,7] соответственно. Распределение долей серопозитивных проб по годам показано на рис. 1. Наличие трансгрессии между ДИ по годам свидетельствует о статистической недостоверности наблюдаемых различий.

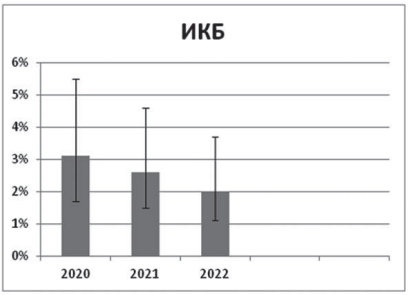


Рис. 1. Распределение долей серопозитивных проб к возбудителям ИКБ в Ростовской области 2020–2022 гг.

В течение трех лет исследований сероположительные находки выявлены в Ростове-на-Дону с регистрацией случаев болезни в 2021–2022 гг. и Неклиновском районе — без регистрации случаев болезни.

Положительные результаты в 70,0% случаев регистрировали при исследовании материала, полученного от мужчин в возрасте от 43 до 88 лет. При анализе глобальной серологической распространенности боррелиозов в человеческой популяции в работе Y. Dong et al. (2022) (Институт тропической медицины, Китай) также показан более высокий уровень серопозитивных находок у мужчин по сравнению с женщинами, что связано с большей вероятностью риска инфицирования в связи с профессиональной деятельностью.

Заключение

Наличие положительных результатов серологического мониторинга в ряде районов Ростовской области при отсутствии случаев болезни свидетельствует о высокой частоте контактов населения с возбудителями, а также о недостаточной настороженности в отношении ИКБ у медицинских работников первичного звена. Проведение серологического мониторинга позволило выявить иммунную прослойку среди населения, что свидетельствует о наличии эпидемиологических рисков инфицирования населения, и необходимости своевременного проведения профилактических мероприятий.

Список литературы

1. *Негоденко А.О., Лучинин Д.Н., Коновалов П.Ш., Павлюкова О.А., Скрынникова Е.А., Прилепская Д.Р., Молчанова Е.В., Баркова И.А., Викторов Д.В., Топорков А.В.* Скрининг маркеров арбовирусных инфекций в образцах сывороток крови здоровых доноров на территории Волгоградской области // Инфекция и иммунитет. — 2019. — № 9. — С. 743–749. — DOI: 10.15789/2220-7619-2019-5-6-743-749
2. *Хаметова А.П., Пичурина Н.Л., Карпущенко Г.В.* и др. Эпидемиологический анализ заболеваемости иксодовым клещевым боррелиозом в Ростовской области. Медицинский вестник Юга России. — 2019. — № 10(4). — С. 92–97. — DOI 10.21886/2219-8075-2019-10-4-92-97
3. *Dong Y, Zhou G, Cao W, Xu X, Zhang Y, Ji Z, Yang J, Chen J, Liu M, Fan Y, Kong J, Wen S, Li B, Yue P, Liu A, Bao F.* Global seroprevalence and sociodemographic characteristics of Borrelia burgdorferi sensu lato in human populations: a systematic review and meta-analysis. BMJGlobHealth. 2022; 7(6):e007744. DOI: 10.1136/bmjgh-2021-007744

МОНИТОРИНГ КОНТАМИНАЦИИ ВИБРИОНАМИ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДОЕМОВ КУРСКОЙ ОБЛАСТИ В 2013–2023 ГГ.

Волгина И.В., Ковальчук М.Л., Агеева И.Б., Гривачева Р.Н.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Курской области», г. Курск, Россия

Введение

Прогноз по холере в мире на протяжении последних лет оставался неблагоприятным, а риск распространения инфекции через воду водоемов — реальным. В литературе представлены данные о глобальном распространении *Vibrio cholerae* non O1/non O139, затрагивающем как эндемичные, так и вполне благополучные по холере территории не только в южных, но и в средних и даже северных широтах [Москвитина Э.А. и др. 2015; Носков А.К. и др. 2022]. Являясь естественными обитателями открытых водоемов, в том числе пресных, *V. cholerae* non O1/non O139 хорошо приспособлены к существованию в них; из воды и биотических объектов они выявляются гораздо чаще, чем от людей, в том числе во время вспышек в конкретных регионах [Архангельская И.В. и др. 2015; Монахова Е.В. и др. 2016].

Курская область занимает площадь 2999,7 тыс. га, граничит с 5 субъектами Российской Федерации: Белгородской, Брянской, Воронежской, Липецкой и Орловской областями. 5 из 33 административных единиц региона имеют границу с Украиной, протяженностью 291 км. Курская область расположена в бассейнах рек Днепр и Дон. Большинство рек региона являются малыми. Четыре реки, относящиеся к категории средних, — Сейм, Тускарь, Свапа, Псел — принадлежит к бассейну Днепра. Крупные озера и болота в области отсутствуют. В регионе насчитывается 145 искусственных водоемов-прудов, объем которых превышает 1 000 000 м^3, четыре водохранилища объемом более

1 0000 000 м^3 [Доклад о состоянии и об охране окружающей среды Курской области в 2022 году]. Температурный режим поверхностных водоемов в летние месяцы (18–26 °С) не исключает вероятность передачи возбудителей инфекционных заболеваний водным путем.

Цель

Установление факта контаминации воды поверхностных водоемов Курской области холерными вибрионами в рамках эпидемиологического надзора для своевременного проведения профилактических и противоэпидемических мероприятий.

Материалы и методы

В 2013–2023 гг. мониторинг контаминации холерными вибрионами проводился в отношении поверхностных водоемов II категории (в местах организованного и неорганизованного рекреационного водопользования, сброса хозяйственно-бытовых сточных вод), а также трансграничных водных объектов. За это время отбор выполнен в 103 стационарных точках с учетом ежегодной корректировки их перечня. На все стационарные точки отбора проб воды поверхностных водоемов оформлялись паспорта по форме Приложения № 4 МУ 3.1.1.2232-07. Исследования отобранных проб проводились бактериологическим методом, выделенные культуры изучались по культурально-морфологическим, биохимическим свойствам и агглютинабельности в соответствии с МУК 4.2.2218-07, МУК 4.2.2870-11, МУК 4.2.3746-22, МУК 4.2.3745-22. Ускоренная идентификация и обнаружение маркеров токсигенности штаммов выполнялись с использованием набора реагентов для выявления ДНК *V. cholerae* и идентификации патогенных штаммов *V. cholerae* в биологическом материале и объектах окружающей среды методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флюоресцентной детекцией «АмплиСенс *V. cholerae* — FL». Для статистической обработки данных использовалась программа Microsoft Exel 2013, для пространственного отображения точек выявления культур — информационная система ArcGis 10.2.

Результаты и обсуждение

В 2013–2023 гг. в Курской области было исследовано на холерные вибрионы О1 и О139 серогрупп 6293 пробы воды поверхностных водоемов, среднемноголетнее количество исследованных проб — 572. Из каждой стационарной точки ежегодно исследовалось в среднем по 11 проб (минимально в 2021 г. — 8, максимально в 2023 г. — 14).

Во всех исследованных пробах за анализируемый период, культуры холерных вибрионов О1 и О139 серогрупп выявлены не были. Идентифицировано 464 культуры, подозрительные на холерные вибрионы, которые при исследовании бактериологическим методом были типичны по культурально-морфологическим и биохимическим свойствам, неизменчивы по агглютинабельности и идентифицированы, в том числе с использованием ПЦР, как *V. cholerae* non O1/ non O139.

В табл. 1 указано, что удельный вес проб поверхностных водоемов, контаминированных *V. cholerae* non O1/non O139, за 2013–2023 гг. составил 7,4% с колебаниями по годам: минимально в 2013 г. — 4,3%, максимально в 2017 г. — 10,2%, 2021 г. — 14,9%, 2023 г. — 10,8%.

Таблица 1

Результаты исследований проб воды поверхностных водоемов на холерные вибрионы в Курской области в 2013–2023 гг.

Год	Количество исследованных проб	Количество выделенных культур *V. cholerae*non O1/ non O139	Удельный вес проб, в которых выделены V. cholerae non O1/ non O139, %	Количество точек, в которых выявлены V. cholerae non O1/ non O139	Из них:		
					в прудах	водохранилищах	реках
2013	585	25	4,3	11 точек на 6 водоемах	2 культуры в 2 прудах	3 в 1	20 культур в 3 реках: 1 — Тускарь 2 — Псел 17 — Сейм

Продолжение табл. 1

Год	Количество исследованных проб	Количество выделенных культур *V. choleraenon* O1/ non O139	Удельный вес проб, в которых выделены V. cholerae non O1/ non O139, %	Количество точек, в которых выявлены V. cholerae non O1/ non O139	Из них:		
					в прудах	водохра-нилищах	реках
2014	585	39	6,7	19 точек на 10 водоемах	18 в 7		21 в 3: 2 — Тускарь 3 — Полевая Снова 16 — Сейм
2015	585	41	7,0	30 точек на 19 водоемах	17 в 12	1 в 1	23 в 6: 1 — Олымь 2 — Суджа 3 — Полевая Снова 3 — Свапа 5 — Тускарь 9 — Сейм
2016	668	43	6,4	27 точек на 15 водоемах	9 в 8	3 в 1	31 в 6: 1 — Суджа 2 — Речица 2 — Свапа 4 — Полевая Снова 9 — Тускарь 13 — Сейм
2017	568	58	10,2	23 точки на 15 водоемах	20 в 8	1 в 1	37 в 6: 1 — Полевая Снова 11 — Псел 3 — Тускарь 3 — Суджа 6 — Смердица 13 — Сейм
2018	468	24	5,1	15 точек на 10 водоемах	3 в 3		21 в 7: 1 — Тускарь 1 — Смердица 1 — Локня 2 — Суджа 2 — Снагость 6 — Псел 8 — Сейм
2019	468	25	5,3	21 точка на 13 водоемах	8 в 7		17 в 6: 1 — Речица 1 — Снагость 2 — Псел 2 — Свапа 3 — Тускарь 8 — Сейм

Продолжение табл. 1

Год	Количество исследованных проб	Количество выделенных культур *V. cholraenon* O1/ non O139	Удельный вес проб, в которых выделены V. cholerae non O1/ non O139, %	Количество точек, в которых выявлены V. cholerae non O1/ non O139	Из них:		
					в прудах	водохранилищах	реках
2020	520	31	6,0	27 точек на 20 водоемах	10 в 9	1 в 1	20 в 10: 1 — Локня 1 — Полевая Плота 1 — Речица 1 — Тускарь 1 — Олымь 1 — Свапа 2 — Смерица 2 — Суджа 4 — Псел 6 — Сейм
2021	416	62	14,9	34 точки на 24 водоемах	27 в 13	1 в 1	34 в 10: 1 — Полевая Плота 2 — Свапа 2 — Локня 2 — Речица 2 — Тускарь 3 — Олымь 3 — Смердица 3 — Суджа 8 — Псел 8 — Сейм
2022	660	33	5,0	19 точек на 10 водоемах	4 в 3		29 в 7: 1 — Свапа 1 — Суджа 2 — Локня 2 — Смердица 3 — Тускарь 6 — Псел 14 — Сейм
2023	770	83	10,8	41 точка на 24 водоемах	22 в 12		61 в 12: 1 — Свапа 1 — Щигор 1 — Речица 1 — Погарщина 2 — Полевая Плота 2 — Олымь 3 — Смердица

Окончание табл. 1

Год	Количество исследованных проб	Количество выделенных культур *V. cholerae*non O1/ non O139	Удельный вес проб, в которых выделены V. cholerae non O1/ non O139, %	Количество точек, в которых выявлены V. cholerae non O1/ non O139	Из них:		
					в прудах	водохранилищах	реках
							3 — Суджа 4 — Локня 6 — Псел 14 — Тускарь 23 — Сейм
2013–2023	6293	464	7,4	80 точек на 47 водоемах	140 в 32	10 в 1	314 в 14: 1 — Щигор 1 — Погарщина 4 — Полевая Плота 3 — Снагость 7 — Речица 7 — Олымь 10 — Локня 11 — Полевая Снова 12 — Свапа 17 — Суджа 17 — Смердица 44 — Тускарь 45 — Псел 135 — Сейм

V. cholerae non O1/ non O139 были выявлены:

- в 4,3% проб воды трансграничных водоемов с колебаниями от 5,0% (в 2020 г.) до 14,3% (в 2023 г.);
- в 6,2% проб воды водоемов II категории в местах неорганизованного отдыха населения с колебаниями от 3,8% (в 2022 г.) до 14,1% (в 2021 г.);
- в 7,8% проб воды водоемов II категории в местах рекреационного водопользования с колебаниями от 4,2% (в 2022 г.) до 11,6% (в 2017 г.);
- в 9,6% проб водоемов в местах сброса хозяйственно-бытовых сточных вод с колебаниями от 4,0% (в 2020 г.) до 15,6% (в 2013 г.).

Удельный вес проб воды с обнаружением *V. cholerae* non O1/ non O139 в регионе в непроточных водоемах (прудах и водохранилищах) был выше, чем в реках и составил 10,0% против 6,3% соответственно. При этом культуры *V. cholerae* non O1/ non O139 были изолированы из 354 проб воды рек из 5016 исследованных и 150 проб непроточных водоемов из 1505 исследованных.

Достоверных данных, свидетельствующих о большей загрязненности *V. cholerae* non O1/ non O139 малых или средних рек не получено, удельный вес контаминированных проб для них составил 6,7% и 6,5% соответственно. Удельный вес проб с обнаружением *V. cholerae* non O1/ non O139 в средних реках региона составил: Свапа — 2,6%, Сейм — 5,9%, Тускарь — 7,7%, Псел — 13,2%. Удельный вес проб с обнаружением *V. cholerae* non O1/ non O139 в малых реках региона: Щигор и Погарщина — по 0,9%, Снагость — 2,6%, Олымь — 3,1%, Речица — 6,1%, Полевая Плота — 3,5%, Суджа — 7,5%, Локня — 8,8%, Полевая Снова — 9,6%, Смердица — 14,9%.

За анализируемый период, культуры *V. cholerae* non O1/ non O139 были выявлены в 80 стационарных точках, расположенных во всех районах области и и г. Курске.

Заключение

Проводимый мониторинг вибриофлоры показал наличие в открытых водоемах Курской области условий, благоприятных для поддержания жизнеспособности и размножения холерных вибрионов, при возможном их завозе с эндемичных территорий. С учетом трансграничного расположения региона, значительного количества иностранных студентов (в том числе из традиционно неблагополучных по холере стран Африки и Юго-Восточной Азии), в области сохраняется риск завоза заболевания. Это требует осуществления систематического надзора за системами водоснабжения и водоотведения, а также оперативной оценки свойств изолируемых культур и своевременного проведения профилактических и противоэпидемических мероприятий.

Список литературы

1. *Архангельская И.В., Непомнящая Н.Б., Монахова Е.В., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Кругликов В.Д.* Генетическая неоднородность популяции Vibriocholeraenon O1/ non O139, циркулирующих в Ростовской области // Здоровье населения и среда обитания. — 2015. — № 3. — С. 5–7. — DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-14-23
2. Доклад о состоянии и об охране окружающей среды Курской области в 2022 году. Правительство Курской области. Министерство природных ресурсов Курской области. — Курск, 2023. — 133 с.
3. *Монахова Е.В., Архангельская И.В.* Холерные вибрионы не О1/не О139 серогрупп в этиологии острых кишечных инфекций: современная ситуация в России и мире.Проблемы особо опасных инфекций. — 2016. — № 2. — С. 14–23. — DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-14-23
4. *Москвитина Э.А., Адаменко О.Л., Кругликов В.Д., Титова С.В., Монахова Е.Б., Писанов Р.В., Иванова С.М., Анисимова Г.Б.* Холера: эпидемиологическая обстановка в мире 2005-2014г. Прогноз на 2015 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2015. — № 1. — С. 18–25. — DOI: 10.21055/0370-1069-2015-1-18-25
5. *Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Монахова Е.В., Миронова Л.В., Крицкий А.А., Лопатин А.А., Чемисова О.С., Соболева Е.Г., Иванова С.М., Водопьянов А.С., Стенина С.И., Писанов Р.В., Левченко Д.А., Подойницына О.А., Непомнящая Н.Б., Ежова М.И.* Холера: тенденции развития эпидемического процесса в 2021 г., прогноз на 2022 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2022. — № 1. — С. 24–34. — DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-43-51

КРОВОСОСУЩИЕ КЛОПЫ *OECIACUS HIRUNDINIS* И *CIMEX PIPISRTELLI* В РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Забашта А.В., Забашта М.В., Пичурина Н.Л.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

В последние десятилетия у ряда видов кровососущих клопов были обнаружены многие патогены, представляющие опасность для человека. Поэтому изучение роли этой группы паразитических насекомых в циркуляции некоторых возбудителей

сохраняет свою актуальность. К тому же региональные аспекты распространения некоторых видов исследованы еще недостаточно. Клоп *Oeciacus hirundinis* — паразит воронка *Delichon urbicum*, но также встречается на некоторых других видах птиц [KaczmarekN., 1991; Trilar T. et al., 1997; LipatovaI. et al., 2017; Корнеев М.Г. и др., 2020]. Зарегистрированы случаи нападения этих паразитов на людей с последствиями от их укусов [Komatsu N. et al., 2016; Hansel K. et al., 2019]. Систематика клопов, паразитирующих на летучих мышах, еще недостаточно разработана. Последние исследования показывают, что *C. pipisrtelli* представляет собой группу недифференцированных видов [Balvín O. et al., 2012; 2014]. Опасность таких паразитов состоит в том, что их основные прокормители селятся в населенных пунктах. В некоторых случаях близкое соседство может приводить к проникновению клопов в жилые помещения и к прямым контактам с людьми [Robinson W.H., 2005]. Необходимо отметить, что результаты исследований клопов *C. pipisrtelli*, из совместной выводковой колонии нетопырей-карликов и малых нетопырей на патогены опубликованы [Забашта М.В. и др., 2019], но вместе с тем, не определена их численность.

Цель

Оценить распространение и численность кровососущих клопов *O. hirundinis* и *C. pipisrtelli* на территории Ростовской области.

Материалы и методы

В Ростове-на-Дону гнездовые колонии воронков учитывались в различных районах города (исторический центр, новостройки, территории промышленных зон, мостовые сооружения и др.). Поселения в других населенных пунктах регистрировали во время регулярных объездов на территории области. Осмотр жилых и опустевших гнезд воронков проводили в 2000–2023 гг. в городе Ростове-на-Дону, а также в 2012 г. в с. Карпо-Николаевка (Мясниковский р-н). Постоянным местом мониторинга поселений воронков и паразитирующих на них *O. hirundinis* была территория старого аэропорта гражданской авиации, где регулярно отстраиваемые птицами гнезда, по хозяйственным

соображениям периодически снимали с использованием специальных подъемников.

Наблюдения за *C. pipisrtelli* и учет численности проводился в течение летних и осенних месяцев 2016–2018 гг. в совместной выводковой колонии нетопырей-карликов и малых нетопырей, находящейся в охотничьей вышке, расположенной в лесном массиве Ленинского лесхоза (Азовский р-н). Кроме того, за период 2017–2023 гг. в Аксайском районе были осмотрены на предмет наличия эктопаразитов, в том числе, кровососущих клопов более 100 рукокрылых семи видов (*Nyctalus noctula, Pipistrellus pipistrellus, P. pygmaeus, P. kuhlii, P. nathusii, Eptesicus serotinus, Vespertilio murinus*).

Результаты и обсуждение

На территории старого аэропорта гражданской авиации поселения воронков представляли собой одиночное размещение гнезд, преимущественно на высоте второго этажа аэровокзала. Их общее число за указанный период было не постоянным и колебалось в пределах 5–10 особей. Максимальное количество гнезд ласточек — 15 — учтено только в 2010 г. В снятых после вылета птенцов гнездовых постройках клопы *O. hirundinis* отмечены в единичных экземплярах и были представлены как личинками, так и взрослыми особями. Некоторые гнезда были лишены этих паразитов. В таких дисперсных поселениях воронков общая численность *O. hirundinis* не велика, и возможно, эти насекомые могут полностью исчезать в тех или иных локациях гнезд из-за смены ласточками мест нового гнездования на том же здании. Появление в гнездах указанного года связано с заносом птицами клопов из других местообитаний.

Колониальные поселения воронков являются более подходящими для формирования постоянных и достаточно многочисленных группировок популяций *O. hirundinis*. Размножение в опустевших или старых гнездах воронков других видов птиц служит дополнительным условием поддержания стабильности локальных популяций данных паразитов. В с. Карпо-Николаевка были осмотрены гнезда воронков, располагавшиеся под карнизом крыши двухэтажного коттеджа. Всего в колонии насчи-

тывалось 46 гнезд. Фактически во всех из них ласточки вывели птенцов и к концу июня птицы возле дома уже не встречались. Но 8 гнездовых построек воронков в это время были заняты размножающимися домовыми воробьями *Passerdomesticus* и одно — полевым воробьем *P. montanus*. Во всех гнездах находились подрастающие птенцы на разных стадиях развития. Кроме того, некоторые постройки взрослые воробьи использовали как место отдыха. Численность *O. hirundinis* в пустующих гнездах воронков на этой колонии была небольшой — 1–5 имаго и до 25 личинок. Внутри и снаружи гнезд, населенных домовыми воробьями, клопов было заметно больше — до 22 имаго и до 50 личинок. Кроме того, взрослые, напитавшиеся *O. hirundinis*, обнаруживались поблизости от жилых гнезд в щелях кирпичной кладки и в конструкциях нависающего карниза крыши. Наблюдаемая локализация большинства имаго *O. hirundinis* указывала на то, что эти паразиты после отлета ласточек переключаются на питание кровью других видов птиц, которые используют готовые постройки для отдыха и размножения в них. В данном случае основными прокормителями *O. hirundinis* стали домовые воробьи и их птенцы, у которых на протяжении теплого периода года может быть несколько репродуктивных циклов. Перемещения воробьев, обитающих в гнездах воронков, могут способствовать расселению клопов за пределы колонии и появлению их в новых домовладениях, где гнездования воронков нет.

В некоторых крупных колониальных поселениях воронков, которые существуют на протяжении многих лет, а, возможно, десятилетий, может насчитываться по несколько сотен гнезд. Это обусловливает формирование многочисленных локальных популяций *O. hirundinis*, а разнородная хозяйственная деятельность в пределах колоний, приводящая к разрушению гнездовых построек, может приводить к попаданию клопов на человека. В Ростове-на-Дону такая колония, в которой в разные годы учитывалось 120–250 гнезд, существовала в период до 2015 г. под крышей ангара авиаремонтного предприятия. Около 300 пар воронков многие годы гнездились в колонии, устроенной в верхней части храма в станице Старочеркасская (Аксайский р-н). В 2010–2011 гг. гнезда были полностью уничтожены при рекон-

струкции. Еще одна колония воронков, в которой в последние годы учитывалось 300–350 гнезд, располагалась на храме в станице Еланская (Шолоховский р-н). Но в 2023 г. подавляющее большинство построек ласточек было сброшено из-за начавшейся внешней реставрации верхней части храма.

В выводковой колонии нетопырей численность *C. pipisrtelli* может быть очень большой. Общее число зверьков, концентрирующихся под крышей охотничьей вышки и под внутренней рубероидной обшивкой в верхней части помещения, составляло 250–400 особей. В июне, когда подрастающий, но еще нелетный молодняк находился постоянно в убежище, визуально учитывалось до 150–200 клопов, которые сидели на досках или в щелях, а также свободно перемещались. Прослеживалась явная локализация взрослых *C. pipisrtelli* вблизи от мест пребывания рукокрылых. Многие из клопов были напитавшимися. Поскольку не все насекомые могли быть обнаружены визуально, общее количество только взрослых клопов в подобных колониях летучих мышей может быть оценено в несколько сотен экземпляров. В июле после разлета молодняка нетопырей численность имаго *C. pipisrtelli* заметно падает — визуально насчитывалось не более 30 экземпляров. Осенью данное убежище используют иногда пролетные лесные нетопыри *P. nathusii*. В октябре в вышке обнаруживались только единичные активные личинки клопов. На рукокрылых вне убежищ *C. pipisrtelli* обнаруживались редко. По одной личинке было снято с малого нетопыря (♀) (29.08.2019) и с рыжей вечерницы *Nyctalus noctula* (♂) (27.08.2020).

Заключение

На территории Ростовской области клопы *O. hirundinis* и *C. pipisrtelli* являются обычными в фауне региона, а в местах колониального обитания своих основных прокормителей могут достигать высокой численности. Приуроченность к различным постройкам и сооружениям в населенных пунктах, в том числе и в крупных городах, создает предпосылки для контактов этих паразитов с человеком, особенно во время реставрационных работ исторических зданий и культовых сооружений, что требует более пристального внимания к данной группе кровососов. При

планировании реконструкции и выполнения работ в местах, где имеются гнездовые поселения воронков или колонии рукокрылых, необходимо учитывать возможные риски и принимать меры к предотвращению возможных последствий.

Список литературы

1. *Забашта М.В., Орлова М.В., Пичурина Н.Л., Хаметова А.П., Романова Л.В., Бородина Т.Н., Забашта А.В.* Участие летучих мышей (Chiroptera, Mammalia) и их эктопаразитов в циркуляции возбудителей природно-очаговых инфекций на юге России // Паразитология. — 2019. — № 53(1). — С. 3–13.

Корнеев М.Г., Поршаков А.М., Яковлев С.А., Матросов А.Н., Сажнев А.С. Членистоногие — обитатели нор береговой ласточки *Ripariariparia* (Linnaeus, 1758) (Aves: Hirundinidae) на территории Саратовской области // Известия Саратовского университета. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. — С. 9–199.

2. *Balvín O., Bartonička T., Simov N., Paunović M., Vilímová J.* Distribution and host relations of species of the genus *Cimex* on bats in Europe. Folia zoologica. 2014; 63(4):281–289.
3. *Balvín O., Ševčík M., Jahelková H., Bartonička T., Orlova M., Vilímová J.* Transport of bugs of the genus *Cimex* (Heteroptera: Cimicidae) by bats in western Palaearctic.Vespertilio. 2012; 16:43–54.
4. *Hansel K., Bianchi L., Principato M., Moretta I., Principato S., Lanza F., Stingeni L.* Occupational human infestation due to «Martin bug» (*Oeciacus hirundinis*, Hemiptera: Cimicidae). International Journal of Dermatology. 2019;58(6):115–116.
5. *Kaczmarek S. Oeciacus hirundinis* z gniazd jaskółek *Delichon urbica* i *Hirundo rustica*. Wiadomosci Parazytologiczne. 1991; 37(2): 277–280.
6. *Komatsu N., NakamuraN., Yamauchi T.* The cases of human infestation by the swallow bug *Oeciacus hirundinis* (Hemiptera: Cimicidae). Medical Entomology and Zoology. 2016; 67(4):223–225.
7. *Lipatova I., Šukauskaitė E., Ražanskė I., Petraitis A., Paulauskas A.* Detection of *Oeciacus hirundinis* in nests of *Delichon urbica* L. in Lithuania. International Conference «Smart Bio»: Abstract book. Kaunas. 2017. 79 c.
8. *Trilar T., Gogola A., Gogola M.* Distribution of the swallow bug (*Oeciacus hirundinis*) in Slovenia, with an unusual finding in a fat dormouse (*Myoxus glis*) nest. Acta Entomologica Slovenica. 1997; 5(1):45–50.
9. *Robinson W.H.* 2005. Handbook of urban insects and arachnids. Cambridge: University Press. 480 p.

СОВРЕМЕННАЯ ФАУНА ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Забашта А.В.[1], Забашта М.В.[1], Пичурина Н.Л.[1],
Панасюк Н.В.[1,2], Стахеев В.В.[2]

[1] ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия
[2] ФГБУН «Южный научный центр Российской академии наук», г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Разнообразие ландшафтов Ростовской области, населенных многочисленной фауной теплокровных животных, а также человеческая деятельность обусловливают обитание целого ряда паразитических членистоногих, в том числе иксодовых клещей. В силу своей значимости для человека эта группа паразитов постоянно находится в сфере внимания. Несмотря на длительный период исследований, фауна иксодид в области изучена недостаточно. В обзорах, которые были изданы в середине прошлого века, указывались 10–12 видов иксодовых клещей [Миронов Н.П. и др. 1965; Шевченко С.Ф. и др. 1972]. В последующие десятилетия во всех публикациях утверждалось обитание на территории Ростовской области не более 6–7 представителей этих паразитов. Столь малый набор видов, безусловно, связан с ограниченными методами сбора иксодид и узкой направленностью проводимых исследований. Обзор имеющихся сведений по фауне иксодовых клещей Ростовской области представлен в работе [Забашта М.В. и др. 2017].

Цель

Характеристика видового состава иксодовых клещей, встречающихся на территории Ростовской области.

Материалы и методы

Основным направлением исследований было выяснение статуса и характера обитания возможных видов иксодовых клещей, для чего был максимально расширен список потенциальных хозяев паразитов, которые подвергались осмотру с учетом биотопов в ландшафтных комплексах на территории Ростовской области. В период 2000–2023 гг. осматривались домашние (КРС, лошади, овцы, собаки, кошки) и дикие млекопитающие (насекомоядные, хищные, зайцы, грызуны), а также птицы (более 6 тыс. особей 183 видов) и рептилии (ящерицы и змеи). Снятые клещи идентифицировались по определителям [Филиппова Н.А., 1977; 1997]. Для определения преимагинальных стадий клещей рода *Hyalomma*, снятых с перелетных птиц, использовалась работа D.A. Apanaskevich, I.G. Horak (2008). Порядок расположения и латинские названия видов представлены в соответствии со сводкой по этой группе членистоногих [Guglielmone A.A. et al., 2014], которая послужила основой для обновленного списка иксодовых клещей территории России [Цапко Н.В., 2020].

Результаты и обсуждение

Представлен список видов иксодовых клещей, обнаруженных на территории области в период 2000–2023 гг. Для ряда видов указаны прокормители, биотопы и особенности распространения.

***Ixodes crenulatus* Koch, 1844.** Филогенетически связан с сурками, но на пространстве своего ареала часто встречается и на хищных млекопитающих. Три самки были сняты с одного из трех байбаков *Marmota bobak*, добытых 17.07.2016 вблизи от с. Кутейниково (Чертковский район). Имеются также сборы клещей с сурков и их нор, собранные в конце прошлого века вблизи от слобод Криворожье и Дегтево (Миллеровский р-н), а также сборы из обоих районов без указания населенных пунктов. На хищниках клещ в области не обнаружен.

***Ixodes kaiseri* Arthur, 1957.** Паразит хищных млекопитающих. Достаточно часто преимагинальные стадии и самки отлавливались с обыкновенных лисиц *Vulpes vulpes*, размножающихся в

норах и в логовах под строениями на территории старого аэродрома гражданской авиации в городе Ростове-на-Дону. Встречался клещ на лисицах в Куйбышевском, Веселовском, Орловском, Белокалитвенском, Константиновском, Дубовском, Кашарском районах. Также имеются сборы с волка *Canis lupus* (Ремонтненский р-н), европейского барсука *Meles meles* (Матвеево-Курганский р-н) и шакала *Canis aureus* (Азовский р-н). Этот вид распространен по всей территории области, за исключением левобережья Среднего Дона.

***Ixodes lividus* Koch, 1844.** Специфичный паразит береговушек *Riparia riparia*. Личинки в большом числе обнаружены в гнездах ласточек, извлеченных из нор после вылета птенцов, в карьерах вблизи от г. Пролетарск (14.06.2016) и на окраине г. Морозовск (12.08.2021).

***Ixodes frontalis* (Panzer, 1798).** На территорию области заносится птицами весной и осенью. В окрестностях Ростова-на-Дону одна напитавшаяся нимфа снята с певчего дрозда *Turdusphilomelos* (03.04.2017), а также собраны две напитавшихся личинки с юрка *Fringilla montifringilla* (15.11.2016).

***Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758).** Во второй половине прошлого века расселился почти по всей области, за исключением засушливых районов, в связи с чем обозначаемая по Нижнему Дону дизъюнкция ареала этого вида исчезла. Восточная граница распространения в области проходит по условной линии Дубовское — Зимовники — Орловский — Пролетарск — Сальск. В некоторых изолированных лесных массивах на юге может достигать высокой численности. Прокормителями разных стадий являются наземные дикие и домашние млекопитающие, многие дикие птицы и некоторые рептилии.

***Ixodes persulcatus* Schulze, 1930.** Одна голодная самка собрана «на флаг» вдоль полезащитной лесополосы в окрестностях пос. Веселый (17.05.2016). Очевидно, данная особь перелиняла из нимфы, занесенной птицей в период осенней миграции.

***Ixodes apronophorus* Schulze, 1924.** Обнаружен в заболоченных ольшанниках на Среднем Дону (р. Елань, оз. Островное). Нимфы и самки сняты с рыжей полевки *Myodes glareolus* и восточноевропейской *Microtus rossiae meridionalis* полевки, а также с обык-

новенной бурозубки *Sorexaraneus*, пойманных в характерных стациях в мае 2017 г. и 2021 г.

***Ixodes redikorzevi* Olenev, 1927.** На территории области появился предположительно во второй половине прошлого века, что связано с появлением в степях многочисленных лесонасаждений и частым заносом птицами. В настоящее время распространен в долине Пролетарского водохранилища, на водоразделах между реками Западный Маныч, Сал, Дон, в северо-восточном Приазовье, в долине и прилегающих территориях Северского Донца. Все стадии клеща отлавливались на мелких грызунах, землеройках и белогрудом еже *Erinaceus roumanicus*, а также на обыкновенных лисицах и ласке *Mustela nivalis*. Единичные находки были на бродячих собаках *Canis familiaris* и обыкновенной белке *Sciurus vulgaris* в Ростове-на-Дону. Имаго часто встречается на птицах (*Phasianus colchicus, Perdix perdix, Coturnix coturnix, Scolopax rusticola, Galerida cristata, Anthus trivialis, A. pratensis, Prunella modularis, Luscinia luscinia, Turdus merula, T. philomelos, Sylvia borin, S. communis, Phylloscopus trochilus, Ph. collybita, Parus major, Garrulus glandarius, Corvus frugilegus, C. monedula, Passer montanus*).

***Ixodes laguri* Olenev, 1929.** Норный клещ встречается в области в норах малого суслика *Spermophilus pygmaeus* и предкавказского хомяка *Mesocricetus raddei*. В первом десятилетии XXI века клещи были обычными обитателями в сохранившемся поселении сусликов на старом аэродроме гражданской авиации, в Ростове-на-Дону. После исчезновения этих грызунов на летном поле аэродрома одна самка клеща была снята с серой крысы *Rattus norvegicus*, которая, очевидно, пользовалась опустевшими норами. На мелких грызунах в других районах области клещ не обнаружен.

***Haemaphysalis inermis* Birula, 1895.** Пара самок была снята с сухой растительности у ручья, в Ленинском лесхозе Азовского р-на (21.03.2014). Очевидно, является заносным видом, поскольку в последующие годы больше не обнаруживался.

***Haemaphysalis punctata* Canestrini et Fanzago, 1878.** Распространен фактически по всей территории области. Имаго прокармливаются на диких и домашних млекопитающих. Напитавшиеся

самки и самцы собраны с фазанов *Phasianus colchicus*, грача *Corvus frugilegus* и серой вороны *C. cornix*. Личинки в большом числе (до 200–300 экз.) могут прокармливаться на грачах.

***Haemaphysalis concinna* Koch, 1844.** Преимагинальные стадии изредка встречаются на юго-западе области. Нимфы собраны с певчего дрозда (08.04.2003) и лесного конька *Anthus trivialis* (02.04.2013) в окрестностях Ростова-на-Дону. Одна нимфа снята с белогрудого ежа в х. Марков, Азовского р-на (0 2.04.2017).

***Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794).** В середине прошлого века, по-видимому, отсутствовал в области. Но в дальнейшем быстро распространился и к концу XX столетия заселил всю западную часть. В настоящее время восточная граница распространения проходит по условной линии Волгодонск — Зимовники — Орловский — Пролетарск — Сальск. Один из массовых видов в окрестностях населенных пунктов, а также в сохранившихся естественных и рудеральных биотопах крупных городов, где доминирует. Имаго прокармливаются на домашних и диких млекопитающих, преимагинальные стадии — на мелких грызунах и насекомоядных.

***Dermacentor marginatus* (Sulzer, 1776).** Распространен по всей территории области, включая северные районы. В окрестностях населенных пунктов уступает по численности *D. reticulatus*, вплоть до полного исчезновения. Спектр прокормителей аналогичен *D. reticulatus*.

***Rhipicephalus turanicus* Pomerantzev, 1940.** Самцы с характерными диагностическими признаками (форма аданальных щитков) многократно собирались с бродячих собак в окрестностях Ростова-на-Дону. На других хищниках не обнаружен.

***Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806).** Основной хозяин — домашняя собака. Обнаруживался до 10 экз. на собаках, выгуливаемых хозяевами в центральной части города Ростова-на-Дону. Часто встречается на бродячих собаках в окрестностях Ростова-на-Дону, Аксая, Азова. Численность — до нескольких десятков на одну особь хозяина. Самцы с характерными аданальными щитками отлавливались также на обыкновенной лисице (Ростов-на-Дону, Азовский р-н) и белогрудом еже (Азовский р-н).

***Rhipicephalus rossicus* Yakimov et Kohl-Yakimova, 1911.** Распространен по всей территории области. Имаго прокармливаются на различных домашних и диких млекопитающих (копытных и хищниках), а также на зайцах-русаках *Lepus europaeus,* ушастых ежах *Hemiechinus auritus* и белогрудых ежах. Преимагинальные стадии встречаются на различных мелких грызунах и насекомоядных.

***Rhipicephalus pumilio* Schulze, 1935.** По одному самцу снято с обыкновенной лисицы в Кашарском р-не (15.06.2017) и с зайца-русака в Советском р-не (04.06.2021).

***Hyalomma marginatum* Koch, 1844.** Распространен практически по всей территории области, за исключением Среднего Дона. Имаго прокармливаются, в основном, на домашних копытных, также на зайцах-русаках. Преимагинальные стадии в массе встречаются на врановых, преимущественно, на грачах *Corvus frugilegus*. На некоторых особях число клещей может насчитывать сотни экземпляров, максимально — до 700.

***Hyalomma rufipes* Koch, 1844.** Нимфы в разной степени насыщения были сняты в апреле-мае с перелетных птиц — дальних мигрантов, которые проводят зиму в Африке (сизоворонке *Coracias garrulus*, удоде *Upupa epops*, лесном коньке, серой мухоловке *Muscicapa striata*, чернолобом сорокопуте *Lanius minor*).

Hyalomma turanicum? Pomerantzev, 1946. Сильно напитавшаяся нимфа снята с лесного конька (28.04.2003). Характерная форма перитремы и другие признаки позволили отнести данный экземпляр к этому виду.

***Hyalomma scupense* Schulze, 1918.** Широко распространен в области. Паразитирует в основном на КРС. Нами отмечен в частном коровнике, расположенном в дельте Дона (Азовский р-н).

Заключение

В XXI веке на территории Ростовской области нами обнаружен 21 вид иксодовых клещей; еще один (*Hyalomma turanicum*), нуждается в окончательной идентификации. Обитание *R. annulatus* и *H. anatolicum*, упоминаемых в некоторых публикациях, нуждается в подтверждении коллекционными экземплярами.

Ряд видов (*I. frontalis, I. persulcatus, H. inermis, Hy. rufipes*) являются заносными, преимагинальные стадии которых вместе с птицами периодически попадают на территорию области и могут регистрироваться в будущем. Вид *I. redikorzevi* продолжает активно расселяться в северном направлении и к настоящему времени освоил всю долину Северского Донца, в пределах области. Тенденция к дальнейшему расширению области обитания прослеживается также у *R. turanicus, R. sanguineus*. В то же время продолжается сокращение численности и ареала *I. laguri*, начавшееся в середине прошлого столетия.

Список литературы

1. *Забашта М.В., Савченко А.П., Пичурина Н.Л., Романова Л.В., Бородина Т.Н., Забашта А.В.* Изменение видового разнообразия клещей отряда *Ixodida* и их роль в эпизоотическом процессе природно-очаговых инфекций в Ростовской области. Актуальные вопросы эпидемиологии, микробиологии и диагностики инфекционных и паразитарных заболеваний в Ростовской области: Мат-лы регион. научн.-практ. конф. — Ростов-на-Дону, 2017. — С. 66–72.
2. *Миронов Н.П., Карпузиди К.С., Клименко И.З., Колесников И.М., Лисицын А.А., Нельзина Е.Н., Ширанович П.И., Ширяев Д.Т., Яковлев М.Г.* Источники и переносчики чумы и туляремии. — М.: Медицина, 1965. — 196 с.
3. *Филиппова Н.А.* Иксодовые клещи подсем. Ixodinae. Фауна СССР: Паукообразные. — Л.: Наука, 1977. — № IV(4). — 396 с.
4. *Филиппова Н.А.* Иксодовые клещи подсем. Amblyiomminae. Фауна России и сопредельных стран: Паукообразные. — СПб.: Наука, 1997. — IV(5). — 436 с.
5. *Цапко Н.В.* Список видов иксодовых клещей (Acari: Ixodidae) России // Паразитология. — 2020. — № 54(4). — С. 341–352.
6. Шевченко С.Ф., Кондратенко В.Ф., Бульба Н.П., Новикова Е.М. Эколого-географическая характеристика иксодовых клещей Ростовской области. Второе акарологическое совещание: Тез. докл.; Часть 2. — Киев: Наукова думка, 1970. — С. 226–228.
7. *Apanaskevich D.A., Horak I.G.* The genus *Hyalomma* Koch, 1844: V. Re-evaluation of the taxonomic rank of taxa comprising the H. (Euhyalomma) marginatum Koch complex of species (Acari: Ixodidae) with redescription of all parasitic stages and notes on biology. International Journal of Acarology. 2008; 34 (1):13–42.
8. *Guglielmone A.A., Robbins R.G., Apanaskevich D.A., Petney T.N., Estrada-Peña A., Horak I.G.* The hard ticks of the world: (Acari: Ixodida: Ixodidae). London: Springer; 2014. 738 p.

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ХОЛЕРОЙ В ХАБАРОВСКОМ КРАЕ

Зайцева Т.А.[1], Каравянская Т.Н.[1], Карлов И.С.[1], Гарбуз Ю.А.[2], Ковальский А.Г.[3]

[1] Управление Роспотребнадзора по Хабаровскому краю, г. Хабаровск, Россия
[2] ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае», г. Хабаровск, Россия
[3] ФКУЗ «Хабаровская противочумная станция» Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Россия

Холера относится к инфекционным болезням, представляющим угрозу для здоровья населения, и требует проведения комплекса мероприятий по санитарной охране территории.

Актуальность мероприятий по санитарной охране территории Хабаровского края обусловлена его географическим положением:

- наличие общей границы с Китайской Народной Республикой, проходящей по рекам Амур (протока Амурская) и Уссури;
- большая протяженность территории субъекта (с юга на север — на 1800 км, с запада на восток — до 750 км);
- расположение на пути глобальных транспортных коридоров, обусловливающее активное международное сообщение, в том числе туристическое (на территории края расположены 7 пунктов пропуска через государственную границу Российской Федерации).

Река Амур служит в качестве источника питьевого водоснабжения для крупнейших городов Хабаровского края, Хабаровска и Комсомольска-на-Амуре. По приблизительной оценке, сток в бассейн реки Амур с территории Китая составляет 102–123 км^3/год, или около трети общего стока с территории бассейна реки Амур [Говорушко С.М., Горбатенко Л.В., 2013].

В этих условиях осуществление мониторинговых исследований открытых водоемов на контаминацию холерными вибрионами О1/О139 серогрупп на территории Хабаровского края выступает в качестве одного из важнейших инструментов для оценки риска и прогнозирования осложнения эпидемиологической обстановки.

Стоит учесть также тот факт, что в 1999 г. холера из Китая была завезена в Сахалинскую область и Приморский край.

Хабаровский край отнесен к территориям III типа подтип Б по эпидемическим проявлениям холеры. Мониторинговые исследования открытых водоемов на наличие холерных вибрионов проводятся в течение июля и августа [СанПиН 3.3686-21]. Данные мониторинга за контаминацией холерными вибрионам О1/О139 серогрупп поверхностных водоемов в Хабаровске в 2023 г. свидетельствуют о том, что выделение холерных вибрионов не О1/неО139 серогрупп отмечалось в течение всего периода обследования объектов окружающей среды. Общий показатель числа контаминированных проб составил 41,7% в 2023 г. и незначительно снизился по сравнению с уровнем прошлых двух лет: в 2022 г. — 47,7%, в 2021 г. — 42,5%, но превышает долю выделенных штаммов в 2020 г. (31,9%) и 2019 г. (35,6%).

В 2018–2019 гг., 2021–2022 гг. при осуществлении мониторинга воды открытых водоемов выделялись нетоксигенные штаммы *V. cholerae* О1 серогруппы из воды открытых водоемов, в основном — из малых рек, в которые осуществляется сброс сточных вод.

Среднемноголетний показатель заболеваемости острыми кишечными инфекциями неустановленной этиологии в крае за последние 10 лет составляет 621,58 на 100 тысяч населения [Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Хабаровского края»], формируя своеобразный фон, за которым могут скрываться в том числе опасные инфекционные заболевания.

Таким образом, территория Хабаровского края является, потенциально значимых к завозу опасных инфекционных болезней.

В целях недопущения завоза и распространения инфекции на территории Хабаровского края ежегодно проводится комплекс организационных, профилактических мероприятий:

- актуализация краевого комплексного плана по санитарной охране территории и его утверждение на заседаниях санитарно-противоэпидемической комиссии правительства Хабаровского края;
- пересмотр, по показаниям — внесение изменений в «Оперативные планы противоэпидемических мероприятий в пунктах пропуска через государственную границу Российской Федерации», расположенных на территории Хабаровского края;
- проверка и оценка готовности медицинских организаций к приему и оказанию квалифицированной помощи больным с симптомами холеры;
- оценка готовности лабораторной базы к проведению исследований на холеру;
- организация и проведение в пунктах пропуска и в медицинских организациях края тактико-специальных учений с вводом условного больного с симптомаи холеры;
- проведение мониторинговых исследований открытых водоемов на контаминацию холерными вибрионами на территории Хабаровского края;
- обследование на холеру лиц с признаками острых кишечных инфекций, в том числе, прибывающих из-за пределов Российской Федерации.

В условиях большой географической протяженности Хабаровского края и невысокой плотности населения, а также сложной логистической составляющей значительную роль играет своевременная доставка проб в бактериологические лаборатории, входящие в состав лабораторной базы. Для указанных целей сотрудниками Управления, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае» и ФКУЗ «Хабаровская противочумная станция» Роспотребнадзора для медицинских организаций разработан алгоритм, регламентирующий порядок отбора и доставки в учреждения лабораторной базы проб биологического материала у больных с признаками кишечных инфекций, для исследования на холеру.

Последовательная реализация на территории края комплекса профилактических и противоэпидемических мероприятий позволяет эффективно обеспечивать санитарную охрану территории с учетом имеющихся рисков.

Список литературы

1. *Говорушко С.М., Горбатенко Л.В.* Трансграничное водопользование в бассейне р. Амур // Вестник ДВО РАН. — 2013. — № 2. — С. 1–10.
2. Санитарные правила и нормы, СанПиН 3.3686-21 «Профилактика инфекционных болезней» [Электронный ресурс]. — URL: https://internet.garant.ru (дата обращения: 29.03.2023).
3. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Хабаровского края». [Электронный ресурс]. — URL: 27.rospotrebnadzor.ru/documents/regional (дата обращения: 29.03.2023).

ФИНАНСОВО-АНАЛИТИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ИННОВАЦИОННОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ КАК ИНСТРУМЕНТ ЭФФЕКТИВНОГО УПРАВЛЕНИЯ ФИНАНСОВЫМИ РЕСУРСАМИ

Исенко У.А.[1,2]

[1] ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия
[2] ФГБОУ ВО «Ростовский государственный экономический университет (РИНХ)», г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Осуществление инновационной деятельности, направленной на обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия и биологической безопасности населения невозможно без эффективного управления и контроля за использованием имеющихся финансовыв ресурсов на всех ее этапах: от планирования до внедрения полученных результатов, что обусловливает необходимость в инструменте, который способен охватить учет и анализ показателей инновационной деятельности.

Кроме того, реализация инновационной деятельности, сопряжена также с трудностями в осуществлении закупочной дея-

тельности, в соответствии с действующим законодательством, которые связаны с уходом с российского рынка или приостановкой деятельности иностранных производителей медицинской продукции, реагентов и других расходных материалов, которые применяются в процессе осуществления научно-исследовательской деятельности, с существенным удорожанием большинства позиций, а также со сложностями в логистике.

Важно отметить, что определенные риски в осуществлении инновационной деятельности связаны с ограниченным финансированием, дефицитом научных кадров и влиянием научно-технологического прогресса в данной отрасли, а также санитарно-эпидемиологической обстановкой.

Эти причины оказывают существенное влияние на осуществление инновационной деятельности на всех ее этапах, а последствия принимаемых управленческих решений, связанных с ее реализацией, могут быть неоднозначными и трудно прогнозируемыми.

Внедрение финансово-аналитического обеспечения играет ключевую роль в организации инновационной деятельности, направленной на обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия и биологической безопасности населения.

Цель

Изучить роль финансово-аналитического обеспечения инновационной деятельности в учреждениях Роспотребнадзора с целью обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия и биологической безопасности населения.

Материалы и методы

Автором были применены эмпирические методы исследования. В процессе исследования в качестве информационной базы были использованы: информационные данные Росстата, Стратегия развития здравоохранения Российской Федерации на период до 2025 года [Указ Президента Российской Федерации от 06.06.2019 № 254], результаты исследования, полученные автором в рамках изучения вопроса финансово-аналитического обеспечения инновационной деятельности в учреждениях здравоохранения и Роспотребнадзора.

Результаты и обсуждение

Финансово-аналитическое обеспечение инновационной деятельности, направленной на обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия и биологической безопасности населения, представляет интегрированный подход к сбору, обработке, анализу и представлению данных, связанных с учетом, планированием, реализацией, контролем и оценкой инновационных процессов с целью обеспечения эффективности управления и стратегического развития в области медицинских инноваций, полностью отвечающее особенностям реализации инновационной деятельности в конкретном учреждении.

В первую очередь, внедрение финансово-аналитического обеспечения позволит оценить объем необходимых финансовых ресурсов для реализации инновационных проектов в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия, включая анализ текущего положения организации, в которой осуществляются инновационные разработки, определение приоритетов и расчет финансовых средств на исследования, разработку и внедрение новых технологий и методов профилактики, обеспечения биологической безопасности населения.

Кроме того, финансово-аналитическое обеспечение играет решающую роль в оценке эффективности инвестиций в инновации в области общественного здравоохранения. Путем анализа данных и показателей, связанных с затратами на исследования и разработки, можно оценить реальный вклад новых технологий в предотвращение и борьбу с эпидемиями, что позволяет принять обоснованные решения по дальнейшему финансированию и поддержке перспективных проектов. Кроме того, полученные результаты ретроспективного анализа могут использоваться для построения прогнозов дальнейшего осуществления инновационной деятельности с целью обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия.

В процессе исследования было также установлено, что внедрение и использование финансово-аналитического обеспечения инновационной деятельности в деятельность организаций, осуществляющих контроль за санитарно-эпидемиологической обстановкой, позволяет определять приоритетные направления в инвестициях в инновации, исходя из текущей эпидемиологической ситуации. Это позволяет сосредоточить усилия и ресурсы на

важных направлениях, таких как разработка иммунобиологических препаратов, создание информационных систем и баз данных по заболеваемости и других направлениях, способствующих санитарно-эпидемиологическому благополучию населения.

Финансово-аналитическое обеспечение инновационной деятельности является инструментом, способным обеспечить повышение прозрачности и эффективности управления финансовыми ресурсами, направленными на реализацию инновационной деятельности. Это является необходимым для оценки эффективности использования финансирования, выделяемого из бюджетов всех уровней и внебюджетных источников, и достижения максимального социального и экономического эффекта от разработки и внедрение новых технологий и методов, способствующих повышению уровня санитарно-эпидемиологического благополучия и биологической безопасности населения.

По результатам проведенного исследования было установлено, что любое учреждение, которое осуществляет инновационную деятельность, обладает своим уникальным набором характеристик. К таким характеристикам относятся: профиль деятельности учреждения, научно- и материально-техническое оснащение, и их особенности, объем и источники финансирования инновационной деятельности. Соответственно и финансово-аналитическое обеспечение будет обладать оригинальным инструментарием. Важно отметить, что эти специфические особенности во многом зависят от организации бухгалтерского и финансового учета, организационно-правовой формы учреждения и от источников финансирования его деятельности.

Заключение

По результатам проведенного исследования был сделан вывод о том, что на инновационную деятельность, направленную на обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения, оказывает влияние социально-экономическая и эпидемиологическая обстановка, а также процессы, происходящие внутри учреждения, осуществляющего инновационную деятельность. Инструментом, который способен охватить учет и анализ показателей инновационной деятельности и сформировать необходимую информацию для принятия управленческих решений, способствующих повышению эффективности ис-

пользования финансовых ресурсов и инновационной деятельности в целом, является финансово-аналитическое обеспечение инновационной деятельности.

Таким образом, проведенное исследование позволяет сделать вывод о том, что финансово-аналитическое обеспечение является инструментом, позволяющим принимать обоснованные управленческие решения, способствующие повышению эффективности использования финансовых ресурсов, направленных на осуществление инновационной деятельности в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия и биологической безопасности населения.

Список литературы

1. Указ Президента Российской Федерации от 06.06.2019 № 254 (ред. от 27.03.2023) «О Стратегии развития здравоохранения в Российской Федерации на период до 2025 года» [Электронный ресурс]. — URL: http://www.kremlin.ru/acts/bank/44326 (дата обращения: 30.03.2024).
2. Бизнес-анализ деятельности организации: учебник / Л.Н. Усенко, Ю.Г. Чернышева, Л.В. Гончарова [и др.]; под ред. Л.Н. Усенко. — М.: Альфа-М: ИНФРА-М; 2016. — 560 с.

ОСОБЕННОСТИ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКИ ПО КЛЕЩЕВЫМ ИНФЕКЦИЯМ В РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ В СОВРЕМЕННЫЙ ПЕРИОД

Ковалев Е.В., Ерганова Е.Г., Леоненко Н.В.

Управление Роспотребнадзора по Ростовской области, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

На территории Ростовской области в последние годы возросла заболеваемость природно-очаговыми инфекциями, прежде всего передаваемых иксодовыми клещами. Улучшение условий для их обитания ввиду потепления климата, особенности ландшафтно-географического расположения области способствова-

ли высокому уровню численности переносчиков и носителей природно-очаговых инфекций — клещей, комаров и мышевидных грызунов.

Цель

Анализ заболеваемости клещевыми инфекциями на территории Ростовской области в современный период (2019–2023), оценка факторов риска их распространения.

Материалы и методы

Анализ эпидемиологической обстановки по природно-очаговым инфекциям основан на материалах государственной статистической отчетности, формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях»» за 2019, 2020, 2021, 2022, 2023 гг. и «Формы Федерального статистического наблюдения № 1 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях за 2024 год».

Результаты

Согласно проведенного ретроспективного и текущего эпидемиологического анализа заболеваемости природно-очаговыми инфекциями, зарегистрированный в 2006 г. подъем заболеваемости в 1,8 раза, по сравнению с предыдущими годами, продолжает сохраняться на высоком уровне, сохраняя цикличность и составляя от 173 до 79 случаев в 2019–2023 гг., с наибольшим удельным весом при Крымской геморрагической лихорадке (КГЛ) — 27% и иксодовом клещевом боррелиозе — 14% в структуре клещевых инфекций.

С 2019 г. по 2023 г. зарегистрировано 110 случаев КГЛ, с максимальным числом больных в 2019 г. (48 случаев КГЛ, $1{,}14^{0}/_{0000}$) и 2022 г. (24, $0{,}57^{0}/^{0000}$) и снижением заболеваемости в 2023 г., когда в сезон было зарегистрировано 6 случаев КГЛ на 5 административных территориях, что в 4 раза ниже уровня заболеваемости 2022 г.

КГЛ зарегистрирована на 14 административных территориях области. При анализе территориального распределения, наибольшее число больных выявлено в районах: Сальском (17) —

15,5%, Зимовниковском (16) — 14,5%, Пролетарском (10) — 9,1%.

В 2023 г. случаи КГЛ зарегистрированы в Зимовниковском районе (2 больных), Орловском, Мартыновском, Заветинском, Багаевском районах — по 1. Основным механизмом передачи возбудителя являлся трансмиссивный (3 случая), что составило 50,0%.

Наибольшее количество случаев присасывания клещей к людям в 2023 г. отмечено среди сельских административных районов: в Сальском (8,8%), Песчанокопском (6,3%), Семикаракорском (6,1%) и Неклиновском (6,0%).

При энтомологическом обследовании в течение 2023 г. зон наибольшего риска для населения в плане контакта с клещами: зоны отдыха, зеленые зоны городов, лесопарки, кладбища, природные биотопы и пустыри, а также обследование природных биотопов в период активности иксодовых клещей, сборе с животных было обнаружено 189 экз. клещей различных видов: *Dermacentor marginatus, Rhipicephalus rossicus, Ixodes ricinus, Hemaphysalis punctata*.

При проведении лабораторных исследований полевого материала на контаминацию вирусом Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), исследована 301 проба от клещей (2781 экз.) положительные находки обнаружены в 55 пробах (18,2%), вирусофорность клещей по области в сезон 2023 г. составила 4,8.

При обследовании больных с лихорадкой, поступающих по провизорным показаниям в инфекционные стационары в весенне-летний период 2012 г., впервые был выявлен ранее не регистрируемый в Ростовской области иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ) — три случая, с последующей ежегодной регистрацией единичных случаев. За период 2019–2023 гг. в области зарегистрировано 57 случаев ИКБ с наибольшим числом больных в 2019 г. — 20 ($0{,}47^0/_{0000}$).

В 2023 г. было зарегистрировано 17 случаев ИКБ ($0{,}4114^0/_{0000}$) в городах Ростове-на-Дону (5), Новочеркасске (4), Таганроге (2); в городах Каменске-Шахтинском, Азове и Новошахтинске, в Багаевском, Орловском и Семикаракорском районах — по одному случаю (в 2022 г. — 15).

Проведенные лабораторные исследования клещей, собранных в природных биотопах в 2023 г., показали высокий уровень зараженности боррелиями. Так, из 195 проб 84,6% оказались заражены возбудителем ИКБ. При исследовании клещей, снятых с людей, из 226 проб 16,3% также были заражены возбудителем ИКБ.

По данным проведенного мониторинга на выявление маркеров лихорадки КУ в 2023 г. было исследовано 240 проб, положительные находки обнаружены в 6 пробах на территории Зимовниковского района, п. Зимовники (1 проба), Дубовского района, х. Холостонур (1), Ремонтненского района, с. Ремонтное (3), Целинского района, п. Коренной (1), что не исключает возможности инфицирования населения лихорадкой Ку на данных территориях.

Природный очаг коксиеллеза (лихорадки Ку) продолжает находиться в активном состоянии. В структуре клещевых инфекций доля больных лихорадкой Ку составила 8,9%. В 2023 г. зарегистрировано 10 случаев (в 2022 г. — 27), из них, в Ремонтненском районе — 7 случаев, Сальском — 2 , в Дубовском — 1.

В последние годы учреждениями Роспотребнадзора на территории Ростовской области проводятся мониторинговые исследования иксодовых клещей на микст-инфекции. При исследовании 196 проб (2010 экз.) были получены положительные результаты на гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ) — 27,7 %, моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ) — 2 %.

Аналогично при лабораторных исследованиях на микст-инфекции клещей (238 проб), снятых с людей, в сезон 2023 г. превалируют находки на ИКБ — 15,9%, ГАЧ — 3,7%, МЭЧ — 0,8%.

Вместе с тем при стойкой тенденции роста заболеваемости ИКБ населения области, случаи инфицирования населения ГАЧ, МЭЧ, как микст-инфекциями в комбинации с боррелиозом не выявлены.

Мониторинг за численностью иксодовых клещей, обследование их на носительство возбудителей ИКБ, ГАЧ, МЭЧ позволяет прогнозировать возможность заражения людей, проживающих на энзоотичных территориях.

По данным ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, в 2020 г. из проб полевого материала (от общественные полевки), добытого при эпизоотологическом мониторинге в окрестностях с. Ремонтное, с. Первомайское Ремонтненского района и с. Сандата Сальского района, с использованием биологического метода изолированы культуры возбудителя туляремии — *Francisella tularensis*. Полученные результаты свидетельствовали об активности природного очага степного типа в Ремонтненском и Сальском районах.

В 2021 г. при исследовании клещей, собранных с частного стада крупного рогатого скота (КРС) в х. Северный Целинского района, выявлена ДНК туляремийного микроба, что свидетельствовало о проявлении эпизоотической активности природного очага туляремии в Целинском районе и подтверждает роль клещей, как переносчиков возбудителя туляремии.

В последние годы отмечается активизация природных очагов на юго-востоке области, что подтверждается регистраций случаев заболевания туляремией среди населения Ремонтненского (2022 г.), а также Зимовниковского и Дубовского (2023 г.) районов, выделением культуры туляремийного микроба из биологического материала (мелкие млекопитающие, клещи) в Целинском (2022 г.) и Орловском (2023 г.) районах.

Данный мониторинг продолжается в текущем 2024 году. За 7 месяцев при проведении лабораторных исследований специалистами ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области» в клещах, снятых со скота, выявлен вирус ККГЛ в 12 административных территориях, возбудитель коксиеллеза обнаружен в клещах в трех административных территориях (Ремонтненском, Дубовском и Заветинском районах), возбудители ИКБ выявлены в клещах в шести территориях (городах Ростова-на-Дону, Новочеркасске, Азовском, Октябрьском (с), Семикаракорском, Усть-Донецком районах), маркеры возбудителей ГАЧ в клещах в Новочеркасске, Азовском, Октябрьском (с), Усть-Донецком районах.

Заключение

Таким образом, в Ростовской области эпидемиологическая ситуация по природно-очаговым инфекциям в последние годы

остается напряженной, но управляемой. Особое внимание Управление уделяет межведомственному взаимодействию и организации профилактических мероприятий, которое в Ростовской области осуществляется на высоком уровне. В целях обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения, в т.ч. по клещевым инфекциям, профилактические и противоэпидемические мероприятия осуществляются в соответствии с санитарным законодательством и «Комплексным планом мероприятий по обеспечению санитарной охраны территории, в т.ч. при возникновении чрезвычайной ситуации, касающейся угрозы санитарно-эпидемиологическому благополучию населения Ростовской области и предупреждению особо опасных и природно-очаговых инфекционных болезней на 2022–2027 гг.», утвержденным заместителем губернатора Ростовской области.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА В НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Колоскова А.Ю., Удовиченко С.К., Путинцева Е.В., Бородай Н.В.

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Волгоград, Россия

Введение

В настоящий момент наблюдается расширение ареала переносчиков и нозоареала широкого спектра арбовирусных инфекций, энзоотичных для регионов с тропическим климатом. Экологические предпосылки распространения одной из таких тропических инфекций – лихорадки Западного Нила (ЛЗН) — в более северные регионы Российской Федерации связаны с глобальным потеплением климата, обусловливающим рост численности птиц (основных носителей), увеличением численно-

сти и периода активности членистоногих переносчиков [Захаров К.С. и др., 2021], а также адаптацией возбудителя к хозяевам и переносчикам при заносе его на новые территории. Результаты эпидемиологического надзора за данной инфекцией свидетельствуют о том, что область распространения ЛЗН значительно шире, чем было известно ранее [Топорков А.В. и др., 2023].

В связи с вышеизложенным является актуальной оценка возможностей циркуляции вируса Западного Нила (ВЗН) в северных и центральных регионах России, где проявления ЛЗН не изучены или малоизучены. В качестве такой модельной территории была выбрана Нижегородская область.

Цель

Изучить циркуляцию возбудителя ЛЗН на территории Нижегородской области и предпосылки к формированию природного очага болезни.

Материалы и методы

В исследовании использованы отчетные данные управления Роспотребнадзора по Нижегородской области, представленные в Референс-центр по мониторингу за возбудителем ЛЗН (на базе ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора), результаты исследований Референс-центра (РЦ), научных публикаций и интернет-ресурсов.

Результаты

Территория Нижегородской области располагается в центральной части Восточно-Европейской равнины, в пределах широкого спектра природных зон: от тайги до степных массивов. Умеренно-континентальный климат региона характеризуется сравнительно теплым летом и достаточным обилием осадков. Оценивая климатические параметры в сезон возможной передачи ВЗН в Нижегородской области, отмечено, что среднемноголетний показатель температуры воздуха в летний период достигает отметки 18,1 °С, в том числе июня — 17,3 °С, июля — 19,7 °С и августа — 17,4 °С [Погода и климат, 2024]. Следовательно, на территории области в летний период существуют

температурные условия, обеспечивающие выплод кровососущих комаров, а также репликацию ВЗН в их организме.

Расположение Нижегородской области на стыке широтных и меридиальных эктонов способствует существованию биоразнообразия носителей и переносчиков ВЗН с различными экологическими требованиями [Бакка С.В. и др., 2007]. Орнитофауна здесь представлена 294 видами птиц, относящихся к 56 семействам 18 отрядов [Бакка С.В. и др., 2007]. Сезонные миграции птиц различных экологических групп, особенно лимнофильного комплекса, имеют одно из ключевых значений в экологии ВЗН. Через территорию Среднего Поволжья пролегает глобальный Центрально-Европейский миграционный путь перелетных птиц, соединяющий территорию Восточно-Европейской равнины с Африканским континентом, энзоотичным по ЛЗН. Кочующие птицы также способствуют распространению ВЗН в Нижегородскую область с территории других регионов России со стойкими очагами ЛЗН.

Видовой состав кровососущих комаров в Нижегородской области включает 30 видов: *Anopheles claviger* Meigen, *Anopheles maculipennis* Meigen, *Anopheles messeae* Falleron, *Anopheles hyrcanus* Pallas, *Aedes cinereus* Meigen, *Aedes vexans* Meigen, *Aedes cataphylla* Dyar, *Aedes caspius* Pallas, *Aedes dorsalis* Meigen, *Aedes cyprius* Ludlow, *Aedes excrucians* Walker, *Aedes flavescens* Müller, *Aedes diantaeus* Howard, Dyar and Knab, *Aedes punctor* Kyrby, *Aedes leucomelas* Meigen, *Aedes cantans* Meigen, *Aedes rossicus* Dolbeskin, *Aedes pulcritarsis* Rondani, *Aedes communis* De Geer, *Aedes sticticus* Meigen, *Aedes geniculatus* Olivier, *Culex modestus* Ficalbi, *Culex pipiens* Linnaeus, *Culex theileri* Theobald, *Culex territans* Walker, *Culiseta alaskaensis* Ludlow, *Culiseta fumipennis* Steph, *Culiseta annulata* Schrank, *Uranotaenia unguiculata* Edw, *Coquillettidia richiardii* Ficalbi [БогачеваА.С., 2020]. Из представленного списка потенциальными переносчиками ВЗН являются 9 видов [Забашта М.В. и др., 2006].

Таким образом, на территории Нижегородской области установлено наличие природных и биологических факторов, способствующих формированию очагов ЛЗН.

Согласно результатам мониторинговых исследований, проводимых в Нижегородской области в 2009–2022 гг., о циркуля-

ции ВЗН на этой территории могли свидетельствовать данные по изучению иммунной прослойки к возбудителю среди здорового населения. Установленный уровень серопревалентности варьировал в отдельные годы от 1,3% до 8%. Однако, дифференцирующих исследований для исключения перекрестных реакций с антигенами других флавивирусов (15 из 50 административных территорий области эндемичны по клещевому вирусному энцефалиту) не проводилось, в связи с чем указанные данные требуют уточнения. В полевом материале маркеры ВЗН в течение вышеуказанного периода не были обнаружены.

Следует отметить, что среди субъектов Приволжского федерального округа, к которому относится Нижегородская область, циркуляция ВЗН подтверждена в Саратовской (впервые — в середине 1990-х гг., при осложнении эпидемиологической ситуации с 2012 г.), Ульяновской и Самарской областях (случаи заболевания регистрируют с 2006 г. и с 2012 г. соответственно), Республике Татарстан (изолят ВЗН выделен в 1989 г., случаи заболевания — с 2011 г.).

В связи с вышеизложенным, Нижегородская область была определена РЦ как территория, требующая проведения активного рекогносцировочного мониторинга. В 2023 г. в результате скрининговых обследований лихорадящих больных, выполненных на базе РЦ, на территории Нижегородской области впервые лабораторно подтверждены случаи заболевания ЛЗН. Все четыре выявленных случая классифицированы как местные, поскольку заболевшие не выезжали в течение инкубационного периода за пределы области. Уровень иммунной прослойки к ВЗН среди обследованной группы населения составил 3,2%, из них 86% имели низкоавидные антитела, что свидетельствовало о недавнем контакте с возбудителем болезни.

По результатам мониторинга полевого материала в 2023 г. на территории Нижегородской области было исследовано 4440 экз. (177 пулов) кровососущих комаров. Положительная проба обнаружена от *Anopheles maculepennis*, собранных в Автозаводском районе г. Нижний Новгород. В этом же районе города проживали трое из четырех выявленных больных, а также здоровые жители, контактировавшие с ВЗН в течение этого эпидемического сезона (по результатам изучения иммунной прослойки к ВЗН).

Из одной пробы клинического материала был получен изолят ВЗН, относящийся к субварианту второго генотипа. Выявленный субвариант был тесно связан с вирусами, циркулирующими на других территориях юга и центра России с 2021 г., что свидетельствует о единой территории происхождения указанных изолятов.

Заключение

Таким образом, наличие иммунной прослойки у населения области, выявление случаев заболевания, обнаружение маркеров ВЗН в пробах полевого материала, подтверждают активную циркуляцию вируса на территории Нижегородской области, где имеются благоприятные климатические условия и природные факторы для формирования природных и природно-антропоургических очагов ЛЗН.

Список литературы

1. *Бакка С.В., Киселева Н.Ю.* Орнитофауна Нижегородской области: динамика, антропогенная трансформация, пути сохранения: монография. — Нижний Новгород, 2007. — 124 с.
2. *Богачева А.С.* Кровососущие комары (Diptera: Culicidae) как переносчики дирофилярий (Spirurida: Onchocercidae), патогенных для человека: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.05. — М., 2020. — 158 с.
3. *Забашта М.В., Москвитина Э.А., Пичурина Н.Л., Ломов Ю.М., Миноранский В.А.* и др. Эколого-эпидемиологические аспекты лихорадки Западного Нила в Ростовской области // Проблемы особо опасных инфекций. — 2006. — № 2. — С. 25–32.
4. *Захаров К.С., Магеррамов Ш.В., Матросов А.Н.* Экологические аспекты районирования территории Саратовской области по уровню риска формирования очагов лихорадки Западного Нила // Поволжский экологический журнал. — 2021. — № 1. — С. 3–15. — https://doi.org/10.35885/1684-7318-2021-1-3-15
5. Погода и климат. [Электронный ресурс]. — URL: http://www.pogodaiklimat.ru/monitor.php?id=27459 (дата обращения: 26.03.2024).
6. *Топорков А.В., Путинцева Е.В., Удовиченко С.К.* Лихорадка Западного Нила как актуальная угроза здоровью: история изучения и меры профилактики в России // Анализ риска здоровью. — 2023. — № 3. — С. 138–149. — DOI: 10.21668/health.risk/2023.3.13

ВСПЫШКА ХОЛЕРЫ В ТАМБОВСКОЙ ОБЛАСТИ СРЕДИ ТРУДОВЫХ МИГРАНТОВ, ПРИБЫВШИХ ИЗ ИНДИИ

Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Ежова М.И., Евтеев А.В., Пичурина Н.Л., Сокиркина Е.Н., Бодрая П.В., Носков А.К.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

В современный период эпидемиологический надзор за холерой предусматривает мониторинг заболеваемости данной инфекцией на глобальном, региональном и территориальном уровнях для установления потенциальных рисков ее завоза на территорию Российской Федерации и определения достаточного комплекса мероприятий, направленных на раннее выявление больного (вибриононосителя), локализацию и ликвидацию эпидемического очага [Носков А.К. и др., 2023].

Территория Российской Федерации является не эндемичной по холере. Эпидемические проявления холеры за 25-тилетний период на данной территории характеризовались завозами инфекции туристами из КНР в Приморский край и в Сахалинскую область (1999 г.) [Онищенко Г.Г. и др., 2000]; моряком, прибывшим из Индии в г. Мурманск (2006 г.) [Москвитина Э.А. и др., 2017]; паломниками, вернувшимися из Индии в г. Белорецк Республики Башкортостан (2004, 2008 г.) [Топорков В.П. и др., 2009; Минин Г.Д. и др., 2005]; гражданами России, прибывшими в г. Москву из туристической поездки в Индию в 2010, 2012, 2014 гг. [Москвитина Э.А. и др., 2017; 2020]. В настоящее время на территории России имеются благоприятные условия для не продолжительного переживания токсигенного штамма, в случае его попадания в водный объект (посредством завоза), что может повлечь за собой реализацию водного пути распространения инфекции [Носков А.К. и др., 2022; 2023]. Завозам холеры способ-

ствуют интенсивная межгосударственная миграция населения с территорий эндемичных по холере.

В Российской Федерации прогнозируется риски завоза холеры, что обусловлено активизацией эпидемического процесса в отдельных странах Азии, Африки и регионе Карибского бассейна, где сформировались эндемичные очаги, а также большим пассажиропотоком из стран Юго-Восточной Азии и Восточного Средиземноморья (Сирия, Афганистан, Пакистан, Бангладеш, Индия и др.) [Носков А.К. и др., 2022; 2023].

Цель

Характеристика вспышки холеры в Тамбовской области среди трудовых мигрантов, прибывших из Индии в 2023 г.

Материалы и методы

В работе использованы данные, полученные в ходе проведенного эпидемиологического расследования случаев холеры у граждан Индии. Внеочередные донесения Руководителю Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на случай выявления инфекционного заболевания № 5516 от 20.07.2023, № 5594 от 21.07.2023, № 5558 от 21.07.2023, № 5599 от 22.07.2023, № 5605 от 23.07.2023, № 5661 от 24.07.2023, № 5708 от 25.07.2023, № 5739 от 26.07.2023, № 5754 от 26.07.2023, № 5787 от 27.07.2023, № 5819 от 28.07.2023.

Отбор проб, исследование клинического материала и проб из водных объектов окружающей среды проводились в соответствии с МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры», СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Изучение спектра чувствительности штаммов холерных вибрионов к антибактериальным препаратам определяли диско-диффузионным методом в соответствии с нормативными документами МУК 4.2.2495-09 «Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллез, сап, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам» и МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры».

Результаты и обсуждение

В 2023 г., в период с 18 июля по 29 июля, в г. Рассказово Тамбовской области зарегистрированы один случай холеры и два вибриононосительства.

Случай заболевания холерой был выявлен у гражданина Индии (20 лет), прибывшего в Тамбовскую область г. Рассказово на предприятие ООО «Фарадей-Инвест» для осуществления трудовой деятельности.

Гражданин М.М. 13 июля прибыл воздушным транспортом в аэропорт «Шереметьево» (рейс Дели — Москва) из Индии, штат Бихар Патна, г. Катихар. Катихар – один из крупнейших городов Индии, расположенный в северо-восточной части штата Бихар, являющегося стратегическим железнодорожным узлом, соединяющим Северо-Восточную Индию с остальной частью Индии. Численность населения штата Бихар составляет 240 000. В 2023 г. сведений о регистрации больных холерой в штате Бихар не представлено. Однако, штат Бихар граничит с Западной Бенгалией, где по данным за 14, 16 и 20 календарные недели 2023 г. были зарегистрированы случаи острой водянистой диареи, предположительно источником инфицирования являлась вода из пруда. В соседнем с Бихаром штате Джаргханд в сводке за 19-ю календарную неделю сообщено о случаях острой водянистой диареи, обусловленных употреблением инфицированной вибрионом пищи [Weekly Outbreak Report, 2023].

На борту самолета, прибывшего из Индии, находилось 240 пассажиров и десять членов экипажа. 13 июля на автобусе, в составе группы трудовых мигрантов из 74 человек, прилетевших из Индии, больной прибыл в г. Рассказово и поселился в общежитие предприятия ООО «Фарадей-Инвест». По пути следования этой организованной группы иностранных граждан осуществлялась остановка для принятия пищи в кафе Рязанской области.

Первые симптомы заболевания в виде слабости у гражданина М.М. появились 13 июля в самолете, 14 июля – жидкий стул до восьми раз в сутки, многократная рвота, повышение температуры тела до 38 °С. 14 июля он был помещен в изолятор общежития ООО «Фарадей-Инвест», где пребывал до 17 июля.

17 июля бригадой скорой медицинской помощи больной был госпитализирован в бокс инфекционного отделения ТОГБУЗ «Центральная районная больница г. Рассказово» с диагнозом «Острая кишечная инфекция, обезвоживание легкой степени». Материал для исследования от больного отобран направлен в этот же день в бактериологическую лабораторию ТОГБУЗ «ЦРБ г. Рассказово». При проведении бактериологического исследования был получен отрицательный результат.

18 июля в Управление Роспотребнадзора по Тамбовской области из территориального отдела Управления Роспотребнадзора по Тамбовской области в г. Рассказово, г. Кирсанове, Рассказовском, Кирсановском, Гавриловском, Уметском, Бондарском районах (территориального отдела Управления Роспотребнадзора по Тамбовской области) передано экстренное извещение о выявлении больного с острой кишечной инфекцией неустановленной этиологии, прибывшего из неблагополучной по холере страны.

18 июля у больного с симптомами ОКИ был повторно отобран клинический материал и направлен в отделение особо опасных и природно-очаговых инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Тамбовской области» для проведения исследования бактериологическим и ПЦР методами. 19 июля методом ПЦР обнаружены гены ctxAtcpAwbeThly. После чего на территории г. Рассказово Тамбовской области объявлен очаг холеры, введены ограничительные мероприятия.

19 июля специалистами территориального отдела территориального отдела Управления Роспотребнадзора по Тамбовской области проведено эпидемиологическое расследование по факту случая выявления заболевания холерой трудового мигранта на предприятии ООО «Фарадей-Инвест», установлен круг контактных из 587 человек, из которых: 339 человек – из числа граждан прибывших из Индии в различные сроки и проживающих в общежитии ООО «Фарадей-Инвест»; 52 сотрудника ООО «Фарадей-Инвест»; 16 медицинских работников ТОГБУЗ «Рассказовская ЦРБ»; два водителя автобусов, осуществлявших перевозку иностранных граждан; два сотрудника МВД филиала ФГУП «ПВС» МВД по Тамбовской области; два сотрудника со-

трудники ОГБУЗ ТИКБ; 166 пассажиров и 10 членов экипажа авиарейса (Дели – Москва).

С 19 июля установлено медицинское наблюдение за иностранными гражданами, проживающими в общежитии предприятия ООО «Фарадей-Инвест», прибывшими одним авиарейсом с больным, а также за контактировавшими с больным работниками предприятия и членами экипажа.

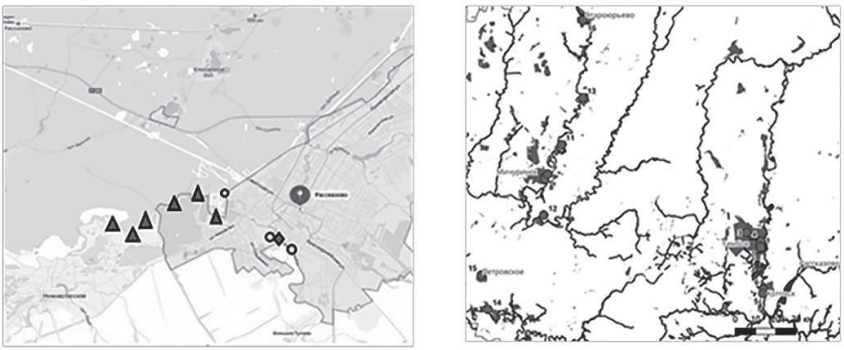
20 июля из клинического материала от больного выделен токсигенный штамм *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa. В инфекционном отделении ТОГБУЗ «ЦРБ г. Рассказово» больному назначен курс антибактериальной терапии препаратом ципрофлоксацина (группы фторхинолонов) в соответствии с установленной антибиотикочувствительностью возбудителя и с последующим лабораторным контролем его эффективности. Контактным лицам проведен курс экстренной профилактики с последующим лабораторным контролем его эффективности. На базе отделения особо опасных и природно-очаговых инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии Тамбовской области» в период с 19 июля по 30 июля проведено троекратное исследование клинического материала от больного и контактных лиц.

В ходе проведения исследования клинического материала от контактных 20 июля у гражданина Индии (23 лет), прибывшего одним рейсом с больным, установлено вибрионосительство (методом ПЦР выявлены гены *ctxA, tcpA, wbeT, hly*). Вибриононоситель был госпитализирован в бокс инфекционного отделения ТОГБУЗ «ЦРБ г. Рассказово». В Индии этот гражданин проживал в провинции Chota Laucha, Bidar штат Карнатака, в котором регулярно регистрируются заболевания холерой и случаи острой водянистой диареи, преимущественно с водным путем передачи возбудителя [Weekly Outbreak Report, 2023].

26 июля по результатам ПЦР-исследования выявлен второй случай вибрионосительства у гражданина Индии (26 лет), также прибывшего 13 июля, после курса экстренной профилактики. Вибриононосителю назначен повторный четырехдневный курс антибактериальной терапии препаратом группы тетрациклина в соответствии с антибиотикограммой возбудителя.

В соответствии со схемой лабораторного исследования клинического материала на холеру в период с 24 июля по 28 июля (по окончанию экстренной профилактики) контактным лицам, включая больного и вибриононосителей, проведено трехкратное обследование на холеру методом ПЦР с получением отрицательных результатов.

В ходе проведения эпидемиологического расследования случая завоза холеры, по эпидемиологическим показаниям были введены дополнительные точки отбора проб воды для проведения мониторинговых исследований на вибриофлору водных объектов окружающей среды в г. Тамбове и Тамбовской области с учетом течения водных артерий (рис. 1).



А Б

Рис. 1. Точки отбора проб воды на холеру из открытых водоемов на территориях г. Тамбова и Тамбовской области в 2023 г.
А. Стационарная и дополнительные точки отбора проб воды в г. Рассказово Тамбовской области
◆ — стационарная точка
○ — точки, введенные по эпидпоказаниям с 20.07.2023
▲ — рекомендуемые дополнительные точки
Б. Стационарные точки отбора проб воды в г. Тамбове и Тамбовской области

Результаты исследований – отрицательные, т.е. распространения инфекции водным путем не отмечалось.

Заключение

Таким образом, в 2023 г. на фоне стабильной эпидемиологической ситуации в России зарегистрированы один завозной слу-

чай холеры и два случая вибрионосительства у лиц, контактировавших с больным. В результате проведенных исследований в материале от больного выделен и идентифицирован токсигенный штамм *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa, два случая вибрионосительства установлены на основании ПЦР-исследования. Больному проведен курс лечения антибактериальными препаратами, выявленным вибрионосителям и контактным лицам – экстренная профилактика в соответствии с установленной антибиотикочувствительностью возбудителей с последующим лабораторным контролем его эффективности. По эпидемическим показаниям введены дополнительные точки отбора проб из водных объектов окружающей среды.

Следовательно, своевременное проведение комплекса противоэпидемических (профилактических) мероприятий позволили локализовать, а в последующем ликвидировать эпидемический очаг холеры на территории г. Рассказово Тамбовской области и не допустить распространение инфекции на территории России.

Список литературы

1. *Онищенко Г.Г., Голубинский Е.П., Чеснокова М.В.* Первая вспышка холеры на острове Сахалин (Сообщение. 2) // Проблемы особо опасных инфекций. — 2000. — № 80. — С. 29–34.
2. *Онищенко Г.Г., Марамович А.С., Голубинский Е.П.* и др. Эпидемиологический анализ вспышки холеры Эльтор в Приморском крае (Сообщение. 1) // Проблемы особо опасных инфекций. — 2000. — № 80. — С. 21–29.
3. *Минин Г.Д., Коробов Л.И., Кологоров А.И., Осина Н.А., Сакаев З.Ф., Галлямов Р.Г., Галлямова Л.К., Кузьминых Н.К., Ежова М. Ю., Ширлина С.А., Степаненко А.Г., Сулейманов Н.С., Сыса А.М., Киреев С.Г., Малыхина З.В., Топорков А.В., Рожкова Е.В.* О завозном случае холеры в Белорецке Республики Башкортостан // Проблемы особо опасных инфекций. — 2005. — № 1. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/o-zavoznom-sluchae-holery-v- beloretske-respubliki-bashkortostan (дата обращения: 15.12.2023).
4. *Москвитина Э.А., Янович Е.Г., Кругликов В.Д., Титова С.В., Куриленко М.П., Пичурина Н.Л., Водопьянов А.С., Левченко Д.А., Иванова С.М., Водопьянов С.О., Олейников И.П.* Прогноз по холере на 2019 г. на основании анализа эпидемиологической обстановки в мире, СНГ и России в 2009–2018 гг. Проблемы особо опасных инфекций. — 2019. — № 1. — С. 64–73. — https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-1-64-73
5. *Москвитина Э.А., Тюленева Е.Г., Самородова А.В., Кругликов В.Д., Титова С.В., Иванова С.М., Ковалева Т.В., Анисимова Г.Б.* Эпидемиологическая обстановка по холере в мире и России в 2007–2016 гг., прогноз на 2017 г. // Про-

блемы особо опасных инфекций. — 2017. — № 1. — С. 13–20. — https://doi.org/10.21055/0370-1069-2017-1-13-23
6. *Москвитина Э.А., Тюленева Е.Г., Самородова А.В., Кругликов В.Д., Титова С.В.* Эпидемиологическая оценка поверхностных водоемов с учетом контаминации их холерными вибрионами О1 и О139 серогрупп как составляющая при определении эпидемического потенциала административной территории // Здоровье населения и среда обитания. — 2017. — № 7. — URL: https://cyberleninka.ru/article/n/epidemiologicheskaya-otsenka-poverhnostnyh-vodoemov-s-uchetom-kontaminatsii-ih-holernymi-vibrionami-o1-i-o139-sero-grupp-kak (дата обращения: 26.12.2023).
7. *Москвитина Э.А., Янович Е.Г., Куриленко М.Л., Кругликов В.Д., Титова С.В., Левченко Д.А., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Мишанькин Б.М., Кривенко А.С., Анисимова Г.Б., Носков А.К.* Холера: мониторинг эпидемиологической обстановки в мире и России (2010–2019 гг.). Прогноз на 2020 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2020. — № 2. — URL: https://cyberleninka.ru/article/n/holera-monitoring-epidemiologicheskoy-obstanovki-v-mire-i-rossii-2010-2019-gg-prognoz-na-2020-g (дата обращения: 12.12.2023).
8. *Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Соболева Е.Г., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Меньшикова Е.А., Подойницына О.А., Ежова М.И., Евтеев А.В.* Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз на 2023 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 1. — С. 56–66. — https://doi.org/10.21055/0370-1069-2023-1-56-66
9. *Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Монахова Е.В., Миронова Л.В., Крицкий А.А., Лопатин А.А., Чемисова О.С., Соболева Е.Г., Иванова С.М., Водопьянов А.С., Стенина С.И., Писанов Р.В., Левченко Д.А., Подойницына О.А., Непомнящая Н.Б., Ежова М.И.* Холера: тенденции развития эпидемического процесса в 2021 г., прогноз на 2022 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2022. — № 1. — С. 24–34. — https://doi.org/10.21055/0370-1069-2022-1-24-34
10. *Топорков В.П., Кологоров А.И., Осина Н.А., Бугоркова Т.В., Щербакова С.А., Портенко С.А., Кучимова Н.А., Мавлютов О.М., Фарвазова Л.А., Галлямов Р.Г., Иванова И.А., Коробов Л.И., Сыса А.М., Короткова Ю.А.* Ретроспективный анализ заносных случаев холеры в г. Белорецк Республики Башкортостан в 2008 году // Проблемы особо опасных инфекций. — 2009. — № 3. — URL: https://cyberleninka.ru/article/n/retrospektivnyy-analiz-zanosnyh-sluchaev-holery-v-g-beloretsk-respubliki-bashkortostan-v-2008-godu (дата обращения: 15.12.2023).
11. Weekly Outbreak Report. Disease Alerts/Outbreaks reported and responded to by States/UTs through Integrated Disease Surveillance Program (IDSP) (29th May 2023 to 4st June 2023). URL: https://idsp.nic.in/WriteReadData/l892s/9050581631691147080.pdf (дата обращения: 07.08.2023).
12. Weekly Outbreak Report. Disease Alerts/Outbreaks reported and responded to by States/UTs through Integrated Disease Surveillance Program (IDSP) (19th June 2023 to 25th June 2023). URL: https://idsp.nic.in/WriteReadData/l892s/3934934481693388430.pdf (дата обращения: 01.09.2023).

13. Weekly Outbreak Report. Disease Alerts/Outbreaks reported and responded to by States/UTs through Integrated Disease Surveillance Program (IDSP) (17th July 2023 to 23th July 2023). URL: https://ncdc.gov.in/WriteReadData/l892s/8760340251695625351.pdf (дата обращения: 26.09.2023).
14. https://timesofindia.indiatimes.com/city/patna/bihar-gears-up-to-fight-annual-floods/articleshow/76268881.cms (дата обращения: 13.12.2023).
15. Weekly Outbreak Report. Disease Alerts/Outbreaks reported and responded to by States/UTs through Integrated Disease Surveillance Program (IDSP) (12th June 2023 to 18th June 2023). URL: https://idsp.nic.in/WriteReadData/l892s/23869537881693295660.pdf (дата обращения: 29.08.2023).
16. Weekly Outbreak Report. Disease Alerts/Outbreaks reported and responded to by States/UTs through Integrated Disease Surveillance Program (IDSP) (26th June 2023 to 2th July 2023). URL: https://ncdc.gov.in/WriteReadData/l892s/40019507851693993875.pdf (дата обращения: 7.09.2023).
17. Weekly Outbreak Report. Disease Alerts/Outbreaks reported and responded to by States/UTs through Integrated Disease Surveillance Program (IDSP) (3th July 2023 to 9th July 2023). URL: https://ncdc.gov.in/WriteReadData/l892s/899386861694577751.pdf (дата обращения 20.09.2023).
18. Weekly Outbreak Report. Disease Alerts/Outbreaks reported and responded to by States/UTs through Integrated Disease Surveillance Program (IDSP) (10th July 2023 to 16th July 2023). URL: https://ncdc.mohfw.gov.in/WriteReadData/l892s/17780502931695186512.pdf (дата обращения: 22.09.2023).

ПОВЫШЕНИЕ КВАЛИФИКАЦИИ СПЕЦИАЛИСТОВ ПО ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ХОЛЕРЫ КАК ОДИН ИЗ ЭТАПОВ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКОЙ ГОТОВНОСТИ

Люкшина Е.Ю., Кругликов В.Д., Левченко Д.А., Носков А.К.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Седьмая пандемия холеры, несмотря на усиленные меры борьбы с ней, остается одной из важнейших проблем здравоохранения в мире. Внутренняя, межгосударственная и межконтинентальная миграция населения, играющая основную роль в

генезе вспышек и эпидемий на различных континентах, продолжает определять эпидемиологические риски завоза холеры в Россию [Носков А.К. и др., 2023; Миронова Л.В.и др., 2020; Москвитина Э.А. и др., 2017, 2018; Oyugi E.O. et al., 2017; Ryan S.J. et al., 2018; Иванова А.В. и др., 2021]. Анализ эпидемиологической обстановки по холере за последние годы позволяет определить наиболее опасные направления заноса инфекции. Существует и угроза дальнейшего распространения инфекции после ее заноса в силу неблагополучных санитарных условий проживания населения в некоторых регионах, имеющейся социальной напряженности, возможности возникновения различных чрезвычайных ситуаций природного и конфликтного характера и т.п. [Попова А.Ю. и др., 2023]. Имеющиеся предпосылки обеспечивают условия для сохранения холерного вибриона, распространения и закрепления инфекции.

Несмотря на отсутствие в нашей стране эндемичных очагов и регулярное выделениенетоксигенных штаммов Vibrio cholerae O1 биовара Эль Тор от людей и из поверхностных водоемов сохраняется необходимость систематического эпидемиологического надзора в отношении данного заболевания, регулярное проведение профилактических, а при необходимости – противоэпидемических мероприятий [Носков А.К. и др., 2022].

С начала VII пандемии холеры на разработку мер борьбы был направлен значительный интеллектуальный потенциал, как в нашей стране, так и за рубежом. По мере накопления новых знаний и опыта совершенствовались противохолерные мероприятия.

Эффективность указанных мероприятий обеспечивается постоянным формированием высококвалифицированного кадрового состава учреждений Роспотребнадзора и медицинских организаций (МО), уровень компетентности которых отвечает функциональным обязанностям и соответствует основным законодательным, нормативным и методическим документам, регламентирующим процесс их деятельности с учетом современных достижений медико-биологических наук [Шамурзаева М.Д. и др., 2020]. Современные тенденции требуют регулярного повышения квалификации специалистов высшего и среднего ме-

дицинского звена на основе непрерывного медицинского образования по программам дополнительного профессионального образования.

В комплексе мероприятий по санитарно-эпидемиологической охране территорий РФ большое значение придается вопросу готовности МО, санитарно-эпидемиологических, санаторно-курортных учреждений.

Значимую роль в обеспечении противоэпидемической готовности медицинских организаций играют курирующие их противочумные учреждения [Мазрухо А.Б. и др., 2019]. В соответствии с Приказом Роспотребнадзора от 01.04.2015 № 274 «Об организации деятельности системы противочумных учреждений Роспотребнадзора» противочумные учреждения непосредственно участвуют в оценке противоэпидемической готовности медицинских организаций, предназначенных для развертывания госпитальной и лабораторной баз, а также оказывают консультативную и практическую помощь этим организациям [МУ 3.1.1.2232-07, 2007].

Ежегодно ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, являющийся Референс-центром по мониторингу холеры на территории Российской Федерации, на базе отдела профессиональной переподготовки и повышения квалификации специалистов проводит обучение сотрудников учреждений Роспотребнадзора и Министерства Здравоохранения по программам «Лабораторная диагностика и эпидемиологический надзор за холерой» и «Аспекты лабораторной диагностики и эпидемиологический надзор за холерой» объемом 78 часов (регистрация на портале НМФО МЗ РФ №18826-2018).

Подготовка медицинских кадров для работы в системе здравоохранения наряду с глубокой теоретической базой требует высокого уровня практических навыков, которые формируются на цикле повышения квалификации в процессе взаимодействия между обучающимися и высококвалифицированными преподавателями.

В связи с этим и ввиду сохраняющегося риска заболевания холерой, специалистами ФКУЗ Ростовский противочумный институт постоянно ведется разработка и внедрение новых науч-

но-методических подходов для циклов дополнительного профессионального образования. В соответствии с приказом Роспотребнадзора от 17.10.2023 № 744 «Об организации серии семинаров по лабораторной диагностике холеры для специалистов учреждений Роспотребнадзора в 2023–2024 годах», на базе ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора в период с октября 2023 года по февраль 2024 года проведено четыре очных обучающих семинара по вопросам лабораторной диагностики холеры.

Семинары впервые объединили в себя материалы двух программ повышения квалификации, а именно, вопросы лабораторной диагностики холеры, а также выявление и типирование возбудителей инфекционных болезней с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Семинары состояли из теоретической и практической части. Теоретический материал подавался в виде блока лекций, в которые в оперативном порядке включали последние данные по мировой заболеваемости, используя информацию Референс центра по холере, с учетом заболеваемости в регионах, из которых прибыли обучающиеся. Практическое обучение проводилось с охватом различных этапов мониторинга холеры в субъектах Российской Федерации, с учетом действующих нормативно-правовых документов и имеющихся авторских наработок.

Теоретическая часть включала детальное рассмотрение следующих тем:

1) порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий различных уровней;
2) микробиология холеры;
3) лабораторная диагностика холеры;
4) контроль качества питательных сред;
5) основы метода ПЦР, выделение ДНК и РНК, постановка ПЦР, принципы учета результатов;
6) применение масс-спектрометрического метода MALDI-TOF для межвидовой дифференциации близкородственных вибрионов.

Практическая часть заключалась в знакомстве с чистыми культурами холерных вибрионов О1, О139 и неО1/неО139 серо-

групп, работе за бактериологическим столом с патогенными биологическими агентами II–IV группы патогенности, исследовании проб воды, отобранных из объектов окружающей среды, исследовании клинического материала с оформлением паспорта на выделенную культуру.

Также практическая часть включала выделение ДНК из пробы клинического материала (*V. cholerae*), постановка ПЦР с набором реагентов для выявления ДНК V. cholerae «АмплиСенс® Vibrio cholerae-FL», учет результатов постановки ПЦР, выделение ДНК из клинического материала (ОКИ) с постановкой и учетом результата ОКИ-скрин.

Завершающим этапом обучения было решение каждым из обучающихся ситуационной задачи: исследование зашифрованных образцов («АмплиСенс® Vibrio cholerae-FL»).

Обучение было проведено для специалистов всех функционирующих в настоящее время на территории Российской Федерации противочумных станций (12 ПЧС), а также для специалистов ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве». Всего завершили обучение по предложенным программам 31 специалист.

Сочетание практического и теоретического подходов к обучению специалистов, детальное изучение различных аспектов лабораторной диагностики холеры позволяет составить системно-целостное представление о лабораторном сопровождении эпидемиологического надзора за холерой, и полноценно повысить уровень профессиональных компетенций специалистов, участвующих в проведении эпидемиологического надзора за холерой.

Регулярное повышение квалификации специалистов позволит повысить готовность к проведению противохолерных мероприятий и усилить настороженность медицинского персонала при выявлении больных (подозрительных) с признаками острых кишечных инфекций, прибывших из неблагополучных территорий по особо опасным инфекциям, в том числе и по холере. Накопленный положительный опыт сотрудничества ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнад-

зора с различными органами и организациями может быть использован для дальнейшего совершенствования механизма взаимодействия в системе Роспотребнадзора.

Список литературы

1. *Мазрухо А.Б., Пичурина Н.Л., Титова С.В., Водяницкая С.Ю., Гаевская Н.Е., Трухачев А.Л., Рожков К.К., Иванов С.А., Кругликов В.Д., Куриленко М.Л., Ежова М.И., Архангельская И.В., Ренгач М.В., Сергиенко О.В.* Основные направления повышения готовности медицинских организаций к противодействию биологическим угрозам. В сборнике: Актуальные вопросы изучения особо опасных и природно-очаговых болезней. Сборник статей научно-практической конференции. — Новосибирск, 2019. — С. 55–59.
2. *Миронова Л.В.* Современные представления о закономерностях эпидемического процесса при холере: экологические и молекулярно-биологические аспекты // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2018. — № 23(5). — DOI: https://doi.org/10.18821/1560-9529-2018-23-5-242-250
3. *Москвитина Э.А., Тюленева Е.Г., Самородова А.В., Титова С.В., Кругликов В.Д.* Определение эпидемического потенциала административных территорий Российской федерации при холере // В книге: Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения. Материалы XI съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов / Под ред. А.Ю. Поповой. — 2017. — С. 177.
4. МУ 3.1.1.2232-07. 3.1.1. Профилактика инфекционных болезней. Кишечные инфекции. Профилактика холеры. Организационные мероприятия. Оценка противоэпидемической готовности медицинских учреждений к проведению мероприятий на случай возникновения очага холеры. Методические указания.
5. *Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Соболева Е.Г., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Меньшикова Е.А., Подойницына О.А., Ежова М.И., Евтеев А.В.* Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз на 2023 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 1. — С. 56–66.
6. *Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Монахова Е.В., Миронова Л.В., Крицкий А.А., Лопатин А.А., Чемисова О.С., Соболева Е.Г., Иванова С.М., Водопьянов А.С., Стенина С.И., Писанов Р.В., Левченко Д.А., Подойницына О.А., Непомнящая Н.Б., Ежова М.И.* Холера: тенденции развития эпидемического процесса в 2021 г., прогноз на 2022 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2022. — № 1. — С. 24–34. — DOI: https://doi.org/10.21055/ 0370-1069-2022-1-24-34
7. *Попова А.Ю., Носков А.К., Ежлова Е.Б., Кругликов В.Д., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Чемисова О.С., Подойницына О.А., Хунхеева Ж.Ю., Водопьянов А.С., Галачьянц Ю.П.* Ретроспективный анализ эпидемиологической ситуации по холере в Донбасском регионе, Запорожской и Херсонской областях // Здоровье населения и среда обитания — ЗНиСО. — 2023. — № 31(11). — С. 82–93.
8. *Шамурзаева М.Д.* Формирование ключевых компетенций, обучающихся в соответствии с требованиями ФГОС // Талантливый педагог. — 2020. — № 11.

ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ В ОЧАГЕ ХОЛЕРЫ НА ТЕРРИТОРИИ ТАМБОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Малова Т.И.[1,2], Толстова Г.А.[1], Понкратова И.А.[1,2]

[1] Управление Роспотребнадзора по Тамбовской области, г. Тамбов, Россия
[2] ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина», г. Тамбов, Россия

Введение

Холера относится к особо опасным инфекциям. Первичное упоминание о регистрации холеры в Тамбовской губернии было отмечено в очерках И.И. Дубасова, основателя Тамбовского краеведения и архивоведения.

В своих трудах И.И. Дубасов писал, что в начале сентября 1830 года на границе губернии были зафиксированы первые случаи заболевания холерой, завезенной из Астрахани. На границах Тамбовских уездов вскоре стали возводить кордоны из числа гарнизонных, инвалидов и отставных солдат. На границах сел создавали мирские караулы из местных сельских обывателей. Всю поступающую почту, тюки с товаром окуривали хлорным газом с целью дезинфекции, а все въезжающие в губернию отправлялись на двухнедельный карантин. Находившихся на карантине лиц ежедневно омывали раствором хлора [В. Горбатовский, 1903].

Крестьянское сословие отказывалось признавать наличие эпидемии и всячески препятствовало карантинным мерам. Так, например, жители села Никольское Тамбовской губернии, узнав о распространении холеры, отказывались верить в наличие эпидемии. Деревенские жители выпустили всех из больницы, сломали ограждения и разогнали кордоны, а врача А.Д. Гоффа приковали к трупу умершего от холеры. Для подавления бун-

та в Никольское отправился сам губернатор И.С. Миронов во главе военной команды.

В условиях эпидемии местные власти обращались к земским врачам с просьбой составлять краткие сведения о холере, понятные удобные в использовании наставления для крестьян. Эти листовки раздавали исключительно в условиях эпидемии. При этом запрещалось распространять преждевременные слухи о грядущем бедствии, чтобы не создавать панику [Кончаков Р.Б., 2001].

Все вышеизложенное способствовало стабилизации обстановки и прекращению эпидемии холеры.

В июле 2023 года в Тамбовской области спустя длительный период отсутствия заболевания (последний случай холеры был в 1871 году) был выявлен один завозной случай холеры и два случая носительства среди иностранных граждан, прибывших из Индии в г. Рассказово Тамбовской области для осуществления своей трудовой деятельности.

Цель

Дать ретроспективный анализ эффективности противоэпидемических (профилактических) мероприятий по локализации и ликвидации очага холеры на территории Тамбовской области и по предотвращению распространения инфекции на территории Российской Федерации с оценкой рисков и чрезвычайных ситуаций, способствующих активизации эпидемического процесса.

Материалы и методы

В целях локализации и ликвидации очага холеры были организованы и незамедлительно начаты противоэпидемические мероприятия.

Работа по ликвидации очага проводилась под непосредственным руководством Главного государственного санитарного врача РФ А.Ю. Поповой. Была оперативно создана санитарно-противоэпидемическая комиссия правительства Тамбовской области.

Ежедневно со дня объявления эпидемического очага холеры на территории области работала оперативная группа, координи-

рующая действия специалистов при проведении противоэпидемических мероприятий в очаге на территории населенного пункта. Были введены в действие комплексный план по санитарной охране территории, оперативный план противоэпидемических мероприятий на случай выявления больного с подозрением на холеру.

Противоэпидемические мероприятия осуществлялись специалистами Управления Роспотребнадзора по Тамбовской области, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Тамбовской области», медицинскими работниками министерства здравоохранения Тамбовской области с участием сотрудников референс-центра по мониторингу за холерой (ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора) и юридических лиц.

В период активного наблюдения за очагом холеры (с 19.07.2023 по 06.08.2023) на территории г. Рассказово проведены дополнительные дезинфекционные мероприятия на объектах водоснабжения и водоотведения.

Кроме того, в рамках проводимых санитарно-противоэпидемических, ограничительных мероприятий, связанных с выявлением завозного случая холеры, был усилен мониторинг водных объектов, введены дополнительные точки отбора проб, организован ежедневный отбор проб воды из поверхностных водоемов, включая р. Цна, в том числе ниже сброса сточных вод. Проводился лабораторный контроль за составом сточных вод и качеством воды водных объектов с увеличением количества контрольных точек и кратности отбора проб воды.

За период с 19.07.2023 по 06.08.2023 лабораторией ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Тамбовской области» было исследовано на холеру 1484 пробы биологического материала от людей и 2157 проб окружающей среды.

Результаты и обсуждения

На основании клинико-эпидемиологических данных и результатов лабораторных исследований на базе ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, был идентифицирован в одном случае токсигенный штамм

Vibrio cholerae O1 E1 Tor Ogawa № 6 и два случая носительства холерного вибриона у трудовых мигрантов, прибывших в Тамбовскую область из Индии для осуществления своей трудовой деятельности на промышленном предприятии.

На базе государственного медицинского учреждения здравоохранения ТОГБУЗ «Рассказовская центральная районная больница» были развернуты:

- холерный госпиталь (для больных) — на 21 койку;
- провизорный госпиталь — на 50 коек;
- изолятор на базе двух учреждений (ТОГБУЗ «Рассказовская ЦРБ» и ООО «Фарадей-Инвест») — на 440 коек.

Под медицинским наблюдением находилось 1638 контактных, из них из ближнего круга общения 410 человек, в том числе 339 индусов, и дальнего круга — 1228 человек. Всем лицам, имевшим контакт с больным и носителями холерного вибриона, был организован ежедневный медицинский осмотр, 3-кратное лабораторное исследование биологического материала на холеру методом ПЦР диагностики до получения антибактериального лечения и после.

Контактным лицам проведен полный курс экстренной профилактики в соответствии с установленной антибиотикочувствительностью возбудителей с последующим контролем его эффективности.

В развернутых стационарах (холерный госпиталь, провизорный госпиталь, изолятор) постоянно проводилась текущая дезинфекция дезинфицирующим средством в концентрации, разрешенной при работе с особо опасными инфекциями. Специализированным государственным медицинским учреждением осуществлялась заключительная дезинфекция по месту нахождения больных и контактных с последующим периодическим контролем эффективности.

Организован ежедневный мониторинг за соблюдением усиленного дезинфекционного режима на объектах водоснабжения с двукратным контролем остаточного хлора, а также за усиленным обеззараживанием сточных вод.

В соответствии с ограничительными мероприятиями был установлен временный запрет на использование водных объек-

тов, расположенных в границах городских и муниципальных округов (г. Тамбов, г. Котовск, г. Рассказово, Рассказовский и Тамбовский муниципальные округа), в целях рекреационного и хозяйственно-бытового водопользования, а также для ловли рыбы.

По результатам проведенных исследований патогенные микроорганизмы — возбудители инфекционных заболеваний, в том числе холеры, не выявлялись.

Выводы

1. Своевременное начало и проведение в полном объеме комплекса противоэпидемических (профилактических) мероприятий позволили локализовать, а в последующем ликвидировать эпидемический очаг холеры и не допустить распространение инфекции среди жителей области.
2. Ввиду напряженной ситуацией по холере в мире и имеющих место активных миграционных потоков сохраняется высокий риск завоза холеры из стран неблагополучных по холере.
3. Завоз холеры наиболее вероятен лицами, прибывшими из неблагополучных по данной инфекции стран. Распространению инфекции способствует несвоевременное выявление больного (вибрионосителя), высокая скученность населения, неудовлетворительные санитарно-гигиенические условия, контаминация возбудителем водных объектов окружающей среды — как факторов передачи инфекции.

Список литературы

1. *Гаджиев Р.С., Османова Ф.М.* К 150-летию земской медицины в России // Земский врач. — 2014. — № 3-4. — С. 7–8.
2. *Дубасов И.И.* Очерки из истории Тамбовского края. — М.: Типография Елисаветы Гербек, 1883. — 263 с.
3. *Зуева Л.П., Яфаев Р.Х.* Эпидемиология. — СПб.: ФОЛИАНТ, 2008. — 752 с.
4. История развития земской медицины в Козловском уезде Тамбов. губ. 1866–1901 гг. Составитель доктор медицины В. Горбатовский. — Козлов: Товарищество и К типо-литографии «Козловская газета», 1903. — 136 с.
5. *Ильин А.Ю.* Возникновение и развитие систем водоснабжения российских провинциальных центров в XVIII–XX вв. (на материалах Пензы, Рязани и Тамбова) // Социально-экономические явления и процессы. — 2016. — № 11(10). — С. 28–34.
6. *Кончаков Р.Б.* Демографическое поведение крестьянства Тамбовской губернии в XIX — начале XX в. Новые методы исследования: дис. ... канд. ист. наук: 07.00.02. — Тамбов, 2001. — 216 с.

7. Обзор Тамбовской губернии за 1892 год. — Тамбов: Типография губернского правления, 1893. — 62 с.
8. Отчет Тамбовской городской управы за 1890 г. — Тамбов: Типография Губернского правления, 1891. — 247 с.
9. *Суворин Р.В.* Эпидемические заболевания в Тамбовской губернии в первой половине XIX в.: причины, проявления, меры по преодолению // Вестник Тамбовского государственного университета. — 2015. — № 8. — С. 151–156.
10. *Хок С.Л.* Голод, болезни и структура смертности в приходе Борщевка. Россия, 1830–1912. Социально-демографическая история России XIX–XX вв. — Тамбов, 1999. — С. 3–30.
11. *Черкасский Б.Ч.* Инфекционные и паразитарные болезни. Справочник эпидемиолога. — М.: Медицинская газета, 1994. — 617 с.

ДИНАМИКА ВЫДЕЛЕНИЯ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ ИЗ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДОЕМОВ ГОРОДА РОСТОВА-НА-ДОНУ С 2019 ПО 2023 г.

Меньшикова Е.А., Селянская Н.А., Титова С.В., Москвитина Э.А., Ежова М.И., Водопьянов С.О., Сагакянц М.М., Егиазарян Л.А., Евтеев А.В., Дегтерева О.Н., Кругликов В.Д.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

За последние пять лет в мире наблюдается рост заболеваемости холерой, наиболее выраженный в странах Азии и Африки, с распространением на территории, которые ранее были свободны от холеры. В 2022 г. в 30 странах на 50 процентов увеличилось число зарегистрированных случаев заболевания холеры по сравнению с предыдущими годами [Носков А.К. и др., 2023; International health Regulations, WHO, 2023].

Ростовская область относится к территориям I типа по эпидемическим проявлениям холеры в соответствии с районированием административных территорий Российской Федерации,

что предусматривает начало проведения ежегодного мониторинга воды поверхностных водоемов на наличие холерных вибрионов в более ранние сроки [СанПиН 3.3686-21]. В ходе мониторинговых исследований из рек Дон и Темерник ежегодно выделяются нетоксигенные штаммы холерных вибрионов О1 серогруппы. Наряду с этим, наблюдаются единичные случаи обнаруженияторигенных штаммов *V. cholerae* О1 El Tor.

Целью работы явился анализ динамики выделения холерных вибрионов из поверхностных водоемов города Ростова-на-Дону в период с 2019 по 2023 гг. и оценка чувствительности/устойчивости их к антибактериальным препаратам.

Материалы и методы

В работе были использованы данные мониторинговых исследований проб воды стационарных и дополнительных точек г. Ростова-на-Дону: рек Дон и Темерник в период с мая по сентябрь 2019–2021 гг. и с апреля по октябрь 2022–2023 гг. Измерение температуры воды в стационарных точках отбора проводили непосредственно перед забором пробы в одно и то же время, в утренние часы. Мониторинг окружающей среды за контаминацией холерными вибрионами осуществляли в соответствии с нормативно-методическими документами [СанПиН 3.3686-21]. Для выделения, определения родовой и видовой идентификации и эпидзначимости микроорганизмов использовали жидкие среды обогащения, щелочной агар, элективную дифференциально-диагностическую среду, Real-time ПЦР. Масс-спектрометрический анализ проводили, применяя MALDI-TOF масс-спектрометр Microflex («BrukerDaltonics», Германия). Оценивали чувствительность/устойчивость к левомицетину, цефтриаксону, стрептомицину, налидиксовой кислоте, рифампицину, триметоприм/сульфаметоксазолу, фуразолидону диско-диффузионным методом [МУК 4.2.3745-22, МУК 4.2.3746-22].

Результаты и обсуждение

За пятилетний период (2019–2023) в ходе проведения мониторинга было исследовано 1117 проб из поверхностных водоемов г. Ростова-на-Дону. В результате был изолирован один ток-

сигенный, 50 нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 El Tor и 714 штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139. Холерные вибрионы O1 серогруппы выделяли в диапазоне температур от 15 °С до 28 °С, *V. cholerae* nonO1/nonO139 — от 11 °С (май) до 10 °С (сентябрь). Наибольшее количество штаммов V. cholerae O1 El Tor из поверхностных водоемов было изолировано в 2021 г. (21 штамм), наименьшее — в 2019 г. (один штамм). За исследуемый период большинство культур было выделено из рек Дон (43,2%) и Темерник (39,2%), в том числе один токсигенный штамм (2023 г.). Меньше всего штаммов изолировали из протоки Мертвый Донец — 17,6%. Наибольший средний удельный вес выделенных штаммов отмечен в июне (39,22 ± 1,2)% и августе (33,33 ± 1,0)% месяцах. В мае и сентябре удельный вес выделенных штаммов составил от (1,96 ± 0,5)% до (11,76 ± 2,5)%, соответственно. Большинство выделенных культур относились к серовару Ogawa — 96,08%. В апреле и сентябре месяце штаммы *V. cholerae* O1 El Tor не выделялись. Все выделенные штаммы *V. cholerae* O1 El Tor были типичны по родовым и видовым признакам, агглютинировались до титра холерной диагностической сывороткой O1 и сероваростпецифическими сыворотками Огава или Инаба.

У всех штаммов холерных вибрионов, выделенных за пятилетний период из поверхностных водоемов г. Ростова-на-Дону, была определена чувствительность/устойчивость к антибактериальным препаратам.

Среди штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, выделенных из воды в г. Ростове-на-Дону в 2019 — 2023 гг., обнаружены устойчивые к левомицетину, цефтриаксону, стрептомицину, налидиксовой кислоте, триметоприму/ сульфаметоксазолу, фуразолидону. Устойчивость к этим препаратам колебалась в разные годы. Так, наибольшее число штаммов, устойчивых к левомицетину, наблюдалось в 2022 г. (11,6%), к стрептомицину — в 2023 г. (40%), к цефтриаксону и налидиксовой кислоте — в 2021 г. (22,4 и 8,9%, соответственно), к триметоприму/сульфаметоксазолу — в 2020 г. (50%). При этом, устойчивость к фуразолидону выявлена у большинства штаммов (51,2% в 2022 г. и 97 — 100% в 2021 и 2023 г.). Только в 2019 г. была выделена культура, чувствительная ко всем исследованным антибактериальным препаратам. В 2020–2023 гг. таких штаммов изолировано не было.

Заключение

Таким образом, за анализируемый период из водоемов г. Ростова-на-Дону выделялись десятки нетоксигенных и единичные токсигенные штаммы *V. cholerae* O1 серогруппы в диапазоне температур от 15 °С до 28 °С,а штаммы *V. cholerae* nonO1/nonO139 — от 11 °С (май) до 10 °С(сентябрь). Анализ антибиотикорезистентности показал широкий спектр и колебания устойчивости к антибактериальным препаратам у штаммов холерных вибрионов O1 серогруппы, выделенных в разные годы. Наибольшее число штаммов проявляло устойчивость к фуразолидону и триметоприму/сульфаметоксазолу. Определение антибиотикорезистентности культур в ходе мониторинговых исследований за холерой позволяет судить о частоте, характере, динамике и распространении устойчивых штаммов возбудителя в поверхностных водоемах г. Ростова-на-Дону.

Приведенные нами данные о ежегодном выделении штаммов *V. cholerae* O1 El Tor из объектов окружающей среды свидетельствуют о сложившихся условиях для реализации водного пути распространения инфекции в случае заноса токсигенных и потенциально опасных штаммов из эпидемически неблагополучных стран.

Список литературы

1. МУК 4.2.3745-22. Методы лабораторной диагностики холеры.
2. МУК 4.2.3746-22.«Организация и проведение лабораторной диагностики холеры в лабораториях различного уровня».
3. *Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Соболева Е.Г., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Меньшикова Е.А., Подойницына О.А., Ежова М.И., Евтеев А.В.* Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз на 2023 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 1. — С. 56–66. — DOI: https://doi.org/10.21055/0370-1069-2023-1-56-66
4. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».
5. International health Regulations, WHO, 2023. [Электронный ресурс]. — URL: https://www.who.int/ru /emergencies/disease-outbreak-news/item/2023

ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИХ (ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ) МЕРОПРИЯТИЙ В ЦЕЛЯХ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ЗАВОЗА И РАСПРОСТРАНЕНИЯ ХОЛЕРЫ НА ТЕРРИТОРИИ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ

Механтьев И.И.[1,2], Гунина О.М.[1], Платунина Т.Н.[1], Боева Г.В.[1]

[1] Управление Роспотребнадзора по Воронежской области, г. Воронеж, Россия
[2] ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», г. Воронеж, Россия

Введение

Территория Воронежской области по эпидемическим проявлениям холеры относится к III типу, подтипу Б.

В целях предупреждения завоза и распространения холеры на территории Воронежской области, разработан «Комплексный план мероприятий по санитарной охране территории Воронежской области от заноса и распространения опасных болезней, способных вызвать чрезвычайную ситуацию в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения», утвержденный Распоряжением правительства Воронежской области.

Материалы и методы

В Воронежской области расположено 3 международных пункта пропуска через государственную границу Российской Федерации (грузопассажирские). Из них: 1 воздушный: ВПП Аэропорт Воронеж (Чертовицкое); 2 автомобильных: МАПП Бугаевка и ДАПП Новобелая.

В 2023 г. санитарно-карантинный контроль транспортных средств, лиц и подконтрольных грузов осуществлялся в 1 автомобильном пункте пропуска через государственную границу Российской Федерации МАПП Бугаевка. Всего досмотрено

638 371 пассажиров и 309 112 единиц транспортных средств, больных пассажиров не зарегистрировано.

По результатам проведенной оценки готовности госпитальной и лабораторных баз Воронежской области специалистами противочумных учреждений в 2023 г., Воронежская область готова к проведению противоэпидемических мероприятий в случае выявления больного с подозрением на холеру.

В 2023 г. проведено 33 тренировочных учения (занятий) с вводом условного больного холерой с отработкой межведомственного взаимодействия медицинских и других служб; теоретическая и практическая подготовка специалистов медицинских организаций, санитарно-карантинных пунктов, сотрудников пунктов временного размещения беженцев по вопросам профилактики холеры и проведения первичных противоэпидемических мероприятий; информационно-разъяснительная работа среди населения по мерам личной и общественной безопасности в отношении особо опасных инфекций.

Плановый мониторинг контаминации холерными вибрионами поверхностных водоемов и других объектов окружающей среды в области проводится в июле-августе, один раз в неделю. В 2023 г. в связи с высокой температурой окружающей среды мониторинг проб воды из объектов внешней среды проводился с 27.04.2023 до 09.10.2023. На территории Воронежской области определены 214 точек отбора проб воды на холеру в зонах рекреационного водопользования: организованного (75), неорганизованного (73), в местах сброса сточных вод (13), сточные воды до очистки (24) и в дополнительных точках в ПВР (29).

Результаты и обсуждения

В 2023 г. исследовано 5197 проб воды, из них в местах организованного рекреационного водопользования (1833), в местах неорганизованного рекреационного водопользования (1788), в местах сброса сточных вод (317), в сточных водах (до очистки) (564), в ПВР (695).

Выделено и идентифицировано на территории 227 проб (4,4%) *Vibrio cholerae* non O1/non O 139, из них в местах организованного рекреационного водопользования (129), в местах не-

организованного рекреационного водопользования (70), в местах сброса сточных вод (19), в сточных водах (до очистки) (7), в дополнительных точках (2).

Выделено 2 штамма нетоксигенных холерных вибрионов *V. cholerae* O1, подтвержденных в ФКУЗ «Ростовский – на – Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, как нетоксигенные штаммы *V. cholerae* O1 E1 Tor Inaba.Отбор проб воды проводился в стационарных вибриомониторинговых точках на реке Усманка, которая не является объектом водопользования в целях питьевого водоснабжения, а используется населением в рекреационных целях.

С целью установления причины загрязнения реки проводилось обследование на холеру материала от лиц с симптомами ОКИ и имеющими в анамнезе купание в реке Усманка, организован дополнительный ежедневный отбор проб воды из данных вибриомониторинговых точках и 500 м выше и 500 м ниже точек до получения трех последовательных отрицательных результатов, один раз в неделю проводился мониторинг воды на микробиологические показатели, организовано выявление несакционированных сбросов сточных вод.

Отсутствие больных холерой, несакционированных сбросов сточных вод, проб, не соответствующих гигиеническим нормативам по микробиологическим показателям при мониторинге на холеру, а также присутствие нетоксигенного холерного вибриона серогруппы O1 в реке Усманка, выделенного однократно, позволяет сделать вывод, что вероятной причиной несоответствия воды требованиям санитарных правил явилось единовременное загрязнение водоема ливневыми стоками с рельефа местности без организованного стока в русло реки. Источник загрязнения водоема не установлен.

Заключение (выводы)

Показателем эффективности проводимых мероприятий, направленных на санитарную охрану территории Воронежской области, является отсутствие регистрации и распространения завозных случаев особо опасных инфекционных заболеваний, в том числе холеры.

Список литературы

1. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».
2. МУ 3.1.1.2232-07 «Профилактика холеры. Организационные мероприятия. Оценка противоэпидемической готовности медицинских учреждений к проведению мероприятий на случай возникновения очага холеры».
3. МУ 3.1.1.3777-22 «Изменения N 1 в МУ 3.1.1.2232-07».
4. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Воронежской области в 2023 г.».

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР ЗА ХОЛЕРОЙ: АНАЛИЗ КОНТАМИНАЦИИ *VIBRIO CHOLERAE* О1 ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ В РОССИИ (2014–2023 гг.)

Москвитина Э.А., Соболева Е.Г., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Носков А.К.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Одними из ключевых в системе эпидемиологического надзора за холерой являются данные о выделении *Vibrio cholerae* О1/О139 серогрупп из водных объектов окружающей среды. Эти сведения используются при определении направления и объема профилактических мероприятий при выделении различных по эпидемической значимости холерных вибрионов из водных объектов I и II категорий, совершенствовании тактики надзора, оценке и прогнозировании эпидемиологической обстановки, при районировании административных территорий Российской Федерации по типам эпидемических проявлений холеры в комплексе с другими данными. Изучение контаминации водных объектов *V. cholerae* О1/О139 серогрупп, как биологического фактора риска в активизации водного пути распространения возбудителя инфекции – основного – при вспышках холеры в

России в период седьмой пандемии, определяет актуальность исследований в этом направлении, что имеет научное и прикладное значение.

Цель

Изучение контаминации *V. cholerae* O1 водных объектов на административных территориях Российской Федерации, различных по типам эпидемических проявлений.

Материалы и методы

При анализе данных о выделении *V. cholerae* O1 из водных объектов использованы донесения руководителей управлений Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации, паспорта на штаммы *V. cholerae* O1, сведения из баз данных «Холерные вибрионы. Россия» (1991–2018 гг.) и «Холерные вибрионы Эль-Тор. Российская Федерация. Контаминация водных и других объектов окружающей среды» (с 2019 г.) [Москвитина Э.А. и др., 2006; 2023].

Результаты и обсуждение

Необходимо отметить, что на различных этапах разработки принципов районирования РФ по типам эпидемических проявлений холеры с применением комплекса показателей, в том числе контаминации *V. cholerae* O1 водных объектов отрабатывалась тактика эпидемиологического надзора за холерой, в части, касающейся объектов, сроков и объема исследований. Совершенствовались профилактические мероприятия при выделении различных по эпидемической значимости холерных вибрионов с введением эпидемиологического расследования. В разработанных во ФКУЗ Ростовский противочумный институт Роспотребнадзора МР «Порядок эпидемиологического расследования при контаминации холерными вибрионами O1, O139 серогрупп водных и других объектов окружающей среды» отмечено, что расследование должно быть направлено на выяснение причин контаминации холерными вибрионами O1/ O139 серогрупп водных объектов (сточных вод) и на разработку комплекса мер, направленных на их предупреждение и ликвидацию.

С учетом предусмотренной тактики эпидемиологического надзора за холерой в 2014–2023 гг. в 30 субъектах Российской Федерации из проб воды поверхностных водоемов изолировано 547 штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, в том числе два штамма *V. cholerae* O1 *ctxA*$^{+}$*tcpA*$^{+}$ (Ростовская область), 67 – *V. cholerae* O1 *ctxA*$^{-}$*tcpA*$^{+}$ (Ростовская область, Республика Калмыкия, Ставропольский край, Республика Коми и Хабаровский край) и 478 – *V. cholerae* O1 *ctxA*$^{-}$*tcpA*$^{-}$. Среди штаммов *V. cholerae* O1, изолированных в субъектах Российской Федерации, различных по типам эпидемических проявлений, наибольшая доля их – 53,6% (293 штамма) выявлена на территориях II типа по эпидемическим проявлениям холеры (Республика Калмыкия, Приморский и Краснодарский края).

При анализе контаминации *V. cholerae* O1 водных объектов в Республике Калмыкия выявлено продолжительное, ежегодное выделение холерных вибрионов из некоторых водных объектов, неблагополучных в эколого-гигиеническом отношении по микробиологическим и санитарно-химическим показателям, предусмотренным соответствующими нормативными документами. При этом *V. cholerae* O1 *ctxA*$^{-}$*tcpA*$^{+}$ *были изолированы наряду с V. cholerae* O1 *ctxA*$^{-}$*tcpA*$^{-}$ с INDEL- и ПЦР-генотипами, ранее не встречающимися в данном регионе, преимущественно в местах сброса сточных вод, что указывает на их заносное происхождение [Москвитина Э.А. и др., 2021]. Влияние природных ЧС с метеорологическими типами природных явлений (ливни, наводнения) явилось пусковым механизмом нарушения эколого-гигиенических условий в районе р. Агура с попаданием сточных вод и контаминацией сульфидных вод подземного горизонта с последующей разгрузкой и попаданием *V. cholerae* O1 *ctxA*$^{-}$ *tcpA*$^{-}$ в Черное море. Отличительной чертой штаммов (n = 83 из 107) явилось наличие гена cholix-токсина 1 типа (*chx*A1), который, относится к факторам колонизации, способствующим персистенции холерных вибрионов в ассоциации с водными организмами [Титова С.В. и др., 2016]. На территориях I типа доля штаммов *V. cholerae* O1 составила 21,4% (117), III типа подтипа А – 9,0% (52) и на территории III типа подтип Б – 15,0 % (82); в 2023 г. соответственно – 65,4% (34) с учетом штаммов *V. cholerae*

O1, изолированных в Донецкой Народной Республике (16), Ростовской области (14) и Республике Крым (4); II типа – 15,4% (8), III типа подтипа А – 7,7% (4), III типа подтип Б – 11,5% (6). Удельный вес *V. cholerae* O1 в Южном федеральном округе, куда входят в основном территории I и II типов по эпидемическим проявления холеры, за исключением Приморского края, составил 68,3% (375 штаммов).

При систематизации штаммов *V. cholerae* O1, выделенных в стационарных точках отбора проб, установлен рост их числа в местах неорганизованного рекреационного водопользования. Так, удельный вес их за период 2012–2021 гг. составил 44,1%, в 2013–2022 гг. – 68,6%, в 2014–2023 гг. – 88,5% (рис. 1). В 2014–2023 гг. выделено 52 штамма *V. cholerae* O1 El Tor из водных объектов, в местах сброса сточных вод, в том числе два – *V. cholerae* O1 El Tor *ctxA*$^{+}$*tcpA*$^{+}$ (Ростовская область, 2014 г., 2023 г.). При анализе выделения *V. cholerae* O1 из водных объектов с 2014 г. по 2023 г. в субъектах РФ с учетом климатогеографических областей установлено преимущественное их обнаружение в Атлантико-континентальной области – 75,5 % (413 штаммов), к которой относятся территории I и II типов по эпидемическим проявлениям холеры.

Рис. 1. Удельный вес *V. cholerae* O1, выделенных из водных объектов с учетом стационарных точек отбора проб. Российская Федерация, 2014–2023 гг.

Результаты мониторинга контаминации *V. cholerae* O1 водных объектов в России указывают на оправданность существующей тактики эпидемиологического надзора в части, касающейся выявления биологического фактора риска в реализации водного пути распространения возбудителя в случае заноса холеры и накопления данных для совершенствования районирования административных территорий России по типам эпидемических проявлений холеры и проведения профилактических мероприятий.

Список литературы

1. *Москвитина Э.А., Анисимова Г.Б., Подосинникова Л.С., Горобец А.В.* Свидетельство № 2006620206 о регистрации базы данных «Холерные вибрионы. Россия». 2006.
2. *Москвитина Э.А., Соболева Е.Г., Носков А.К.* Свидетельство № 202362564 об официальной регистрации базы данных «Холерные вибрионы Эль-Тор. Российская Федерация. Контаминация *V. cholerae* водных и других объектов окружающей среды». 2023.
3. *Москвитина Э.А., Янович Е.Г., Курильенко М.Л., Кругликов В.Д., Носков А.К.* Эколого-эпидемиологические аспекты контаминации *V. cholerae* O1 водных объектов в Республике Калмыкия // Здоровье населения и среда обитания. — 2021. — № 29. — С. 79–86. DOI: https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-29-12-X-X
4. *Титова С.В., Москвитина Э.А., Кругликов В.Д., Самородова А.В., Тюленева Е.Г., Монахова Е.В., Писанов Р.В., Водопьянов А.С. Архангельская И.В., Иванова С.М., Ковалева Т.В., Водопьянов С.О.* Холера: оценка эпидемиологической обстановки в мире и России в 2006–2015 гг. Прогноз на 2016 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2016. — № 1. — С. 20–27. — DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-20-27

ХОЛЕРА: ЧРЕЗВЫЧАЙНЫЕ СИТУАЦИИ И ФАКТОРЫ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО РИСКА, СПОСОБСТВУЮЩИЕ АКТИВИЗАЦИИ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

Москвитина Э.А., Соболева Е.Г., Савина И.В., Носков А.К.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Продолжающееся распространение в мире холеры, как биолого-социальной чрезвычайной ситуации (ЧС) обусловлено, в свою очередь, различными по характеру ЧС, способствующими активизации, в основном, социальных факторов риска. Являясь косвенными (неуправляемыми) регуляторами эпидемического процесса, они выступают в роли причин и условий, обусловливающих состояние эпидемиологической обстановки по холере в мире, на других территориальных уровнях. ЧС, влияющие на эпидемический процесс при холере, мы рассматриваем как актуальные информационные данные для прогнозирования эпидемиологической обстановки [Москвитина Э.А. и др., 2017].

Цель

Определить совокупность различных по характеру источников возникновения чрезвычайных ситуаций и факторов эпидемиологического риска, обусловливающих интенсивность эпидемического процесса при холере.

Материалы и методы

В работе использованы базы данных «Холера Эль-Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в мире» и «Холера Эль-Тор чрезвычайные ситуации различного происхождения» [Москвитина Э.А. и др., 2003; 2022]. Применена классификация

ЧС по характеру источников возникновения и масштабу, понятийно-терминологические определения ЧС [Пучков В.А., 2015; Воробьев Ю.Л., 2001]. В качестве источников информации использованы данные официальных и региональных сайтов ВОЗ,reliefweb.int/report, ProMED и других.

Результаты и обсуждение

ЧС биолого-социального характера (вспышки, эпидемии) систематизированы с учетом характера источников возникновения ЧС, актуализированы с учетом ЧС, имевших место при крупных вспышках и эпидемиях в странах Азии, Африки, Америки, региона Карибского бассейна (2023 г.). Установлено, что интенсивность эпидемического процесса во времени и пространстве была обусловлена природными ЧС, включающими такие типы природных явлений как геофизические и метеорологические. Природные ЧС с геофизическими явлениями приводят к землетрясениям с частичным или полным разрушением социальной инфраструктуры городов в части, касающейся водоснабжения и водоотведения; контаминации *V. cholerae* водных объектов, реализации соответствующего водного фактора передачи возбудителя инфекции и другие. К этой группе ЧС относится: засуха, как следствие, голод, перебои с водой, использование воды для питья из случайных источников, контаминированных *V. cholerae*; вынужденная миграция населения, связанная с проживанием в переполненных, с антисанитарными условиями, недостаточным и некачественным водоснабжением лагерях временного проживания.

Природные ЧС с метеорологическими типами природных явленийреализуются в виде ливней, наводнений с частичным или полным разрушением социальной инфраструктуры городов в части, касающейся водоснабжения и водоотведения. Сопровождаются контаминацией *V. cholerae* воды в распределительной водопроводной сети, поверхностных водоемов в зонах рекреационного водопользования, реализацией соответствующего водного фактора передачи возбудителя инфекции. В эту группу ЧС включены ливни, наводнения, обусловленные феноменом Эль-Ниньо, ведущие к активизации социальных факторов риска.

Для анализа включены техногенные ЧС, которые могут возникнуть в результате действия источника техногенной ЧС на объекте на определенной территории, или акватории и могут привести к интенсивной биолого-социальной ЧС с разрушением инфраструктуры водоснабжения и водоотведения, с попаданием сточных вод в поверхностные водоемы, контаминацией их *V. cholerae*. Как следствие этого — активизация социальных факторов риска: миграции населения, отсутствие возможности оказания квалифицированной медицинской помощи; гуманитарный кризис.

Войны, локальные и региональные военные конфликты, массовые беспорядки в связи с политической и экономической нестабильностью, имевшие и имеющие место в настоящее время на фоне регистрации холеры, рассматриваются как ЧС, при которой нарушаются нормальные условия жизнедеятельности людей, возникает угроза их жизни и здоровью, наносится ущерб имуществу, окружающей природной среде [4]. Указанные ЧС приводят к активизации социальных эпидемиологических факторов риска, хроническим во времени и масштабным эпидемиям. Как факторы риска учитываются традиции и обычаи населения (ритуальные обряды при захоронении, поминальные обеды и другие), приводящие к массовому скоплению людей, реализации алиментарного и контактно-бытового пути передачи возбудителя инфекции. Биолого-социальные ЧС по масштабу делятся на локальные, региональные и на уровне страны, что с учетом эпидемиологических типов заболеваемости соответствует локальным и распространенным по территории.

При анализе различных по характеру ЧС и факторов эпидемиологического риска, влияющих на интенсивность эпидемического процесса при холере, установлено, что эпидемии, вспышки и заносы имели место в 2023 г. в 38 странах мира с регистрацией 856 308 случаев холеры, с наибольшим числом случаев — 628 204 в различных регионах Азии. При этом в регионе Восточного Средиземноморья отмечены наиболее крупные ЧС биолого-социального характера в виде эпидемий в Сирии (280 913 случаев холеры), Афганистане (128 880), Пакистане (77 714), Сомали (16 989), а также в Йемене (3899) и Ливане (2081).

Оценку интенсивности эпидемического процесса, соответствующую показателю заболеваемости холерой в стране, определяли по совокупности ЧС и факторов эпидемиологического риска, имевших место во время эпидемий и вспышек, Оценку биолого-социальной ЧС (ЧСBS) приводим на примере эпидемии, имевшей место в регионе Восточного Средиземноморья, в Сирии, по формуле:

$$\text{Сирия}_{\text{ЧСBS}} = \text{EpV} + \text{AEpV1} + \text{AEpV2} + \text{AEpV3} + \text{AEpV4} + \\ + \text{A1EpP1} + \text{A1EpP6} + \text{AEpSf1} + \text{AEpSf6} + \text{AEpSf1} + \text{AEpSfG},$$

где ЧС: EpV — война; AEpV1 — в ходе войны нанесен ущерб инфраструктуре систем водоснабжения и водоотведения, природной среде, здоровью населения; AEpV2 — в ходе войны нанесен ущерб инфраструктуре систем водоснабжения и водоотведения, природной среде, приведшие к контаминации *V. cholerae* питьевой воды; реализации соответствующего водного фактора передачи возбудителя инфекции; AEpV3 — в ходе войны нанесен ущерб здоровью населения. На северо-западе Сирии более 3 миллионов человек не были обеспечены продовольствием, что классифицируется как голод; AEpV4 — в ходе войны разрушены медицинские учреждения. Недостаток квалифицированной медицинской помощи. ЧС природные, геофизические: A1EpP1 — землетрясение с частичным и/или полным разрушением социальной инфраструктуры городов в части, касающейся водоснабжения и водоотведения; A1EpP6 — засуха привела к миграции населения, проживание в переполненных, с антисанитарными условиями, недостаточным и некачественным водоснабжением в лагерях временного проживания.

Социальные факторы риска: AEpSf1 — миграция населения, в том числе вынужденная, внутри- и межгосударственная; проживание в переполненных, с антисанитарными условиями, недостаточным и некачественным водоснабжением в лагерях временного проживания. AEpSfG — гуманитарный кризис.

Вспышки холеры в 10 штатах Индии в 2023 г были обусловлены ЧС природного характера с метеорологическими явлениями (ливни, наводнения) на фоне недостаточно развитой инфраструктуры в части водоснабжения и водоотведения, контаминации *V. cholerae* питьевой воды.

Анализ ЧС различного характера и социальных факторов эпидемиологического риска в странах Азии, Африки, Америки, регионе Карибского бассейна свидетельствует об их влиянии на интенсивность эпидемий, принимающих масштабный и хронический характеры, как биолого-социальные ЧС.

Список литературы

1. *Москвитина Э.А., Тюленева Е.Г., Самородова А.В., Кругликов В.Д., Титова С.В., Иванова С.М., Ковалева Т.В., Анисимова Г.Б.* Эпидемиологическая обстановка по холере в мире и России в 2007–2016 гг., прогноз на 2017 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2017. — № 1. — С. 13–20. — DOI: 10.21055/0370-1069-2017-1-13-20
2. *Москвитина Э.А., Анисимова Г.Б., Беспалов И.А.* Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2003620046. Холера Эль-Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в Мире». 07.03 2003.
3. *Москвитина Э.А., Соболева Е.Г., Носков А.К.* Холера Эль-Тор. Чрезвычайные ситуации различного происхождения». База данных. Свидетельство № 2022620141, 18.01.2022.
4. Гражданская защита: Энциклопедический словарь (издание третье, переработанное и дополненное); под общ. ред. В.А. Пучкова / МЧС России. — М.: ФГБУ ВНИИ ГОЧС (ФЦ), 2015. — 664 с.
5. Гражданская защита. Понятийно-терминологический словарь / Под общ. ред. Ю.Л. Воробьева — М.: Флайст, Геополитика, 2001. — 240 с.

ОБЕСПЕЧЕНИЕ ГОТОВНОСТИ ПО ХОЛЕРЕ ФБУЗ «ЦЕНТР ГИГИЕНЫ И ЭПИДЕМИОЛОГИИ В УЛЬЯНОВСКОЙ ОБЛАСТИ»

Нафеев А.А.[1,2], Салина Г.В.[1], Сибаева Э.И.[1], Тимиркина О.В.[1], Жукова Е.Ю.[1]

[1]ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ульяновской области», г. Ульяновск, Россия
[2]ФГОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия

В Постановлении Совета Федерации Федерального собрания Российской Федерации от 22.11.2023 № 673-СФ «О реализации

федерального проекта “Санитарный щит страны — безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)”» отмечается, что обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения — одно из ключевых условий реализации конституционных прав граждан на охрану здоровья и благоприятную окружающую среду. Организации Роспотребнадзора РФ включены в единый мониторинг за холерой — инфекцией, имеющей пандемическое распространение (7-я пандемия берет свое начало в 1961 году). Быть в постоянной готовности требует отмечаемое осложнение эпидемической ситуации в мире в последние годы.

Обеспечение готовности управлений Роспотребнадзора, осуществляющих государственный санитарно-эпидемиологический надзор в субъекте РФ, и ФБУЗов «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте РФ при консультативном и организационно-методическом участии референс-центра по мониторингу за холерой (ФКУЗ Ростовского противочумного института Роспотребнадзора) направлено на оперативное реагирование в случае реализации риска завоза инфекции и на предупреждение распространения холеры на территории страны.

Для обеспечения биологической безопасности субъекта (Ульяновская область) по болезням, требующих проведения мероприятий по санитарной охране, (включая холеру), ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ульяновской области» (далее — Центр) проводит целый комплекс организационных мероприятий:

1) подготовка сводной информации по готовности микробиологических лабораторий к диагностике холеры, во главе с отделением особо опасных инфекций (далее лаборатория ООИ), в лаборатории которой имеется на ответственном хранении (с обеспечением соблюдения всех требований биологической безопасности) музейная культура, для обеспечения выполнения нескольких целевых назначений, включая:

   1.1. контроль питательных сред;

1.2. подготовку и выдачу в филиалы (ежегодно) имитационных проб для практической оценки готовности микробиологических лабораторий;

2) согласно МУ 3.4.1030-01 «Организация, обеспечение и оценка противоэпидемической готовности медицинских учреждений к проведению мероприятий в случае завоза или возникновения особо опасных инфекций, контагиозных вирусных геморрагических лихорадок, инфекционных болезней неясной этиологии, представляющих опасность для населения Российской Федерации и международного сообщения» проводится бальная оценка (по единым критериям) противоэпидемической готовности к проведению мероприятий на случай возникновения очага холеры [1];
3) участие в ежегодных учебно-тренировочных занятиях, по плану Управления Роспотребнадзора по Ульяновской области;
4) паспортизация стационарных точек по мониторингу открытых водоемов;
5) паспортизация микробиологических лабораторий в соответствии с типовой федеральной формой;
6) проведение семинара с медицинскими организациями (2024 г.) по программе, принятой Федеральной службой Роспотребнадзора РФ;
7) формирование Папки главного (дежурного) врача с необходимыми распорядительными документами, должностными инструкциями, схемами оповещения, списком учреждений госпитальной базы в области, списками консультантов и др.;
8) обучение врачей и лаборантов по лабораторной диагностике холеры – ежегодно (4-й квартал) в лаборатории ООИ (при наличии заявок от медицинских организаций и планово для филиалов;
9) разработка плана оперативных противоэпидемических мероприятий по особо опасным инфекциям с алгоритмом действий привлекаемых специалистов на основании регламентирующих документов ФС Роспотребнадзора врачами эпидемиологами отдела обеспечения эпидемиологического надзора ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ульяновской области»;

10) ежегодное участие в обучающих семинарах, проводимых ФКУЗ Ростовский Ростовским-на-Дону научно-исследовательским противочумным институтом и ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (г. Саратов).
11) актуализация документации по данному разделу работы, выверяются списки консультантов (апрель месяц ежегодно) и др.

Итогом проведения вышеперечисленных мероприятий является результат балльной оценки, согласно унифицированных форм, разработанных Федеральной службой Роспотребнадзора РФ, о состояния готовности санитарно-эпидемиологической службы Центра и его филиалов к работе в очагах холеры с последующей документированной проверкой (составление справки для представления главному врачу Центра).

Оценка проводится ежегодно с 2001 г. в мае-июне в соответствии с приказами главного врача «Центра», по двум направлениям в соответствии с: 1) МУ 3.4.1030-01, МУ 3.4.2552-09 (в целом по всей группе Болезней, требующих проведения мероприятий по санитарной охране — приложение 11 СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»; 2) МУ 3.1.1.2232-07 «Профилактика холеры. Организационные мероприятия. Оценка противоэпидемической готовности медицинских учреждений к проведению мероприятий на случай возникновения очага холеры», МУ 3.1.1.3777-22 «Изменения № 1 в МУ 3.1.1.2232-07», МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры» [1–6].

Ульяновская область включена в единую систему Российской Федерации по мониторингу холеры за открытыми водоемами, с учетом эпидемических проявлений холеры и входит в состав территорий III типа по эпидемическим проявлениям холеры (подтип А) (приложение 20 СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»), с обеспечением кратности и периодичности отбора проб в течение двух летних месяцев (еженедельно). Проведенный анализ результатов мониторинга объектов окружающей среды на наличие холерных вибрионов показал, что в Ульяновской области ежегодно обнаруживаются *V. cholerae* nonO1/

nonO139. В последние годы (с 2014 г.) регистрация отмечается только на одной территории субъекта — в областном центре (г. Ульяновск). Количество изолированных штаммов по годам не равнозначное.

В плане оказания практической помощи филиалам и медицинским организациям, выполняющим лабораторные исследования на холеру, ежегодно проводится проверка качества питательных сред и ингибитора роста посторонней микрофлоры для лабораторной диагностики холеры (основной пептон и щелочной агар). Эта работа начинается с апреля месяца, при несоответствии в первом контроле, проводится повторный бактериологический контроль этой же серии сухой среды, чтобы к началу эпидсезона все лаборатории имели годные серии питательных сред для выявления холерных вибрионов и установленную рабочую концентрацию теллурита калия.

Комплексная, ежегодная системная подготовка ФБУЗ «ЦГиЭ в Ульяновской области» Роспотребнадзора по холере к выявлению случаев заболеваний холеры (вибриононосительства), обнаружения патогена (как токсигенных, так и нетоксигенных штаммов) в водных объектах окружающей среды — факторах передачи инфекции, включая открытые водоемы и сточные воды, будет способствовать оперативному принятию управленческих решений по объему и направленности профилактических и противоэпидемических мероприятий.

Список литературы

1. МУ 3.4.1030-01 «Организация, обеспечение и оценка противоэпидемической готовности медицинских учреждений к проведению мероприятий в случае завоза или возникновения особо опасных инфекций, контагиозных вирусных геморрагических лихорадок, инфекционных болезней неясной этиологии, представляющих опасность для населения Российской Федерации и международного сообщения».
2. МУ 3.4.2552-09. 3.4. «Санитарная охрана территории. Организация и проведение первичных противоэпидемических мероприятий в случаях выявления больного (трупа), подозрительного на заболевания инфекционными болезнями, вызывающими чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия».
3. МУ 3.1.1.2232-07 «Профилактика холеры. Организационные мероприятия. Оценка противоэпидемической готовности медицинских учреждений к проведению мероприятий на случай возникновения очага холеры».

4. МУ 3.1.1.3777-22 «Изменения № 1 в МУ 3.1.1.2232-07».
5. МУ 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры». — 2022. — 79 с.
6. СанПин 3.3986-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней Профилактика инфекционных болезней». — 2021. — 1092 с.

ОПЫТ ФБУЗ «ЦЕНТР ГИГИЕНЫ И ЭПИДЕМИОЛОГИИ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН» ПО ЛАБОРАТОРНОМУ ОБЕСПЕЧЕНИЮ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА КОНТАМИНАЦИЕЙ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ ХОЛЕРНЫМИ ВИБРИОНАМИ О1/О139 СЕРОГРУПП

Нигаматьянов А.Р.[1,2], Скотарева М.А.[1,2], Хисамиев И.И.[1,2], Гарифуллин Б.Р.[1], Говорова В.Г.[1,2], Сыса А.М.[1], Рожкова Е.В.[1]

[1] ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Башкортостан», г. Уфа, Россия
[2] ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет», г. Уфа, Россия

Введение

В связи с сохраняющейся угрозой заноса холеры, прогнозированием референс-центром по мониторингу за холерой обнаружения в водных объектах окружающей среды нетоксигенных штаммов холерных вибрионов О1 серогруппы, актуален эпидемиологический надзор за поверхностными водоемами и усиление контроля за лабораторными исследованиями сточных вод на базе лабораторий центров гигиены и эпидемиологии.

Цель

Представить опыт работы учреждения, в котором положительным результатом является ежегодное выделение *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139, свидетельствующее о готовности лабораторной базы, качественном отборе проб, с одной стороны, и

наличие в водных объектах республики условий, при которых холерный вибрион может сохранять свою жизнедеятельность в случае заноса.

Материалы и методы

Изучены и проанализированы график отбора проб из водных объектов учреждения, акты отбора проб, протоколы лабораторных исследований, отчет о работе лаборатории по индикации ООИ с использованием ПЦР. Лабораторные исследования проводили в соответствии с МУК 4.2.3745-22, классическим бактериологическим методом, положительные пробы — дополнительно ПЦР методом. Ежегодно проводится анализ выделения вибрионов по стационарным точкам, предусмотренным эпидемиологическим надзором, с применением статистических методов.

Результаты и обсуждение

Врачами-эпидемиологами проводятся организационные мероприятия: ежегодно актуализируется План мероприятий и порядок взаимодействия структурных подразделений и филиалов учреждения, лабораторных исследований и эпиданализа, который утверждается приказом по учреждению. Специалисты учреждения (врачи-эпидемиологи и бактериологи) обучены на базах противочумных институтов по программам повышения квалификации. На семинарах с филиалами и молодыми специалистами наставники обсуждают ретроспективный опыт работы врачей-бактериологов, взаимодействие с референс-центром при регистрации на территории республики случаев импортированной холеры из Индии в Республику Башкортостан в 2004 г. и в 2008 г., не получивших распространения. Врачами-эпидемиологами определены 203 стационарные точки отбора проб из поверхностных водоемов, вода которых исследуется еженедельно в июле и августе бактериологическим методом на холеру; составлены паспорта на стационарные точки, определены их географические координаты (широта, долгота). Отбор проб за сезон проводится 9 раз в каждой точке с составлением Акта отбора проб. Дислокация стационарных точек отбора проб воды из по-

верхностных водоемов корректируется органами и учреждениями Роспотребнадзора ежегодно.

Регламентированы ускоренные сроки оформления протоколов исследований при выделении холерных вибрионов неО1/ неО139, учитывая, что они могут явиться этиологическим фактором спорадических случаев или вспышек диарейных заболеваний.

Специалистами лаборатории по индикации особо опасных инфекций, в том числе с использованием ПЦР, обеспечено методическое руководство специалистов филиалов по вопросам лабораторных исследований возбудителей холеры. Результативность этого взаимодействия показана выделением специалистами филиала эпидемически незначимого холерного вибриона в 2022 г., подтвержденного в территориальном противочумном учреждении — ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» и в референс-центре по мониторингу за холерой, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт.

Республика Башкортостан с учетом типов территорий по эпидемическим проявлениям холеры отнесена к III типу подтип А. Из поверхностных водоемов и других объектов окружающей среды токсигенные холерные вибрионы О1/О139 не были изолированы. При анализе установлено, что удельный вес выделенных холерных вибрионов неО1/не О139, естественных обитателей поверхностных водоемов, составил в 2017 г. — 1,1%; 2018 г. — 3,0%, 2019 г. — 3,9%, 2020 г. — 5,5%, 2021 г. — 8,4%, 2022 г. — 7,1%, 2023 г. — 8,2%.

При анализе актов отбора и результатов исследований выявлены особенности. Так, в 2021 г. выделение штаммов холерных вибрионов неО1/ неО139 в целом увеличилось, составив 8,2%, из сточных вод — 10,0% (ранее < 5%); из мест организованного рекреационного водопользования — 11,2% (ранее < 3%), что зависело от температуры воды, которая отражена в актах отбора проб. Температурные условия воздуха лета 2021 г. взяты с официальных источников гидрометеорологической службы. Установлено, что температура воздуха и соответственно воды была высокой, отмечена аномальная жара. В третьей декаде июня среднедекадная температура воздуха составила +24,0 °С,

а 30.06.2021 в отдельных южных районах днем отмечалась сильная жара с повышением максимальных температур до +39,0 °С. На точке Уфа-Дема 30.06. перекрывался абсолютный максимум температуры воздуха, который составил +36,3 °С (+35,4 °С в 1954 г.). В начале первой декады июля максимальные температуры воздуха по юго-востоку республики достигали +37 °С. Август по республике был аномально жарким, за месяц десять раз перекрывались абсолютные максимумы температур, среднемесячная температура воздуха на 5,1 °С выше нормы, то есть выявлены благоприятные условия для жизнедеятельности микроорганизмов в воде летом 2021 г.

За период 2017–2023 гг. мониторинг поверхностных вод проводился в достаточном объеме с включением всех точек отбора проб. Обнаружение холерных вибрионов неО1/неО139 серогрупп отмечено во всех стационарных точках, составив в среднем за 5 лет в местах неорганизованного рекреационного водопользования — 5,7%, организованного рекреационного водопользования — 4,5%; в зонах санитарной охраны водных объектов, используемых для питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения — 1,4%, сброса хозяйственно-бытовых сточных вод — 6,2%.

При анализе результатов мониторинга установлено, что в 2022 г. в стационарной точке, в г. Ишимбай, из р. Тайрук выделен эпидемически незначимый штамм холерного вибриона серогруппы О1 серовара Огава, не содержащий гены *ctxA*, *tcpA*, по данным референс-центра по мониторингу за холерой. Вибрион был выделен в лаборатории филиала, подтвержден в лаборатории по индикации ООИ и ПЦР исследований, что подтверждает готовность по работе с возбудителем холеры всех звеньев службы. Указанный штамм был одним из 43 нетоксигенных штаммов *V. cholerae* О1, выделенных в 2022 г. из водных объектов окружающей среды в Российской Федерации (2,3% от выделенных в РФ приходится на Республику Башкортостан).

В июле-августе 2022 г. проведены отбор и исследование 1854 пробы воды поверхностных водоемов, выделено 132 вибриона неО1/неО139, в т. ч. 14 — из стационарных точек, расположенных в местах сброса сточных вод (10,6%), 99 — из стационарных

точек, расположенных в местах рекреационного водопользования (75,1%), 19 — из зоны санитарной охраны (14,4%). В июле-августе 2023 г. вибрионы неО1/неО139 выделены из воды поверхностных водоемов в 10 из 63 административных территорий республики (г. Уфа, Уфимский, Иглинский, Благовещенский Архангельский, Благоварский, Буздякский, Давлекановский, Кушнаренковский, Чишминский районы). В июле-августе 2023 г. проведены отбор и исследование 1827 проб воды из поверхностных водоемов. Холерные вибрионы О1/О139 не обнаружены. Выделена 151 культура холерных вибрионов неО1/неО139, в т. ч. 13 культур (8,6%) в 3 стационарных точках, расположенных в местах сброса сточных вод, 126 культур (83,4%) в 37 стационарных точках, расположенных в местах рекреационного водопользования, 12 культур (7,9%) в 3 точках зоны санитарной охраны водоемов. Таким образом, наиболее часто вибрионы обнаруживаются в зонах рекреационного водопользования, доля которых преобладает в общей структуре точек отбора проб.

Выводы

Готовность ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Башкортостан» к работе по холере подтверждается качественным отбором проб, обучением специалистов в противочумных учреждениях, профессиональными кадрами бактериологов, в том числе, имеющих опыт работы в очагах холеры, наставничеством в учреждении, обеспеченностью питательными средами и обнаружением холерных вибрионов неО1/неО139 в водных объектах, как показателя качества работы лаборатории. Важным является выполнение алгоритмов работы и поддержание взаимодействия с территориальным противочумным учреждением — ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» и референс-центром по мониторингу за холерой, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт.

АНАЛИЗ НЕТОКСИГЕННЫХ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAE*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Носов Д.О.[1], Есьман А.С.[2], Таганова А.А.[1], Дубаневич Б.А.[1], Антонов А.В.[1]

[1] ФКУЗ «Причерноморская противочумная станция» Роспотребнадзора, г. Новороссийск, Россия
[2] ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва, Россия

Введение

Одним из основных направлений деятельности ФКУЗ «Причерноморская противочумная станция» Роспотребнадзора (далее ФКУЗ «ППЧС») является проведение мониторинга за персистенцией как токсигенных, так и нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae*.

Эпидемически значимыми штаммами холеры являются токсигенные штаммы *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп, содержащие гены *ctx*AB и *tcp*A⁻F, отвечающие за синтез холерного токсина и токсин-корегулируемых пилей адгезии и склонные к эпидемическому распространению [Кутырев В.В. и др., 2004].

В соответствии с классификацией биологических агентов, вызывающих болезни человека, токсигенные штаммы *V. cholerae* O1 относят ко II группе патогенности. Нетоксигенные штаммы холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп (НАГ-вибрионы), у которых отсутствуют гены *ctx*AB и *tcp*A⁻F или только ген *ctx*AB (*ctx*AB⁻ *tcp*A⁻F+), относят к эпидемически незначимым.

V. cholerae nonO1/nonO139 серогрупп (НАГ-вибрионы) широко известны не только как естественные обитатели открытых водоемов, но и как возбудители острых кишечных инфекций (ОКИ) различной степени тяжести [Агафонова Е.Ю. и др., 2019].

Цель

Анализ распространенности нетоксигенных штаммов *V. cholerae* на объектах водопользования Краснодарского края в 2011–2023 гг.

Материалы и методы

Проведен сравнительный анализ результатов идентификации изолятов из проб воды (использованы данные ФКУЗ «ППЧС» о выделении из объектов окружающей среды (водные объекты) в ходе мониторинга на территории Краснодарского края в 2011–2023 гг. штаммов НАГ-вибрионов).

Забор проб воды для анализа осуществлялся ежегодно в летний период (с июня по сентябрь) в стационарных точках побережья Краснодарского края и прибрежных рек, а также по эпидемиологическим показаниям на той же территории.

В зависимости от характера водопользования точки отбора проб подразделялись на пять видов:

- в зонах санитарной охраны (ЗСО), используемых для водоснабжения;
- в местах сброса хозяйственно бытовых сточных вод;
- в местах организованного рекреационного водопользования;
- в местах неорганизованного рекреационного водопользования;
- хозяйственно-бытовые сточные воды.

Для определения родовой и видовой принадлежности выделенных штаммов применяли метод определения типа расщепления углеводов и многоатомных спиртов (сахарозы, маннозы, арабинозы, инозита и маннита) [МУК 4.2.3745-22].

Результаты и обсуждение

Всего за указанный период времени исследовано 16 726 проб воды. Идентифицировано 1082 штамма *V. cholerae* nonO1/nonO139.

В период с 2015 г. по 2018 г. отсутствовали случаи выявления НАГ-вибрионов в ЗСО, используемых для водоснабжения, или наблюдались низкие показатели — до 1,6% от всех исследуемых

проб в 2017 г. Однако, в период с 2019 г. по 2023 г. процент их обнаружения в данной категории объектов водопользования варьировал от 2,5% до 9,1%.

В местах сброса хозяйственно бытовых сточных вод, наибольший процент обнаружения отмечен в 2023 г. (16,1% от всех исследуемых проб), при этом в 2015 г. и 2017 г. в данных точках случаи обнаружения НАГ-вибрионов отсутствовали.

В местах организованного рекреационного водопользования в 2013–2014 гг. наблюдался пик выявляемости нетоксигенных штаммов (7,1% и 6,4% соответственно). Минимальная выявляемость из проб объектов данного типа отмечена в 2023 г. — 2,3%.

В местах неорганизованного рекреационного водопользования случаи выявления НАГ-вибрионов снижались с 15,5% в 2014 г. до 7,2% в 2018 г., с 2019 г. выявляемость увеличилась и составила в среднем 12,6%.

Низкий процент обнаружения отмечен в категории выпуска хозяйственно-бытовых сточных вод. Максимальный процент обнаружения НАГ-вибрионов в этой категории составил в 2013 г. 7,22%.

С 2011 г. по 2014 г. наблюдалось снижение случаев выявления в местах сброса хозяйственно бытовых сточных вод более чем в 3 раза (с 18,8% до 5.6%).

Выводы

Отмечается изменение характера выявления НАГ-вибрионов в стационарных точках побережья Краснодарского края и прибрежных рек, а также в целом по территории, что требует пристального наблюдения и выявления причин. Для полноценного обеспечения защиты населения, а также отдыхающих в Краснодарском крае, необходимо усиление контроля за выявлением НАГ-вибрионов.

Постоянный мониторинг и контроль за выявлением нетоксигенных штаммов *V. cholerae*, является важным этапом совершенствования профилактики холеры и острых кишечных инфекций.

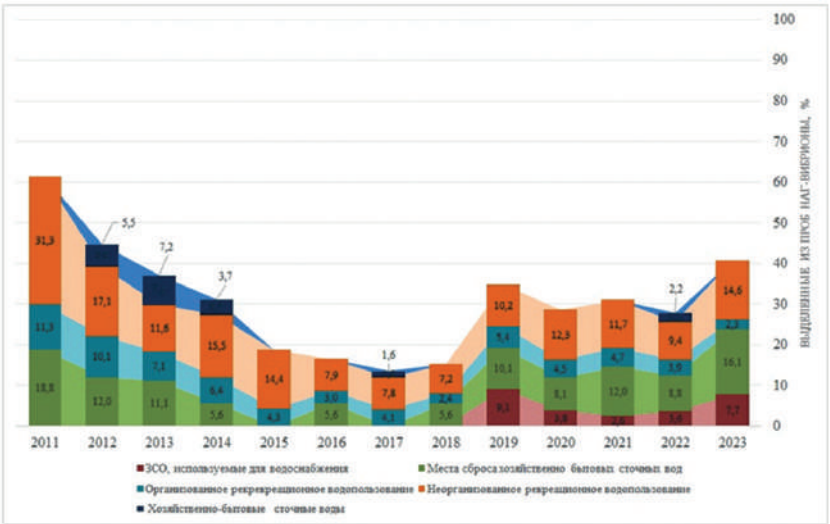


Рис. 1. Распределение результатов обнаружения НАГ-вибрионов в период 2011–2023 гг. в зависимости характера водопользования в точках отбора проб

Список литературы

1. *Агафонова Е.Ю., Смирнова Н.И., Альхова Ж.В., Краснов Я.М., Ливанова Л.Ф., Лозовский Ю.В.* и др. Нетоксигенные штаммы *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор, выделенные на территории России: молекулярно-генетические особенности и патогенные свойства // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2019. — № 96(2). — С. 13–24. — https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-2-13-24
2. *Монахова Е.В., Архангельская И.В.* Холерные вибрионы неО1/неО139 серогрупп в этиологии острых кишечных инфекций: современная ситуация в России и в мире // Проблемы особо опасных инфекций. — 2016. — № 2. — С. 14–23. — https://doi.org/10.21055/0370-1069-2016-2-14-23
3. МУК 4.2.3745-22 Методы лабораторной диагностики холеры.

ОСНОВНЫЕ ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ И ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ ПО НЕДОПУЩЕНИЮ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И РАСПРОСТРАНЕНИЯ ХОЛЕРЫ В ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ В 2023 ГОДУ

Перехожева С.В.

Управление Роспотребнадзора по Волгоградской области, г. Волгоград, Россия

Волгоградская область относится к территории I типа по эпидемическим проявлениям холеры в соответствии СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», утвержденных постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 4.Эпидемиологическая ситуация по холере в мире остается неблагоприятной, что связано с риском завоза инфекции на территорию Волгоградской области. Риски завоза обусловлены посещением гражданами эндемичных по холере стран с туристическими целями, а также с прибытием в Волгоградскую область трудовых мигрантов.

Применялись методы эпидемиологического анализа данных форм федерального статистического наблюдения № 1, № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», протоколов испытаний проб на холеру, отчетов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Волгоградской области», информации комитета здравоохранения Волгоградской области. Для обработки материала применялись статистические методы.

В Волгоградской области разработан, согласован с заинтересованными министерствами и ведомствами, утвержден первым заместителем губернатора Волгоградской области «Комплексный план мероприятий по санитарной охране территории Волгоградской области от завоза и распространения инфекционных болезней, которые могут привести к возникновению чрезвы-

чайных ситуаций в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения на 2022–2026 годы». В комплексном плане имеется раздел 1 — план противохолерных мероприятий Волгоградской области.

Ежегодно, перед началом эпидемического сезона проводится его актуализация, в том числе:

- состава медицинского (противоэпидемического) штаба на случай выявления больного (подозрительного) на заболевание холерой, при выделении из поверхностных водоемов и других объектов окружающей среды токсигенных холерных вибрионов О1 или О139 серогрупп, а также при выделении от больных и вибриононосителей холерных вибрионов О1 или О139 серогрупп с учетом эпидемиологической обстановки;
- состава противоэпидемической группы медицинского штаба;
- состава профилактической группы для обеспечения санитарно-эпидемиологического надзора и контроля;
- состава группы оперативного эпидемиологического анализа;
- состава госпитальной базы и патологоанатомической группы;
- состава лабораторной группы.

Проводится обновление схем оповещения, сбора специалистов и определение функциональных обязанностей и действий каждого специалиста (в рабочее и нерабочее время) в случаях выявления больного (подозрительного) холерой (вибриононосителя), выделения штаммов холерного вибриона из объектов окружающей среды.

Определены медицинские учреждения для перепрофилирования на случай выявления больного холерой (вибриононосителя), с учетом возможного осложнения эпидемиологической ситуации, миграционных потоков, заполняемости пунктов временного размещения, готовность госпитальной базы (специальный инфекционный, провизорные госпитали, изолятор) и лабораторной базы (бактериологические лаборатории), проведено обновление паспортов.

Определен резерв кадров врачей: эпидемиологов, бактериологов, лаборантов, врачей-дезинфекционистов, помощников врачей-эпидемиологов, лаборантов, с учетом мощности медицинских организаций госпитальной базы и лабораторий на случай осложнения эпидемиологической ситуации по холере.

Учитывая возможные риски завоза холеры на территорию Волгоградской области, Управлением Роспотребнадзора по Волгоградской области совместно с комитетом здравоохранения администрации Волгоградской области проводится оценка готовности медицинских организаций госпитальной базы (инфекционных, провизорных госпиталей, изоляторов), поликлиник, станций скорой медицинской помощи, патолого-анатомической службы на случай заноса холеры, определяются списки консультантов и противоэпидемических бригад, проводится доукомплектование средствами этиотропной и патогенетической терапии, дезинфекционными средствами, средствами индивидуальной защиты на случай выявления холеры, а также массового поступления больных. В 2023 г. на территории определены 35 инфекционных госпиталей, рассчитанных на 647 коек, 34 провизорных госпиталя — на 835 коек, 31 изолятор — на 851 койку; 15 обсерваторов (гостиницы, школы, СУЗы) — на 422 места.

Лабораторную базу очага холеры составляют учреждения Роспотребнадзора: ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии по Волгоградской области» (5 лабораторий) и ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (1 лаборатория), лаборатории медицинских организаций, подведомственных комитету здравоохранения Волгоградской области (7 лабораторий). Оснащение лабораторной базы, проводящей диагностические исследования проб на холеру, испытательным и вспомогательным оборудованием, средствами измерений, реагентами, расходными материалами, СИЗ, а также уровень подготовки персонала позволяют в случае массового поступления материала повысить суммарную мощность лабораторий до 770 исследований в сутки бактериологическим методом и до 900 исследований в сутки методом ПЦР.

В 2023 году проведено 3 межведомственных тренировочных учения с отработкой алгоритма межведомственного взаимодействия на случай завоза холеры из неблагополучных территорий. Из них, 1 — в ВПП Волгоград (Гумрак), 2 — в медицинских организациях.Во всех медицинских организациях проведены тренировочные и практические занятия по вопросам диагностики,

профилактики и первичных противоэпидемических мероприятий в случае выявления (подозрения) заболевания холерой.

Проведен областной семинар с участием специалистов ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора по актуальным вопросам эпидемиологии, клиники, диагностики и санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий при выявлении случаев заболевания холерой или случаев подозрения заболевания холерой. Охвачено 13 649 медицинских работников 81 в медицинской организации, 22 сотрудника ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Волгоградской области», 25 медицинских работников в 6 ПВР, 18 туроператоров. Проведена теоретическая и практическая подготовка специалистов СКП, в ВПП «Волгоград» (Гумрак) и медицинском пункте международного аэропорта Волгограда по вопросу организации и проведения первичных противоэпидемических мероприятий при завозе холеры на территорию области.

В рамках реализации мониторинга холеры с мая по сентябрь проводились исследования клинического материала от больных с ОКИ на холеру, в 2023 г. обследовано 4616 лиц, результаты исследования отрицательные.

Мониторинговые исследования на холеру проб из объектов окружающей среды ежегодно проводятся с мая по сентябрь включительно, а в 2023 году по поручению Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека — и в октябре. В 2023 году мониторинговые исследования проведены в 129 стационарных точках, в том числе 22 стационарные точки в зонах санитарной охраны, 18 — в местах организованного рекреационного водопользования, 72 — в местах неорганизованного рекреационного водопользования, 6 — в местах сброса сточных вод, 11 — сточные воды до очистки. В рамках мониторинга исследовано на холеру 3395 проб, в том числе 585 проб в зонах санитарной охраны (17,2%), 441 проба в местах организованного рекреационного водопользования (12,9%), 1911 проб в местах неорганизованного рекреационного водопользования (56,3%), 162 пробы в местах сброса сточных вод (4,8%), 296 проб сточных вод до очистки (8,7%).

На территории Волгоградской области широко распространены холерные вибрионы не О1/не О139 серогрупп, как естественные обитатели открытых водоемов, что подтверждается их ежегодным выделением в пробах лабораториями ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии по Волгоградской области» и лабораторией ФКУЗВолгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

При анализе результатов мониторинга за холерой в Волгоградской области установлено, что в 2023 году из поверхностных водоемов изолированы 197 штаммов *Vibrio cholerae* non O1/non O139, из них 31 штамм — в зонах санитарной охраны (15,7%), 24 штамма — в местах организованного рекреационного водопользования (12,2%), 138 штаммов — в местах неорганизованного рекреационного водопользования (70,0%), 4 штамма — в местах сброса сточных (2%). 15 штаммов *V. cholerae* non O1/non O139 выделены из сточных вод до очистки. Приведенные данные указывают на широкое распространение *V. cholerae* non O1/non O139 серогрупп в поверхностных водоемах 1 и 2 категорий, используемых в качестве источников централизованного питьевого водоснабжения и рекреационного водопользования. Основное выделение холерных вибрионов не О1/не О139 серогрупп приходится на июль-август, в период массового рекреационного водопользования поверхностных водоемов населением.

В последние годы на территории Волгоградской области в июле — августе отмечены аномально высокие показатели температуры воздуха более +40 °С и воды — до +28 °С, мелководные водоемы прогреваются, что создает благоприятные условия для циркуляции холерных вибрионов в случае их завоза из эндемичных по холере регионов.

Ежегодно проводимый комплекс организационных и профилактических мероприятий, направленный на предупреждение завоза и распространения холеры, обеспечивает постоянный контроль за эпидемиологической ситуацией по холере на территории Волгоградской области.

ОРГАНИЗАЦИЯ МЕЖВЕДОМСТВЕННОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В ПУНКТАХ ПРОПУСКА НА ТЕРРИТОРИИ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ ПРИ СОХРАНЯЮЩЕЙСЯ УГРОЗЕ ЗАНОСА И РАСПРОСТРАНЕНИЯ ХОЛЕРЫ И ДРУГИХ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Рыжков Ю.В., Ковалев Е.В., Ерганова Е.Г., Балаян Д.Л.

Управление Роспотребнадзора по Ростовской области, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Санитарно-карантинный контроль (СКК) на границе России – первая преграда на пути заноса и последующего распространения опасных и других инфекционных болезней на территории страны. С каждым годом число регистрируемых вспышек инфекционных болезней в странах мира увеличивается [Попова А.Ю. и др., 2023]. Угроза заноса на территорию Ростовской области холеры и других опасных инфекционных болезней остается актуальной. Эффективность санитарно-карантинного контроля в пунктах пропуска на территории Ростовской области обусловлена, в том числе, тесным межведомственным взаимодействием при организации и проведении профилактических и противоэпидемических мероприятий.

Цель

Анализ организации межведомственного взаимодействия в пунктах пропуска Ростовской области, различных по виду транспортного сообщения.

Материалы и методы

Проанализированы формы и методы межведомственного взаимодействия в пунктах пропуска, различных по виду транс-

портного сообщения: автомобильных, воздушных и морских. При анализе использованы материалы работы санитарно-карантинных пунктов Управления Роспотребнадзора по Ростовской области: акты санитарно-карантинного контроля, протоколы заседаний координационных советов, обучений, командно-штабных и тактико-специальных учений за 2021–2023 гг. Проведена оценка риска заноса в Ростовскую область инфекционных болезней с помощью АИС «Периметр»

Результаты и обсуждение

Формирование целостной системы межведомственного взаимодействия в пунктах пропуска на территории Ростовской области состоялось во время пандемического распространения новой коронавирусной инфекции, когда предупреждение заноса COVID-19, недопущение инфицирования личного состава государственных контрольных органов стало всеобщей задачей. Значимость и необходимость эффективного санитарно-карантинного контроля стали безусловны.

Система межведомственного взаимодействия по предупреждению заноса опасных инфекционных болезней, сформированная Управлением Роспотребнадзора по Ростовской области реализуется на трех уровнях управления: областном (Управление), территориальном (территориальные отделы управления), оперативном (санитарно-карантинные пункты). Каждый из уровней имеет вертикальное подчинение и взаимодействует с аналогичным уровнем управления федеральных и муниципальных органов государственной власти, государственных контрольных органов (ГКО), организаций и ведомств.

Оперативный уровень межведомственного взаимодействия, осуществляемый в пунктах пропуска через государственную границу, является базисным. При этом эффективность его во многом зависит от мероприятий, проведенных на вышестоящих уровнях управления.

Межведомственное взаимодействие в пунктах пропуска для целей предупреждения заноса и распространения опасных инфекционных болезней основано на регулярности проводимых мероприятий, максимальном охвате их участников и поддержа-

нии настороженности в отношении инфекционных болезней на постоянно высоком уровне. Достигается это посредствам проведения следующих мероприятий:

- активное участие и инициация при необходимости заседаний координационных советов пунктов пропуска, с рассмотрением актуальных вопросов санитарной охраны территории. В Ростовской области специалисты Управления в 2021–2023 гг. приняли участие с освещением актуальных тем обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения в 136 координационных советах пунктов пропуска;
- оперативное информирование ГКО пунктов пропуска, медицинских служб об эпидемиологической ситуации в мире и другим инфекционным болезням и мерах по предотвращению их заноса и распространения. С 2023 г. внедрение в практику санитарно-карантинного контроля в пунктах пропуска автоматизированной системы оценки рисков, связанных с заносом опасных инфекционных болезней (АИС «Периметр»), разработанной в рамках стратегии опережающего реагирования на биологические угрозы «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья», позволяет в режиме реального времени проводить оценку и владеть актуальной информацией по эпидемиологической обстановке в любой стране мире [Попова А.Ю. и др., 2023]. За 2021–2023 гг. специалисты санитарно-карантинных пунктов Управления приняли участие с освещением актуальной эпидемиологической обстановки в 245 общих сборах сотрудников КПП погранвойск и таможенных постов;
- обучение сотрудников государственных ГКО использования средств индивидуальной защиты. За период 2021–2023 гг. обучено более 1800 сотрудников ГКО.
- проведение обучения сотрудников КПП погранвойск и таможенных постов сигнальным признакам инфекционных болезней, порядку взаимодействия при выявлении в ходе паспортного или таможенного контроля лиц с подозрением на инфекционные болезни. В 2021–2023 гг. при помощи сотрудников ГКО выявлено 115 лиц с подозрением на инфекционные болезни;

- ежегодное проведение тактико-специальных (командно-штабных) учений в пунктах пропуска с отработкой межведомственного взаимодействия, порядка эвакуации больных и контактировавших лиц, проведения дезинфекционных мероприятий. По результатам проведенных учений в межведомственном формате проводится совместная корректировка оперативных планов организации и проведения противоэпидемических мероприятий в пункте пропуска, актуализация схем оповещения в случае выявления больного опасной инфекцией [Рыжков Ю.В. и др., 2017]. За период 2021–2023 гг. в пунктах пропуска на территории Ростовской области проведено 34 тренировочных учения. При проведении учений задействованы администрация пунктов пропуска (Федеральное агентство по обустройству государственной границы), представители транспортных организаций, медицинская служба (при ее наличии в пункте пропуска), служба безопасности транспортного предприятия, государственные контрольные органы в пунктах пропуска, Управление, ФБУЗ «ЦГиЭ» в Ростовской области, противочумные учреждения, учреждения здравоохранения, в том числе скорая медицинская помощь, организации дезинфекционного профиля [Рыжков Ю.В. и др., 2017].

Заключение

Проведенный анализ форм и методов подтвердил эффективность трехуровневой системы организации межведомственного взаимодействия в целях предупреждения заноса и распространения опасных инфекционных болезней с дальнейшим совершенствованием ее в соответствии с внешними рисками и угрозами.

Список литературы

1. *Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Смоленский В.Ю., Летюшев А.Н., Трескин А.А., Иванова А.В., Сафронов В.А., Зубова А.А., Карнаухов И.Г., Топорков В.П., Щербакова С.А., Кутырев В.В.* Автоматизированная информационная система «Периметр» – инструмент для модернизации информационного и технического обеспечения санитарно-карантинного контроля // Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 3. — С. 6–14.

2. *Рыжков Ю.В., Москвитина Э.А.* Особенности проведения санитарно-карантинного контроля в условиях чрезвычайной ситуации социального характера на сопредельной территории. Проблемы особо опасных инфекций. — 2017. — № 4. — С. 86–91.
3. *Рыжков Ю.В., Москвитина Э.А.* Разработка межведомственного оперативного плана санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий в пунктах пропуска через государственную границу Российской Федерации в режимах повышенной готовности и чрезвычайной ситуации санитарно-эпидемиологического характера. ЗНиСО. — 2017. — № 5. — С. 45–48.

ОРГАНИЗАЦИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ХОЛЕРОЙ В ГОРОДЕ РОСТОВЕ-НА-ДОНУ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

Слись С.С.[1,2], Ковалев Е.В.[1], Ерганова Е.Г.[1], Леоненко Н.В.[1], Гаевская Н.Е.[2], Кругликов В.Д.[2]

[1] Управление Роспотребнадзора по Ростовской области, г. Ростов-на-Дону, Россия
[2] ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

В период седьмой пандемии холеры эпидемические осложнения по этой инфекции в г. Ростове-на-Дону были зарегистрированы в 1970-х гг., а также один случай заболевания был выявлен в 1995 г. По эпидемическим проявлениям холеры г. Ростов-на-Дону относится к 1 типу территорий. Широкие транспортные связи и интенсивные миграционные потоки в регионе определяют высокий риск заноса холеры.

Целью работы явился анализ организации, проведения и результативности профилактических и противоэпидемических мероприятий в рамках эпидемиологического надзора за холерой на территории г. Ростова-на-Дону.

Материалы и методы

Использованы данные Управления Роспотребнадзора по Ростовской области (далее — Управление) по выделению нетоксигенных холерных вибрионов и холерных вибрионов неО1/неО139. Результаты эпидемиологических расследований по случаям выявления холерных вибрионов на территории г. Ростова-на-Дону в 2024 г.

Результаты и обсуждение

Ежегодный мониторинг водных объектов в городе Ростове-на-Дону является частью эпидемиологического надзора за холерой. Мониторинг поверхностных водоемов и сточных вод на наличие холерных вибрионов является неотъемлемой составляющей лабораторного обеспечения эпидемиологического надзора за холерой на территории Российской Федерации [Попова А.Ю. и др., 2024; Ломов Ю.М. и др., 2010; Ежова М.И. и др., 2021].

Несмотря на то, что в период 1996–2024 гг. случаев заболеваний холерой на территории г. Ростова-на-Дону не зарегистрировано, из воды открытых водоемов, расположенных в границах города, ежегодно выявляют нетоксигенные холерные вибрионы и другие представители вибриофлоры.

Мероприятия по мониторингу осуществляют комплексно: Управлением Роспотребнадзора по Ростовской области, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в РО» Роспотребнадзора (ФБУЗ «ЦГиЭ в РО») и референс-центром по мониторингу за холерой — ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора [Соловьев М.Ю. и др., 2016].

Согласно принадлежности г. Ростова-на-Дону к территориям 1-го типа по эпидемическим проявлениям холеры и в соответствии с «Комплексном планом мероприятий по оперативному реагированию и предупреждению заноса и распространения холеры на территории Ростовской области на период 2022–2026 годы» комплекс профилактических мероприятий на территории города реализуется в полном объеме. Мониторинг циркуляции холерных вибрионов в семи крупных поверхностных водоемах проводится в период с мая по сентябрь. Ежегодно, в том числе и в 2024 году, стационарные точки отбора согласовывались с ре-

ференс-центром по мониторингу за холерой (ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора).

В соответствии с письмом Главного государственного санитарного врача Российской Федерации «О ходе выполнения мероприятий по профилактике холеры» (от 11.03.2024 № 02/4025-2024-27) в 2024 году мониторинг был начат ранее, с 15.04.2024, охватывая 25 стационарных точек, распределенных следующим образом: ФБУЗ «ЦГиЭ в РО» — пять, филиал ФБУЗ «ЦГиЭ в РО» в г. Ростове-на-Дону — 14 и ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора — шесть. Точки отбора находятся в зонах санитарной охраны водных объектов, используемых для питьевого и хозяйственно-бытового назначения; в местах сброса хозяйственно-бытовых сточных вод; в местах организованного и неорганизованного рекреационного водопользования. Кроме того, в перечень дополненных точек отбора проб в сезон 2024 г. были добавлены четыре точки, расположенные:

- в местах проживания трудовых мигрантов (гостиницы, хостелы: многоквартирный жилой дом) — 1 точка;
- на рынке, на котором преимущественно торгуют иностранные граждане — 1 точка;
- сточные воды до обеззараживания инфекционных стационаров — 2 точки.

Всего за период (15.04.2024–19.08.2024) было отобрано 475 проб воды, из которых в 233 выделены холерные вибрионы не O1/O139 серогруппы (49,1%). Кроме того, из объектов окружающей среды выделено 16 культур нетоксигенных холерных вибрионов (рис. 1), в том числе лабораторией ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области» — 8 штаммов, которые идентифицированы референс-центром по холере как нетоксигенные: *Vibrio cholerae* El Tor Inaba (из стационарной точки № 42 (район кафе «Левбердон», река Дон (зона рекреации неорганизованная), дата забора — 06.05.2024); из стационарной точки № 46 (пляж б/о завода «Электроинструмент» (Казачий хутор) 45-линия, река Дон (зона рекреации неорганизованная), дата забора — 27.05.2024, 04.06.2024, 06.06.2024, 09.06.2024); 500 м выше стационарной точки № 46 (г. Ростов-на-Дону, река Дон,

пляж б/о завода «Электроинструмент» (Казачий хутор) 45-я линия (зона рекреации неорганизованная), дата забора — 04.06.2024 и 05.06.2024); из стационарной точки № 44 (место водозабора № 1 горводопровода) — дата забора — 01.07.2024. Кроме того, была выделена одна культура: *V. cholerae* El Tor Ogawa (из стационарной точки № 47 грузовой порт (в 150 м от правого берега в Нахичеванской протоке в районе 10 причала), сливные отверстия городской ливневой канализации, а также окончательное удаление балластной воды, дата забора — 19.08.2024.

Лабораторией ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора выделено 7 нетоксигенных культур *V. cholerae* El Tor:

- 6 культур *V. cholerae* El Tor Ogawa (из стационарной точки № 5 (г. Ростов-на-Дону, река Темерник, Ботанический сад, у моста, место неорганизованного водопользования), дата забора — 27.04.2024, 27.05.2024, 15.07.2024); из стационарной точки отбора проб № 2 (г. Ростов-на-Дону, р. Дон, правый берег у железнодорожно-автодорожного моста «Западный обход», неорганизованное водопользование), дата забора — 15.07.2024; из стационарной точки отбора проб № 6 (г. Ростов-на-Дону, р. Темерник, правый берег, в проекции жилого дома по ул. Волоколамская, д. 1), дата забора — 10.06.2024 и 15.06.2024)
- одна культура *V. cholerae* El Tor Inaba — из стационарной точки № 46 (пляж б/о завода «Электроинструмент» (Казачий хутор) 45-линия, река Дон (зона рекреации неорганизованная), дата забора — 16.06.2024.

Из 85 проб воды, отобранных по эпидемическим показаниям, в 84 пробах выявлены *V. cholerae* nonO1/nonO139.

Кроме того, лабораторией ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора из стационарной точки № 4 (г. Ростов-на-Дону, р. Темерник, устье впадения в р. Дон, неорганизованное рекреационное водопользование был выделен токсигенный штамм *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa № 66 (дата забора — 10.06.2024); по результатам ПЦР: *ctx*AB^{+}, *tcp*AB^{+}, *hly*$^{+}$, *wbe* O1^{+}, *wbf* O139^{-}. Стационарная точка № 4 находится в низовье реки Темерник в районе железнодорожного вокзала. Из этой

точки в период 2019–2021 гг. и в 2023 г. не было выделений штаммов *V. cholerae* O1. В 2022 г. было выделено в период с мая по сентябрь месяц восемь штаммов V. cholerae O1 Ogawa, из них, шесть штаммов с генетической характеристикой *ctx*$^{-}$, *tcp*$^{-}$ и два штамма с генетической характеристикой *ctx*$^{-}$, *tcp*$^{+}$.

По каждому случаю выделения как токсигенного штамма, так и нетоксигенных штаммов вибрионов были разработаны и утверждены Главным государственным санитарным врачом по Ростовской области планы оперативных мероприятий. В адрес заместителя губернатора Ростовской области, мэра г. Ростова-на-Дону и министерства здравоохранения Ростовской области (МЗРО) были направлены соответствующие письма.

Кроме того, в связи с выделением токсигенного вибриона были направлены предписания в адрес: главы администрации г. Ростова-на-Дону, министра здравоохранения Ростовской области по данному вопросу. Проведено заседание городской комиссии по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения администрации г. Ростова-на-Дону «О принимаемых мерах отраслевыми и территориальными органами по недопущению распространения заболеваемости холерой в г. Ростове-на-Дону». По результатам заседания было поручено мониторинговым группам администраций районов города проводить обследование участков прибрежных территорий р. Темерник, с целью возможного поиска источников загрязнения. Кроме того, были установлены информационные щиты о запрете купания и ловли рыбы. Проводились профилактические беседы с гражданами о запрете ловли рыбы и купания в данных местах. Была активизирована разъяснительная работа о мерах по профилактике острых кишечных инфекций (ОКИ), в т.ч. холеры.

По всем, предоставленным в Управление фактам выделения штаммов холерных вибрионов из поверхностных водоемов в черте г. Ростова-на-Дону (р. Дон и р. Темерник) немедленно было организовано проведение расследования в целях поиска возможных источников контаминации водных объектов болезнетворными микроорганизмами. Расследования проводили комплексными группами специалистов Управления совместно с представителями ФБУЗ «ЦГиЭ в РО», филиала ФБУЗ «ЦГиЭ в

РО» в г. Ростове-на-Дону, а также с участием представителей ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, согласно СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Всего в адрес ФБУЗ «ЦГиЭ в РО», а также филиала ФБУЗ «ЦГиЭ в РО» в г. Ростове-на-Дону направлено 16 поручений на обследование прибрежных полос рек Дон и Темерник с целью поиска источников контаминации указанных водных объектов.

Так, за 7 месяцев 2024 года в воде водоемов II категории водопользования (в черте города и зонах рекреаций) микробиологическое загрязнение обнаружено в 57,1 % проб (2023 — 76,0 %), химическое — в 71,4 % проб (2023 — 71,0%).

В г. Ростове-на-Дону население использует воду ряда родников для питьевых нужд и рекреационного водопользования, качество которой в 22,0 % проб не отвечало гигиеническим нормативам по микробиологическим показателям (2023 — 69,0%).

Бактериологическое обследование на холеру за истекший период 2024: обследовано около 2 329 больных ОКИ, в т.ч. размещенных в ПВР. В двух случаях у жителей г. Ростове-на-Дону были выделаны нетоксигенные штаммы *V. cholerae* nonO1/nonO139, которые подтверждены в референс-центре по мониторингу за холерой.

Специалистами Управления совместно со специалистами референс-центра и МЗРО проведена оценка готовности госпитальной базы лечебных учреждений к работе в случае выявления больного (подозрительного) холерой. Главным врачам медицинских организаций даны рекомендации по корректировке схем развёртывания спецгоспиталей, по доукомплектованию штата врачами-инфекционистами, выделению дополнительных площадей для развёртывания холерных и провизорных госпиталей, изоляторов.

Управлением осуществляется научно-практическое сотрудничество с ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора в рамках научно-исследовательской работы № 218-1-21 «Особенности обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения субъекта Российской Федерации в условиях ЧС санитарно-эпидемиологического ха-

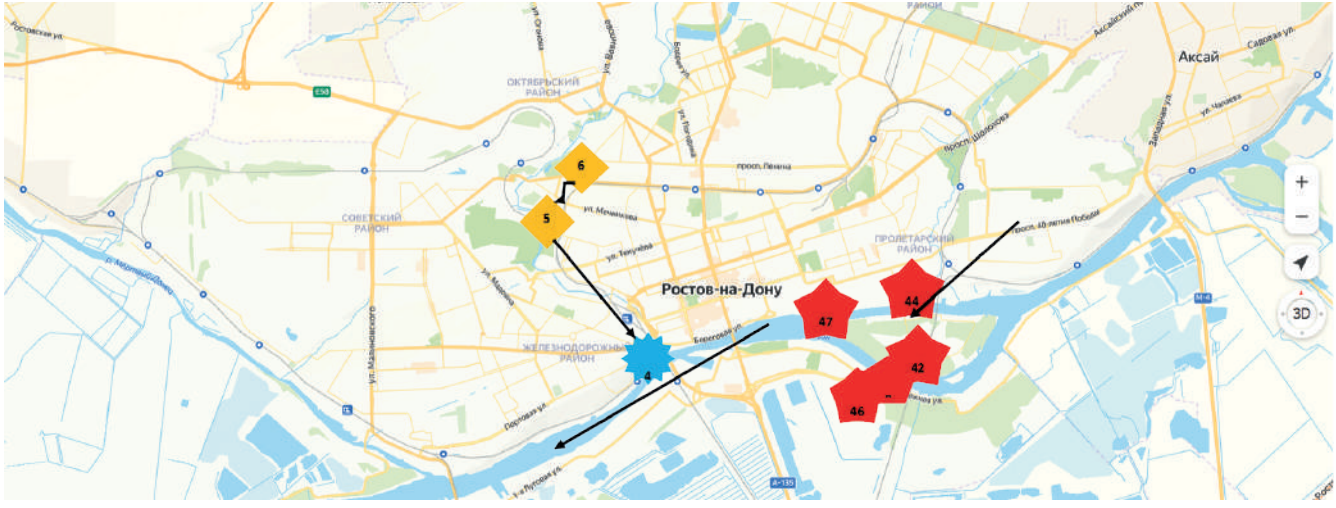


Рис. 1. Точки выделения *V. cholerae* O1 из рек Дон и Темерник в г. Ростове-на-Дону за 2024 г.

Примечание.

4, 5 и 6 — стационарные точки ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумным институтом Роспотребнадзора;

42, 44, 46, 47 и дополнительная точки № 46 (500 м выше) — стационарные и дополнительная точка ФБУЗ «ЦГиЭ в РО».

рактера на территории сопредельного государства» и № 220-4-21 «Совершенствование организации мониторинга за холерой в Российской Федерации с учетом эпидемиологической обстановки в мире, риска завоза возбудителя из неблагополучных по холере стран» и организация и проведение заседания проблемной комиссии 48.04. «Холера и патогенные для человека вибрионы».

Проводится активная разъяснительная работа среди населения по профилактике ОКИ, в том числе холеры. Информация размещается на сайте Управления, в доступных мессенджерах связи «ВКонтакте», «Телеграме».

Заключение

Комплекс профилактических (противоэпидемических) мероприятий, организованный и проведенный Управлением Роспотребнадзора по РО совместно с минздравом РО, ФБУЗ «ЦГиЭ в РО» Роспотребнадзора и ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора позволил не допустить случаев заболевания холерой в г. Ростове-на-Дону.

Список литературы

1. *Попова А.Ю., Носков А.К., Ежлова Е.Б., Кругликов В.Д., Монахова Е.В., Чемисова О.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Подойницына О.А., Водопьянов А.С., Левченко Д.А., Савина И.В.* Эпидемиологическая ситуация по холере в Российской Федерации в 2023 г. и прогноз на 2024 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2024. — № 1. — С. 76–88. — https://doi.org/10.21055/0370-1069-2024-1-76-88
2. *Ломов Ю.М., Телесманич Н.Р., Кругликов В.Д.* и др. Мониторинг вибриофлоры водных объектов окружающей среды в системе эпидемиологического надзора за холерой. Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2010. — № 5. — С. 24–28.
3. *Ежова М.И., Левченко Д.А., Архангельская И.В., Кругликов В.Д., Непомнящая Н.Б.* Особенности биологических свойств Vibrio cholerae, изолированных в процессе мониторинга водных объектов Ростова-на-Дону с 1989 по 2018 год. Проблемы особо опасных инфекций. — 2021. — № 1. — С. 148–151. — DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-148-151
4. *Соловьев М.Ю., Ковалев Е.В., Слись С.С.* и др. Взаимодействие Управления Роспотребнадзора по Ростовской области с ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора по эпидемиологическому надзору за холерой в 2015 году / Сборник статей Проблемной комиссии (48.04) Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации «Холера и патогенные для человека вибрионы». — Ростов-на-Дону, 2016. — С. 34–36.

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ ЭТИОЛОГИЧЕСКИХ АГЕНТОВ, ВЫЗЫВАЮЩИХ ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ У ЛИЦ ИЗ ПУНКТОВ ВРЕМЕННОГО РАЗМЕЩЕНИЯ НА ТЕРРИТОРИИ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Сокиркина Е.Н., Савина И.В., Соков Д.В., Мазрухо А.Б.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека организован комплекс мер по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения, включающий контроль мест временного проживания лиц, прибывших с территории Донецкой Народной Республики (ДНР), Луганской Народной Республики (ЛНР), Запорожской и Херсонской областей, и мероприятий по недопущению формирования очагов инфекционных болезней. Под контролем территориальных органов Роспотребнадзора находятся пункты временного размещения (ПВР) в 58 субъектах Российской Федерации.

Главной целью развертывания ПВР для пострадавшего в ЧС населения является создание и поддержание необходимых условий для сохранения жизни и здоровья людей в наиболее сложный в организационном отношении период после возникновения ЧС. ПВР предназначены для приема, временного размещения, учета и первоочередного жизнеобеспечения населения, отселенного (эвакуированного) из зоны ЧС или вероятной ЧС [Рейхов Ю.Н. и др., 2014].

По мнению Абасян Р.К. и Фадеева А.Е. [Абасян Р.К. и др., 2022], в течение первых нескольких дней пребывания в ПВР идет сложная и противоречивая адаптация людей к условиям проживания. В этой связи приоритетной задачей функционирования ПВР является создание для вынужденных переселенцев благоприятной и безопасной среды обитания.

В ПВР первоочередное жизнеобеспечение пострадавшего населения включает санитарно-эпидемиологическое обеспечение [Методические рекомендации МР 1.1.0093-14, 2014]. Решение этой задачи зависит от реализации комплекса организационных и практических санитарно-противоэпидемических мероприятий [Гулевич М.П. и др., 2014]. Особое значение указанные мероприятия приобретают в условиях продолжающегося пандемического распространения новой коронавирусной инфекции. Так, в соответствии с Методическими рекомендациями МР 3.1/2.1.0251-21 [Методические рекомендации МР 3.1/2.1.0251-21] силами и средствами медицинской организации, закрепленной за ПВР, организуется тестирование прибывающих лиц любым доступным методом определения антигена COVID-19 или его генетических маркеров, при поступлении, далее исследования повторяются каждые 48 часов. Не менее значимым при организации работы ПВР является своевременное выявление и других эпидемиологических рисков с целью предупреждения возникновения и дальнейшего распространения инфекционных болезней (в том числе, опасных).

В 2022 г. на территории Ростовской области, в которую ежедневно прибывали вынужденные переселенцы из ДНР, ЛНР, Запорожской, Херсонской областей и Украины, были организованы ПВР. С целью поддержания санитарно-эпидемиологического благополучия в местах размещения эвакуированного населения, предупреждения инфекционной заболеваемости и недопущения распространения опасных инфекционных заболеваний в ПВР особое внимание уделялось активному выявлению инфекционных больных с одновременным отбором биологического материала для лабораторных исследований. Исследование проб от лиц, пребывающих в ПВР, организовано на базе ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора.

Цель

Изучение структуры этиологических агентов, вызывающих инфекционные болезни у лиц из ПВР на территории Ростовской области.

Материалы и методы

В работе использованы:

- материалы Управления Роспотребнадзора по Ростовской области о количестве лиц, пребывающих в ПВР, поло-возрастном составе, заболеваемости инфекционными болезнями;
- данные и материалы статистической отчетности ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области», данные информагентств, материалы с официального сайта ВОЗ о заболеваемости, в том числе особо опасными инфекционными болезнями;
- результаты исследований клинического материала лиц из ПВР, обратившихся за медицинской помощью в период с 21.02.2022 по 29.12.2023.

Исследование образцов клинического материала для обнаружения возбудителей COVID-19, острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) и острых кишечных инфекций (ОКИ) проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием тест-систем «АмплиСенс® COVID-19-FL», «АмплиСенс® ОРВИ-скрин-FL», «АмплиСенс® ОКИ скрин-FL». Лабораторную диагностику холеры проводили бактериологическим методом в соответствии с МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры» и методом ПЦР («АмплиСенс® Vibrio cholerae-FL»).

Результаты и обсуждение

Проведены исследования проб клинического материала от лиц из ПВР на наличие генетических маркеров возбудителей COVID-19, ОРВИ, возбудителей острых кишечных инфекций вирусной и бактериальной природы, энтеровирусов, герпесвирусов, а также на наличие возбудителя холеры бактериологическим методом и методом ПЦР, результаты которых представлены в табл. 1.

В структуре возбудителей респираторных вирусных инфекций, выявленных в ходе указанных исследований за два года, доминировали: возбудители COVID-19 (254 положительных пробы) и риновирусной инфекции (72 положительных пробы). В единичных пробах выявлены РНК вирусов парагриппа 1-3 ти-

пов, бокавирусов, РС-вируса, *Adenovirus*. РНК вируса гриппа не была выделена из исследованных проб.

Таблица 1

Результаты исследования проб клинического материала от лиц из ПВР, поступивших в ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора в период 21.02.2022—29.12.2023

Количество проб	Номенклатура исследований	Результат
837	ПЦР на SARS-CoV-2 и ОРВИ-скрин	254 — положит. на SARS-CoV-2; 12 — РНК вируса парагриппа 3 типа; 1 — РНК вируса парагриппа 2 типа; 1 — РНК вируса парагриппа 1 типа, 3 — РНК аденовируса; 72 — РНК риновируса; 19 — РНК коронавируса (NL-63, 239E, HKU-1, OC43); 4 — РНК бокавируса; 1 — РНК РС-вируса; 1 — ДНК *Varicella Zoster virus*
542	ПЦР ОКИ-скрин	3 — ДНК *Salmonella* spp.; 10 — ДНК *Campylobacter* spp.; 105 — РНК *Norovirus G2*; 132 — РНК *Rotavirus*; 7 — РНК *Adenovirus*; 8 — РНК *Astrovirus*; 1 – ДНК *Shigella* spp.
56	ПЦР на *Enterovirus*	7 — положительных
91	форма 30 (*V. cholerae*)	не обнаружены

Динамика выявления случаев заболевания новой коронавирусной инфекцией в ПВР имеет сходство с общей ситуацией по региону, максимальное число больных с респираторным синдромом было обследовано в феврале-марте 2023 г., доля положительных результатов среди обследованных составила 30,4%.

В возрастной структуре заболевших новой коронавирусной инфекцией среди населения Ростовской области наибольший удельный вес приходился на взрослое трудоспособное население в возрасте 18–49 лет, активно посещающих общественные места и пользующихся общественным транспортом. В то же время в ПВР лабораторно подтвержденные случаи COVID-19 выявлены преимущественно среди детей в возрасте от 6 мес. до 17 лет и лиц старше 60 лет (45,6% и 28,5% от числа положитель-

ных проб, соответственно), что объясняется эвакуацией из ДНР, ЛНР, Херсонской, Запорожской областей и Украины в первую очередь детей и пожилого населения, а также тесными бытовыми контактами.

За последние 30 лет на территории Украины зарегистрировано несколько вспышек холеры, обусловленных сбросом необеззараженных сточных вод в открытые водоемы, аварийными ситуациями на водопроводной и канализационной сетях, незаконной торговлей продуктами в антисанитарных условиях и т.д. Показательными в этом плане были эпидемические проявления холеры в г. Мариуполе в 2011 г. В связи с изложенными обстоятельствами была повышена настороженность медицинских работников СКП, амбулаторно-поликлинического звена, станций скорой медицинской помощи в отношении больных с диарейным синдромом, прибывающих с территории сопредельного государства. За период с 21.02.2022 по 29.12.2023 обследовано на холеру 91 лицо, пребывающее в ПВР. Результаты лабораторного исследования на наличие холерного вибриона были отрицательными.

Среди выявленных методом ПЦР возбудителей ОКИ у 542 обследованных за аналогичный период лиц из ПВР доминировали ротавирусы (в 132 случаях) и норовирусы (в 105 случаях). Из возбудителей ОКИ бактериальной природы в трех пробах клинического материала была обнаружена ДНК *Salmonella* spp., в одной пробе — ДНК *Shigella* spp. Этиологический агент зарегистрированных в ПВР случаев ОКИ удалось установить более, чем в 50% случаев.

В 2023 г. только в одной пробе клинического материала из ПВР была обнаружена РНК энтеровируса, в отличие от 2022 г., в течение которого было шесть положительных результатов.

Специалисты ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора осуществляли полногеномное и фрагментарное секвенирование образцов от лиц из ПВР. За период с 21.02.2022 по 29.12.2023 проведено 130 сиквенсов, результаты которых свидетельствуют о доминировании геновариантa вируса SarsCoV-2 Omicron. Также были определены генотипы рото- и норовируса, явившихся этиологическими агентами зарегистрированных у лиц из ПВР ОКИ.

Заключение

Таким образом, проводимые специалистами ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора лабораторные исследования клинического материала от лиц, находящихся в ПВР на территории Ростовской области, позволили в короткие сроки установить этиологические агенты, вызвавшие инфекционные болезни у них, провести их углубленное изучение методом секвенирования (в том числе, для выявления происхождения данных микроорганизмов). А это, в свою очередь, дало возможность своевременно провести необходимый комплекс санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий и предотвратить распространение инфекционных болезней.

Список литературы

1. *Абасян Р.К., Фадеев А.Е.* Из опыта работы пункта временного размещения для лиц, вынужденных покинуть территорию Украины, ДНР, ЛНР и экстренно прибывших на территорию РФ в массовом порядке // GLOBUS: Гуманитарные науки. — 2022. —№ 7#2. — С. 7–9.
2. *Гулевич М.П., Липская Н.А., Курганова О.П., Перепелица А.А.* Предупреждение распространения инфекционных заболеваний в пунктах временного размещения в период наводнения в Амурской области // Проблемы особо опасных инфекций. — 2014. — № 1. — С. 19–20.
3. Методические рекомендации МР 1.1.0093-14. Общие вопросы. Условия организации и функционирования пунктов временного размещения и пунктов долговременного пребывания людей, прибывающих из зон чрезвычайных ситуаций [Электронный ресурс]. — URL: https: // metodicheskie-rekomendacii-mchs-rossii_16486229291482137292.pdf (дата обращения: 28.03.2024).
4. Методические рекомендации МР 3.1/2.1.0251-21. 3.1. Профилактика инфекционных болезней. 2.1. Коммунальная гигиена. Рекомендации для организации размещения (ПВР) эвакуируемого населения в условиях продолжающегося распространения новой коронавирусной инфекции (COVID-19) [Электронный ресурс]. — URL: https://MP%203.1_2.1.0251-21.%203.1.%20Профилактика%20инфекционных%20болезней..pdf (дата обращения: 28.03.2024).
5. *Рейхов Ю.Н., Лебедев А.Ю.* Практика организации работы пунктов временного размещения на приграничных территориях Российской Федерации. Научные и образовательные проблемы гражданской защиты. — 2014. — № 3. — С. 3–9.

ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННОЙ АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУЛЯРЕМИИ В РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ, ДНР, ЛНР И НА УКРАИНЕ С 1943 ПО 2023 ГОД

Сорокин В.М., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Носков А.К.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Туляремия относится к природно-очаговым инфекциям, эндемичные очаги которой широко распространены в северном полушарии земного шара, включая Россию. Несмотря на безусловные успехи в борьбе с этим заболеванием, связанные с введением массовой иммунизации населения, периодические спорадические и эпидемические вспышки туляремии у людей в различных районах не снимают проблему с повестки дня. Более того, в последние годы регистрируется тенденция к расширению ареала циркуляции туляремийного микроба с появлением штаммов, не характерных для данного региона. Например, если исторически штаммы среднеазиатского подвида были приурочены к небольшому региону Средней Азии, то в 2013 г. они уже были изолированы в Алтайском крае РФ [Мокриевич А.Н. и др., 2013]. Несмотря на то что туляремийный микроб склонен к обитанию в умеренных широтах земного шара, существенное потепление климата будет сопровождаться постепенным вовлечением северных территорий, изменением паразитарной системы и возможным изменением фенотипических и генетических свойств возбудителя [Орлов Д.С., 2022]. Поэтому изучение вопросов филогеографии туляремийного микроба представляет не только практический, но и научный интерес, так как позволяет оценить эволюционные процессы *Francisella tularensis* в современных условиях.

При проведениигенетического мониторинга природных очагов туляремии в Ростовской области (РО) в 2022–2023 гг. нами было подтверждено существование общего очага на территории РО, ДНР и ЛНР [Сорокин В.М. и др., 2023]. Полученные результаты послужили основанием для изучения популяции возбудителя туляремии на географически удаленных территориях и в течение длительного времени.

Цель

Провести пространственно-временной генетический анализ популяции возбудителя туляремии в Ростовской области (РО), ДНР, ЛНР и на Украине с 1943 по 2023 гг.

Материалы и методы

Бактерии *F. tularensis* выращивали на среде Т в течение 24 часов при 37 °С. Культурально-морфологические, биохимические и биологические свойства туляремийного микроба изучали в соответствии с МУ 3.1.2007-05 «Эпидемиологический надзор за туляремией». Антибиотикочувствительность исследуемых культур изучали диско-диффузионным методом согласно МУК 4.2.2495-09 «Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллез, сап, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам». Полногеномное секвенирование проводили на платформе MiSeq Illumina. Сборку геномов, представленных в виде ридов, проводили с использованием программы Spades. Для сравнительного анализа использовали данные, полученные из базы данных NCBI. Для анализа применяли авторское программное обеспечение GeneExpert, PrimerM и Virtual PCR, написанное на языке программирования Java. Кластерный анализ проводили с использованием метода UPGMA, для построения дендрограммы использовали программу MEGA 5. Алгоритм выбора SNP для анализа WGS описан ранее (Водопьянов А.С. и др., 2016).

Конструирование праймеров и проведение ПЦР *in silico* осуществляли при помощи программ Primer3Plus и авторской программы Virtual PCR. Кластерный анализ и построение филоге-

нетического дерева проводили с использованием программы GrapeTree (алгоритм NJ). Для оптимизации набора VNTR локусов с целью получения максимального числа индивидуальных генотипов была использована программа AuSeTTS (Automated Selection of Typing Target Subsets).

Результаты и обсуждение

Для сравнительного анализа генотипов было изучено 72 штамма *F. tularensis*, из них 35 штаммов, выделенных в России и РО с 1928 по 2023 г., 11 штаммов ДНР и ЛНР (2022–2023) и 26 штаммов, выделенных на Украине с 1949 по 1990 гг. Все исследованные штаммы принадлежали к подгруппе B.12 подвида *holarctica*. VNTR-генотипирование позволило определить у данных штаммов 20 индивидуальных генотипов (рис. 1). Проведен анализ VNTR-генотипов методом MST, определено три клональных комплекса (CC1-CC3), из них только комплекс CC2 проявляет географическую приуроченность (Орловский, Целинский, Сальский, Ремонтненский р-ны на юге и юго-западе РО). Штаммы из этого комплекса были выявлены с 1949 по 2023 г. В то же время некоторые генотипы циркулируют только на территории Украины (CC1 — два генотипа, CC3 — 5 генотипов). Штаммы генотипа 5 (CC3) выделяются на разных территориях в течение 80 лет (1943, 1982 и 2023 гг.), причем в точках, находящихся на расстоянии около 1000 км. В составе комплекса CC1 расположен генотип 4, доминирующий у штаммов из РО, ДНР и ЛНР в настоящее время и выделявшийся в Херсонской обл. в 1962 г. На одной и той же территории, а именно в Сальском районе, отмечено выделение штамма генотипа 2 с разницей во времени около 30 лет. Таким образом, штаммы одного генотипа могут циркулировать не только на больших расстояниях (более 1000 км), но и в течение длительного времени (до 80 лет). Возможность выявления штаммов одного генотипа на удаленных территориях и на протяжении длительного времени была отмечена и в других географических зонах Северного полушария. При исследовании популяции *F. tularensis* в Скандинавии было определено наличие большого генетического разнообразия штаммов (циркуляция штаммов трех подгрупп B.4, B.6 и B.12).

Пространственно-временной анализ популяции выявил сходные черты с результатами нашего исследования, а именно, появление идентичных клональных комплексов на значительном расстоянии (> 600 км) или с разницей во времени (> 11 лет) [Birdsell D. et al., 2018].

Заключение

Клональные комплексы *F. tularensis* могут проявлять как географическую приуроченность, так и распространение на обширных географически удаленных территориях и в больших временных промежутках. Результаты исследования предполагают возможность длительного сохранения возбудителя туляремии в слабо- или нереплицирующемся состоянии в объектах окружающей среды, скорее всего водных источниках.

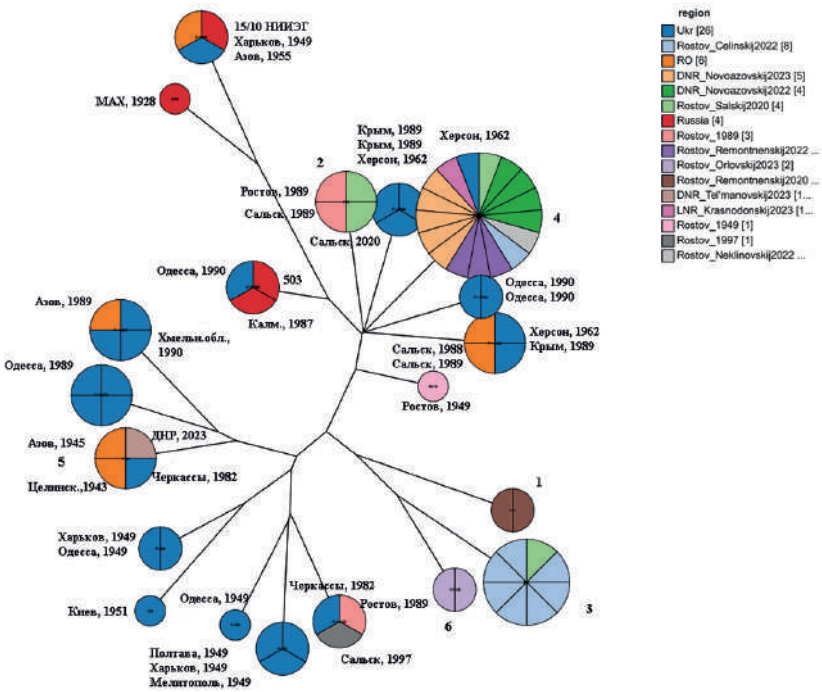


Рис. 1. Филогенетическое дерево VNTR генотипов 72 штаммов *F. tularensis*, построенное по алгоритму NJ

Список литературы

1. *Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Мишанькин Б.Н., Олейников И.П., Кругликов В.Д.* Молекулярная эпидемиология *Vibrio cholerae* — разработка алгоритма анализа данных полногеномного секвенирования // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2016. — № 21(3). — С. 146–52.
2. *Мокриевич А.Н., Тимофеев В.С., Кудрявцева Т.Ю., Уланова Г.И., Карбышева С.Б., Миронова Р.И.* Выделение среднеазиатского подвида туляремийного микроба на территории Алтайского края // Проблемы особо опасных инфекций. — 2013. — № 1. — С. 66–69.
3. *Орлов Д.С.* География туляремии на Европейской территории России: дис. ... канд. геогр. наук. — М., 2022.
4. *Сорокин В.М., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Носков А.К.* Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Francisella tularensis*, выделенных во время эпизоотии 2022–2023 гг. в Ростовской области и Донецкой Народной Республике // Бактериология. — 2023. — № 8(3). — С. 68–74. — DOI: 10.20953/2500-1027-2023-3-68-74
5. *Birdsell D., Myrtennäs K., Tonteri E., Sissonen S., Helland S., Johansson A., Granberg M., Hemmilä H., Pelkonen K., Grub C., Nikkari S., Forsman M., Wagner D.* Genetic analyses of Francisella tularensis in Fennoscandia reveal distinct subclade distribution and closely related isolates with large temporal and geographic distances. Abstract book. 9th International Conference on Tularemia. 2018, p. 57.

АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ОРГАНИЗАЦИИ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ХОЛЕРОЙ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Тельнова Н.В.[1], Яшина А.Ю.[1], Шиянова А.Е.[1], Лопатин А.А.[1], Скударева О.Н.[2]

[1] ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора, г. Москва, Россия
[2] Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Москва, Россия

Учитывая сохраняющуюся высокую угрозу завоза холеры в Российскую Федерацию, эпидемиологический надзор и мониторинг эпидемиологической обстановки по холере в России продолжает оставаться одной из приоритетных задач. Во испол-

нение постановлений Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 26.04.2022 № 14, от 24.05.2023 №7 «О дополнительных мерах по профилактике холеры в Российской Федерации», в 2022 и 2023 г. по поручению Роспотребнадзора специалистами ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора осуществлялся анализ проводимых противохолерных мероприятий и готовности субъектов Российской Федерации к проведению противоэпидемических мероприятий в случае выявления больных с подозрением на холеру. Анализ мероприятий проводился в период с мая по ноябрь в еженедельном режиме с использованием данных, размещенных учреждениями Роспотребнадзора в ведомственной информационной системе «report.gsen.ru». Отдельные результаты анализа представлены ниже.

Всего в 2023 г. в учреждениях Роспотребнадзора в субъектах Российской Федерации, в том числе на железнодорожном транспорте определено 7805 (2022 г. — 7603) стационарных точек мониторингового исследования на холеру из водных и других объектов окружающей среды (ООС). В 2023 г. поручением Роспотребнадзора период проведения мониторинговых исследований ООС на территориях I и II типа по эпидемическим проявлениям холеры был продлен с учетом температурных показателей по октябрь включительно.

Всего в рамках эпидемиологического надзора за холерой в 2023 г. было исследовано 100 964 пробы (2022 г. — 85 750). Из них по стационарным точкам — 97 194 (96,3%) (2022 г. – 81 521, 95%), в том числе в местах сброса сточных вод — 15 242 пробы (15,1%), в зонах санитарной охраны водоемов — 13 169 (13,1%), в сточных водах (до очистки) — 4319 проб (4,3%). В местах массового пребывания людей исследовано 64 464 пробы (63,8%). В дополнительных точках было исследовано 3770 проб (3,7%) (2022 г. — 4229,5%), в том числе в ПВР 1044 (2022 г. – 3900).

В ходе планового мониторинга ООС на 11 территориях I типа по эпидемическим проявлениям холеры было исследовано 33893 пробы из 1102 точек, что составило 33,6% от всех проведенных в России исследований (2022 г. — 20 937 проб из 961 точки, 24% от всех исследований). На трех территориях II типа —

11 100 проб из 608 точек, 11% (2022 г. — 8372 пробы из 426 точек, 9,8%). На 73 территориях III типа, подтипов А, Б и В доля исследованных проб составила 36,4%, 15,7% и 3,2% соответственно.

Количество проб с выделением холерных вибрионов не О1/не О139 серогрупп составило 8099 или 8% от общего количества исследуемых проб (2022 г. — 5936, 6,9%), из них в стационарных точках — 7928 положительных проб (98%), в дополнительных точках — 171 (2%) (2022 г. – 96,9% и 3,1% соответственно). Наибольшее количество проб с выделением холерных вибрионов не О1/не О139 отмечалось в местах массового пребывания людей — в 454 пробах (67,3%) (2022 г. — 1780, 29,9%) и в местах сброса сточных вод — 1146 (14%).

По информации ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, за период сезонного мониторинга 2023 г. на территории 11 субъектов Российской Федерации из воды поверхностных водоемов изолировано 53 нетоксигенных штамма холерных вибрионов О1 серогруппы, в том числе, один токсигенный штамм [1].

В октябре 2023 г. продолжили исследование ООС на холеру 21 субъект Российской Федерации и на железнодорожном транспорте. За период с 01.10.2023 по 31.10.2023 было исследовано 4752 пробы, количество проб с выделением холерных вибрионов не О1/не О139 серогрупп составило 157 или 3,3% от общего количества исследуемых проб за этот период.

В 2023 г. обследование на холеру больных ОКИ в соответствии с пунктом 1929, приложением 21 СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» проводилось в 60 субъектах Российской Федерации. Нарастающим итогом обследовано на холеру 111 544 больных ОКИ, что в два раза больше по сравнению с 2022 г. (62 699), исследовано проб — 286 813 (2022 г. — 125 500). Наибольшее количество больных ОКИ, обследованных на холеру, от общего количества обследованных в Российской Федерации, отмечалось на территориях II типа — 54 490 больных (48,8%), территориях I типа — 51 949 больных (46,6%). На территориях III типа было обследовано 5105 больных (4,6%), из них наибольшее количество больных ОКИ обследовано на террито-

риях типа III А — 3394 (66%). В октябре 2023 г. продолжили обследование на холеру больных ОКИ в 36 субъектах Российской Федерации. С 01.10.2023 по 31.10.2023 было обследовано 15 787 человек.

Анализ мероприятий по противоэпидемической готовности субъектов проводился по таким параметрам, как организационные мероприятия, готовность госпитальной базы, оснащенность госпитальной базы к проведению противоэпидемических мероприятий в случае выявления больных холерой, теоретическая и практическая подготовка специалистов медицинских организаций, санитарно-карантинных пунктов, сотрудников пунктов временного размещения беженцев по вопросам профилактики холеры и проведения первичных противоэпидемических мероприятий.

По итогам анализа в течение 2022–2023 гг. во всех субъектах актуализированы, при участии противочумных учреждений, «Комплексные планы мероприятий по санитарной охране территории...» в части противохолерных мероприятий, проведена оценка готовности госпитальной и лабораторной баз и скорректировано количество учреждений госпитальной базы и коечного фонда.

В 2023 г. во всех субъектах Российской Федерации предусмотрены учреждения для развертывания инфекционного госпиталя, провизорного госпиталя, изолятора и обсерватора. Было предусмотрено с учетом поэтапного развертывания для инфекционного госпиталя 933 учреждения с общим коечным фондом — 31 099 коек (2022 г. — 977 и 30 097 соответственно), для провизорного госпиталя — 1083 учреждения с общим коечным фондом — 50 613 (2022 г. — 1166 и 51 891), изолятора — 1208 учреждений с общим коечным фондом 45 623 (2022 г. — 1292 и 48 357). Для развертывания обсерватора предусмотрено 842 учреждения с общим коечным фондом 52 526 коек (2022 г. — 1292 учреждения).

Обеспеченность учреждений госпитальной базы средствами индивидуальной защиты (СИЗ), солевыми растворами и антибактериальными препаратами предусмотрена всеми субъектами, различным по типам эпидемических проявлений холеры и на ж/д транспорте.

В рамках ежегодно проводимой подготовки специалистов медицинского и немедицинского профиля по профилактике холеры в 2023 г. проведено 1169 тренировочных занятий с отработкой алгоритма межведомственного взаимодействия, а также 48 395 (2022 г. — 14515) мероприятий различного формата обучения, в том числе семинаров — 358 (2022 г. — 7443), инструктажей — 15 421 (2022 г. — 4673), информационно-разъяснительной работы — 25 616 (2022 г. — 2399). На обучающих семинарах подготовлено 523 575 специалистов (2022 г. — 819 946), в том числе 3148 (2022 г. — 4892) специалистов Управлений Роспотребнадзора в субъектах, 1408 специалистов СКП (2022 г. — 1594), 7015 (2022 г. — 8482) специалистов ФБУЗ «Центров гигиены и эпидемиологии в субъектах», 510 010 (2022 г. — 800 231) специалистов медицинских организаций, 1994 (2022 г. — 4747) сотрудника ПВР.

Подготовка специалистов немедицинского профиля (экипажей авиа- и морского транспорта, совершающих рейсы в страны, где зарегистрированы случаи холеры, работников железнодорожного и автотранспорта, туроператоров и др.) проводилась в виде инструктажей, семинаров, информационно-разъяснительной работы и других форматах. Всего в 2023 г. в стране проведено 21 248 мероприятий разного формата обучения (2022 г. — 30 152), в том числе 297 семинаров (2022 г. — 164), 7292 инструктажа (2022 г. — 4413), 13 659 (2022 г. — 25 575) информационно-разъяснительных работ. Было подготовлено 90 267 специалистов (2022 г. — 78 081), в том числе: 28045 членов экипажей самолетов (бортпроводников) (2022 г. — 12 680), 10 119 (2022 г. — 3514) работника железнодорожного транспорта, 27 042 (2022 г. — 22 528) членов экипажей морских судов, 21 081 водителей пассажирских автобусов (2022 г. — 35 307), 3980 (2022 г. — 4052) туроператоров (юридических лиц и ИП).

Выводы

Таким образом, еженедельно проводимый анализ комплекса организационных и профилактических мер в рамках эпидемиологического надзора за холерой позволяет своевременно провести оценку противоэпидемической готовности субъектов Рос-

сийской Федерации, откорректировать оперативные документы, оценку задействования учреждений, предусмотренных для перепрофилирования под госпитальную и лабораторную базы и принять необходимые управленческие решения с учетом степени риска завоза холеры на конкретной территории.

Список литературы

1. Информационное письмо ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора от 11.01.2024 № 61-30-11/09-28-2024 «Информация о культурах холерных вибрионов, изолированных на территории Российской Федерации в 2023 году».

ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЙ КЛЕЩЕВОГО ВИРУСНОГО ЭНЦЕФАЛИТА В ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

Толмачева М.И., Никитин А.Я., Андаев Е.И.

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

Введение

На территории Российской Федерации (РФ) с начала XXI в. отмечается устойчивая тенденция к снижению заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом (КВЭ), но при этом эпидемиологическая ситуация остается неблагополучной в силу наличия тяжелых клинических форм и летальных исходов, неравномерности проявления эпидемического процесса в разрезе субъектов, периодических временных достаточно резких подъемов инцидентности (2009, 2011, 2015, 2019 и 2022 гг.) [Никитин А.Я. и др., 2023].

Восточная Сибирь занимает четверть территории РФ и объединяет шесть субъектов: Красноярский и Забайкальский края, Республики Бурятия, Тыва и Хакасия, Иркутскую область. Природные очаги КВЭ в Восточной Сибири выявлены во всех субъ-

ектах в зоне средне- и южнотаежных лесов. В настоящее время Восточная Сибирь наряду с Уралом и Западной Сибирью относится к районам с высоким риском заражения КВЭ.

КВЭ на территории субъектов Восточной Сибири, как и по РФ в целом, характеризуется пространственной неоднородностью, что приводит к различному уровню заболеваемости населения в разрезе муниципальных образований (МО). Современный риск-ориентированный подход к профилактике КВЭ требует учета пространственных и временных особенностей течения эпидемического процесса в отдельных МО субъектов [Рудаков Н.В. и др., 2019; Никитин А.Я. и др., 2023].

Цель исследования — пространственно-временное описание эпидемического процесса КВЭ на территории Восточной Сибири.

Материалы и методы

Ретроспективный анализ эпидемиологической обстановки по КВЭ основан на материалах государственной статистической отчетности формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за 2009–2023 гг., данных Референс-центра по мониторингу за клещевым вирусным энцефалитом.

Ранжирование МО каждого субъекта по степени эпидемиологического риска включало три этапа: 1) выделение групп неэндемичных и эндемичных районов; 2) распределение эндемичных МО в три кластера (с низкой, средней и высокой заболеваемостью) путем расчета 95% доверительного интервала (ДИ) по среднемноголетнему показателю (СМП) инцидентности КВЭ за 10 лет (2014–2023); 3) статистическая оценка наличия выпадающих значений в группе с высокой заболеваемостью с формированием при необходимости дополнительного кластера [Терентьев П.В. и др., 1977].

Статистическая обработка проведена стандартными методами вариационной статистики [Ковалев В.В. и др., 2014] с применением программы MS Excel.

Результаты и обсуждение

Заболеваемость КВЭ на территории Восточной Сибири в 2009–2023 гг. характеризуется статистически значимым ($P < 0{,}001$)

снижением со среднегодовым темпом — 3,8%. Всего за это время зарегистрировано 8792 случаев КВЭ (основная доля приходится на Красноярский край — 59%) с колебаниями от 185 до 915 больных за год. Число пострадавших от присасывания клещей за это период составило 643 665 человек с варьированием по годам от 32 210 до 51 163 за сезон.

$СМП_{2009–2023}$ заболеваемости КВЭ в Восточной Сибири составил 7,2 ± $0,6^0/_{0000}$, что превышает среднероссийский в 4,8 раз (1,5 ± $0,1^0/_{0000}$). Максимум показателя зарегистрирован в 2009 г. ($11,0^0/_{0000}$), минимум — в 2021 г. ($2,3^0/_{0000}$).

Сходные временные тенденции изменения инцидентности КВЭ отмечены в отдельных субъектах с разным уровнем заболеваемости. Так в Республике Хакасия заболеваемость снизилась в 3 раза ($СМП_{2009–2023}$ 7,2 ± $1,2^0/_{0000}$, среднегодовой темп снижения — 7,5%); инцидентность снизилась в 2 раза в Красноярском крае ($СМП_{2009–2023}$ 12,4 ± $1,2^0/_{0000}$, темп снижения — 4,7%), в Республиках Тыва (8,9 ± $1,2^0/_{0000}$, темп снижения — 5,4 %) и Бурятия (4,4 ± $1,2^0/_{0000}$, темп снижения — 5,4%). В Иркутской области статистически значимое незначительное снижение заболеваемости КВЭ ($СМП_{2009–2023}$ 4,0 ± $0,3^0/_{0000}$, среднегодовой темп снижения — 1,5%). Только на территории Забайкальского края за анализируемый период наблюдается статистически значимый рост заболеваемости в 1,4 раза ($СМП_{2009–2023}$ 3,5 ± $0,4^0/_{0000}$, среднегодовой темп роста — 2,2%).

Для совершенствования тактики профилактики КВЭ в каждом из шести субъектов проведена дифференциация образующих их МО в группы разного эпидемиологического риска для периода 2014–2023 гг. Ниже представлены результаты этого анализа, начиная от субъектов с максимальным уровнем заболеваемости (Красноярский край) до минимальной инцидентности (Забайкальский край).

В Красноярском крае из 61 МО четыре — неэндемичны по КВЭ. Они образуют группу, обозначенную Г0. 55 эндемичных МО распределены в три группы: с низкой (Г1 — 29 МО, инцидентность менее $8,2^0/_{0000}$), средней (Г2 — 11 МО, от $8,3^0/_{0000}$ до $14,6^0/_{0000}$) и высокой (Г3 — 12 МО, более $14,6^0/_{0000}$) частотой проявления инфекции. Два МО (г. Дивногорск и Каратузский рай-

он) по уровню инцидентности КВЭ (46,2 и 58,4$^{0}/_{0000}$ соответственно) статистически значимо отличались от остальных в группе Г3, поэтому выделены в кластер Г4 с очень высокой заболеваемостью. Согласно принятому алгоритму дифференциации территорий [Толмачева М.И. и др., 2021] г. Красноярск (как административный центр) выделен в самостоятельную группу Г5 ($СМП_{2014–2023}$ 10,8 ± 1,2$_{0/0000}$).

В Республике Тыва из 18 МО пять — неэндемичны по КВЭ (Г0). Эндемичные МО: с низкой (Г1 — два МО, инцидентность менее 6,3$_{0/0000}$), средней (Г2 — восемь МО, от 6,3$_{0/0000}$ до 15,6$_{0/0000}$) и высокой (Г3 — два МО, более 15,6$_{0/0000}$) частотой проявления инфекции. Административный центр г. Кызыл — самостоятельная группа Г5 ($СМП_{2014–2023}$ составляет 5,6 ± 1,4$_{0/0000}$).

В Республике Хакасия из 13 МО два — неэндемичные (Г0, в т.ч. административный центр — г. Абакан с $СМП_{2014–2023}$ 2,2 ± 0,4$^{0}/_{0000}$). Эндемичные МО: с низкой (Г1 — три МО, инцидентность менее 3,1$^{0}/_{0000}$), средней (Г2 — пять МО, от 3,1$^{0}/_{0000}$ до 10,3$^{0}/_{0000}$) и высокой (Г3 — два МО, более 10,3$^{0}/_{0000}$) заболеваемостью КВЭ. Один МО (г. Абаза) по уровню инцидентности (19,1$^{0}/_{0000}$) выделен в кластер с очень высокой заболеваемостью (Г4).

В Республике Бурятия все 22 МО относятся к эндемичным по КВЭ территориям: с низкой (Г1 — семь МО, инцидентность менее 2,40/0000), средней (Г2 — 10 МО, от 2,4$^{0}/_{0000}$ до 7,7$^{0}/_{0000}$) и высокой (Г3 — два МО, более 7,7$^{0}/_{0000}$) заболеваемостью КВЭ. Два МО (Тункинский и Закаменский районы) по уровню инцидентности КВЭ (14,8 и 27,1$^{0}/_{0000}$ соответственно) выделены в самостоятельный кластер (Г4), характеризующийся очень высокой заболеваемостью. Административный центр г. Улан-Удэ — самостоятельная группа Г5 ($СМП^{0}/_{0000}$ составляет 1,9 ± 0,4$^{0}/_{0000}$).

В Иркутской области из 41 МО шесть — неэндемичные (Г0). Эндемичные по КВЭ МО: с низкой (Г1 — 16 МО, инцидентность менее 3,7$^{0}/_{0000}$), средней (Г2 — восемь МО, от 3,7$^{0}/_{0000}$ до 6,5$^{0}/_{0000}$) и высокой (Г3 — восемь МО, более 6,5$^{0}/_{0000}$) заболеваемостью КВЭ. Два МО (Эхирит-Булагатский и Осинский районы) по уровню инцидентности КВЭ (12,9 и 18,6$^{0}/_{0000}$ соответственно) выделены в кластер с очень высокой заболеваемостью (Г4). Административный центр г. Иркутск — самостоятельная группа Г5 ($СМП_{2014–2023}$ составляет 2,6 ± 0,5$^{0}/_{0000}$).

В Забайкальском крае из 32 МО восемь — неэндемичны по КВЭ (Г0). Эндемичные МО: с низкой (Г1 — 10 МО, инцидентность менее 2,30/0000), средней (Г2 — восемь МО, от $2{,}3^0/_{0000}$ до 6,50/0000) и высокой (Г3 — три МО, более $6{,}5^0/_{0000}$) частотой проявления инфекции. Два МО (Петров-Забайкальский и Красночикойский районы) по уровню инцидентности КВЭ (13,9 и 22,00/0000соответственно) выделены в кластер Г4 с очень высокой заболеваемостью. г. Административный центр Чита — самостоятельная группа Г5 (СМП$^0/_{0000}$ составляет $2{,}6 \pm 0{,}6^0/_{0000}$).

Для создания и внедрения новых стратегий комплекса профилактических мероприятий участки с повышенной заболеваемостью на сопредельных МО субъектов объединены с учетом ландшафтно-географических особенностей.

В результате выделены зоны с высоким уровнем инцидентности КВЭ:

1) Малханский хребет (в пределах Забайкальского края и Республики Бурятия) — зона светлохвойных южносибирских лесов;
2) хребет Хамар-Дабан (в пределах Республики Бурятия и Иркутской области) — зона светлохвойных южносибирских и южнотаежных лесов;
3) Байкальский и Приморский хребты (в пределах Республики Бурятия и Иркутской области) — зона темнохвойных южносибирских лесов;
4) Восточный Саян (в пределах Красноярского края и Республики Тыва) — зона темнохвойных южносибирских лесов;
5) Приангарское плато и Енисейский кряж (в пределах Красноярского края и Иркутской области) — зона светлохвойных среднетаежных, хвойно-широколиственных западносибирских и темнохвойных южносибирских лесов;
6) Енисейская равнина (в пределах Красноярского края и Томской области) — зона темнохвойных среднетаежных и светлохвойных северотаежных лесов.

Заключение

Как и в большинстве эндемичных по КВЭ субъектов РФ на территории Восточной Сибири происходит снижение заболеваемости КВЭ.

Показано, что в отдельных субъектах Восточной Сибири за анализируемый период наблюдаются сходные временные тенденции изменения активности эпидемического процесса КВЭ.

Дифференциация МО субъектов на группы разного уровня эпидемиологического риска позволяет: совершенствовать тактику профилактики КВЭ в субъекте на основе риск-ориентированного подхода и проследить связь интенсивности эпидемического процесса КВЭ с природными (ландшафтными) условиями районов исследований.

Список литературы

1. *Никитин А.Я., Андаев Е.И., Толмачева М.И., Зарва И.Д., Бондарюк А.Н., Яцменко Е.В., Матвеева В.А., Сидорова Е.А., Адельшин Р.В., Колесникова В.Ю., Балахонов С.В.* Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации в 2014–2023 гг. и краткосрочный прогноз заболеваемости на 2024 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2024. — № 1. — С. 48–58. — DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-48-58
2. *Рудаков Н.В., Пеньевская Н.А., Савельев Д.А., Рудакова С.А., Штрек С.В., Андаев Е.И., Балахонов С.В.* Дифференциация эндемичных территорий по уровням заболеваемости клещевыми трансмиссивными инфекциями как основа выбора стратегии и тактики профилактики. Здоровье населения и среда обитания. — 2019. — № 12. — С. 56–61. DOI: 10.35627/2219-5238/2019-321-12-56-61.
3. Теория статистики с элементами эконометрики: учебник для академического бакалавриата / Под ред. В.В. Ковалева. — М.: Юрайт, 2014. — 670 с.
4. *Терентьев П.В., Ростова Н.С.* Практикум по биометрии: учеб. пособие. — Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1977. — 152 с.
5. Толмачева М.И., Никитин А.Я., Туранов А.О., Трушина Ю.Н. Алгоритм дифференциации территорий по риску заболевания клещевым вирусным энцефалитом (на примере муниципальных образований Забайкальского края): учебно-методическое пособие. — Иркутск: ИНЦХТ, 2021. — 20 с.

СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА В РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Тришина А.В., Березняк Е.А., Пичурина Н.Л., Любич Ю.А.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

В Южном федеральном округе в последние годы сохраняется нестабильная эпидемиологическая обстановка по лихорадке Западного Нила (ЛЗН)[Малецкая О.В. и др., 2020]. В 2022 г. эпизоотические проявления ЛЗН установлены в шести субъектах округа: Республика Калмыкия, Республика Крым, Краснодарский край, Волгоградская, Ростовская, Астраханская области [Путинцева Е.В. и др., 2023]. Климатические условия в Ростовской области благоприятны для циркуляции вируса лихорадки Западного Нила (ВЗН) [Зелихина С.В. и др., 2021]. На территории области с 2018 г. по 2022 г. зарегистрировано 122 случая ЛЗН: в 2018 г. — 25 случаев, 2019 г. — 93, в 2020 г. заболеваемость не зарегистрирована, в 2021–2022 гг. (по два случая). Дополнительную информацию об ареале циркуляции ВЗН по территории и среди различных групп населения за длительные периоды времени представляют результаты изучения иммунной прослойки при ЛЗН среди здоровых доноров.

Цель

Оценка результатов серологического мониторинга лихорадки Западного Нила среди населения Ростовской области.

Материалы и методы

Исследование уровня иммунной прослойки населения Ростовской области проводили в соответствии с СанПиН 3.3686-2 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Методом ИФА протестировано 484 сыворотки крови доноров, проживающих в Сальском, Некли-

новском, Веселовском, Заветинском, Ремонтненском, Целинском, Азовском районах и городе Ростове-на-Дону. Образцы исследовали на IgM и IgG к ВЗН с использованием коммерческих наборов производства АО «Вектор-Бест» (Новосибирск): «ВектоНил — IgG», «ВектоНил — IgG — авидность» и «ВектоНил — IgM», «Вектор ВКЭ — IgG». Результаты учитывали в соответствии с инструкцией изготовителя. Оптическую плотность измеряли на фотометре Infinite F50 (Tecan, Австрия). Доверительные интервалы для доли серопозитивных сывороток рассчитывали по методу Уилсона при доверительной вероятности $p \geq 0{,}95$ с использованием программных средств, предоставляемых сайтом https://epitools.ausvet.com.au.

Результаты и обсуждения

При серологическом мониторинге на наличие IgM и IgG среди выборочных групп здорового населениясеми административных районов области и города Ростова-на-Дону IgM обнаружены в 1,9% [1,0–3,5] случаев. Положительные пробы среди здорового населения обнаружены в Неклиновском (2,0%), Веселовском (2,8%), Азовском (4,8%), Заветинском (2,5%) районах и г. Ростове-на-Дону (2,2%). Медианный возраст сероположительных доноров составил 59 лет.

IgG к ВЗН обнаружены в 12,4% [9,8–15,6] случаев. Медианный возраст серопропозитивных доноров составил 54 года. Сепропревалентность к ВЗН отмечалась в равной степени среди мужчин и женщин. Уровень иммунной прослойки населения в Веселовском районе составил 22,2%, в г. Ростове-на-Дону — 18,0%, Неклиновском районе — 12,2%, Сальском — 11,8%, Азовском — 9,7%, Заветинском — 7,5%. Территориальное распределение положительных на ВЗН проб среди доноров в 2022 г. отображено на рис. 1.

В положительных пробах определяли индекс авидности, позволяющий дифференцировать острое заболевание от перенесенного ранее. Доля высокоавидных проб (более 60%) в настоящем исследовании составила 76,7%, доля низкоавидных образцов — 23,3%.

В шести пробах выявлено одновременное присутствие антител класса М и G: Азовский (2), Заветинский (1), Веселовский (1) районы и г. Ростов-на-Дону (2). Образцы из Заветинского района (1) и г. Ростов-на-Дону (1) были низкоавидными, что указывает на недавно перенесенную инфекцию.

Рис. 1. Территориальное распределение положительных серологических проб на IgM и IgG к вирусу Западного Нила. Ростовская область. 2022 г.

Учитывая наличие перекрестных антигенных связей между вирусами ЗН и клещевого энцефалита (КЭ), проведено параллельное исследование сывороток крови доноров на IgG к КЭ. При оценке 60 позитивных на IgG к ВЗН проб антитела в титре 1:100 к возбудителю клещевого вирусного энцефалита обнаружены в двух сыворотках крови доноров из Неклиновского района (женщины старше 80 лет). При этом индекс авидности к ЛЗН в этих образцах составил 100%, антитела класса М отсутствовали.

Заключение

В 2022 г. показатель серопревалентности при ЛЗН по Ростовской области составил 12,4%. Инфицирование населения ВЗН подтверждается выявлением специфических IgG у здоровых доноров в Веселовском, Неклиновском, Сальском, Азовском, Заветинском районах и г. Ростове-на-Дону. Обнаружение низкоавидных образцов сывороток доноров из Заветинского района и Ростова-на-Дону указывает на возможно перенесенную недавно инфекцию. Регистрация случаев болезни, наличие иммунной прослойки среди здоровых доноров, свидетельствует о сохраняющейся активной циркуляции ВЗН на территории Ростовской области и актуальности дальнейших исследований.

Список литературы

1. *Зелихина С.В., Шартова Н.В., Миронова В.А., Варенцов М.И.* Эколого-географические предпосылки распространения лихорадки Западного Нила в России. Экосистемы: экология и динамика. — 2021. — № 5. — С. 132–150. — DOI: 10.24411/2542-2006-2021-10081
2. *Малецкая О.В., Прислегина Д.А., Таран Т.В., Платонов А.Е., Дубянский В.М., Волынкина А.С.* и др. Природно-очаговые вирусные лихорадки на юге европейской части России. Лихорадка Западного Нила // Проблемы особо опасных инфекций. — 2020. — № 1. — С. 109–114. — DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-109-114
3. *Путинцева Е.В., Удовиченко С.К., Никитин Д.Н., Бородай Н.В., Батурин А.А., Мачнева А.Ю., Антонов А.С., Зарубин Н.А., Топорков А.В.* Лихорадка Западного Нила в Российской Федерации в 2022 г., прогноз заболеваемости на 2023 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2023. — № 1. — С. 75–84. — https://doi.org/10.21055/0370-1069-2023-1-75-84

О СОВЕРШЕНСТВОВАНИИ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ЛИХОРАДКОЙ ЗАПАДНОГО НИЛА НА ТЕРРИТОРИЯХ ВЫСОКОГО ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО РИСКА

Удовиченко С.К., Путинцева Е.В., Топорков А.В.

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Волгоград, Россия

Введение

Различная интенсивность эпизоотического и эпидемического процессов лихорадки Западного Нила (ЛЗН), наблюдаемая в России, определяет необходимость дифференцированного подхода к выбору стратегии и тактики эпидемиологического надзора за этой арбовирусной инфекцией. В первую очередь, требуют оценки и оптимизации мероприятия, проводимые на территориях, характеризующихся высокой степенью потенциальной эпидемической опасности очагов ЛЗН [Куклев Е.В. и др., 2019]. К таким территориям относятся субъекты Южного федерального округа (ЮФО), где в 1999–2023 гг. зарегистрировано 2648 случаев заболеваний ЛЗН, что составляет более 80% всех случаев в России.

Цель

Разработать мероприятия по оптимизации мониторинга за возбудителем ЛЗН в субъектах ЮФО.

Материалы и методы

В работе использованы данные об объемах и результатах эпидемиологического надзора за ЛЗН в 2009–2023 гг., представленные в референс-центр по мониторингу за возбудителем ЛЗН, ФКУЗВолгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора) Управлениями Роспотребнад-

зора по субъектам Российской Федерации, а также архивные данные за период 1999–2008 гг. Основной метод – эпидемиологический анализ.

Результаты и обсуждение

На территориях ЮФО сформированы стойкие очаги циркуляции вируса Западного Нила (ВЗН) с перманентно существующим, в независимости от климатических особенностей эпидемического сезона, риском заражения населения [Малецкая О.В. и др., 2020; Маслянинова А.Е. и др., 2023].

Первоочередные задачи эпидемиологического надзора за этой арбовирусной лихорадкой в ЮФО, включают: уточнение характера и интенсивности проявлений ЛЗН в отдельных районах субъектов, где ранее циркуляция возбудителя не была установлена; обеспечение эффективного выявления больных ЛЗН; повышение предупредительного потенциала системы мониторинга, нацеленного на выявление ранних признаков активизации эпизоотического процесса, сигнализирующих о возможности заражения населения.

На основании обобщения данных многолетних мониторинговых исследований и результатов дифференциации территории ЮФО по степени потенциальной эпидемической опасности очагов ЛЗН нами определены районы, где до настоящего времени не получены убедительные доказательства циркуляции ВЗН. Наименее изучена активность очагов ЛЗН на территории Республик Адыгея (5 районов), Крым (7 районов и 7 городских округов) и Краснодарского края (9 районов и 2 городских округа). Районы с неподтвержденной циркуляцией ВЗН в приоритетном порядке должны быть включены в план мониторинговых исследований, формируемый Управлениями Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации.

Получение фактических данных об активности очагов ЛЗН в указанных районах позволит выполнить комплексное эпидемиологическое районирование территории субъекта по интенсивности эпизоотического и эпидемического процессов ЛЗН с использованием разработанного и апробированного на модели Волгоградской области подхода [Никитин Д.Н. и др., 2022].

С целью уточнения характера и интенсивности контакта населения с ВЗН необходимо расширить группы обследуемого здорового населения (до 3–4), к которым, помимо регламентированных методическими документами, могут быть отнесены иные группы, чья профессиональная деятельность связана с посещением природных биотопов и работой на открытом воздухе (сельскохозяйственные рабочие, лесорубы, строители и др.). Сероэпидемиологические исследования в районах, где данные об иммунной прослойке у населения к ВЗН отсутствуют, рекомендовано проводить их ежегодно до получения положительных результатов. В отношении административных территорий с установленной серопревалентностью кратность обследования населения может составлять не реже 1 раза в 5 лет.

Необходимость повышения качества выявления случаев ЛЗН в субъектах ЮФО обусловлена снижением в многолетнем аспекте регистрируемой заболеваемости ($y = -0{,}6673x + 108{,}05$) при наличии условий, способствующих интенсивной циркуляции ВЗН, а также объективных данных изучения иммунной прослойки к ВЗН, подтверждающих скрыто протекающий эпидемический процесс.

Представляется целесообразным для своевременного и полного выявления больных ЛЗН в субъектах ЮФО провести следующие мероприятия:

1) усилить мониторинг за заболеваемостью населения лихорадочными заболеваниями неустановленной этиологии, и, прежде всего, тяжелыми менингитами и менингоэнцефалитами, проявлениями нейроинфекции, в т.ч. у детей, как за болезнями, клинически сходными с ЛЗН;
2) повысить качество подготовки медицинских специалистов. Особое внимание следует уделить специалистам общей медицинской сети (терапевт, педиатр), поскольку именно к этой группе специалистов в первую очередь обращаются больные ЛЗН;
3) обеспечить лаборатории медицинских организаций и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в субъекте Российской Федерации» достаточным количеством средств диагностики ЛЗН (выявление РНК ВЗН, антител классов IgM и IgG, авид-

ность; антител классов IgM и IgG к вирусу клещевого энцефалита с целью проведения дифференцирующих диагностических исследований);

4) обеспечить готовность инфекционных стационаров к массовому поступлению больных, нуждающихся в интенсивной терапии и проведении реанимационных мероприятий;
5) усилить контроль Управлений Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации за противоэпидемической готовностью медицинских организаций и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в субъекте Российской Федерации» к оперативному выявлению и диагностике (оснащение диагностическими тест-системами) больных ЛЗН, а также обследованием на наличие маркеров ВЗН больных, находящихся на амбулаторном и стационарном лечении по поводу менингитов, менингоэнцефалитов, лихорадок неустановленной этиологии и с другими симптомами, не исключающими данное заболевание (в соответствии с требованиями п. 1808 Раздела XXIII. Профилактика ЛЗН СанПиН 3.3686-21).

С целью повышения предэпидемической диагностики, выявления предпосылок и предвестников возможного эпидемиологического неблагополучия необходимо повысить качество эпизоотологического мониторинга, проанализировать причины отсутствия положительных результатов исследований при высоких объемах зоолого-энтомологического материала (Краснодарский край) и увеличить количество исследуемых проб при низких объемах (Республики Адыгея, Калмыкия, Крым и г. Севастополь). В качестве минимальных объемов исследуемого материала рекомендовано считать следующие:кровососущих комаров – не менее 500 проб, птиц – не менее 100 проб, мелких млекопитающих – 100 особей; клещей – не менее 100 проб; крупных млекопитающих – не менее 100 животных (образцы сыворотки крови на наличие IgG к ВЗН).

Учитывая необходимость раннего выявления признаков активизации эпизоотического процесса, основные объемы исследуемых носителей (птиц) и переносчиков (комаров) должны приходиться на весенний и ранний летний периоды (апрель-июнь). Качественный эпизоотологический мониторинг может

быть обеспечен использованием точек стационарного наблюдения, характеризующихся эпидемиологическим риском и/или интенсивностью эпизоотического процесса.

Заключение

Предложенный комплекс мер позволит получить объективные данные об активности очагов ЛЗН на территории ЮФО, минимизировать существующие риски возникновения эпидемического уровня заболеваемости населения и осуществлять их эффективное предупреждение.

Список литературы

1. *Куклев Е.В., Ковалевская А.А., Агапов Б.Л., Щербакова С.А.* Оценка потенциальной эпидемической опасности сочетанных природных очагов бактериальных, вирусных и риккетсиозных инфекций // Анализ риска здоровью. — 2019. — № 1. — С. 78–83. — DOI: 10.21668/health.risk/2019.1.08

Малецкая О.В., Прислегина Д.А., Таран Т.В., Платонов А.Е., Дубянский В.М., Волынкина А.С., Василенко Н.Ф., Цапко Н.В. Природно-очаговые вирусные лихорадки на юге европейской части России. Лихорадка Западного Нила. Проблемы особо опасных инфекций. — 2020. — № 1. — С. 109–114. — https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-1-109-114

Маслянинова А.Е., Аракелянц О.А., Курбангалиева А.Р., Касаткин Д.Н., Аракельян Р.С., Асланова Р.З., Гасанова А.С., Кадырова Э.Х., Сапуанова Н.А., Сапуанов А.А. Трансмиссивные заболевания Астраханской области, передающиеся комарами. Анализ заболеваемости за 2005–2022 гг. // Международный научно-исследовательский журнал. — 2023. — № 4. — С. 1–7.

2. *Никитин Д.Н., Удовиченко С.К., Жуков К.В., Путинцева Е.В., Викторов Д.В., Топорков А.В.* Разработка подхода к комплексному эпидемиологическому районированию эндемичной по лихорадке Западного Нила территории (на примере Волгоградской области) // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2022. — № 21(1). — С. 47–55.

О КУЛЬТУРАХ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ КАЛМЫКИЯ С 2019 ПО 2023 Г.

Хазыкова К.Л.[1], Конушева С.В.[2], Озаева С.А.[1], Бембеева Е.С.[2], Тюнникова В.Д.[1], Цебекова М.Г.[2], Кулик В.В.[1], Бембинов А.Ю.[1], Бебикова А.А.[1]

[1] ФКУЗ «Элистинская противочумная станция» Роспотребнадзора, г. Элиста, Россия
[2] ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Калмыкия», г. Элиста, Россия

Эпидемиологический надзор за холерой в Республике Калмыкия включает в себя ежегодный микробиологический мониторинг водных объектов окружающей среды с целью выявления холерных вибрионов и определения их эпидемической опасности. За последние 5 лет в РФ не было зарегистрировано обнаружения в объектах окружающей среды токсигенных штаммов и связанных с ними эпидосложнений. Между тем результаты ежегодных мониторинговых исследований свидетельствуют о постоянном выделении из воды поверхностных водоемов значительного числа штаммов нетоксигенных холерных вибрионов прежде всего на территориях, которые по эпидемическим проявлениям относятся к территориям II типа, т.е. к территориям с повышенной степенью опасности к возникновению вспышек на них с возможностью водного распространения инфекции. Постоянный контроль водных объектов окружающей среды в Республике Калмыкия, осуществляется лабораториями ООБИ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Калмыкия» (далее ФБУЗ «ЦГиЭ в РК»), его филиалами в районах и баклабораторией ФКУЗ «Элистинская противочумная станция» Роспотребнадзора (далее ФКУЗ «Элистинская ПЧС»). Территория Республики Калмыкия относится к территориям II типа. Ежегодно, за некоторым исключением, из открытых водоемов

обнаруживается значительное количество нетоксигенных штаммов.

Исследование проб воды в фиксированных «точках» проводится с 01 июня по 30 сентября 1 раз в 7 дней (исключение составляет 2023 год, когда обследование было продлено еще на месяц). Исследование материала от населения, госпитализированного в БУ РК «Республиканский центр специализированных видов медицинской помощи» осуществляется баклабораторией этого стационара. Больные, находящиеся на поликлиническом лечении, обследуются на холеру в лаборатории ООБИ.

С 2019 по 2023 год из воды поверхностных водоемов было изолировано 44 штамма холерного вибриона О1 серогруппы: 28 штаммов изолировано лабораторией ООБИ ФБУЗ «ЦГиЭ в РК» и 16 штаммов баклабораторией ФКУЗ «Элистинская ПЧС».

Культуры холерных вибрионов, которые были выделены за последние 5 лет из стационарных точек, расположены на двух водоемах в черте города (р. Элистинка и пруд Колонский) и трех водоемах, расположенных в окрестностях города (пруд Заячий, пруд с. Вознесеновка, пруд Сайгачонок). Основная масса точек в эпидемиологическом отношении относится к водоемам неорганизованного водопользования и одна точка — место впадения сточных вод в р. Элистинку. Наибольшее количество культур изолировано из пруда Заячий (18), который расположен на юго-востоке от г. Элисты и представляет собой перегороженную плотиной часть речки Элистинки, в которую впадают сточные воды частного сектора. Второе место по количеству выделенных штаммов занимает пруд Колонский (15), расположенный в северной части города Элисты, когда-то для жителей Элиста в этом пруду был организован пляж, но пруд стал более мелким и утратил свое значение, как место организованного водопользования. Третье место занимает р. Элистинка, которая пересекает г. Элисту с запада на восток (с точек, расположенных на ее протяжении изолировано в общей сложности 7 культур). Три культуры изолированы из пруда с. Вознесеновка Целинного района и одна культура — из воды гидроаккумулятора с. Березовское Яшалтинского района.

Выделенные культуры представляли собой подвижные полиморфные палочки, прямые и изогнутые, не окрашивающиеся по Граму. При выращивании на жидких и плотных питательных средах имели типичную морфологию. Биохимическая активность соответствовала виду холерного вибриона: ферментировали до кислоты без газа сахарозу, маннозу, маннит и глюкозу. Ферментация глюкозы происходила как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Все выделенные штаммы не расщепляли арабинозу, инозит, лактозу. Обладали протеолитической активностью, имели декарбоксилазу лизина и орнитина и не имели дигидролазы аргинина.

Все выделенные штаммы агглютинировались холерной диагностической сывороткой О1, относились преимущественно к серовару Огава, что составляет 77%, 20% составляют культуры серовара Инаба и один штамм был отнесен к RO-варианту. Чувствительность к диагностическим холерным монофагам была проявлена следующим образом: 45% выделенных культур были не чувствительны к обоим бактериофагам, до титра фагом «С» лизировались три культуры, а фагом El Tor семь культур, остальные 14 штаммов проявляли чувствительность в различных разведениях, не доходящих до указанного титра.

Была изучена чувствительность выделенных культур холерных вибрионов к восьми различным антибиотикам:

- тетрациклинового ряда (доксициклин, тетрациклин) — чувствительность составила 86–88%;
- бета-лактамного ряда (ампициллин) — чувствительность 72%;
- фторхинолового ряда (ципрофлоксацин, пефлоксацин, офлоксацин) — 100% чувствительность;
- аминогликозидам (гентамицин) — 95%;
- ансамицинам (рифампицин) — 97%;
- ацетамидам (левомицетин) — 100%.

Отмечено, что с каждым годом происходит нарастание антибиотикорезистентных изолятов.

Наличие гемолитической активности определяли в пробе Грейга. Все штаммы продуцировали гемолизин.

Одна из основных задач, стоящих перед бактериологами при выделении *Vibrio cholerae* О1, состоит в выяснении их эпидемической опасности. Поскольку ключевыми маркерами эпидемически опасных штаммов являются гены *ctx*A и *tcp*A, соответствен-

но кодирующие А-субединицу холерного токсина и определяющие биосинтез основной субединицы токсинкоррегирующих пилей у возбудителей холеры, то именно фрагменты этих генов тестировали в геноме выделенных штаммов методом ПЦР. В результате у выделенных штаммов фрагменты гена *ctx*А не выявили ни в одном случае, а ген *tcp*А был выявлен в одном случае. Это означает, что все штаммы, циркулирующие в открытых водоемах Республики Калмыкия, были определены как авирулентные.

Проведенный эпидемиологический мониторинг за вибриофлорой открытых водоемов Республики Калмыкия показал, что основную роль в циркуляции и распространении холерных вибрионов на территории играет водный фактор. По всей вероятности, значение имеют следующие факторы: водоемы неглубокие и пресноводные, загрязнены сточными водами, имеют pH от 7,9 до 8,2, в летние месяцы часто имеют место аномально высокие показатели температуры воздуха (до +42 °С в тени) и воды (до +30 °С). Все это способствует длительному выделению вибрионов биовара эльтор из воды открытых водоемов.

Проведенный анализ за вибриофлорой открытых водоемов Республики Калмыкия показал, что циркуляция авирулентных штаммов холерных вибрионов подтверждает наличие в воде открытых водоемов условий, оптимальных для поддержания жизнеспособности и размножения вирулентных штаммов при возможном их завозе с неблагополучных по холере территорий.

Таблица 1

Данные о выделении культур *V. cholerae* O1 с 2019 по 2023 г.

Годы	Кол-во исследованных проб — 925		Кол-во выделенных культур — 44		ФБУЗ выдел. на 100 проб	Огава/Инаба ФБУЗ	Огава/Инаба ЭПЧС	Чувствительность к б/ф	
	ФБУЗ «ЦГиЭ»	ФКУЗ «ЭПЧС»	ФБУЗ «ЦГиЭ»	ФКУЗ «ЭПЧС»				б/ф «С»	б/ф El Tor
2019	51	144	20	0	39	19/0	–	–	
2020	51	–	0	0	–	–	–	–	
2021	13	192	3	11	23	0/3	5/6	–	1
2022	51	165	2	1	4	2/0	1/0	–	1
2023	63	195	3	4	5	0/3	4/0	–	–
Всего	229	696	28	16		21/6	10/6	–	

Список литературы

1. МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры», 2022. — 79 с.
2. МУК 4.2.3746-22 «Организация и проведение лабораторной диагностики холеры в лабораториях различного уровня», 2022. — 38 с.
3. *Дрожевкина М.С., Милютин В.Н., Арутюнов Ю.И., Воронежская Л.Г., Гриценко А.Н.* Микробиология и лабораторная диагностика холеры: Краткое руководство. — Ростов-на-Дону: Изд-во Рост. гос. НИПЧИ, 1975. — 136 с.
4. Материалы научно-практической конференции, посвященной 90-летию государственной санитарно-эпидемиологической службы Российской Федерации. Юбилейное издание, ЗАОр «НПП "Джангар"». — 2012. — С. 98–103.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ КРЫМСКОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ В ЕВРАЗИИ

Цай А.В., Пичурина Н.Л.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону

Введение

Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ) — типичная природно-очаговая инфекция, очаги которой существуют благодаря функционированию трехкомпонентной (этиологический агент — переносчик, некоторые виды иксодовых клещей — млекопитающие) паразитарной системы, существующей в определенных климатических и ландшафтно-географических зонах. Условная северная граница нозоареала соответствует, приблизительно 50° северной широты, что практически совпадает с ареалом распространения иксодовых клещей рода *Hyalomma*.

На сегодняшний день доступные источники о распространении КГЛ в мире (кроме информации, поступающей из Российской Федерации и некоторых стран постсоветского простран-

ства) содержат сведения о регистрации и числе больных без учета характера активности природного очага. Как известно, границы природных очагов трансмиссивных инфекций проходят не по государственным рубежам, а по ареалу обитания основных носителей и переносчиков этиологического агента. Следовательно, для полноценной оценки уровня заболеваемости необходимо собрать данные эпидемиологического мониторинга КГЛ в странах, находящихся в границах ареала распространения иксодовых клещей рода *Hyalomma*.

Цель

Объективная оценка современного уровня заболеваемости в Евразии и косвенная оценка эпизоотической активности природного очага.

Материалы и методы

В исследовании использованы данные за период с 2012 по 2023 год из государственных докладов «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации», ежегодных эпидемиологических отчетов Европейского центра профилактики и контроля заболеваний (European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) Annual Epidemiological Reports), еженедельных бюллетеней о вспышках инфекционных заболеваний и других чрезвычайных ситуациях (WEEKLY BULLETIN ON OUTBREAKS AND OTHER EMERGENCIES) Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), а также отечественных и иностранных источников литературы.

Результаты и обсуждение

Число заболевших КГЛ в Евразии за период с 1944 года, от начала официальной регистрации на Крымском полуострове по 2012 год, составило более 7592 случаев [1]. В настоящее время, по данным различных источников, число зарегистрированных больных КГЛ превысило отметку в 20 000.

Наиболее высокий уровень заболеваемости регистрируют в Турции, на юге европейской части Российской Федерации, Болгарии, Афганистане и Ираке. Информация о числе больных КГЛ представлена в табл. 1.

Таблица 1

Число зарегистрированных случаев КГЛ в Евразии

Территория	Годы	Число больных	Всего за период
Европейская часть			
Российская Федерация	1948–2012	2180	3085
	2013–2022	905	
Болгария	1953–1974	1105	1643
	1975–1996	279	
	1997–2005	170	
	2006–2014	70	
	2015–2020	19	
Албания	2001	8	41
	2010	33	
Косово	1968–2005	264	351
	2010–2012	11	
	2013	26	
	2014	50	
Турция	2002–2011	6396	10 210
	2012–2016	3814	
Греция	2008	1	2
	2018	1	
Крымский полуостров	1944–1983	208	208
Луганская область, Украинская ССР	1969	3	3
Грузия	2009	1	14
	2014	13	
Испания	2016	2	7
	2018	1	
	2020	3	
	2021	1	
Азиатская часть			
Китай	1965–1997	286	286
Территория современной Республики Казахстан	1948–2010	260	292
	2014	24	
	2016	8	
Таджикская ССР	1943–1983	144	144

Окончание табл. 1

Территория	Годы	Число больных	Всего за период
Пакистан	1976–2002	29	461
	2012	38	
	2013	19	
	2014	50	
	2015	48	
	2016	240	
	2023	37	
Киргизская ССР	1953–1971	3	3
Узбекская ССР	1948–1983	553	553
Армянская ССР	1974	1	1
Афганистан	1998–2008	79	1269
	2013	4	
	2016	71	
	2023	1115	
Кувейт	1979–1982	17	17
Туркменская ССР	1946–1971	10	10
ОАЭ	1979	6	46
	1994–1995	35	
	1998–2013	5	
Ирак	1979–2010	94	1019
	2022	380	
	2023	545	
Иран	2003	81	81
Саудовская Аравия	1989–1990	40	40
Оман	1995–2011	5	58
	2012	1	
	2013	10	
	2014	18	
	2015	16	
	2016	8	
Индия	2012	18	39
	2013	10	
	2014	2	
	2015	4	
	2016	5	

Рассматривая эпидемиологическую ситуацию в странах Европы, особое внимание следует уделить Испании. Первые два случая КГЛ были зарегистрированы в 2016 г. [2], но предпосылки возможного развития эпидемиологических осложнений отмечены еще в 2010 г., когда в клещах *Hyalomma lusitanicum*, собранных в западной Испании, был обнаружен вирус ККГЛ [3]. С момента первой официальной регистрации болезни по 2023 г. Испания ежегодно сообщает о случаях КГЛ, в том числе с летальным исходом.

Возможно, испанский сценарий развития эпидемиологической ситуации реализуется во Франции. В 2023 г. исследователи Французского центра сельскохозяйственных исследований международного развития (CIRAD) в ходе мониторинговых исследований обнаружили вирус ККГЛ у клещей *Hyalomma marginatum*, собранных в Восточных Пиренеях (Окситания). Однако случаев заболевания людей в стране не выявлено [4].

Основная доля зарегистрированных случаев болезни в Азии приходится на территорию Ближневосточных стран (Афганистан, Иран, Ирак, Пакистан). Столь высокий уровень заболеваемости, вероятнее всего, является лишь верхушкой айсберга ввиду недостаточного уровня развития и доступности медицинской помощи населению, а также лабораторной диагнотики возбудителей инфекции. Вспышки КГЛ в странах и регионах, исповедующих ислам, нередко совпадают со временем празднования Ураза-байрам и Курбан-байрам, и вероятно, связаны с большими объемами ритуального забоя скота.

Заключение

Следует подчеркнуть, что проблема КГЛ остается одной из наиболее значимых среди природно-очаговых арбовирусных инфекций, как в Российской Федерации, так и в ряде зарубежных стран. Границы нозоареала КГЛ расширяются и охватывают территории, ранее считавшиеся не эндемичными. С 2016 г. ярким примером такой экспансии служат ежегодные случаи регистрации болезни в Испании.

Эффективной мерой борьбы с данной инфекцией является система эпидемиологического надзора, которой, к сожалению,

нет в большинстве европейских и ближневосточных стран, а также ранняя клиническая диагностика и лабораторное подтверждение случаев заболевания, необходимых для того, чтобы начать лечение и принять защитные меры.

Список литературы

1. *Бутенко А.М., Трусова И.Н.* Заболеваемость Крымской геморрагической лихорадкой в странах Европы, Африки и Азии (1943–2012) // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2013. — № 5. — С. 46–48.
2. European Centre for Disease Prevention and Control. Crimean-Congo haemorrhagic fever. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2017. Stockholm: ECDC; 2019.
3. *Estrada-Peña A, Palomar AM, Santibáñez P, Sánchez N, Habela MA, Portillo A,* et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in ticks, Southwestern Europe, 2010. Emerg Infect Dis. 2012; 18(1): 179–180. DOI: 10.3201/eid1801.111040
4. ProMED-mail post. Subject: PRO/AH/EDR> Crimean-Congo hem. fever — Europe (05): France. Published Date: 2023-11-01. Archive Number: 20231101.8712933.

ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ НОВЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ ГОСПИТАЛЕЙ В СХЕМЕ ПЕРЕПРОФИЛИРОВАНИЯ ГОСПИТАЛЬНОЙ БАЗЫ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

Шакирова Е.С.[1], Казак А.А.[1], Султанова Э.В.[1], Сальникова Д.В.[1], Мухаметзянов А.М.[2]

[1]Управление Роспотребнадзора по Республике Башкортостан, г. Уфа, Россия

[2]ГБУЗ Республиканская клиническая инфекционная больница, г. Уфа, Россия

Введение

Согласно Международным медико-санитарным правилам (2005), предупреждение и ликвидация чрезвычайных ситуаций в области общественного здравоохранения, обусловленных проявлениями особо опасных инфекционных болезней, являются

важным направлением обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Республика Башкортостан входит в Приволжский федеральный округ, является частью Уральского экономического района. Граничит с Пермским краем, Свердловской, Челябинской, Оренбургской областями, Республикой Татарстан и Удмуртской Республикой. Территория республики разделена на 62 административные территории (8 городских округов и 54 муниципальных района). Население республики составляет 4 077 600 человек, в том числе, 760 263 до 14 лет. Плотность населения — 27,99 чел./км^2, городское население составляет 63%, из них 30% населения проживает в г. Уфе и Уфимском районе. Наименее плотно населенными являются районы Зауралья до 3–4 чел./км^2, наибольшая плотность сельского населения отмечается в центральном и западном регионах республики (27–37 чел./км^2).

В международном аэропорту столицы региона, городе Уфа, расположен пункт пропуска «Международный аэропорт «Уфа» через государственную границу Российской Федерации. В 2023 г. в пункт пропуска «Уфа» из-за границы прибыло 2511 рейсов, досмотрено 16 008 членов экипажа и 363 311 пассажиров.

С учетом сохранения рисков завоза, возникновения и распространения особо опасных инфекционных болезней на территорию республики комплексным планом организационных, санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий по санитарной охране территории республики предусмотрена схема развертывания госпитальной базы на единичные и групповые случаи инфекционных болезней.

С 2020 г. по 2022 г., в период распространения COVID-19, построены и введены в эксплуатацию четыре новых инфекционных госпиталя в городах Уфа, Стерлитамак, Сибай и Туймазы с общим числом коек — 1160.

По результатам эпидемиологического анализа инфекционной заболеваемости в районах, находящихся на территории обслуживания запланированных инфекционных госпиталей, отмечена наиболее высокая заболеваемость.

Цель

Анализ организации работы инфекционных госпиталей при реализации оперативного плана развертывания госпитальных

баз специального назначения в случае выявления больного (с подозрением) инфекционной болезнью, вызывающей чрезвычайную ситуацию в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Материалы и методы

Объектом исследования послужили инфекционные госпитали на базе быстровозводимых зданий блочно-модульного типа:

1) Клинико-диагностический инфекционный центр (далее КДИЦ) (Уфимский район, село Зубово);
2) КДИЦ в г. Стерлитамак;
3) КДИЦ в г. Туймазы;
4) КДИЦ в г. Сибай.

При разработке объемно-планировочных решений и инженерно-технических систем обеспечения учитывались основные условия и принципы биологической безопасности. Расчет потребности в койках провизорного госпиталя определен в зависимости от уровня заболеваемости острыми кишечными инфекциями (ОКИ) на прикрепленных к обслуживанию территорий. Медицинское обеспечение в республике организовано в зависимости от географического расположения и доступности оказания медицинской помощи по медицинским округам: Дуванский, Нефтекамский, Белорецкий, Сибайский, Стерлитамакский, Кумертауский, Октябрьский, Центральный и медицинский округ г. Уфа.

Результаты и обсуждение

За период 2017–2023 гг. в Республике Башкортостан показатель заболеваемости ОКИ снизился в 2023 г. — $307{,}5^0/_{0000}$ по сравнению с 2017 г. — $431{,}5^0/_{0000}$.

Два заносных случая холеры из Индии зарегистрированы в республике в 2008 г.

В соответствии с расчетами в республике предусмотрена госпитальная база для лечения больных холерой и/или вибрионосителей — до 1000 человек и 340 койко-мест в провизорных госпиталях для лечения лиц с признаками ОКИ. В соответствии с МУ 3.1.1.2232-07 разработана и внедрена в работу схема раз-

вертывания госпитальных баз на территории Республики Башкортостан при единичных и массовых случаях заболевания (подозрения) инфекционными болезнями, вызывающими чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Инфекционная служба республики представлена ГБУЗ Республиканская клиническая инфекционная больница с 3 филиалами в городах Стерлитамак, Уфа и п. Зубово Уфимского района, 57 инфекционными отделениями в составе центральных городских и районных больниц, 95 кабинетами инфекционных болезней. Из опорных шести баз для холерных госпиталей четыре (800 койко-мест) предусмотрены на новые инфекционные госпитали модульного типа (рис. 1).

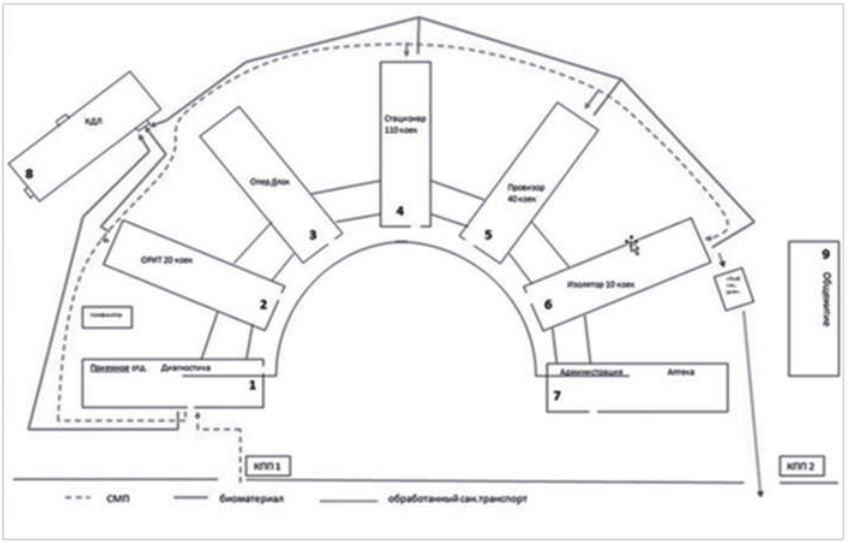


Рис. 1. Схема перепрофилирования инфекционного госпиталя в городе Стерлитамак

Объект конструктивно представляет собой одноэтажные корпуса, возводимые по технологии легких стальных тонкостенных конструкций, собранные в цветок курая (5–7 лучей). При единичных случаях заболеваний на базе этих же госпиталей возможно развертывание провизорных отделений.

Мощность объектов — от 50 до 100 боксированных палат площадью по 20,6 м^2. При каждой боксированной палате имеются шлюз, санузел и тамбур с выходом наружу.

В госпиталях функционируют отделения: инфекционные, реанимации и интенсивной терапии, диагностические, в состав которых входят кабинеты: рентгенодиагностический (КТ), ультразвуковой диагностики, функциональной диагностики, эндоскопии. Отдельным блоком размещены ЦСО, клинико-диагностическая лаборатория (КДЛ), дезинфекционное отделение, прачечная, аптека, общежитие, площадка для дезинфекции автотранспорта, локальные очистные сооружения. В госпитале города Стерлитамаке имеется бактериологическая лаборатория. Бактериологические исследования проб от больных, находящихся в остальных трех госпиталях, проводятся в приписанных к ним бактериологических лабораториях.

Структура и планировка помещений обеспечивает поточность технологических процессов и исключает возможность нарушения биологической безопасности. Обеспечено зонирование помещений госпиталя на «чистую» и «грязную» зоны. Внутренний коридор используется только персоналом. Посты для медсестер укомплектованы системами центрального наблюдения за пациентами.

Все отделения учреждения, в том числе боксированные палаты, оборудованы автономными системами вентиляции с преобладанием вытяжки воздуха над притоком и установкой на вытяжке фильтров тонкой очистки.

Сточные воды объекта поступают на станцию обеззараживания сточных вод (СТОС), в камеру распределения, и делятся на два усреднителя по 25 м^3. СТОС предназначены для нагревания сточных вод до температуры 135 °С — деконтаминации содержащейся в ней патогенной микрофлоры и выдержки нагретых сточных вод под давлением. СТОС состоит из модуля деконтаминации (обеззараживания), СИП мойки, модуля охлаждения в комплекте с теплообменником, блоком управления, приборов контроля и пускорегулирующей аппаратуры.

Все госпитали размещены в загородной зоне, имеют систему ограждения и посты охраны. Неконтролируемое передвижение

больных и работников исключено, что минимизирует риски заражения и распространения инфекций. Предусмотрено введение в эксплуатацию общежитий для работы персонала вахтовым методом, практикуемое в период пандемии COVID-19.

Заключение

Строительство 4 новых инфекционных госпиталей в республике на базе быстровозводимых конструкций, их оснащение современным медицинским оборудованием, укомплектование высококвалифицированным медицинским персоналом, создание коечного резерва позволило обеспечить потребность в инфекционных койках на единичные и массовые случаи инфекционных болезней, в том числе при регистрации инфекций, требующих проведение мероприятий по санитарной охране территории. Схемы передвижения пациентов с инфекционной патологией для госпитализации организована с учетом оптимальных схем. Госпиталь в г. Уфа находится в непосредственной близости к международному аэропорту «Уфа», что сокращает время госпитализации больных с подозрением на Болезнь при проведении санитарно-карантинного контроля. Инфекционные госпитали работают в автономном режиме, для осуществления деятельности имеется полный набор вспомогательных помещений, в том числе КДЛ и бактериологические лаборатории. За период эксплуатации госпиталей диктуется необходимость установления операционного блока для специализированной помощи инфекционным больным с хирургической патологией, а также функционирование бактериологической лаборатории в составе структурных подразделений госпиталей, расположенных в городах Уфа, Туймазы и Сибай.

Таким образом, в республике созданы условия для перепрофилирования инфекционных госпиталей, провизорных госпиталей и изоляторов с учетом медицинских организаций, входящих в структуру инфекционной службы республики, соответствуют п. 399 СанПиН 3.3686-21.

Список литературы

1. *Безсмертный В.Е., Бредихин В.Н., Конева А.С., Панин Ю.А., Поздняков И.В., Ицков Я.Ю., Коломоец Е.В., Левковский А.Е.* Опыт создания стационарного

инфекционного госпиталя для лечения особо опасных инфекционных болезней в Гвинейской Республике // Проблемы особо опасных инфекций. — 2015. — № 3. — С. 13–15.
2. *Гребенюк А.Н., Шибалов П.В., Грицай Л.Г., Окуджава В.Г.* Организация работы инфекционного госпиталя для лечения новой коронавирусной инфекции (COVID-19) на площадке крупного строительства // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. — 2022. — № 2. — С. 24–34. DOI: 10.25016/2541-7487-2022-0-2-24-36
3. *Филатов В.С., Лутфуллин И.Я., Сафина А.И., Потапова М.В., Шарипова О.В., Даминова М.А., Закиров И.И., Волянюк Е.В., Кульмина Е.А., Гимадутдинова Г.Ф., Аглиуллина А.М.* Опыт организации детского ковидного и провизорного госпиталя на базе детской городской больницы № 1 города Казани // Медицинский совет. — 2022. — № 16. — С. 153–161. — DOI: https://doi.org/10.21518/2079-701X-2022-16-19-153-161
4. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» [Электронный ресурс]. — URL: https://internet.garant.ru/#/document/400342149/paragraph/1:3
5. МУ 3.1.1.2232-07 «Профилактика холеры. Организационные мероприятия. Оценка противоэпидемической готовности медицинских учреждений к проведению мероприятий на случай возникновения очага холеры» [Электронный ресурс]. — URL: https://internet.garant.ru/#/document/4186629/paragraph/2:2

ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ФКУЗ «ПРОТИВОЧУМНЫЙ ЦЕНТР» РОСПОТРЕБНАДЗОРА В РАМКАХ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ ПО ХОЛЕРЕ

Шиянова А.Е., Тельнова Н.В., Иванова С.М., Лопатин А.А.

ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора, г. Москва, Россия

Основные исторические вехи в работе ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора (далее — Противочумный центр) по профилактике особо опасных инфекций (далее — ООИ) раскрыты в монографии, посвященной 125-летию системы противочумных учреждений [1], где показана деятельность учрежде-

ния, в том числе по профилактике холеры, до 2021 г. Особое место в истории учреждения занимают такие периоды, как функционирование прививочного пункта (1964 г.), где проводилась вакцинация против холеры выезжающих за рубеж советских граждан, работа в очагах холеры, консультативная и практическая помощь в диагностике холеры и проведении противоэпидемических мероприятий:

- в 70-е годы — в очагах холеры в г. Элисте, г. Брянске, в Республике Дагестан, командировки в Болгарию, Бангладеш, Кению;
- в 90-е — 2000-е годы — работа в очагах холеры в Таджикистане (1993 г.), в Республике Дагестан (1994 г.), в Приморском крае и Сахалинской области (1999 г.), в г. Челябинске (2000 г.), в Республике Татарстан (2001 г.);
- в 2023 г. — при осложнении эпидемической ситуации по холере в г. Москве специалисты Противочумного центра на базе лабораторий ФБУЗ «ЦГиЭ» осуществляли круглосуточное лабораторное обеспечение противоэпидемических мероприятий.

Целью данной публикации является обобщение и систематизация работы специалистов-эпидемиологов Противочумного центра в 2022–2023 гг. в рамках эпидемиологического надзора за холерой и мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации от завоза и распространения холеры.

Материалы и методы: проведен анализ материалов внутриучрежденческого электронного архива по проведенным в 2022–2023 гг. оценкам противоэпидемической готовности в субъектах, годовых отчетов эпидемиологического отдела, писем и поручений Роспотребнадзора, нормативных документов 2021–2024 гг.

Результаты и обсуждение

Особенностью рассматриваемого периода в условиях сложившейся геополитической ситуации можно назвать два момента: динамичность принятия Роспотребнадзором решений, касающихся вопросов профилактики холеры, реализующаяся в оперативный выход соответствующих приказов и поручений, и такое же оперативное их исполнение специалистами Роспо-

требнадзора на всей территории Российской Федерации. А также повышение настороженности в отношении возможности возникновения массовой заболеваемости холерой.

Точкой отсчета в деятельности Противочумного центра в рамках профилактики холеры в рассматриваемый период стало Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 26.04.2022 № 14 «О дополнительных мерах по профилактике холеры в Российской Федерации». В рамках реализации поставленных задач по поручению Роспотребнадзора специалисты учреждения предприняли «авангардные» поездки с целью оценки готовности на случай выявления больных холерой в четырех приграничных субъектах РФ в период с 29 апреля по 5 мая 2022 г. При организации поездок был разработан чек-лист, ставший впоследствии прообразом типового чек-листа, разработанного совместно противочумными институтами и Противочумный центром и применявшемся при анализе противоэпидемической готовности всех субъектов страны. Поскольку организация и проведение данной выездной оценки проводились в условиях максимальной оперативности, для координации, учета и решения возникающих вопросов был создан чат в сервисе обмена мгновенными сообщениями «Telegram», общий для всех выезжающих специалистов ПЧЦ. В дальнейшем он также способствовал оперативному обмену опытом между выезжающими группами.

Одновременно в апреле 2022 г. Роспотребнадзором при содействии специалистов ПЧЦ был сформирован отчет в системе «report.gsen.ru» для оперативного однократного сбора информациио готовности к проведению противоэпидемических мероприятий в случае выявления больных с подозрением на ООИ. Анализ материалов в разрезе субъектов Российской Федерации был возложен на Противочумный центр, с предоставлением выводов по результатам анализа в адрес Роспотребнадзора.

Результаты поездок подтвердили необходимость проведения выездных оценок готовности госпитальной и лабораторной базы к проведению противоэпидемических мероприятий на случай выявления больных ООИ (единичных случаев, групповой заболеваемости и вспышечной заболеваемости), которые

были проведены с участием специалистов противочумных учреждений, в том числе Противочумного центра, совместно с организациями Роспотребнадзора в мае–июле 2022 г. во всех субъектах РФ, а в 2023 г. — в приграничных субъектах РФ в исполнение приказов Руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 16.05.2022 № 263 и от 22.03.2023 № 126 соответственно. Специалисты Противочумного центра участвовали в организации и проведении выездной оценки противоэпидемической готовности 13 субъектов РФ в 2022 г. и 8 субъектов РФ в 2023 г.

В ходе организации и проведения оценки готовности оказывалась консультативно-методическая помощь специалистам территориальных органов Роспотребнадзора и медицинских организаций, спецификой которой в этот период были вопросы, связанные с организацией и проведением противоэпидемических мероприятий при выявлении массовых случаев заболевания холерой. Необходимо отметить, что полученный в условиях пандемии коронавирусной инфекции Covid-19 опыт работы значительно усилил готовность медицинских организаций на случай выявления больных ООИ и предопределил оперативность при ориентировании планирования госпитальных баз на случай массовой заболеваемости. В ряде субъектов фактическая готовность не успела найти отражение в утвержденных комплексных планах, предусматривающих развертывание инфекционных и провизорных госпиталей.

Основные рекомендации, сделанные эпидемиологами Противочумного центра по итогам выездной оценки готовности, касались вопросов:

- корректировки комплексных планов противохолерных мероприятий с пересмотром количества учреждений госпитальной базы и дополнительного коечного фонда в них с учетом различных моделей развития эпидемической ситуации — от единичных случаев до массового поступления заболевших, с определением потребности и источников резерва медицинских кадров, планированием учреждений под обсерваторы;
- необходимости дополнительного обучения специалистов с акцентом на практическую подготовку путем проведения

тренировочных учений с вводом условного больного и отработкой вопросов доставки проб в лабораторию.

Работа по оказанию консультативно-методической помощи учреждениям Роспотребнадзора и здравоохранения в курируемых субъектах продолжается и вне выездов, затрагивая вопросы обеспечения противоэпидемической готовности госпитальной базы, международных пунктов пропуска. А также в связи с внесением изменений в нормативно-методические документы, например, по вопросам мониторинговых исследований проб воды поверхностных водоемов в связи с изменениями, внесенными письмом Роспотребнадзора № 02/2850-2023-27 от 22.02.2023, по корректировке коечного фонда госпитальной базы в связи с изменениями в МУ 3.1.1.2232-07 (в 2022 г. откорректировано 17 планов, в 2023 г. — 54 плана). Систематически рассматриваются, с внесением корректив, программы и легенды тренировочных учений с вводом условного больного, которые проводятся в курируемых субъектах Центрального федерального округа.

С 13 мая 2022 г. в целях контроля за реализацией постановления Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 26.04.2022 № 14 Роспотребнадзором в еженедельном режиме в эпидсезон (май-октябрь) начат мониторинг противохолерных мероприятий на территории страны. Платформой для сбора данных стала система отчетов «report.gsen.ru», интегрированная на корпоративный портал формирования и приема отчетности Роспотребнадзора. В соответствии с поручениями Роспотребнадзора от 09.05.2022 № 02/9773-2022-27 и от 22.05.2023 № 02/8205-2023-27 специалистами Противочумного центра еженедельно в 2022–2023 гг. осуществлялась подготовка и предоставление в Роспотребнадзор аналитической информации о ходе выполнения противохолерных мероприятий и противоэпидемической готовности по холере в разрезе всех субъектов Российской Федерации, по отдельным субъектам РФ, а также подготовка итоговой информации об организации эпидемиологического надзора за холерой. В 2024 г. данная работа начата в более ранние сроки, с 20 марта, в соответствии с поручением Роспотребнадзора от 11.03.2022 № 02/4040-2024-27.

Одной из приоритетных задач нашего учреждения всегда оставалась системная работа по подготовке кадров по ООИ в разных форматах: чтение лекций, проведение на базе бактериологической лаборатории станции практических занятий по лабораторной диагностике холеры, проведение для врачей-эпидемиологов и бактериологов г. Москвы и прикрепленных территорий семинарских занятий по вопросам лабораторной диагностики, эпидемиологии, профилактики ООИ.

В настоящее время сотрудники Противочумного центра также принимают участие в подготовке специалистов медицинских организаций и Роспотребнадзора, а также специалистов немедицинского профиля. Это и проведение обучающих занятий сотрудников поликлиник г. Москвы по ООИ, и участие в подготовке бортпроводников и медицинских работников в международном аэропорту Внуково по холере с разработкой памяток для бортпроводников по профилактике холеры и других ООИ, и подготовка информационно-обучающих слайд-материалов по профилактике ООИ для проведения семинаров в медицинских организациях и пунктах пропуска через государственную границу РФ в Москве и Московской области. Важной составляющей данного направления деятельности является участие в межведомственных тренировочных учениях с вводом условного больного в пунктах пропуска через государственную границу Российской Федерации в Москве и Московской области (Внуково, Домодедово, Шереметьево) в соответствии с поручением Роспотребнадзора № 02/2850-2023-27 от 22.02.2023.

Заключение

Таким образом, на протяжении всей истории Противочумного центра прослеживается преемственность в деятельности, посвященной профилактике холеры. Спецификой последних лет в обеспечении противоэпидемической готовности на случай выявления холеры стала повышенная настороженность в отношении возможности возникновения массовой заболеваемости. Это диктует необходимость глубокого знания эпидемиологом современных требований по обеспечению биологической безопасности и профессиональной гибкости, позволяющей рассма-

тривать различные варианты при планировании развертывания госпитальной базы и мероприятий в зависимости от развития эпидемической ситуации.

Список литературы

1. Подвиг во имя жизни. 125 лет противочумным учреждениям России и стран СНГ / Под ред. А.Ю. Поповой, В.В. Кутырева. — Калининград: Полиграфычъ, 2022. — 532 с.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ ПО ФАКТУ ВЫДЕЛЕНИЯ НЕТОКСИГЕННЫХ КУЛЬТУР ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ О1 СЕРОГРУППЫ В РЕСПУБЛИКЕ КРЫМ В 2023 ГОДУ

Ярымбаш Е.Г., Коношенко Е.В., Юсупова З.С, Аторина О.Н., Долу А.Э., Тихонов С.Н.

ФГКУЗ «ПЧС Республики Крым» Роспотребнадзора, г. Симферополь, Россия

Введение

Учитывая высокую активность эпидемического процесса в эндемичных по холере странах Азии и Африки и большое количество выявленных случаев холеры в 2023 году (856 тыс. случаев в 38 странах), вопрос диагностики холеры в Республике Крым и городе федерального значения Севастополь, как административной территории I типа по эпидемическим проявлениям, остается актуальным. За последние 10 лет в Республике Крым из сточной воды, морской воды и воды поверхностных водоемов выделено 20 культур нетоксигенных холерных вибрионов О1 серогруппы.

Ранее находки холерных вибрионов О1 в реках Водопадная и Быстрая городского округа Ялта встречались в 2010 г., когда было выделено семь культур *Vibrio cholerae* О1 (6, в т.ч. четыре токсигенные культуры *V. cholerae* О1 из р. Водопадной и 1 токсигенная культура *V. cholerae* О1 из р. Быстрой) и в 2016 г. (1 нетоксигенная культура *V. cholerae* О1 из р. Водопадной). Кроме того, ежегодно в указанных водоемах обнаруживаются *V. cholerae* неО1/неО139.

Цель

Выявление и идентификация патогенных холерных вибрионовпри проведении планового мониторинга водных объектов Республики Крым. По результатам эпидемиологического расследования, определение перечня и эффективности проведенных мероприятий по ликвидации причин контаминации.

Материалы и методы

Пробы воды были отобраны в объеме 1 литр (2 х 500 мл каждая проба), упакованы и доставлены с соблюдением правил отбора, упаковки, условий и сроков доставки материала для исследования на холеру. Температура воды при отборе проб была 21 °С, pH воды — 6,5. Исследования проводились по полной схеме с использованием бактериологического, серологического и молекулярно-генетического методов при условии односменного режима работы лаборатории. В качестве 1-й среды накопления использовалась 1% пептонная вода с повышенным pH — 9,5. Вторая среда накопления — 1% пептонная вода pH 8,4 без ингибитора посторонней микрофлоры.

Результаты и обсуждение

В августе 2023 года при плановом исследовании речной воды, отобранной из двух стационарных точек: р. Водопадная (место впадения в море) (44.489459, 34.162998) и р. Быстрая (место впадения в море в районе пассажирского порта) (44.496510, 34.170238) специалистами лаборатории бактериологии ФГКУЗ «ПЧС Республики Крым»Роспотребнадзорабыли изолированы четыре культуры: две культуры *V. cholerae* О1 биовар El Tor серо-

вар Огава нетоксигенный штамм и две культуры *V. cholerae* O1 RO вариант серовар Огава нетоксигенный штамм. Изолированные культуры были типичными для холерных вибрионов O1 серогруппы и обладали характерными культуральными свойствами. На щелочном агаре наблюдался рост характерных колоний: круглых, гладких плоских голубоватых с ровными краями, прозрачных в проходящем свете (в *S*-форме) и более плотных матовых колоний (в *R*-форме). При микроскопии выявлены Гр-, полиморфные, изогнутые палочки. Культуры обладали оксидазной активностью. В сайд-агглютинации на стекле с сывороткой диагностической холерной O1 и RO в разведении 1 : 50, две культуры агглютинировали с холерной O1 сывороткой на ++++, другие две культуры (в *R*-форме) агглютинировали с RO сывороткой на ++++.

Все 4 культуры дали слайд-агглютинацию на стекле ++++ с сероваростпецифическими сыворотками Инаба и Огава. При исследовании с помощью МФА получен положительный результат на +++ для культур в *S*-форме.

Молекулярно-генетический метод применялся на 2-м этапе при исследовании 1-й среды накопления после инкубации и на этапе идентификации чистой культуры. Результат исследования методом ПЦР («АмплиСенс *Vibrio cholerae*-FL») выделенных культур холерных вибрионов O1: наличие гена *hly* и *wbe*T, отсутствие генов *wbf*R, *ctx*A и *tcp*A.

Выделенные культуры холерных вибрионов были типичными для холерных вибрионов O1 серогруппы по своим биохимическим свойствам. В развернутой реакции агглютинации две культуры (в каждой из двух стационарных точек) давали агглютинацию до диагностического титра (1 : 1600) с холерной O-сывороткой и сывороткой Огава до диагностического титра (1: 800). Другие две культуры (в каждой из двух стационарных точек) давали агглютинацию до диагностического титра (1 : 800) с холерной RO сывороткой и сывороткой Огава до диагностического титра (1: 800) и в разведении 1 : 100 с холерной O-сывороткой.

Выделенные культуры не обладали чувствительностью к холерным диагностическим фагам El Tor и классическому.

Для культур была определена чувствительность к семи антибиотикам диско-диффузным методом (доксициклин, тетрациклин, левомицетин, ципрофлоксацин, гентамицин, ампициллин, цефотаксим). Культуры в *R*-форме были чувствительны только к левомицетину и гентамицину, к остальным антибиотикам устойчивы. Культуры в *S*-форме устойчивы только к доксициклину и цефотаксиму, к остальным — чувствительны.

Изолированные культуры в установленные сроки были направлены в референс-центр по холере ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора для верификации и изучения. Все культуры подтверждены (письмо от 06.09.2023 регистрационный № 61-30-11/09-1464-2023) как *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa. В ПЦР: *hly*$^{+}$, *wbe* O1^{+}, *wbf* O139^{-}, *ctx*AB^{-}, *tcp*AB^{-}.

Информация доведена до сведения Межрегионального управления Роспотребнадзора по Республике Крым и г. Севастополю, ФБУЗ ЦГиЭ в Республике Крым и г. Севастополе.

Выполненные мероприятия:

1) проведено эпидемиологическое расследование с целью установления источников и определения перечня мероприятий по ликвидации причин контаминации водного объекта. Сделан запрос и проанализирована информация об авариях канализационных сетей города.
2) увеличено количество точек исследования на холеру вблизи мест выделения нетоксигенных *V. cholerae* O1, с подробной конкретизацией мест и координат отбора.
3) мониторинговые исследования проведены до трех последовательных отрицательных результатов.
4) даны рекомендации коммунальным службам города провести ревизию прибрежной зоны рек Водопадная и Быстрая, благоустройство прилегающей территории.

Заключение

После проведенных мероприятий, при последовательном трехкратном исследовании проб речной воды в стационарных точках р. Водопадная (место впадения в море) и р. Быстрая (место впадения в море в районе пассажирского порта), а также ис-

следовании проб речной воды в дополнительных точках, холерные вибрионы О1 обнаружены не были.

Выводы

1. Благодаря климатическим факторам (теплая короткая зима, продолжительное засушливое жаркое лето, обмеление рек), значительная рекреационная нагрузка, при обильных осадках, подтопление ливневыми водами объектов канализования с последующим сбросом в реки и медленное течение рек, создаются благоприятные условия размножения вибрионов и обнаружения их в исследуемых пробах.
2. Выделенные изоляты типичны по тинкториальным, биохимическим, серологическим и молекулярно-генетическим свойствам для нетоксигенных холерных вибрионов О1.
3. Рекомендованные мероприятия, проведенные коммунальными службами г. Ялта в августе 2023 года, были эффективными (после трехкратного исследования проб речной воды в стационарных точках холерные вибрионы О1 обнаружены не были).

Список литературы

1. МУК-4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры», 2022.
2. МУК-4.2.3746-22 «Организация и проведение лабораторной диагностики холеры в лабораториях различного уровня, 2022.
3. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», 2021.

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ МИКРОБИОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ В БАКТЕРИОЛОГИИ И ПАРАЗИТОЛОГИИ (5 ЛЕТ НМЦ МОНИТОРИНГА ЗА ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ИНФЕКЦИОННЫХ И ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ III–IV ГРУПП ПАТОГЕННОСТИ)

Алешукина А.В., Березинская И.С., Голошва Е.В., Маркова К.Г., Полищук И.С. Нагорный С.А.

ФБУН Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

На сегодняшний день масс-спектрометрия занимает лидирующее положение среди других спектральных методов анализа в решении многих структурно-аналитических задач. Наличие высокотехнологичного оборудования с соответствующим программным обеспечением позволяет говорить о применении при масс-спектрометрии когнитивных технологий. Это обусловлено ее исключительно высокой чувствительностью, скоростью анализа, характером получаемой информации, уникальной возможностью исследования многокомпонентных смесей благодаря легкому комбинированию с такой мощной разделительной техникой, как газовая, жидкостная хроматография, капиллярный электрофорез, а также благодаря реализации метода многостадийной тандемной масс-спектрометрии.

Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация, MALDI (от англ. Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization) —

метод ионизации, в котором анализируемое вещество смешивается со вспомогательным веществом, называемым матрицей. Матрица поглощает лазерное излучение, обеспечивает ионизацию исследуемого вещества и снижает деструктивное действие лазерного излучения на его молекулы. Такой метод ионизации обычно используется в сочетании с времяпролетныммасс-анализатором (от англ. TOF, Time of Flight). MALDI-TOF масс-спектрометрия широко применяется для анализа биомолекул (пептиды, белки, углеводы, олигонуклеотиды и др.).

Применение MALDI-TOF масс-спектрометрии для определения видовой принадлежности бактерий было предложено в 1975 году Анхальт и Фенселау [Krásný L., 2013]. В последнее десятилетие MALDI-TOF масс-спектрометрия получила широкое распространение в микробиологических лабораториях и используется ими для идентификации патогенов. Данный метод позволяет проводить идентификацию клинически значимых бактерий, микобактерий и некоторых грибов с точностью до вида.

В соответствии с приказом Роспотребнадзора от 01.12.2017 № 1116 «О совершенствовании системы мониторинга, лабораторной диагностики инфекционных и паразитарных болезней и индикации ПБА в Российской Федерации» на базе ФБУН РостовНИИ микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора, в лаборатории вирусологии, микробиологии и молекулярно-биологических методов исследования работает научно-методический центр по мониторингу за возбудителями инфекцонных и паразитарных заболеваний III–IV групп патогенности.

Цель работы — показать возможности масс-спектрометрического метода в бактериологии и паразитологии.

Материалы и методы

Для идентификации видов бактерий методом MALDI-TOF MS в лаборатории использовали настольный масс-спектрометр Microflex с базой данных MALDI Biotyper (Bruker Daltonics Germany). Подготовку к исследованию чистых культур Pseudomonas aeruginosa штаммов и проведение анализа осуществляли по инструкции к прибору в соответствии СОП «Ме-

тод прямого нанесения». Уровень идентификации бактерий трактовали по критериям, указанным в инструкции: 2.300–3.000 — высокая вероятность идентификации вида; 2.000–2.299 — надежная идентификация рода, вероятная идентификация вида; 1,700–1.999 — вероятная идентификация рода; 0.00–1.699 — ненадежная идентификация. Профили микроорганизмов получали с использованием Microflex LT MALDI–TOF MS (Bruker Daltonics Germany) с программным обеспечением Flex Control (Bruker Daltonics Germany). Визуализацию проводили с помощью программного обеспечения Flex analysis 3.3 (Bruker Daltonics Germany). Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием раздела Statistica Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

В рамках многолетнего мониторинга неферментирующих бактерий, циркулирующих в медицинских организациях города Ростова-на-Дону и Ростовской области (2014–2023) в разные годы были обследованы 28 070 культур: ГБУ РО «Госпиталь ветеранов войн» (2014, 2018, 2020, 2022 гг.); ГБУ РО «ЦГБ им. Н.А. Семашко» (2015 г.); Ростовская клиническая больница ЮОМЦ ФМБА России (2015–2019); ГБУ РО «Областная детская клиническая больница» (2014, 2016–2020); ГБУ РО «Областная клиническая больница № 2» (2015–2020).

В качестве основного критерия риска возникновения ИСМП использовали определение у выделенных культур НГОБ анбиотикорезистентности. Было обнаружено, что в Ростове-на-Дону и Ростовской области выявление бактерий НГОБ колебалось от 5 до 28% с преобладанием в разные годы P. aeruginosado 70% от тестируемых НГОБ. Наблюдается сохранение чувствительности к многим группам антибиотиков в том числе карбапенемам у всех штаммов, изолированных в МО от людей 2014–2022 г., что свидетельствует о незначительном риске возникновения в МО ИСМП в регионе [Алешукина А.В. с соавт., 2021].

На базе НМЦ было проведено исследование с цельюизучения этиологической структуры возбудителей внебольничной пневмонией (ВП) в период пандемии COVID-19. Исследовано

94 образца мокроты и отрицательным результатом ПЦР-исследования на выявление SARS-CoV-2 из рото- и носоглотки. Проводили посев мокроты на стерильность с использованием дифференциально-диагностических сред с последующей идентификацией культур с использованием масс-спектрометра. Определение чувствительности к антибиотикам осуществляли стандартным диско-диффузионным методом. Параллельно с бактериологическими исследованиями в мокроте проводили ПЦР-исследования на обнаружение возбудителя COVID-19 (РеалБест РНК SARS-CoV-2, ДНК-Технология SARS-CoV-2/SARS-CoV Вектор-ПЦ PnCov-RG (Новосибирская обл., п. Кольцово). При посеве мокроты на стерильность с помощью масс-спектрометрии было идентифицировано видовое разнообразия потенциальных возбудителей ВП, при этом в образцах 2-й группы выявлено 44 вида, а образцах 1-й группы — 25 видов. Помимо доминирующих групп микроорганизмов в обеих группах были выявлены *Haemophilus influenzae* (7%), *Corynebacterium* spp. (5%), *Klebsiella* spp. (3%), *Neisseria meningitidis* (4%), *Pseudomonas* spp. (3%), а также редкие и нетипичные для данного биотопа — *Clostridium* spp. (6%), *Enterococcusfaecalis* (6%), *Lactobacilus* spp. (3%). В 5% случаев были выявлены патогенные *S. pneumoniae*. Среди изолятов, доминирующих у больных ВП *Streptococcus* spp., были обнаружены условно-патогенные и симбиотические представители. Распределение всех обнаруженных *Streptococcus* spp. по видовой принадлежности в порядке убывания: *S. Salivarius* — 34%; *S. oralis* — 25%; *S. mitis* — 15%; *S. parasanguinis* — 11%; *S. pneumoniae* — 5%; *S. anginosus* — 3,5%. *S. acidomitis* (1,7%); *S. perosis* (1,7%); *S. rattii* (1,7%); *S. pseudopneumoniae* (1,7%). Среди *Candida* spp. доминировали: *C. Albicans* — 59%; *C. krusei* — 17%; *C. lustaniae* и *C. glabrata* по 7%; *C. parapsilosis, C. guillermondiiu, C. Tropicalis* встречались в единичных случаях. Одновременное выявление бактерий и *Candida* spp. было зафиксировано у 10% больных [Ковалев Е.В. с соавт. 2023].

Помимо углубленной идентификации микроорганизмов при расследованиях вспышек инфекционных заболеваний в медицинских организациях города Ростова-на-Дону и Ростовской области проведена работа по использованию протеомного анализа в изучении свойств микроорганизмов: антибиотикорези-

стентности [Денисенко В.В. и др.2021], способности к биопленкообразованию [Алешукина А.В. и др. 2023] и чувствительности к дезсредствам [Голошва Е.В. и др. 2019]. В 2023 была проведена оценка микрофлоры мочи пациентов пожилого и старческого возраста с урологическими заболеваниями. Проведено изучение потенциальной опасности штаммов НГОБ, циркулирующих в столовых и пищеблоке одной из медицинских организаций г. Ростова-на-Дону, для возникновения ИСМП. Отдельным приоритетным направлением стало использование возможностей протеомики в паразитологии: разработка способа пробоподготовки для исследования нематод [Нагорный С.А. и др. 2019] и создание базы данных для масс-спектрометрической идентификации дирофилярий [Березинская И.С. и др. 2023].

Заключение

Подведены итоги внедрения масс-спектрометрического метода MALDI-TOF на базе оборудования (Bruker Daltonics Germany) в практику работы НМЦ помониторингу за возбудителями инфекций и паразитарных инвазий 3–4 групп патогенности в лаборатории вирусологии, микробиологии и молекулярно-биологических методов исследования научно-исследовательского института. Помимо углубленной идентификации микроорганизмов при расследованиях вспышек инфекционных заболеваний в медицинских организациях города Ростова-на-Дону и Ростовской области проведена работа по использованию протеомного анализа в изучении свойств микроорганизмов: антибиотикорезистетности, способности к биопленкообразованию и чувствительности к дезсредствам. Отдельным приоритетным направлением стало использование возможностей протеомики в паразитологии: разработка способа пробоподготовки для исследования нематод и создание базы данных для масс-спектрометрической идентификации дирофилярий.

Список литературы

1. *Алешукина А.В., Березинская И.С., Мартюшева И.Б.* Способ определения пленкообразующей функции псевдомонад на базе масс-спектрометрии методом MALDI-TOF. Патент РФ № 2807137. Дата подачи заявки 12.04.2023; дата регистрации 09.11.2023.

2. *Березинская И.С. Нагорный С.А., Мартюшева И.Б., Алешукина А.В.* База данных масс-спектров нематод (дирофилярий). — 2023. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2023621061 Заявка № 2023620833. 31 марта 2023.
3. *Голошва Е.В., Алешукина А.В., Яговкин Э.А.* Способ определения чувствительности неферментирующих бактерий к дезинфицирующим средствам с применением масс-спектрометрии. — 2019. Патент № 2709625 от 19.12.2019.
4. *Денисенко В.В., Алешукина А.В., Алешкина И.С., Зубцов В.Д.* Использование пакета MALDI quant для программной среды R в масс-спектрометрическом анализе антибиотикорезистентных *S. aureus* и *P. aeruginosa* // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. — 2021. — № 40. — С. 56–65.
5. *Ковалев Е.В., Твердохлебова Т.И., Карпущенко Г.В., Ерганова Е.Г., Рындич А.А., Алешукина А.В., Матузкова А.Н., Литовко А.Р., Суладзе А.Г.* COVID-19 в Ростовской области. — Ростов-на-Дону, 2023. — 336 с.
6. *Нагорный С.А., Алешукина А.В., Алешукина И.С., Ермакова Л.А., Пшеничная Н.Ю., Криворотова Е.Ю.* Способ подготовки проб материала для идентификации вида нематод методом MALDI TOFF Biotyper. 2019. Патент № 27003280 от 7.11.2018.
7. *Krásný L., Hynek R., Hochel I.* Identification of bacteria using mass spectrometry techniques //International Journal of Mass Spectrometry. 2013; 53; 67–79.

ИНТЕСТИНАЛЬНАЯ МИКРОБИОТА ЛЕТУЧИХ МЫШЕЙ В ДОНСКОМ РЕГИОНЕ КАК ВОЗМОЖНЫЙ РЕЗЕРВУАР ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Алешукина А.В.[1], Твердохлебова Т.И.[1], Березинская И.С.[1], Попов И.В.[2], Цуркова И.С.[2], Ермаков А.М.[2]

[1]ФБУН РостовНИИ микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия
[2]ФГБОУ ВО Донской государственный технический университет, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Летучие мыши являются одним из наиболее опасных резервуаров вирусных инфекций среди млекопитающих из-за их возможности летать и распространять вирусы, способные к межви-

довому распространению. Надлежащие механизмы, делающие этих животных идеальными «живыми биореакторами» для возникающих вирусов из-за вирусной иммунной толерантности и последующей непредсказуемой репликации, и рекомбинации вирусов, до сих пор до конца не поняты [Donnik I.M. et al., 2021].

Всего описано 15 видов летучих мышей (*Chiroptera*), проживающих на территории Ростовской области [Миноранский В.А. с соавт, 2014]. Учеными ЮФУ отмечено, что миграция рукокрылых в Ростовской области ограничена ланшафтными и климатическими условиями. Особенно это явление связано с обустройством берегов реки Дон (преобладанием антропогенных ланшафтов). Виды рукокрылых, отмеченные как резервуары коронавирусной инфекции, в Ростовской области не встречаются. Однако, недопонимание роли рукокрылых в экологии и эпидемиологии инфекций привело к резкому сокращению их численности.

Микробиота летучих мышей изучена мало. Разные авторы отмечают преобладание в их экскриментах микроорганизмов группы *Proteobacterium* как у птиц и связывают эту схожесть со способностью к полету. В то время как у других млекопитающих встречаются в основном представители *Firmicutes*. Было проведено изучение корреляции между набором бактерий, рационом, местом обитания и таксономической принадлежностью летучих мышей. Обнаружено, что с рационом связано менее пяти процентов разнообразия кишечных микробов. Географическая принадлежность животных позволила объяснить до десяти процентов разнообразия. Дальнейшие исследования показали, что у больших групп — родов и семейств — летучих мышей нет общих приспособлений к взаимодействию с теми или иными бактериями. D.L.Sun et al. предполагают, что микробиота кишечника летучих мышей может быть вовлечена в уникальную противовирусную реакцию этих животных, даже называют ее «недостающим звеном» между способностью к полету и устойчивостью к вирусам у летучих мышей.

У летучих мышей было обнаружено много коронавирусов, подавляющее большинство из которых не способны заразить человека. При этом информация о них может быть чрезвычайно

полезной для производства тест-систем и вакцин, направленных на выявление и профилактику SARS-CoV-2 [Sun D.L. et al., 2020].

Цель

Изучить состав интестинальной микробиоты летучих мышей, наиболее распространенных в Донском регионе.

Материалы и методы

Исследовали образцы кала 89 летучих мышей из южных регионов России, собранные с 15 апреля по 31 мая 2023 года: *Nyctalus noctula* ($n = 43$), *Pipistrellus kuhlii* ($n = 22$) и *Eptesicus serotinus* ($n = 24$). Использовали количественный метод посева на дифференциально-диагностические среды отечественного производства. Идентификацию видов бактерий методом MALDI-TOF MS проводили на базе масс-спектрометра Microflex с библиотекой данных MALDI Biotyper (Bruker Daltonics Germany). Профили микроорганизмов получали с использованием Microflex LT MALDI–TOF MS (Bruker Daltonics) с программным обеспечением Flex Control (Bruker Daltonics). Визуализацию проводили с помощью программного обеспечения Flex analysis 3.3 (BrukerDaltonics). Статистическую обработку данных выполняли с использованием программы Excel 2020.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследованияот 59 летучих мышей были получены шестьдесят пять изолятов молочнокислых бактерий и бацилл. Среди идентифицированных бактерий в испражнениях летучих мышей встречались представители группы *Firmicutes*: *Lactobacillus sp*. (46%) и *Bacillus sp*. (29%). Прочие бактерии составили 25%: *Brevibacillus laterosporus* (37,5%); *Enterococus furae* (8,3%), *Enterococus faecium* (8,3%); *Staphylococus epidermidis* (4,2%), а также представители группы *Proteobacterium* (41,7%). В убывающей последовательности протеобактерии распределились так: *Echerichia coli* составляли 20,8%; неферментирующие бактерии — 20,9% (*Achromobacter spanius* — 12,3%, *Achromobacter piechaudii* — 4,2%, *Pseudomonas koreensis* — 4,4%). Среди

Bacillus sp. доминировали *B. odyssey* (20%), *B. cereus* (20%). *B. thuringiensis* и *B. subtilis* обнаружены в 11% случаев. Остальные виды *Bacillus sp*. не превышали 7%. В 54% встречались *Lactococcus garvieae*. Были обнаружены *L. gaseri* (11%), *L. cripatus* (7%) и *L. satsumensis* (7%). Все остальные (*L. corynerformis. L. mali, L. agilis, L. amylovorus, L. malefermentans, L. plantarum*) встречались не более 1 раза и не превышали 3,5%.

Выявлено почти полное отсутствие изолятов с ДНК-защитной (антимутагенной) и прооксидантной активностью при незначительном присутствии таких бактерий у *P. kuhlii* и *E. serotinus*. Более подробно полученные результаты по антимутагенной и прооксидантной активностям комменсалов кишечника рукокрылых представлены в нашей статье [Popov I.V. et al., 2021].

Было отмечено, что для изучения микробиоты летучих мышей следует использовать другие методы скрининга, например ПЦР. Массовый скрининг бактерий кишечника летучих мышей показал, что большинство лактобацилл обладали промутагенным действием с выраженной антиоксидантной активностью. Это может быть связано с тем, что бактерии кишечника летучих мышей адаптируются к кишечной среде этих животных, поскольку они стремятся занять нишу, которая сильно зависит от окружающей среды из-за уникальных особенностей физиологии кишечника летучих мышей. Вот почему они развивают свойства, которые способствуют повреждению ДНК и уничтожению других бактерий, а также антиоксидантные свойства для противодействия высокому уровню свободных радикалов. Все вышеизложенное свидетельствует о перспективности использования бактерий летучих мышей в качестве штаммов-продуцентов при разработке пробиотиков [Chistyakov V.A. et al., 2018].

Заключение

Летучие мыши, чьи испражнения были исследованы в нашей научной работе, относятся к видам, которые проживают в степном ландшафте и не имеют никаких контактов с летучими мышами горных районов Китая и Дальнего Востока. Возбудители инфекционных болезней у разных видов летучих мышей, обита-

ющих в разных ландшафтах и разных климатических условиях, тоже разные. Позитивным является заключение о том, что микробиота кишечника летучих мышей (лактобациллы и бациллы) нашего региона обладает выраженной промутагенной и антиоксидантной активностями, препятствующими возникновению мутаций вирусов — потенциальных возбудителей вирусных инфекций у человека. Учитывая, что микробиота кишечника летучих мышей изучена недостаточно, для уточнения правомерности полученных результатов требуются дальнейшие исследования в этом направлении, чему, несомненно, будет способствовать создание Центра реабилитации летучих мышей на базе Донского государственного технического университета (г. Ростов-на-Дону).

Список литературы

1. *Donnik I.M., Popov I.V., Sereda S.V., Popov I.V., Chikindas M.L., Ermakov A.M.* Coronavirus Infections of Animals: Future Risks to Humans. Biol Bull Russ Acad Sci. 2021; 48(1): 26–37. DOI: 10.1134/S1062359021010052
2. *Миноранский В.А., Малиновкин А.В.* Ландшафтное распределение рукокрылых (CHIROPTERA) в Ростовской области // Известия ВУЗов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. — 2014. — № 1. — С. 84–88.
3. *Sun D.L., Gao Y.Z., Ge X.Y., Shi Z.L., Zhou N.Y.* Special features of bat microbiota differ from those of terrestrial mammals. Front. Microbiol. 2020; 11: 1040. DOI: org 3389/ fmicb.2020.01040
4. *Popov I.V., Mazanko M.S., Kulaeva E.D., Golovin S.N., Malinovkin A.V., Aleshukina I.S., Aleshukina A.V., Prazdnova E.V., Tverdokhlebova T.I., Chikindas M.L., Ermakov A.M.* Gut microbiota of bats: pro-mutagenic properties and possible frontiers in preventing emerging disease. Nature scientific reports. 2021; 26; 11(1): 21075. DOI: 10.1038/s41598-021-00604-z
5. *Chistyakov V.A., Prazdnova E.V., Mazanko M.S., Bren A.B.* The use of biosensors to explore the potential of probiotic strains to reduce the SOS response and mutagenesis in bacteria. Biosensors (Basel). 2018; 8: 25. DOI: 10.3390/bios8 010025

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА МЕТАГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЛИХОРАДКИ КУ В КЛИНИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ

Васильева О.В., Ульшина Д.В., Зайцева О.А., Писаренко С.В., Волынкина А.С, Сирица Ю.В., Гнусарева О.А.

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

Введение

Лихорадка Ку — природно-очаговое зоонозное заболевание, основным резервуаром которого являются сельскохозяйственные животные (крупный и мелкий рогатый скот). Высокая устойчивость возбудителя лихорадки Ку к факторам окружающей среды способствует инфицированию людей даже по прошествии нескольких месяцев после заболевания животных [Лубова В.А. и др., 2023].

В настоящее время в Российской Федерации лихорадка Ку регистрируется более чем в 50 административных территориях. За период с 2016 по 2022 гг. в ЮФО отмечен наиболее высокий показатель заболеваемости лихорадкой Ку (545 случаев) — в Астраханской, Ростовской, Волгоградской областях и Республике Калмыкия [Прислегина Д.А. и др., 2023]. По мнению ряда авторов, в России отсутствуют реальные данные об истинном распространении этой инфекции, что связано с трудностями клинической диагностики и отсутствием настороженности врачей к этой болезни [Фрейлихман О.А. и др. 2017; Яковлев Э.А. и др. 2015].

Клиническая диагностика лихорадки Ку в большинстве случаев затруднена и обусловлена выраженным полиморфизмом проявлений, отсутствием достоверных опорных признаков. За-

болевание легко пропустить и поставить неверный диагноз, особенно на ранних стадиях. Поздняя диагностика и как следствие нерациональное лечение больных может привести к хронизации процесса с высоким процентом летальности [Фрейлихман О.А. и др., 2017; Поливода Б.В.и др., 2022.]

В связи с этим потребность врачей клинической практики в новых высокоинформативных методах лабораторной диагностики лихорадки Ку особенно актуальна. Один из современных, высокоэффективных методов детекции и идентификации инфекционных агентов в клиническом материале, использующий технологию высокопроизводительного секвенирования — метагеномный анализ. Его основное преимуществоопределяется возможностью одновременного обнаружения на основе выявленных нуклеотидных последовательностей всех микроорганизмов в исследуемом образце (вирусов, бактерий, простейших) без необходимости культивирования.

Детекцию возбудителей бактериальной этиологии с помощью метагеномного секвенирования наиболее часто проводят с применением метода, основанного на изучении структуры гена, ответственного за синтез малой субъединицы рибосомальной РНК. Основное достоинство этого метода заключается в его относительно низкой стоимости реализации на практике, что позволяет проводить таксономическую классификацию широкого круга бактерий. Важно отметить, что относительно низкая концентрация ДНК бактериальных патогенов в клиническом материале, характерная для ряда возбудителей инфекции, в том числе и лихорадки Ку, приводит к снижению эффективности методов ПЦР метагеномного секвенирования.

Цель

Оценка возможности детекции и идентификации *Coxiella burnetii* методом метагеномного секвенирования гена *16S рРНК* при исследовании клинического материала.

Материалы и методы

Исследован клинический материал (сыворотка крови) от двух больных людей, поступивший из ГБУЗ СК «Советская рай-

онная больница» и ГБУЗ СК «Курская районная больница». Подтверждение наличия ДНК возбудителя лихорадки Ку в исследованном материале проводили с помощью набора реагентов «АмплиСенс® *Coxiella burnetii*-FL».

Пробоподготовка клинического материала выполнялась в соответствии с МУ 1.3.2569-09.

Экстракцию нуклеиновых кислот из образцов сыворотки крови человека, проводили с помощью набора реагентов для выделения ДНК из клинического материала «ДНК-сорб-В» (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия) согласно инструкций производителей.

Амплификацию фрагментов гена *16S рРНК* осуществляли с помощью модифицированных праймеров, описанных в работе Abellan-Schneyder с соавт. [Abellan-Schneyder I. et al., 2023]. Размер и чистоту полученных ПЦР продуктов определяли в ходе проведения электрофореза в 1 % агарозном геле.

Очистку ДНК продуктов от избытка праймеров и компонентов ПЦР смеси выполняли с использованием набора CleanMagDNA (Евроген, Россия). Для подготовки библиотек использовали эквивалентные количества ПЦР продуктов вариабельных фрагментов V1-V9 гена *16S рРНК*, амплифицированных для каждого образца. Измерение итоговой концентрации целевой ДНК проводили на флуориметре Qubit. Секвенирование смесей ампликонов выполняли с использованием высокопроизводительного секвенатора Ion Gene Studio S5 Plus (Thermo Fisher Scientific Inc). Для обработки и анализа данных секвенирования использовали специализированное программное обеспечение, находящееся в общем доступе: FastpQc, Bowtie2 Filter, Hisat2 Filter.

Результаты и обсуждение

Проведено исследование клинического материала, положительного на лихорадку Ку (Ct 21,4 и 21,3),с помощью метода метагеномного секвенированиягена *16S рРНК*. На основании анализа полученных данных подтверждено присутствие *C. burnetii* в двух сыворотках крови. Установлено количество последовательностей, принадлежащих возбудителю лихорадки Ку, от всего метагенома для каждой из проб: 5,2 и 5,3%. Показана возможность

использования метагеномного секвенирования для детекции и видовой идентификации возбудителя лихорадки Ку в клиническом материале.

Оценка эффективности использования метагеномного подхода в клинической диагностике коксиеллеза представляется актуальным для изучения направлением.

Заключение

Таким образом, в ходе настоящего исследования получено экспериментальное подтверждение возможности использования метагеномного секвенирования гена *16S pPHK* для выявления *C. burnetii* при исследовании материала от больных людей.

Интеграция метагеномного подхода в структуру лабораторной диагностики инфекционных заболеваний приведет к ее усовершенствованию, так как позволитопределять этиологический агент заболевания в крови больных с лихорадкой неясной этиологии, в частности, возбудителя лихорадки Ку. Для определениячувствительности метагеномного секвенирования при выявлении *C. burnetii* в клиническом материале требуется увеличение количества исследуемых образцов.

Список литературы

1. *Лубова В.А., Леонова Г.Н.* Ку-лихорадка-природно-очаговый зооноз // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2020. — № 19(4). — С. 97–101.
2. *Прислегина Д.А., Малецкая О.В., Дубянский В.М., Таран Т.В., Платонов А.Е.* Клещевые трансмиссивные инфекции на юге России: современная эпидемиологическая ситуация, новый подход к построению прогнозных и объясняющих моделей заболеваемости (на примере Астраханской риккетсиозной и Крымской геморрагической лихорадок) // Инфекция и иммунитет. — 2023. — № 13(3). — С. 535–548. — DOI: 10.15789/2220-7619-TBI-2036
3. *Фрейлихман О.А., Токаревич Н.К., Кондрашова В.Д.* Лабораторные методы диагностики Ку-лихорадки и генотипирование *Coxiella burnetii* // Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. — 2017. — № 2. — С. 49–60.
4. *Яковлев Э.А., Борисевич С.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В.* Заболеваемость лихорадкой Ку в Российской Федерации и странах Европы: реалии и проблемы // Проблемы особо опасных инфекций. — 2015. — № 4. — С. 49–54.
5. *Поливода Б.В.* Трудный диагноз: Ку-лихорадка в Воронежской области сегодня. Мечниковские чтения-2022. — 2022. — С. 158–159.
6. *Abellan-Schneyder I., Matchado M.S., Reitmeier S., Sommer A., Sewald Z., Baumbach J., List M., Neuhaus K.* Primer, pipelines, parameters: issues in 16S rRNA gene sequencing. Msphere 2021; 6(1):e01202-20. DOI: 10.1128/mSphere.01202-20

РОЛЬ ИНТЕГРАТИВНЫХ КОНЬЮГАТИВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ (ICE) В РЕАЛИЗАЦИИ УСТОЙЧИВОСТИ *VIBRIO CHOLERAE* К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ

Водопьянов С.О., Евтеев А.В., Водопьянов А.С.,
Селянская Н.А., Писанов Р.В.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Одним из важных факторов, присутствующих во внешней среде включая водоемы, являются ионы тяжелых металлов (ТМ). Более того, по мере индустриализации степень загрязнения окружающей среды ТМ возрастает, что уже приобрело глобальную угрозу здоровью населения. Закономерным ответом явилось распространение у микророганизмов устойчивости к ТМ. Информация о генах устойчивости к ТМ в доступной литературе представлена в виде базы данных BacMet (http://bacmet.biomedicine.gu.se) и содержащей сведения о 470 экспериментально подтвержденных генах устойчивости, а также о 25 477 генах потенциальной устойчивости [Pal C., 2014].

Способность представителя рода *Vibrio* – парагемолитического вибриона как обитателя поверхностных водоемов противостоять токсическому действию ТМ — в последнее время стала предметом изучения различных групп исследователей [Jo S., 2020]. Проведен анализ изолятов *Vibrio cholerae* из вод устья реки Янцзы, обладающих высоким уровнем толерантности к Hg, Cd, Cu, Pb [Song Y, 2013]. Примерно такую же картину устойчивости наблюдали при изучении штаммов *V. cholerae*, выделенных из четырех видов пресноводных рыб [Xu M., 2019] и из морепродуктов [Fu H., 2020]. Однако генетический анализ феномена резистентности к ТМ у представителей рода *Vibrio* не проводили.

Бангладеш и Индия являются регионами, где концентрации мышьяка в воде и почве являются самыми высокими в мире (Bueno E., 2022), поэтому повышенная устойчивость *V. cholerae* могла возникнуть в процессе адаптации возбудителя, позволив-

шей ему существовать в средах с высокой концентрацией данного токсиканта. Расшифрованный механизм устойчивости к мышьяку связан с альтернативным путем метаболизма через активность арсеникум-индуцируемого оперона VC1068-1071, кодирующего арсенатный репрессор *ArsR*, альтернативную глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу, предполагаемую фосфатазу и ген переносчик [Bueno E., 2022].

Интегративные конъюгативные элементы (ICE) представляют собой мобильные генетические структуры размером до 100 000 пар оснований, способные к горизонтальному переносу и кодирующие широкий спектр генов, наделяя своих хозяев различными признаками, в том числе и устойчивостью к антибиотикам и ТМ. Значение ICE в биологии *V. cholerae* и реализации патогенного потенциала, включая резистентность к антибиотикам, изучено достаточно полно. О значимости ICE для токсигенных штаммов *V. cholerae* свидетельствует тот факт, что, начиная с рубежа 1990-годов все токсигенные штаммы *V. cholerae* несут ICE различных типов [Mutreja A., 2011].

Гены резистентности к различным ТМ были идентифицированы в составе ряда ICE в клетках *E. faecalis, Bacteroides, Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae, Proteus rettgeri, L. monocytogenes* и *Clostridium* spp. Способность *V. cholerae* приобретать ICE-элементы [Mutreja A. 2011] свидетельствует о возможности возникновения устойчивости к ТМ путем генетического обмена, особенно при циркуляции вибрионов в загрязненных водоемах.

За последние годы достигнуты большие успехи в секвенировании геномов вибрионов, созданы доступные базы данных секвенированных последовательностей и комплексы программ для биоинформационного анализа.

Цель

Оценка возможной роли ICE в реализации устойчивости *V. cholerae* к ТМ с помощью анализа геномов из доступных баз данных.

Материалы и методы

В работе использованы данные полногеномного секвенирования (WGS) 6288 штаммов *V. cholerae*, полученные из GenBank.

Сборку геномов, представленных в виде ридов, проводили с использованием программы Spades [Bankevich A., 2021]. Анализ ICE элементов проводили с помощью программы «*V. cholerae* ICEGenotyper» (Свидетельство о государственной регистрации № 2023663855, 2023 г.).

Результаты и обсуждение

Результаты исследования представлены в табл. 1. При анализе 6288 геномов *V. cholerae* из базы GenBank с помощью программы «*V. cholerae* ICEGenotyper» установлено отсутствие ICE элементов в структуре 3617 геномов и идентифицировано 18 типов ICE элементов. Токсигенные штаммы O1 содержали содержали восемь типов ICE (ICEVchInd5, ICEVchChn2255, ICEVchHai3, ICEVchRus1, ICEVchBan9, ICEVchCHN4210, ICEVchLaos и ICEVchBan11). Токсигенные штаммы O139 содержали ICE типа SXT(MO10), нетоксигенные — ICEVchChi2. В нетоксигенных штаммах O1 ICE элементов не обнаружено.

В геномах неO1/неO139 изолятов идентифицировано восемь типов ICE элементов (ICEVchHai2, ICEVchChi3, ICEVchChi, ICEVchMex1, ICEVchN2795, ICEVchChi2, ICEVchBra и ICEVchThai).

Гены, обусловливающие резистентность к ТМ, идентифицированы в структуре девяти ICE элементов и суммарно были найдены в 87 изолятах. При этом ICEVchBan9, ICEVchCHN4210 и ICEVchBan11 находились в геномах токсигенных O1 штаммов. На наш взгляд наибольшего внимания требует изучение гена *czcA*, идентифицированного в составе ICEVchBan9 и ICEVchBan11. В геномах неO1/неO139 изолятов шесть типов ICE элементов несли гены резистентности к ТМ (ICEVchChi3, ICEVchChi, ICEVchN2795, ICEVchChi2, ICEVchBra, ICEVchThai).

Ген *czcA* размером 2730 пар оснований кодирует протеин CzcA, обладающий массой 103 кДа и изоточкой 7,05. При анализе трансляции гена *czcA* в ICEVchBan9 и ICEVchBan11 *in silico* методом Biopython выявлен полноценный протеин CzcA. Ген *czcA* впервые описан в 1989 году в составе плазмиды pMOL30 у Alcaligenes eutropus, детерминирует устойчивость к кобальту, цинку и кадмию и представляет собой хемиосмотический эффлюксный насос Czc способный транспортировать катионы кадмия, цинка и кобальта из цитоплазмы за пределы клетки [Silver S, 1996]. Впоследствии данный ген был идентифицирован

с помощью ПЦР у различных протеобактерий, обитающих в загрязненных водоемах. Предполагают наличие связи между наличием белка CzcA у *Vibrio anguillarum*, выделенных из кефали, выращенной на нескольких рыбных фермах Южной Кореи, к токсическому действию кадмия, присутствующего во внешней среде [Kumarage P.M., 2023]. Это может подтверждать довольно высокое число czcA-позитивных геномов: 38 изолятов ICEVchBan9 и 14 — ICEVchBan11. Интересно, что данный ген присутствовал и у неO1/неO139 культур — ICEVchChi2 и ICEVchThai.

В составе геномов неO1/неO139 изолятов идентифицировано шесть ICE элементов, несущих гены резистентности к ТМ (ICEVchChi3, ICEVchChi, ICEVchN2795, ICEVchChi2, ICEVchBra и ICEVchThai). На наш взгляд, наибольшего внимания заслуживают ICEVchN2795 и ICEVchThai, как содержащие наиболее полный набор генов резистентности к ТМ.

Заключение

При анализе 6288 геномов *V. cholerae* из базы GenBank показано отсутствие ICE элементов у 3617 изолятов и идентифицировано 18 типов ICE элементов. Гены, обусловливающие резистентность к ТМ, идентифицированы в составе девяти ICE элементов. При этом ICEVchBan9, ICEVchCHN4210 и ICEVchBan11 находились в геномах токсигенных O1 штаммов, а неO1/неO139 изоляты содержали шесть типов ICE элементов с генами резистентности к ТМ. На наш взгляд, наибольшего внимания требует изучение гена *czcA*, идентифицированного в составе ICEVchBan9 и ICEVchBan11. Таким образом, ICE элементы, присутствующие в геномах токсигенных O1 и атоксигенных неO1/неO139 изолятов, содержат различный набор генов резистентности к ТМ и тем самым могут способствовать выживанию вибрионов в загрязненных водоемах.

Список литературы

1. *Pal C., Bengtsson-Palme J., Rensing C., Kristiansson E., Larsson D.G.* BacMet: antibacterial biocide and metal resistance genes database. Nucleic Acids Res. 2014; 42(Database issue):D737–43. DOI: 10.1093/nar/gkt1252
2. *Jo S., Shin C., Shin Y., Kim P.H., Park J.I., Kim M.*, et al. Heavy metal and antibiotic co-resistance in Vibrio parahaemolyticus isolated from shellfish. Mar Pollut Bull. 2020;156:111246. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2020

3. *Song Y., Yu P., Li B., Pan Y., Zhang X., Cong J.*, et al. The mosaic accessory gene structures of the SXT/R391-like integrative and conjugative elements derived from Vibrio spp. isolated from aquatic products and environment in the Yangtze River Estuary, China. BMC Microbiol. 2013;13:214. DOI: 10.1186/1471-2180-13-214
4. *Fu H., Yu P., Liang W., Kan B., Peng X., Chen L.* Virulence, Resistance, and Genomic Fingerprint Traits of Vibrio cholerae Isolated from 12 Species of Aquatic Products in Shanghai, China. Microb Drug Resist. 2020;26(12):1526–1539. DOI: 10.1089/mdr.2020.0269
5. *Bueno E., Pinedo V., Shinde D.D., Mateus A., Typas A., Savitski M.M.*, et al. Transient Glycolytic Complexation of Arsenate Enhances Resistance in the Enteropathogen Vibrio cholerae. mBio. 2022;13(5):e0165422. DOI: 10.1128/mbio.01654-22
6. *Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S.*, et al. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. Nature. 2011;477(7365):462–465. DOI: 10.1038/nature10392
7. *Kumarage P.M., Majeed S., De Silva LADS, Heo G.J.* Detection of virulence, antimicrobial resistance, and heavy metal resistance properties in Vibrio anguillarum isolated from mullet (Mugil cephalus) cultured in Korea. Braz J Microbiol. 2023;54(1):415–425. DOI: 10.1007/s42770-023-00911-9

ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИГЕННЫХ КОМПОНЕНТОВ ХОЛЕРНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ

Воробьева С.А., Громова О.В., Клокова О.Д., Волох О.А.

ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия

Введение

Иммунобиологический лекарственный препарат (ИЛП) «Вакцина холерная бивалентная химическая, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой» разработан и производится во ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. Данный препарат для профилактики холеры является единственным зарегистрированным в Российской Федерации. Вакцина состоит из смеси холерогена-анатоксина штамма *Vibrio cholerae cholerae* 569B серовара Инаба и О-антигенов штаммов *V. cholerae* cholerae M-41 серовара Огава и 569B серовара Инаба, и вспомогательных веществ (сахар, крахмал, тальк, кальций стеарат).

Авторами-разработчиками холерной вакцины были предложены методы получения активных компонентов [Анисимов П.И. и др., 1997; Джапаридзе М.Н. и др., 1997]: «холерогена-анатоксин» и «О-антигены» сероваров Инаба и Огава. В настоящее время компоненты холерной вакцины получают из инактивированных формалином безмикробных центрифугатов бульонных культур штаммов *V. cholerae* О1классического биовара методом поэтапного осаждения сульфатом аммония. Выделение «О-антигена» Инаба и Огава, при производстве холерной вакцины, не подразумевает выделение очищенного О-антигена — ЛПС общепринятыми методами экстракции с помощью агрессивных химических агентов (например, трихлоруксусной кислотой, водно-эфирной, водно-бутанольной и фенол-хлороформной смесью). Все компоненты холерной вакцины обладают сложной химической природой и представляют собой липополисахарид-белковые комплексы (ЛПБК), что подтверждено биохимическими методами [Анисимов П.И. и др., 1997;].

Производство лекарственных средств, в том числе ИЛП, должно соответствовать правилам надлежащей производственной практики, которые регламентируют требования к организации производства и контроля качества выпускаемого препарата. В настоящее время активные компоненты холерной вакцины охарактеризованы и контролируются по показателю «специфическая активность». В нормативной документации на препарат одним из критериев качества является соответствие спецификации, которая составляется и на активные компоненты, входящие в его состав. Для чего необходимо охарактеризовать широкий спектр свойств активных компонентов холерной вакцины и отобрать необходимые показатели, которые подтверждают постоянство производства.

Одну из важных ролей при контроле качества ИЛП играют стандартные образцы. Целью их применения является анализ компонентов и готовой продукции лекарственного препарата на разных этапах по основным показателям, что имеет определяющее значение в стандартизации процесса производства.

В связи с вышеизложенным, целью работы являлось изучение состава и свойств антигенных компонентов вакцины холерной — холерогена-анатоксина и О-антигенов Инаба и Огава,

определение их стабильности при длительном хранении и разработка стандартных образцов предприятия.

Материалы и методы

Исследование проводили с использованием лиофилизированных специфических антигенных компонентов — холерогена-анатоксина, О-антигенов Инаба и Огава, полученных в соответствии с промышленным регламентом на производство ИЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой».

Для характеристики активных компонентов вакцины рассматривали следующие показатели: внешний вид, микробиологическая чистота (ОФС.1.2.4.0002.18, «Микробиологическая чистота»), специфическая активность (ФС 3.3.1.0020.15 и экспериментальным методом ДИА ЗНЧ), содержание углеводов (фенол-сернокислотным методом), белков (ОФС.1.2.3.0012.15, метод Лоури), липидов (бихроматным методом) и О-ацетильных групп (ОФС.1.7.2.0019.15, «Определение О-ацетильных групп в полисахаридных вакцинах»), электрофоретическая подвижность белково-углеводных комплексов (методом электрофореза в ПААГ со специфической окраской Кумасси и серебром), серологическая активность (методом иммуноблотинга со специфическими сыворотками), хранение, срок годности.

Контроль содержания О-антигенов *V. cholerae* О1 на этапе получения компонентов и в готовой лекарственной форме проводили по показателю «специфическая активность» с использованием стандартного образца предприятия «Набор реагентов для определения содержания О-антигена в реакции непрямой гемагглютинации» и методом дот-иммуноанализа с золотыми наночастицами (ДИА ЗНЧ). Постановку ДИА ЗНЧ с использованием конъюгата на основе стафилококкового белка А/белка G, меченного коллоидным золотом, осуществляли по ранее описанной методике [Дуракова О.С. и др., 2018].

Для составления характеристики и спецификации исследовали по 20 образцов каждого антигена, определяли средние значения и доверительные границы результатов измерения.

Изучение стабильности при долгосрочном хранении трех серий готовой лекарственной формы вакцины проводили в соответствии

с ФС 3.3.1.0020.15. – срок наблюдения 4 года; 20 серий холерогена-анатоксина, О-антигена Инаба, О-антигена Огава по показателю «специфическая активность» — срок наблюдения 5 лет.

Результаты и обсуждение

В данном исследовании был оценен широкий спектр показателей, позволяющий отобрать необходимые характеристики для составления спецификаций на каждый компонент вакцины. Биохимический анализ показал, что содержание белков, липидов, углеводов составило в О-антигене Инаба 377,5 ± 84,4, 144,9 ± 32,4, 52,3 ± 11,7 мкг/мл; О-антигене Огава 388,7 ± 86,9, 144,9 ± 32,4, 55,8 ± 13,1 мкг/мл, холерогене-анатоксине 734,2 ± 164,1, 5,3 ± 1,2, 7,1 ± 1,6 мкг/мл. Содержание О-ацетильных групп, являющихся маркерным показателем специфических сахаров в полисахаридах, в О-антигенах Инаба и Огава составило 0,527 ± 0,117 и 0,480 ± 0,08 мкмоль/мл, холерогене-анатоксине — 0,197 ± 0,04 мкмоль/мл. Специфическая активность в РНГА и ДИА ЗНЧ составила для О-антигена Инаба 1316,4 ± 294,3 и 2392,0 ± 534,8 условных единиц, О-антигена Огава 2223,7 ± 524,1 и 2256,0 ± 504,4 условных единиц, холерогене-анатоксине — 329,1 ± 73,5 и 272,0 ± 60,8 условных единиц. Полученные данные биохимического анализа компонентов холерной вакцины подтверждают, что О-антигены имеют сложный химический состав и являются комплексными веществами. Нами были отобраны показатели для составления спецификации и разработки стандартных образцов предприятия, установлены критерии приемлемости. Выбранные характеристики стабильно подтверждались независимо от серии образца и отражали информацию о качестве компонента.

Таким образом, разработаны и утверждены стандартные образцы предприятия (СОП): «Специфическая фракция Холероген-анатоксин *V. cholerae* O1 569 B классического биовара серовара Инаба», «Специфическая фракция О-антиген *V. cholerae* O1 569 B классического биовара серовара Инаба» и «Специфическая фракция О-антиген *V. cholerae* M-41 классического биовара серовара Огава», предназначенные для использования в качестве положительного контроля при определении специфической активности компонентов и готовой лекарственной формы холерной вакцины.

Разработан СОП «Набор реагентов для определения содержания холерогена-анатоксина и О-антигенов Инаба и Огава методом дот-иммуноанализа (ДИА ЗНЧ) с использованием конъюгата на основе стафилококкового белка А/белка G, меченного коллоидным золотом» для стандартизации и качественного использования ДИА ЗНЧ как контрольного метода на разных этапах производства.

Нами было проведено исследование стабильности холерной вакцины и ее компонентов с целью получения данных об их соответствии установленной спецификации прихранении в условиях, указанных в маркировке. Показатель «специфическая активность» оценивали с использованием разработанных стандартных образцов предприятия. Экспериментально показано сохранение стабильности готовой лекарственной формы вакцины после четырех лет хранения и сохранение данной характеристики на 86 ± 2% по истечении пяти лет. Все показатели соответствовали значениям, установленным спецификацией.

Заключение

На основе данных исследования, полученных при характеристике активных компонентов вакцины, были отобраны показатели, которые вошли в состав спецификации на стандартные образцы предприятия. Разработанные СОП ХА, СОП О-антиген Инаба и СОП О-антиген Огава необходимы в качестве контролей при определении и подтверждении спецификации по показателю «специфическая активность» компонентов и готовой лекарственной формы холерной вакцины. СОП «Набор реагентов для определения содержания холерогена-анатоксина и О-антигенов Инаба и Огава методом дот- иммуноанализа (ДИА ЗНЧ) с использованием конъюгата на основе стафилококкового белка А/белка G, меченного коллоидным золотом» включает в себя вышеописанные СОПы и предназначен для использования на разных этапах производства, а также для определения стабильности компонентов и готового препарата.

Сохранение стабильности показателей, установленных НТД, в течение четырех лет хранения, дает основание для увеличения срока годности холерной вакцины. Подтверждено полное соответствие спецификации на препарат.

Список литературы

1. *Анисимов П.И.* Способ производства вакцины против холеры. Патент РФ № 2080121, опубл. 27.05.1997. Бюл. № 15.
2. *Джапаридзе М.Н.* Способ получения пероральной химической вакцины. Патент РФ № 2076734, опубл. 10.04.1997. Бюл. № 13.
3. *Дуракова О.С., Громова О.В., Киреев М.Н., Воробьева С.А., Клокова О.Д., Ливанова Л.Ф., Белякова Н.И., Волох О.А.* Применение дот-иммуноанализа для определения специфической активности антигенов в производстве холерной вакцины // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. — 2018. — № 14(4). — С. 10–13.
4. *Кузьмиченко И.А., Громова О.В., Киреев М.Н., Белякова Н.И.* Некоторые биохимические различия между производственными штаммами-продуцентами холерной химической вакцины // Проблемы особо опасных инфекций. — 2011. — № 3. — С. 78–80. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-3(109)-78-80

ИНДИКАТОРНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ХОЛЕРНЫХ ФАГОВ ИЗ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Гаевская Н.Е., Погожова М.П., Тюрина А.В., Сизова Ю.В.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Известно, что *Vibrio cholerae* коррелирует с присутствием холерных бактериофагов в водной среде. Холерные фаги являются фактором, влияющим на сезонные эпидемии, снижая концентрацию *V. cholerae* в окружающей среде [Ndongmo Teytsa H.M. et al., 2021, Santoriello F.J. et al., 2021]. Мониторинговые исследования водных объектов окружающей среды (ООС) на территории г. Ростова-на-Дону одновременно направлены как на выявление холерных вибрионов, так и на обнаружение холерных фагов. Поиск проводится с диагностической целью, так как бактериологический метод выделения возбудителя холеры не всегда даёт положительные результаты. Различные авторы сообщали о

проведении исследований по изучению эпидемиологического значения находок фага в почве и воде по отношению к патогенным микробам и кишечным инфекциям [Ballesté E. et al., 2022]. Разработка методов индикации фагов позволяет подойти к решению проблемы совершенствования косвенных показателей эпидемической безопасности ООС. Была проведена работа по выделению холерных фагов из внешней среды с использованием, созданной нами, индикаторной системы, которая включает четыре штамма холерных вибрионов О1 и О139 серогрупп. Методический подход с использованием предложенного набора обеспечивает обнаружение холерных фагов, являясь косвенным показателем присутствия *V. cholerae* в ООС.

Цель — применение индикаторной системы для выделения холерных фагов, которые являются косвенным показателем эпидемической безопасности ООС.

Материалы и методы

В работе использовали индикаторную систему, включающую четыре штамма холерных вибрионов: *V. cholerae* O1 classical Инаба № 1391 (ctx^+ tcp^-), *V. cholerae* O1 El Tor Огава №2066 (ctx^+ tcp^-), *V. cholerae* O1 El Tor Огава №Р-13169 (ctx^- tcp^+), *V. cholerae* O139 № 16373 (ctx^+ tcp^+). Манипуляции с индикаторными штаммами и фагами проводили в соответствии с СанПиН 3.3686-21 и МР 4.2.0263-21 «Методы работы с бактериофагами микроорганизмов I–IV групп патогенности».

Результаты и обсуждение

В период с 2014 г. по 2023 г исследовано 2444 пробы из пресных поверхностных водоемов и сточных вод из стационарных точек, закрепленных за ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. В ходе мониторинговых исследований проб из ООС на наличие бактериофагов были обнаружены пятна лизиса. Всего было выделено 117 холерных фагов при помощи, созданной нами, системы индикаторных штаммов, причем они выявлялись в пробах из всех исследуемых стационарных точек. Пробы воды обрабатывали хлороформом и прогреванием. Обычно, в процессе прогревания проб идентифи-

фицировались филаментозные фаги порядка *Tubulavirales*, которые являлись умеренными и часто неспособными к самовоспроизведению при многочисленных пассажах на индикаторной культуре. Такие фаги исключались из исследования после результатов электронной микроскопии. Особый интерес вызывают хвостатые фаги класса *Caudoviricetes* (подовирусы, миовирусы, сифовирусы), которые выделяются из проб после обработки хлороформом. В группе хвостатых фагов, выделенных из окружающей среды, велика вероятность встретить вирулентную форму вируса с высокой литической активностью.

В результате проведенной работы из 117 холерных фагов выбраны 6 хвостатых бактериофагов, лизирующих холерные вибрионы О1 серогруппы биоваров classical и El Tor, с высокой способностью к самовоспроизведению. Проведена сравнительная характеристика биологических свойств фагов *V. cholerae* О1: морфологии, устойчивости к воздействию повышенных температур и хлороформу. Показана специфичность и диапазон литической активности, а также подобраны фагочувствительные тест-культуры для размножения и дифференциации свежевыделенных фагов холерных вибрионов. Составлена основная молекулярно-генетическая характеристика фагов.

Заключение

В результате биоинформационного анализа шести хвостатых бактериофагов О1 сергруппы был осуществлен поиск генетических детерминант, характерных для умеренных или вирулентных фагов. Из них обнаружено три вирулентных фага, которые являются перспективными кандидатами в качестве компонента профилактического препарата. Остальные три фага являются умеренными и успешно используются в диагностических целях, а также в экспериментальной деятельности.

Показано, что наличие умеренных фагов порядка *Tubulavirales* достоверно коррелировало с циркуляцией нетоксигенных штаммов холерных вибрионов в абиотических объектах окружающей среды г. Ростова-на-Дону. Этот факт позволяет считать обнаруженные холерные фаги сигнальным признаком присутствия в водоемах холерных вибрионов. Полученные данные

свидетельствуют о перспективности проведения дальнейших исследований в этом направлении.

Таким образом, совершенствование методического подхода с использованием предложенного набора индикаторных штаммов холерных вибрионов О1 и О139 серогрупп обеспечило выделение и идентификацию холерных бактериофагов из водных объектов окружающей среды.

Список литературы

1. *Ndongmo Teytsa H.M., Tsanou B., Bowong S.* et al. Bifurcation analysis of a phage-bacteria interaction model with prophage induction. Mathematical Medicine and Biology: A Journal of the IMA. 2021; 38 (1): 28–58. https://doi.org/10.1093/imammb/dqaa010
2. *Santoriello F.J., Pukatzki S.* When the pandemic opts for the lockdown: Secretion system evolution in the cholera bacterium. Microb Cell. 2021; 8 (3): 69-72. https://doi.org/10.15698/mic2021.03.744
3. *Ballesté E., Blanch A. R., Muniesa M.*, et al. Bacteriophages in sewage: abundance, roles, and applications. FEMS microbes. 2022; 3: xtac009. https://doi.org/10.1093/femsmc/xtac009

АЛГОРИТМ И ПРОГРАММА ДЛЯ КЛАССИФИКАЦИИ ШТАММОВ ВИРУСА БЕШЕНСТВА

Герасименко А.А., Водопьянов А.С.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Существует несколько классификаций вируса бешенства (*Rabies lyssavirus*), основанных на полиморфизме генома возбудителя. Например, группа авторов [Девяткин и др., 2017; Kuzmin и др., 2004] предложили классификацию, предусматривающую разделение всех штаммов на 6 групп. Другая группа [Troupin и др., 2016] при анализе 321 генома выявила 60 различных кластеров.

Данные классификации основаны на построении филогенетических деревьев. Это затрудняет изучение вновь выделяемых вирусов потому, что для определения принадлежности конкретного штамма необходимо проводить анализ всех штаммов с включением исследуемого каждый раз заново. С другой стороны, для ряда возбудителей разработаны классификации, предусматривающие кластеризацию штаммов с выявлением характерных однонуклеотидных замен (SNP). Ерошенко Г.А. с соавт. [Ерошенко и др., 2018] при анализе геномов возбудителя чумы описала мутации, характерные для определенных генетических линий, что облегчает изучение вновь секвенируемых штаммов.

В 2014 году зарубежные авторы разработали компьютерную программу CanSNPer, позволяющую проводить быстрое определение генетической линии генома возбудителя туляремии [Lärkeryd и др., 2014]. Похожая работа была проведена другой группой исследователей — зарубежные ученые [Kevin и др., 2020] определили 120 SNP для классификации генетических линий *F. Tularensis* без построения дендрограммы. Тем временем в отношении возбудителя бешенства сведения о подобных работах программах отсутствуют.

Цель работы — разработка алгоритма классификации и компьютерной программы для определения географической группы у штаммов *Rabies lyssavirus* по загруженной последовательности полного генома или N гена.

Материалы и методы

При разработке алгоритма проанализированы 1100 последовательностей N гена штаммов вируса бешенства 85 стран из международной базы данных NCBI. Штаммы были разбиты на кластеры (с субкластеризацией на более мелкие группы) по набору мутаций внутри N гена с порогом отличия между штаммами в 5% N гена (68 п.о.). Кластеризация проведена методоммининального связующего дерева (MST), визуализация и разбивка на группы выполнены в программе Cytoscape. По различиям в SNP и характерному набору мутаций штаммы разделились на группы, отражающие географическую приуроченность изолятов. Каждая группа обозначается номером и описанием географии возбудителя.

Принцип работы программы состоит в выравнивании загруженной последовательности на референс пакетом инструментов mafft. С помощью средств языка Python в авторском скрипте происходит поиск нуклеотидных мутаций в N гене исследуемой пробы, данные мутации сравниваются с мутациями проанализированных ранее и заведомо известных проб, которые были разбиты на кластеры в соответствии с предложенным алгоритмом.

В результате сопоставления последовательностей программа сравнивает мутации загруженной и проанализированной пробы с наиболее похожим по мутациям «референс» штаммом с известным номером группы и географическим положением. Исследуемая проба будет отнесена к той же группе и результат будет отображен в окне программы.

Результаты и обсуждение

Исходя из предлагаемого алгоритма кластеризации, штаммы были разбиты на 10 крупных кластеров (с субкластеризацией по 47 группам) по нуклеотидным мутациям внутри N гена. В результате проведенного исследования найдены уникальные мутации для большинства групп штаммов. Разработана программа, определяющая по загруженной последовательности группу, коррелирующую с наличием определенных мутаций и показывающую возможную географическую распространенность выделенного изолята. Так, возможна характеристика штаммов, выделенных из различных частей света, таких как Америка, Азия, Европа, Африка. Программа доступна на сайте http://antiplague.ru/rabies-analyzer/

Выводы

Предложен алгоритм и компьютерная программа с графическим интерфейсом для классификации штаммов Rabies lyssavirus с привязкой по географической распространенности изолятов.

Список литературы

1. *Девяткин А.А., Лукашев А.Н., Полещук Е.М., Ткачев С.Е., Дедков В.Г., Сидоров Г.Н., Щелканов М.Ю., Галкина И.В., Карганова Г.Г., Гаврило М.В., Шипулин Г.А.* Молекулярная эпидемиология вируса бешенства на территории

Российской Федерации. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2017. — № 16(1(92)). — С. 39–42.
2. *Ерошенко Г.А., Попов Н.В., Краснов Я.М., Никифоров К.А., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Кутырев В.В.* Природный мегаочаг основного подвида Yersinia pestis античного биовара филогенетической ветви 4. ANT в Горном Алтае. Проблемы особо опасных инфекций. — 2018. — № 2. — С. 49–56.
3. *Kevin M., Girault G., Caspar Y., Cherfa M.A., Mendy C., Tomaso H., Gavier-Widen D., Escudero R., Maurin M., Durand B., Ponsart C., Madani N.* Phylogeography and Genetic Diversity of Francisella tularensis subsp. holarctica in France (1947–2018). Frontiers in Microbiology. 2020; 11:287.
4. *Kuzmin I.V., Botvinkin A.D., McElhinney L.M., Smith J.S., Orciari L.A., Hughes G.J., Fooks A.R., Rupprecht C.E.* Molecular epidemiology of terrestrial rabies in the former Soviet Union. Journal of wildlife diseases. 2004; 40(4):617–631.
5. *Lärkeryd A., Myrtennäs K., Karlsson E., Dwibedi C.K., Forsman M., Larsson P., Johansson A., Sjödin A.* CanSNPer: a hierarchical genotype classifier of clonal pathogens. Bioinformatics. 2014; 30(12):1762–1764.
6. *Troupin C., Dacheux L., Tanguy M., Sabeta C., Blanc H., Bouchier C., Vignuzzi M., Duchene S., Holmes E.C., Bourhy H.* Large-scale phylogenomic analysis reveals the complex evolutionary history of rabies virus in multiple carnivore hosts. PLoS pathogens. 2016; 12(12):e1006041.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ КОНСЕРВАНТОВ НА БАКТЕРИОФАГ ПРИ КОНСТРУИРОВАНИИ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ХОЛЕРЫ

Глазкова Е.А., Гумаюнова К.С., Комиссаров А.В., Овчинникова М.В.

ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия

Введение

Возникновение устойчивости патогенных бактерий к лекарственным препаратам является одной из главных угроз здоровью человека. Особую тревогу вызывает стремительное распространение в мире возбудителей особо опасных инфекций,

устойчивых к антибиотикам. При лечении холеры, наряду с регидратационными растворами, применяются различные антибактериальные препараты, использование которых позволяет значительно сократить длительность периода диареи, а также время выделения возбудителя от больного. Однако широкое и бесконтрольное использование антибиотиков стало ключевой причиной появления штаммов *Vibrio cholerae* O1 серогруппы, обладающих антибиотикорезистентностью [Колосова Л.В и др., 2016]. В связи с этим, актуальным являются исследования в области применения для лечения различных острых кишечных инфекций (ОКИ) бактериофагов, главными преимуществами которых являются специфичность, в том числе в отношении антибиотикорезистентных штаммов возбудителей, а также низкая токсичность для человека [Перепанова Т.С. и др., 2021]. Перспективным, по нашему мнению, является конструирование лечебно-профилактической системы, основу которой будут составлять бактериофаг и энтеросорбент, выполняющий дополнительно функцию безопасной доставки фага в место дислокации патогена. Для снижения возможной контаминации посторонней микрофлорой на отдельных этапах производства такого комплексного препарата предполагается использование консервирующих веществ.

Целью работы являлось изучение влияния различных консервантов на литическую активность бактериофага при конструировании комплексного препарата для лечения и профилактики холеры.

Материалы и методы

Для исследования использовали холерный бактериофаг, представляющий собой стерильный фильтрат фаголизата бульонной культуры холерного вибриона, содержащий взвесь частиц фагов в определенной концентрации.

Комплексообразующие агенты — представители различных групп энтеросорбентов:

- Полисорб® МП (АО «Полисорб», Россия, Р № 001140/01), разрешенный к применению в качестве энтеросорбента;
- Пектин яблочный Val´de (ООО «ОК-Групп», Россия), широко используемый в качестве биологически активной добавки.

Консерванты:

- Хлороформ;
- Хинозол (8-Оксихинолина сульфат).

Для получения экспериментальных комплексов, холерный бактериофаг смешивали с хлороформом в соотношении 1 : 10, с хинозолом до конечной концентрации консерванта 0,01%. Предложенные концентрации используют в лекарственных препаратах для применения peros. Далее 1 : 1 добавляли растворы энтеросорбентов в концентрациях 2,5% и 5%. Температура и время комплексообразования составляли 0,5 ч, 1 ч, 1,5 ч, 2 ч и 18 ч. Зависимость литической активности экспериментальных составов от условий комплексообразования (концентрация энтеросорбента и время) исследовали методом Фишера. Для дифференциации результатов литической активности экспериментальных комплексов от их отдельных компонентов, в качестве контролей использовали бактериофаг без энтеросорбента, растворы энтеросорбентов в обозначенных выше концентрациях. Литическую активность комплексов учитывали визуально через 18–20 часов инкубации. За положительный результат считали любую степень лизиса на месте нанесения комплекса по условной четырехкрестовой шкале:

- 4 креста — полный, сливной лизис культуры с прозрачным дном литического пятна;
- 3 креста — прозрачное пятно с колониями вторичного роста или много изолированных литических пятен;
- 2 креста — полупрозрачное пятно или единичные изолированные пятна лизиса;
- 1 крест — слабозаметное пятно лизиса культуры.

Результаты и обсуждение

Результаты оценки литической активности комплексов при добавлении консервантов приведены в таблице. Анализ полученных данных свидетельствует о том, что бактериофаг сохраняет свою литическую активность на исходном уровне вне зависимости от времени комплексообразования во всех исследуемых образцах.

Таблица 1

Оценка литической активности экспериментальных комплексов методом Фишера

Энтеросорбент	Концентрация энтеросорбента, %	Консервант	Время инкубации, ч					Контроль орбента	Контроль фага
			0,5	1	1,5	2	18		
Полисорб® МП	2,5	Хинозол	++++	++++	++++	++++	++++	—	++++
		Хлороформ	++++	++++	++++	++++	++++		
	5	Хинозол	++++	++++	++++	++++	++++	—	++++
		Хлороформ	++++	++++	++++	++++	++++		
Пектин яблочный Val´de	2,5	Хинозол	++++	++++	++++	++++	++++	—	++++
		Хлороформ	++++	++++	++++	++++	++++		
	5	Хинозол	++++	++++	++++	++++	++++	—	++++
		Хлороформ	++++	++++	++++	++++	++++		

Заключение

Таким образом, опираясь на результаты исследований, можно сделать вывод, что хинозол и хлороформ в рекомендованных концентрациях пригодны для использования в качестве консерванта при конструировании комплексного препарата с бактериофагом и энтеросорбентом.

Список литературы

1. *Колосова Л.В., Гунар О.В.* К вопросу об антимикробных консервантах лекарственных препаратов для детей // Вестник РУДН. Серия «Медицина». — 2016. — № 1. — С. 123–128.
2. *Перепанова Т.С., Казаченко А.В., Хазан П.Л., Малова Ю.А.* Терапевтическое применение бактериофагов: назад в будущее // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2021. — № 23(1). — С. 55–64. — DOI: 10.36488/cmac.2021.1.55-64

ИЗУЧЕНИЕ ЦИРКУЛЯЦИИ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ «ESKAPE»-МИКРООРГАНИЗМОВ В МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЯХ ГОРОДА РОСТОВА-НА-ДОНУ

Голошва Е.В., Маркова К.Г., Алешукина А.В.

ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Антибиотикорезистентность является одной из самых сложных современных проблем мирового здравоохранения. Проанализированные ВОЗ данные из 114 стран по проблеме антибиотикорезистентности позволили сделать вывод о том, что резистентность к антибиотикам на сегодняшний день отмечается уже во всех странах независимо от уровня их благосостояния и экономического развития [Global Health Observatory, WHO, 2017]. Проблема резистентности во многом обусловлена широким и часто нерациональным использованием антибактериальных препаратов. Инфекции, вызванные резистентными штаммами микроорганизмов, характеризуются более тяжелым течением, чаще требуют госпитализации больного, увеличивают продолжительность пребывания его в стационаре, предполагают применение комбинированной антимикробной терапии с использованием резервных препаратов [Всемирная организация здравоохранения, 2021]. Одной из комплексных мер по предотвращению случаев ИСМП в стационарах является современный научно-обоснованный подход к мониторингу за циркуляцией условно-патогенных антибиотикорезистентных микроорганизмов в МО страны [Акимкин В.Г. и др., 2019; Государственный доклад, 2017; Алешукина А.В. и др., 2020].

Особенную опасность во всем мире представляет наблюдаемое в последнее десятилетие возникновение и быстрое распро-

странение патогенных микроорганизмов, обладающих множественной устойчивостью к антибиотикам [Виноградова К.А. и др., 2013]. Данные микроорганизмы относят к группе так называемых «eskape»-микроорганизмов (*Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumanii, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacteriaceae*), которые способны уклоняться от воздействия широко используемых антибиотиков и являются основной причиной внутрибольничных инфекций [Тапальский Д.В., 2012].

В Постановлении Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 4 условно-патогенные микроорганизмы из группы «eskape» названы наиболее часто встречающимися этиологическими агентами ИСМП.

В рамках работы научно-методического центра по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных инфекций III–IV групп патогенности нами совместно со специалистами МО г. Ростова-на-Дону и Ростовской области проводится мониторинг за циркуляцией антибиотикорезистентных микроорганизмов внутри стационаров, что позволяет оценить риск возникновения вспышек ИСМП и способствовать их предотвращению.

Цель

Осуществление мониторинга за уровнем резистентности к антимикробным препаратам (АМП) штаммов условно-патогенных микроорганизмов (УПМ), относящихся к группе «eskape»-микроорганизмов, выделенных от пациентов ГБУ РО «Областная клиническая больница № 2» г. Ростова-на-Дону.

Материалы и методы

На протяжении 2022–2023 гг. было проведено изучение чувствительности к антибиотическим препаратам у 7590 штаммов УПМ, выделенных от пациентов данного многопрофильного стационара. Бактериологические исследования производились в соответствии с общепринятыми методическими указаниями. Идентификация выделенных микроорганизмов и определение чувствительности к АМП производилась при помощи бактерио-

логического анализатора Vitek-2 (BioMerieux). Чувствительность к антибиотическим препаратам определялась в соответствии с клиническими рекомендациями в зависимости от видовой принадлежности штаммов.

Результаты и обсуждение

Выделенные от пациентов УПМ, относящиеся к группе «eskape»-микроорганизмов, наиболее часто обнаруживались в моче (93,6%), в мокроте и бронхоальвеолярном лаваже (4,3%), крови (1,9%).

Из различных биотопов чаще других выделялись энтерококки (*E. faecalis, E. faecium*) — 45,0% случаев. Условно-патогенные энтеробактерии (УПЭБ), представленные *K. pneumoniae, E. coli, E. cloacae*, были выявлены в 36,0%. Неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОБ), представленные *A. baumanii, P. aeruginosa*, выделялись в 5,0% случаев. Золотистые стафилококки обнаруживались в 3,0%, коагулазоотрицательные стафилококки — 11,0%.

Проведенный анализ чувствительности к антибиотикам позволил выявить полиантибиотикорезистентность штаммов *A. Baumanii* практически ко всем изученным АМП. Так на протяжении периода наблюдений зафиксирована 100% резистентность к таким ингибиторзащищенным беталактамным препаратам как амоксициллин/клавулановая кислота, ампициллин (беталактамный препарат), цефалоспоринам III–IV поколения, таким как цефотаксим, цефепим, цефтазидим, фторхинолонам, представленным ципрофлоксацином (I поколение). Прослеживалась явная тенденция к нарастанию резистентности ацинетобактера к аминогликозидам (гентамицин), карбапенемам (имипенем, меропенем) и сульфаниламидным препаратам (триметоприм-сульфаметоксазол).

Штаммы *P. aeruginosa*, выделенные от пациентов стационара, обладали 100% резистентностью к бета-лактамному препарату — ампициллину. Обнаруживалась тенденция к нарастанию частоты встречаемости резистентных штаммов (с 69 до 100% штаммов) в отношении ингибиторзащищенного беталактамного препарата — амоксициллин/клавулановой кислоты, также

зафиксирована тенденция к нарастанию резистентности в отношении цефалоспоринов III–IV поколения и карбапенемов. В отношении аминогликозидных препаратов и фторхинолонов более 50% изученных штаммов *P. aeruginosa* сохраняли чувствительность.

Выделенные от пациентов стационара штаммы *K. pneumoniae*, так же, как и *A. baumanii* и *P. aeruginosa*, были 100% устойчивы в отношении ампицилина. Наблюдалась тенденция к нарастанию частоты встречаемости устойчивых штаммов *K. pneumoniae* в отношении амоксициллин/клавулановой кислоты, цефалоспоринов III–IV поколения и сульфаниламидным препаратам.

Входящий в группу «eskape»-микроорганизмов *E. faecium* на протяжении всего периода наблюдений обладал стабильно высокой резистентностью к АМП, предписанным протоколом лечения. Практически 100% штаммов *E. faecium* были резистентны к бета-лактамным препаратам, аминогликозидам и фторхинолонам. Единственным препаратом выбора в отношении *E. Faecium* на протяжении лет наблюдения оставался ванкомицин.

В течение изученного периода количество штаммов *S. aureus*, обладающих антибиотикорезистентностью в отношении большинства изученных АМП, оставалось невысоким. Стабильной устойчивостью штаммы золотистого стафилококка обладали в отношении бензилпенициллина (87%), выявлена тенденция к нарастанию резистентности в отношении клиндамицина, эритромицина и рифампицина.

В отличие от штаммов золотистого стафилококка штаммы коагулазоотрицательных стафилококков (КОС) обладали более выраженной антибиотикорезистентностью ко всем группам исследованных препаратов. Так к ингибиторзащищенным бета-лактамным препаратам, таким как бензилпенициллин и амоксициллин/клавулановая кислота резистентных штаммов КОС обнаружено до 99 и 63% соответственно. К эритромицину (макролиды I поколения) — 51–88% устойчивых штаммов, ципрофлоксацину (фторхинолоны I поколения) — 43–66%, клиндамицину (линкозамиды полусинтетические) — 36–45% штаммов КОС были резистентны. Обращает внимание тот факт, что оксациллин/цефокситин скриннинг выявил нарастание количества штаммов КОС, обладающих бета-лактамазами.

В отношении современных препаратов, таких как ванкомицин (гликопептидные препараты) и линезолид, 100% штаммов стафилококков, как коагулазоположительные, так и коагулазоотрицательные обладали высокой чувствительностью.

Заключение

На основании проведенного в течение 2022–2023 гг. анализа степени антибиотикорезистентности штаммов условно-патогенных микроорганизмов, выделенных от пациентов многопрофильного стационара, была выявлена тенденция к нарастанию частоты встречаемости штаммов, относящихся к группе «eskape»-микроорганизмов (*E. faecium, S. aureus, K. pneumoniae, A. baumanii, P. aeruginosa, Enterobacter* spp.), устойчивых практически ко всем группам АМП, применяемых в стационаре.

Негативным прогностическим признаком является выявленная у штаммов грамотрицательных неферментирующих бактерий, представителей семейства *Enterobacteriaceae* и коагулазоотрицательных стафилококков резистентность к ингибиторзащищенным бета-лактамным препаратам, что может свидетельствовать о циркуляции в многопрофильном стационаре штаммов УПМ, обладающих ферментами класса бета-лактамаз.

Препаратами выбора продолжают оставаться антибиотики группы карбапенемов и аминогликозидов при наблюдающейся тенденции к снижению чувствительности к ним выделенных штаммов «eskape»-микроорганизмов.

Мониторинг антибиотикорезистентности штаммов условно-патогенных бактерий позволит оптимальным образом скорректировать схемы назначения антибактериальных препаратов в МО, оценить риски возникновения ИСМП и разработать соответствующие противоэпидемические мероприятия.

Список литературы

1. *Акимкин В.Г., Тутельян А. В., Орлова О.А., Голубкова А.А., Квасова О.А., Сычева Н.В.* Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП) / Информационный бюллетень за 2018 г. — М., 2019. — 52 с.
2. *Алешукина А.В., Голошва Е.В., Маркова К.Г., Алешукина И.С., Полищук И.С., Твердохлебова Т.И., Будник Н.В., Ефименко Т.Н., Саватеева А.Г., Харитонова М.А., Жуковская И.В.* Мониторинг устойчивости к антибиотикам нефер-

ментирующих бактерий, циркулирующих в г. Ростове-на-Дону // Главный врач Юга России. — 2020. — № 2. — С. 4–6.
3. *Виноградова К.А., Булгакова В.Г., Полин А.Н., Кожевин П.А.* Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам: резистома, ее объем, разнообразие и развитие // Антибиотики и химиотерапия. — 2013. — № 38(5–6). — С. 38–48.
4. *Тапальский Д.В.* Чувствительность к комбинациям антибиотков продуцирующих карбапенемазы нозокомиальных штамммов грамотрицательных бактерий, выделенных в Беларуси // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2018. — № 20(3). — С. 182–191.
5. Государственный доклад Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016». — 2017. — 220 с.
6. Приоритизация патогенов как ориентир для поиска. научного исследования и разработки новых антибиотиков для лечения инфекций, вызванных лекарственно-резистентными бактериями, включая туберкулез [Prioritization of pathogens to guide discovery, research and development of new antibiotics for drug-resistant bacterial infections, including tuberculosis]. — Женева: Всемирная организация здравоохранения, 2021. Лицензия: CCBY-NC-SA 3.0 IGO.
7. World Health Organization. Global Health Observatory (GHO) Data [Online] 7 August 2017. (https://www.who.int/publications/i/item/9789240062702, по состоянию на 20 мая 2024 г.).

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ РАЗРАБОТКИ И ПРОИЗВОДСТВА НОВЫХ ХОЛЕРНЫХ ВАКЦИН

Громова О.В., Волох О.А., Заднова С.П., Никифоров А.К.

ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия

Введение

В России и в мире обстановка по холере оценивается как неустойчивая, прогноз остается неблагоприятным, поэтому разработка и усовершенствование современных безопасных вакцин против холеры является важным и перспективным направлением научных исследований [Носков А.К. и др., 2023; International

health Regulations, WHO, 2023]. По требованиям ВОЗ для предотвращения возникновения эпидемий холеры вне эндемичных территорий рекомендуется использование оральных холерных вакцин для вакцинации контингентов с высоким риском инфицирования, а также путешественников [Kanungo S. et al., 2022]. Вакцины должны быть относительно дешевы и просты в применении [Shaikh H. et al.,2020]. Согласно стратегии ВОЗ, расширение мощностей по производству вакцины внесет значительный вклад в реализацию Глобальной дорожной карты до 2030 года «Покончить с холерой», цель которой состоит в том, чтобы добиться снижения смертности от холеры на 90% и ликвидации холеры в 20 странах к концу текущего десятилетия [International health Regulations, WHO, 2017].

Целью данной работы явился анализ перспективных направлений для создания новых оральных холерных вакцин на базе имеющейся универсальной технологической линии.

Результаты и обсуждение

В настоящее время в мире существуют три преквалифицированные ВОЗ пероральные вакцины против холеры: Dukoral (SBL, Швеция), Shanchol (Shantha Biotechnics, Индия), Euvichol (EuBiologics, Южная Корея). Последние две — это инактивированные модифицированные цельноклеточные бивалентные (созданные на основе штаммов серогрупп О1 и О139) вакцины. Они имеют одинаковый состав, а также сопоставимые профили безопасности и иммуногенности. Все преквалифицированные ВОЗ вакцины являются цельноклеточными, инактивированными, двухдозовыми.

Активно идут работы по созданию вакцин на базе генно-инженерных штаммов, разрабатываются живые вакцины, способные обеспечивать долгосрочную защиту после введения одной дозы [International health Regulations, WHO, 2024].

В Российской Федерации зарегистрирована вакцина холерная бивалентная химическая (таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой), которая в настоящее время остается единственным препаратом для профилактики холеры, включенным в календарь профилактических прививок по эпидеми-

ческим показаниям. Данная вакцина была разработана в 1990 г. в институте «Микроб» [Джапаридзе М.Н. и др., 1991], внедрена в практику здравоохранения России, серийный выпуск был начат в 1995 г. В отличие от зарубежных инактивированных вакцин, применение холерной химической вакцины предполагает однократную вакцинацию. Производство холерной химической вакцины осуществляется на технологической площадке ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора в соответствии с требованиями нормативно-технической документации, является многоэтапным и время затратным процессом.

Однако при возможных чрезвычайных ситуациях резко возрастает потребность в вакцине, что диктует необходимость создания технологий, позволяющей быстро получать большое количество необходимого препарата.

Для ускорения процессов разработки и регистрации вакцинных препаратов предложена технология модульных вакцин. Разработана технология получения из штаммов *Vibrio cholerae* O139 серогруппы компонента, дополняющего коммерческую оральную холерную химическую вакцину и создание на этой основе профилактического препарата для защиты населения от возбудителя холеры O139 серогруппы [Громова О.В. и др., 2000].

Показана возможность профилактики диареи путешественников с помощью вакцины против холеры [Leung A.K.C. et al., 2019]. В Канаде и Швейцарии для профилактики диареи путешественников, вызванной токсинпродуцируемыми штаммами *Escherichia coli*, используют вакцину против холеры (инактивированная вакцина, содержащая *V. cholerae* O1 и B-субъединицу холерного токсина, WC/rBS) [López-Gigosos R. et al., 2013].

С целью расширения возможности применения холерной химической вакцины планируется изучение ее защитной эффективности от заражения энтеротоксигенными *E. coli*.

Для проведения крупномасштабных мероприятий по вакцинации населения необходимо производство дешевого и относительно простого в изготовлении препарата. Одним из перспективных вариантов в решении данной проблемы является разработка отечественной инактивированной клеточной пероральной

вакцины для профилактики холеры и создание технологической линии для ее производства.

Создание инактивированной вакцины должно включать в себя следующие этапы работы: определение состава вакцины, штаммов-продуцентов бактериальной массы, разработка технологии, лекарственной формы, схемы применения, методологии определения эффективности и безопасности компонентов и иммунобиологического препарата.

В институте «Микроб» был проведен биоинформационный анализ штаммов *V. cholerae*, хранящихся в ГКПБ, наиболее близких аналогов зарубежным вакцинным штаммам. Проведен филогенетический анализ штаммов, депонированных в NCBI и секвенированных, но не депонированных штаммов с использованием сервера REALPHY (Reference sequence Alignment-based Phylogeny builder) (http://realphy.unibas.ch), на основании которого отобраны штаммы *V. cholerae* — кандидатные для использования в качестве вакцинных. В настоящее время нами проводятся исследования по оптимизации условий культивирования кандидатных штаммов, получению биомассы, условий ее инактивации и стабилизации для сохранения иммуногенности, разработке методов оценки остаточной токсичности и специфической активности. Кроме того, проводится оценка возможности модернизации существующей технологической линии по производству холерной химической вакцины с целью разработки универсальной гибкой технологии, позволяющей выпускать существующую и новую холерные вакцины.

Реализация данного проекта расширит спектр выпускаемых в Российской Федерации препаратов для профилактики холеры и позволит масштабировать выпуск вакцины в случае чрезвычайной ситуации для массовой иммунизации населения.

Список литературы

1. *Громова О.В., Джапаридзе М.Н., Дятлов И.А., Елисеев Ю.Ю., Киреев М.Н., Наумов А.В., Кузьмиченко И.А., Тараненко Т.М.* Оральная химическая вакцина против холеры. Патент РФ № 2159128, опубл. 20.11.00. Бюл. № 32.
2. *Джапаридзе М.Н., Наумов А.В., Никитина Г.П.* и др. Оральная химическая вакцина из гипертоксигенных штаммов КМ-76 Инаба и КМ-68 Огава возбудителя холеры // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 1991. — № 4. — С. 31–33.

3. *Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Соболева Е.Г., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Меньшикова Е.А., Подойницына О.А., Ежова М.И., Евтеев А.В.* Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз на 2023 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 1. — С. 56–66. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66
4. *Kanungo S., Azman A.S, Ramamurthy T., Deen J., Dutta S.* Cholera. Lancet. 2022; 399(10333):1429–1440. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)00330-0.
5. *Leung A.K.C, Leung A.A.M, Wong A.H.C, Hon K.L.* Travelers' Diarrhea: A Clinical Review. Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov. 2019; 13(1): 38–48. DOI: 10.2174/1872213X13666190514105054
6. *López-Gigosos R., Campins M., Calvo M.J., Pérez-Hoyos S., Díez-Domingo J., Salleras L., Azuara M.T., Martínez X., Bayas J.M., Ramón Torrell J.M., Pérez-Cobaleda M.A., Núñez-Torrón M.E., Gorgojo L., García-Rodríguez M., Díez-Díaz R., Armadans L., Sánchez-Fernández C., Mejías T., Masuet C., Pinilla R., Antón N., Segarra P.* Effectiveness of the WC/rBS oral cholera vaccine in the prevention of traveler's diarrhea: a prospective cohort study. Hum Vaccin Immunother. 2013;9(3):692–698. DOI: 10.4161/hv.23267
7. *Shaikh H., Lynch J., Kim J., Excler J.L.* Current and future cholera vaccines. Vaccine. 2020; 38(1): A118–A126. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.12.011
8. WHO [Electronic resource]. URL: https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON437 (дата обращения 30.03.2023).
9. WHO [Electronic resource]. URL: https://choleraoutbreak.org/ru/book-page/razdel-9-oralnaya-vakcina-protiv-kholery(дата обращения 27.03.2024).
10. WHO [Electronic resource]. URL: https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/prevention-for-a-cholera-free-world(дата обращения 27.03.2024).

ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ *ACINETOBACTER BAUMANNII*, ВЫДЕЛЕННЫХ В МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЯХ Г. РОСТОВА-НА-ДОНУ

Гудуева Е.Н., Чемисова О.С.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

В последнее время *Acinetobacter baumannii* является одним из важных нозокомиальных патогенов, распространенных по всему миру. Он может сохранять жизнеспособность в течение дли-

тельного периода времени и обладает множеством механизмов выживания, что повышает его способность к распространению [Лавриненко А.В.,2019].

Вид *A. baumannii* обычно вызывает внутрибольничные инфекции, преимущественно аспирационную пневмонию и катетер-ассоциированную бактериемию, но также может вызывать инфекции мягких тканей и мочевыводящих путей. Все чаще поступают сообщения о внебольничных инфекциях, вызванных *Acinetobacter* spp. [Wong D. et al., 2017].

Благодаря молекулярно-генетическим исследованиям постоянно пополняются данные о механизмах патогенности *A. baumannii*. Описано множество факторов патогенности, включая образование биопленки, механизмы адгезии, усвоение железа, активность полисахаридных мембранных и белковых фосфолипаз внешней мембраны, изменения в пенициллинсвязывающих белках и везикулах внешней мембраны (OMV) [Лавриненко А.В., 2019; Wong D. et al., 2017]. A. baumannii обладает широким спектром данных факторов в различных сочетаниях, экспрессия которых ведет к разнообразию клинических проявлений инфекции.

Цель исследования — выявление факторов патогенности штаммов *A. baumannii*, выделенных из образцов мокроты пациентов и из смывов с объектов окружающей среды в медицинских организациях г. Ростов-на-Дону.

Материалы и методы

Объектом исследования являлись штаммы *A. baumannii*, выделенные ранее (2020–2023) из образцов мокроты, полученных от пациентов медицинских организаций г. Ростов-на-Дону [Павлович Н.В. и др., 2023], а также изолированные из смывов с объектов окружающей среды (ООС). Среди пациентов с внебольничными пневмониями было выделено 13 штаммов *A. baumannii*. Штаммы (13 изолятов) были получены, также от пациентов, которые находились в стационаре более пяти дней. Кроме того, 7 штаммов были выделены из смывов с объектов окружающей среды. Культивирование микроорганизмов проводили бактериологическим методом в соответствии с МУК

3.1.2/4.2.3373-23 «Эпидемиологический надзор за внебольничными пневмониями». Для определения видовой принадлежности использовали метод времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF) с программным обеспечением MALDI Biotyperv. 3.0. (Bruker Daltonics, Германия). В качестве критерия видовой идентификации были использованы рекомендуемые значения «Score» ≥ 2,3. Полногеномное секвенирование штаммов проводили на платформе «Illumina Mi Seq» с использованием набора «Nextera DNA Library Preparation Kit». Поиск генов факторов патогенности *A. baumannii* проводили при помощи программы Fragment Extractor (http://antiplague.ru/fragment-extractor/). В качестве базы данных нуклеотидных последовательностей использовали базу данных NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/).

Результаты и обсуждение

В результате поиска генов факторов патогенности были обнаружены гены ответственные за образование биопленки (*Pilli, RecA, Per, Csu, BFMs/BfmR*), адгезию (*OmpA, Omp33–36*), позволяющие выжить в условиях дефицита цинка и меди (*ZigA* и *TonB*), определяющие тип секреции (*Type II secretion system* и *Type VI secretion system*), различные регуляторы вирулентности (ADER и ADES), опосредующие адгезию в тканях и уничтожение клеток-хозяев (*FhaB* и *penicillin-bindingprotein* 7/8). Также идентифицированы гены ответственные за выживаемость — *ZnuB*, *SurA1*, инвазию клеток-хозяев — *PLD/PLC*, уклонение от системы комплимента (*Tuf*). Однако их представленность среди изученных штаммов отличается.

У всех внебольничных штаммов *A. baumannii,* выявлены гены, отвечающих за формирование биопленки — *Pilli*, а также *Tuf* который может способствовать вирулентности *A. baumannii*, способствуя его распространению и уклонению от системы комплемента [Koenigs A. et al.,2015]. Среди внебольничных штаммов у 92,5% были выявлены гены, кодирующие белок внешней мембраны А (*OmpA*), модулирующие образование биопленки *RecA* и способствующие выживанию в условиях дефицита цинка *ZigA* [Nairn et al., 2016]. У большинства штаммов (84,6%) выявлен ген, кодирующий *TonB*-зависимый рецептор меди, который

отвечает за усвоение меди, и необходим для выживания бактерий в крови и легких [Скурихина Ю.Е. и др., 2016]. Значительная часть штаммов — 69,2%, обладала генами факторов вирулентности, способствующими биопленкообразованию, такие как двухкомпонентная система (*BFMs/BfmR*), поверхностный антигенный белок влияющий на приспособление и рост — *SurA1* [Dong L. et al., 2016]. Многие из исследованных штаммов (61,5%) обладали генами, отвечающими за адгезию *Omp33–36* и выживаемость *ZnuB*. Около половины штаммов (53,8%) содержали гены регулятора вирулентности *ADER* и *ADES*, а также гены секреции *Type II secretion system*, способствующие выживанию микроорганизма. Кроме того, у менее половины штаммов были выявлены и другие гены патогенности (15,3–46,1%) ответственные за систему шаперон-ашерной сборки пилей (*Csu*), образование биопленки и прикрепление PER [Zeighami H. et al., 2019], инвазию клеток-хозяев *PLD/PLC* [Stahl J. et al., 2015], систему секреции *Type VI secretion system*, адгезию в тканях и уничтожение клеток-хозяев FhaB и penicillin-binding protein 7/8 (*pbpG*) [Shadan A. et all., 2023].

При изучении штаммов полученных из образцов мокроты от пациентов, находящихся в стационаре также были обнаруженных гены, отвечающие за патогенность *A. baumannii*. У большинства штаммов выявлен ген, позволяющий выжить в условиях дефицита меди — *TonB* [Скурихина Ю.Е. и др., 2016]. Вместе с тем у 76,9% штаммов обнаружены гены, кодирующие белок внешней мембраны А (*OmpA*), отвечающие за подвижность и образование биопленки *Pilli* и *RecA*, систему секреции *Type II secretion system*, способствующий выживанию и росту *ZigA* [Nairn et al., 2016]. В 69,2% исследованных штаммах идентифицированы *SurA1*, гены регуляторы вирулентности *ADER* и *ADES* [Shadan A. et al., 2023], ген *Tuf* способствующий вирулентности [Koenigs A. et al.,2015]. *Omp 33–36* и *ZnuB* выявлены в 53,8% и 61,5% случаев соответственно. Остальные гены обнаружены в меньшей степени (23,07–46,1%). Гены, обуславливающие инвазию клеток-хозяев *PLD/PLC*, выявлены не были.

Штаммы, выделенные из смывов ООС одного медицинского учреждения, обладали сходными детерминантами генов факто-

ров патогенности. Во всех штаммах *A. baumannii* установлено наличие генов, отвечающих за адгезию и выживаемость, *OmpA* и *Omp 33–36*, образованию биопленки *Pilli* и *RecA*, способствующие вирулентности *Tuf, ADER* и *ADES* ответственные за выживаемость *ZigA, TonB, ZnuB*. Более половины штаммов (60% и 80%) обладали генами системы секреции *Type II secretion system*, обеспечения выживаемости *pbpG, SurA1*. У 40% *A. baumannii* гены участвующие в системе образование биопленки Csu и двухкомпонентная система *BFMs/BfmR*. И только в одном штамме выявлено наличие гена ответственного за адгезию в тканях и уничтожение клеток-хозяев (*FhaB*). При этом гены, обнаруженные в штаммах из клинического материала отвечающие за инвазию *PLD/PLC*, образование биопленки *PER*, и систему секреции *Type VI secretion system* выявлены не были.

Заключение

Наибольшая частота и спектр генов, кодирующих факторы адгезии, биопленкообразования встречается у штаммов, изолированных из клинического материала по сравнению с штаммами из ООС, что может определять более выраженные адгезивные и персистентные свойства, устойчивость к воздействию внешних факторов, антибактериальных препаратов. Не менее важным является этап инвазии, за возможность которого ответственны гены, выявленные у большинства исследованных штаммов. У изученных штаммов установлен широкий спектр генов, кодирующих факторы патогенности. Выявленные отличия между штаммами в составе данных генов свидетельствуют о циркуляции разных клонов.

Список литературы

1. *Лавриненко А.В.* Вирулентный *Acinetobacter baumannii* // Медицина и экология. — 2019. — № 3. — С. 21–25.
2. *Павлович Н.В., Чемисова О.С., Аронова Н.В., Цимбалистова М.В., Анисимова А.С., Гудуева Е.Н., Колотова О.Н., Катаева Л.В., Степанова К.Б., Бондаренко А.П., Теплякова Е.Д., Троценко О.Е., Степанова Т.Ф., Носков А.К.* Сравнительный анализ структуры возбудителей внебольничных и внутрибольничных пневмоний у пациентов в медицинских организациях Ростовской, Тюменской областей и Хабаровского края в современный период пандемии новой коронавирусной инфекции // Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 3. — С. 108–117. — DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-108-117

3. *Скурихина Ю.Е., Ибрагимова Т.Д., Скурихина Л.А., Туркутюков В.Б.* Молекулярно-эпидемиологический анализ штаммов *Acinetobacter baumannii*, выделенных у пациентов с ожоговой травмой // Современные технологии в медицине. — 2016; 8(1). — С. 134–139. — DOI: 10.17691/stm2016.8.1.18
4. *Koenigs A., Zipfel P.F., Kraiczy P.* orrection: Translation Elongation Factor Tuf of Acinetobacter baumannii Is a Plasminogen-Binding Protein. PLOS ONE. 2015;10(9):2. DOI: 10.1371/journal.pone.0138398
5. *Liu D., Liu Z.S., Hu P., Cai L., Fu B.Q., Li Y.S., Lu S.Y., Liu N.N., Ma X.L., Chi D., Chang J., Shui Y.M., Li Z.H., Ahmad W., Zhou Y., Ren H.L.* Characterization of surface antigen protein 1 (*SurA1*) from Acinetobacter baumannii and its role in virulence and fitness. Veterinary Microbiology. 2016; 186:126–38. DOI: 10.1016/j.vetmic.2016.02.018
6. *Nairn B.L., Lonergan Z.R., Wang J., Braymer J.J., Zhang Y., Calcutt M.W., Lisher J.P., Gilston B.A., Chazin W.J., Valerie de Cre´cy-Lagard, Giedroc D.P., Skaar E.P.* Cell Host & Microbe. 2016; 8(19):826–836. DOI: 10.1016/j.chom.2016.05.007
7. *Shadan A., Pathak A., Ma Y., Pathania R., Singh R.P.* Deciphering the virulence factors, regulation, and immune response to Acinetobacter baumannii infection. Frontiers Cellular Infection Microbiology. 2023; 13:18. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1053968
8. *Stahl J., Bergmann H., Göttig S., Ebersberger I., Averhoff B.* Acinetobacter baumannii Virulence Is Mediated by the Concerted Action of Three Phospholipases D.PLoS ONE. 2015; 10(9):19. DOI: 10.1371/journal.pone.0138360
9. *Wong D., Nielsen T.B., Bonomo R.A., Pantapalangkoor P., Luna B., Spellberg B.* Clinical and Pathophysiological Overview of Acinetobacter Infections: a Century of Challenges. Clinical Microbiology Reviews. 2017; 30(1):409–447. DOI: 10.1128/CMR.00058-16
10. *Zeighami H., Valadkhani F., Shapouri R., Samadi E., Haghi F.* Virulence characteristics of multidrug resistant biofilm forming Acinetobacter baumannii isolated from intensive care unit patients. BMC Infectious Diseases. 2019; 19(1):9. DOI: 10.1186/s12879-019-4272-0

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К БОРЬБЕ С КОМНАТНОЙ МУХОЙ С УЧЕТОМ МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Давлианидзе Т.А., Еремина О.Ю., Олифер В.В.

Институт дезинфектологии ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф.Эрисмана» Роспотребнадзора, г. Москва, Россия

Введение

Комнатная муха *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) сохраняет свое эпидемиологическое значение в качестве механического переносчика множества возбудителей болезней человека, в том числе таких кишечных инфекций, как брюшной тиф, дизентерия, холера [Hernández-Escareño J.J. et al., 2012, Geden C.J. et al., 2021]. При оценке векторного потенциала *M. domestica* в Индии Р. Фотедар [Fotedar R., 2001] показал, что из десяти исследованных пулов мух шесть (60%) оказались положительными на *Vibrio cholerae*. Из этих шести пулов в трех (50%) обнаружен *V. cholerae* Ogawa T2 El Tor и в одном (17,5%) *V. cholerae* non-O1. Использование инсектицидов для снижения численности комнатных мух — важная составляющая интегрированной системы мероприятий против кишечных инфекций.

Целью настоящего исследования было изучение токсикологических и биологических параметров культур *M. domestica*, имеющих высокую резистентность к пиретроидам, неоникотиноидам и фенилпиразолам и рекомендации к схемам ротации инсектицидов при борьбе с ними.

Материалы и методы

Объектом исследований являлись имаго природных популяций *M. domestica*, сбор которых был осуществлен в разных точках Московской и Калужской областей. Изучение уровней резистентности комнатной мухи, контактного и кишечного действия инсектицидов проводилось по методам, изложенным в Руководстве Р 4.2.3676-20 [Методы лабораторных исследова-

ний..., 2020], в сравнении с лабораторной чувствительной культурой S-НИИД, культивируемой в лаборатории Института дезинфектологии.

Результаты и обсуждение

Наши исследования показали, что 4 культуры *M. domestica*, полученные из выборок популяций, собранных в Европейской части России (Московская и Калужская обл.) высокорезистентны к контактному действию пиретроидов (циперметрин показатель резистентности (ПР) 75-900×), фенилпиразолов (фипронил ПР 5–75×), неоникотиноидов (тиаметоксам и клотианидин ПР 95–333×), толерантны к ФОС (хлорпирифос ПР 0,6–3,7×), чувствительны к пирролам (хлорфенапир ПР 0,25–1,25×) и оксадиазинам (индоксакарб ПР 0,24–1,46×). Показана сниженная чувствительность имаго комнатных мух природных культур к обработкам препаратами в аэрозольной упаковке — после непродолжительного нокдаун-эффекта большое количество подопытных насекомых восстанавливало жизненные функции (выживало до 90% имаго в зависимости от культуры). Эффективной была рецептура, в состав которой, кроме пиретроидов, был введен хлорфенапир. При скармливании отравленных приманок показана высокая устойчивость *M. domestica* к фипронилу (ПР 6,3–76,7×), тиаметоксаму (ПР 80–104×) и чувствительность к индоксакарбу (ПР 0,22–0,54×) и хлорфенапиру (ПР 1,8–2,8×). Показано значительное замедление действия промышленно производимых приманок на имаго мух резистентных культур.

Заключение

У комнатных мух из природных популяций установлена высокая резистентность к контактному и кишечному действию пиретроидов, фенилпиразолов, неоникотиноидов и чувствительность к новым для медицинской дезинсекции инсектицидам хлорфенапиру и индоксакарбу. На основании многолетнего мониторинга уровней резистентности природных популяций комнатной мухи на территории России нами предложено ввести в схемы ротации средства, содержащие в качестве действующего вещества индоксакарб и хлорфенапир, а также более широко

использовать регуляторы развития насекомых в противоличиночных мероприятиях. Рассчитаны диагностические концентрации наиболее массово применяющихся инсектицидов для использования в системе мониторинга за резистентностью комнатной мухи. Практические рекомендации нашли отражение в Методических рекомендациях «Профилактические и истребительные мероприятия против синантропных насекомых (тараканов, мух, ос)», находящихся в настоящее время на рассмотрении в Центральном аппарате Роспотребнадзора.

Список литературы

1. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности. Руководство Р 4.2.3676-20. Коллектив авторов. Утв. руководителем Роспотребнадзора 18.12.2020.
2. *Fotedar R.* Vector potential of houseflies (Musca domestica) in the transmission of *Vibrio cholerae* in India. Acta Trop. 2001; 78(1):31–34. DOI: 10.1016/s0001-706x(00)00162-5
3. Geden C.J., Nayduch D., Scott J.G., Burgess E.R., Gerry A.C., Kaufman P.E., Thomson J., Pickens V., Machtinger E.T. House fly (Diptera: Muscidae): biology, pest status, current management prospects, and research needs. J. Integr. Pest Manag. 2021;12(1):39. DOI: 10.1093/jipm/pmaa021
4. *Hernández-Escareño J.J., Rentería-Solís Z.M., Flores-Landaverde L.E., Hernández-Vidal G., Espinoza-Mata A., Zárate-Ramos J.J.* Presence of *Enterobacteriaceae, Listeria* spp.*, Vibrio* spp. *and Staphylococcus* spp. in house fly (*Musca domestica* L.), collected and macerated from different sites in contact with a few animals species. Rev. Cient. 2012; 22:128–134. http://www.fcv.luz.edu.ve/images/stories/revista_cientifica/2012/02/articulo4.pdf

КОМПОЗИЦИОННЫЙ СОСТАВ ПРЕПАРАТОВ ВЕЗИКУЛ ТОКСИГЕННЫХ И НЕТОКСИГЕННЫХ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAE* 01 EL TOR И 0139 СЕРОГРУПП

Дуванова О.В., Шипко Е.С., Писанов Р.В., Цырулина О.А., Чемисова О.С., Полеева М.В., Евдокимова В.В., Водопьянов А.С., Кругликов В.Д., Носков А.К.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Интерес к биогенезу, составу и свойствам OMV (outer membrane vesicles — OMV) микроорганизмов в настоящее время возрастает, в связи с появлением новых данных, доказывающих их важную роль в биологии многих возбудителей [Луста К. А. и др. 2015; Jan A. T. et. al., 2017; Луста К.А. и др. 2019].

Микроорганизмы могут использовать OMV, как медиаторы для реализации стратегии межклеточных коммуникаций, репрограммирования клеток-мишеней после интернализации [Kuehn M.J. et al., 2005], горизонтального переноса генов, экспортирования агрегированных белков и других компонентов клетки, в образовании и функционировании биопленок, реализации ответных реакций клеток на стресс, а также для формирования устойчивости к антимикробным препаратам/пептидам. Являясь частью бактериального секретома, OMV вовлечены в универсальный способ секреции: токсинов, гликопротеинов/ферментов, патоген-ассоциированных молекул, метаболитов, нуклеиновых кислот, ЛПС, белков, относящихся к семейству омптинов, а также белков, ответственных за сигналинг и клеточный транспорт и др.

Биологическая роль OMV разнообразна и зависит от их композиционного состава, определяемого уникальным механизмом сортинга. Данные по сравнительному анализу композиционного состава препаратов OMV, полученных из токсигенных и не-

токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп в литературе отсутствуют.

Цель

Изучение композиционного состава препаратов OMV штаммов *V. cholerae* O1 El Tor (*ctx*AB$^+$*tcp*A$^+$; *ctx*AB$^-$*tcp*A$^+$; *ctx*AB$^-$*tcp*A$^-$) и O139 (*ctx*AB$^+$*tcp*A$^+$; *ctx*AB$^-$*tcp*A) серогрупп, выделенных из различных источников.

Материалы и методы

В работе использовали 3 штамма: *V. cholerae* O1 El Tor биовара (*ctx*AB$^+$*tcp*A$^+$; *ctx*AB$^-$*tcp*A$^+$; *ctx*AB$^-$*tcp*A$^-$) и 2 штамма *V. cholerae* O139 серогруппы (*ctx*AB$^+$*tcp*A$^+$; *ctx*AB$^-$*tcp*A$^-$), выделенных из клинического материала и воды поверхностных водоемов, из которых получали препараты OMV по методу Langlete P. et al., 2013. Культуры микроорганизмов были получены из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. Методом ТЭМ с помощью электронного цифрового микроскопа Jeol JEM 1011 изучали строение препаратов OMV. Полногеномное секвенирование ДНК препаратов OMV проводили на платформе MiSeq (Illumina). Нуклеотидную и соответствующую аминокислотную последовательности генов *ompT*, *ompU* в препаратах OMV изучали с помощью биоинформационного анализа. Белковое профилирование препаратов OMV проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии с использованием масс-спектрометра Autoflex speed III Bruker Daltonics (Германия) с программным обеспечением Biotyper. ДНК-азную активность определяли с использованием ДНК-азного тест-агара (согласно инструкции). Активность N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы определяли качественным способом [Дуванова О.В. и др. 2016]. Содержание ЛПС и поверхностных антигенных детерминант (белки: OmpT, OmpU) в составе препаратов OMV определяли методом ИФА [Евдокимова В.В. и др., 2016; Евдокимова В.В. и др. 2015]. Определение холерного токсина (ХТ) проводили методом GM1-ИФА [Алексеева Л.П. и др. 2019]. Анализ спектра жирных кислот (ЖК) препаратов OMVи липи-

дома исходных клеток *V. cholerae* осуществляли методом газожидкостной хроматографии масс-спектрометрии (ГХ/МС) на приборе «Маэстро-2» («Интерлаб», РФ), созданным на базе Agilent [Шипко Е.С. и др., 2022]. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью общепринятых методов статистики с использованием пакета программ Microsoft Excel (Microsoft Office 2010).

Результаты и обсуждение

В результате исследования получены препараты OMV и проведен анализ их композиционного состава у токсигенных и нетоксигенныхштаммов

V. cholerae O1 и O139 серогрупп. С помощью ТЭМ выявлено, что полученные препараты OMV представлены структурамисферической формы и размером около 40–200 нм. Размер OMV, полученных из штаммов *V. cholerae* O1 серогруппы составил 80–200 нм, а из штаммов *V. cholerae* O139 — 40–80 нм, соответственно.

По результатам полногеномного секвенирования впервые установлено, что в составе препаратов OMV из токсигенных и нетоксигенных штаммов холерных вибрионов были обнаружены фрагменты хромосом *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп с различным набором генов. Обнаружено сходство и отличие представленности некоторых генов в препаратах OMV, полученных из токсигенных и нетоксигенных штаммов холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп.

Проведенный биоинформационный анализ нуклеотидных и соответствующих им аминокислотных последовательностей генов *ompT* и *ompU* в исходных штаммах и полученных из них препаратов OMV выявил совпадение анализируемых нуклеотидных последовательностей гена *ompT* исходных штаммов *V. cholerae* O1 серогруппы и препаратов OMV, а также соответствующих им аминокислотных последовательностей. В тоже время ген Δ*ompT* нетоксигенного штамма *V. cholerae* O139 серогруппы и препарата OMV был трункирован и отличался от гена представителей холерных вибрионов O1 серогруппы. Отличий в структуре гена *ompU* в исходных штаммах *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп и препаратах OMV, полученных из этих штаммов выявлено не

было. Препараты OMV содержали ДНК генов, аналогичные штаммам *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп, из которых они получены. Выявленная представленность ДНК генов в составе препаратов OMV наделяет их способностью осуществлять полноценный «везикулярный трафик» содержимого клетки, возможно способствуя реализации механизмов адаптации/персистенции токсигенных и нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп.

Протеомное профилирование препаратов OMV,полученных из токсигенных и нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп, выявило наличие общих спектральных масс-пиков, а также различия в масс-спектрометрических профилях.

Установлено, что все исследуемые препараты OMV обладали N-ацетил-β-D-глюкозаминидазной активностью, ферментом, входящим в состав хитинолитического комплекса холерных вибрионов, участвующем в расщеплении хитина. Нельзя исключить, что наличие этого фермента в составе OMV холерных вибрионов наделяет их определенными конкурентными преимуществами, усиливая адаптационный/персистентный потенциал. Во всех препаратах OMV выявлена ДНК-азная активность. ДНК-аза (нуклеаза), расщепляя фосфодиэфирные связи в ДНК вблизи пиримидиновых нуклеотидов и образуя при этом полинуклеотиды с концевым-5'-фосфатами свободной гидроксильной группой на 3'-конце ДНК, понижает вязкость окружающей среды. Нельзя исключить подобную роль этого фермента и в составе OMV холерного вибриона. Таким образом, как у исходных токсигенных и нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп, так и у всех изученных препаратов OMV присутствует N-ацетил-β-D-глюкозаминидазная и ДНК-азная активности, вероятно обеспечивающие вибрионам возможность адаптации к различным экологическим нишам и большую конкурентоспособность.

В препаратах OMV выявлены некоторые поверхностные антигенные детерминанты: белки OmpT, OmpU и ЛПС. ЛПС был обнаружен в составе всех исследуемых препаратов OMV и в исходных штаммах. Результаты проведенного исследования позволили установить, что наличие/отсутствие в препаратах OMV

белков наружных мембран OmpU и OmpT зависит от того, из какого штамма они были выделены.Возможно, что наличие этих белков наружной мембраны в составе препаратов OMV, полученных из токсигенных и нетоксигенных штаммов, обеспечивает определенное преимущество вибрионам в поддержании жизненного цикла (*lifestyle*). Присутствие в полученных препаратах OMV из штаммов *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп поверхностных антигенов (OmpT, OmpUи ЛПС) может обуславливать их участие в формировании специфического антибактериального иммунитета. Наличие ХТ было выявлено в препаратах OMV, полученных из токсигенных штаммов.

Методом ГХ/МС обнаружено во всех препаратах OMV увеличение общего количества мононенасыщенных ЖК по сравнению с исходными клетками. Выявлено, что индекс ненасыщенности ЖК достоверно был выше в препаратах OMV, по сравнению с исходными клетками. Ненасыщенные ЖК (ННЖК) повышают текучесть клеточных мембран, в этой связи нельзя исключить, что увеличение их количества в составе препаратов OMV может способствовать сохранению их содержимого, повышая адаптационный/персистентный потенциал холерных вибрионов. В отличие от исходных клеток в препаратах OMV, полученных из токсигенных и нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп наблюдали появление *trans*-изомеров ЖК и *iso*-разветвленных ЖК. Выявленные композиционные перестройки жирнокислотного состава препаратов OMV холерных вибрионов, по сравнению с исходными клетками, могут выполнять несколько важных функций: с одной стороны, участвовать в сохранении содержимого везикул, с другой — способствовать осуществлению динамического взаимодействия между везикулами и клетками микро- и макроорганизмов, а также с окружающей средой, участвуя в механизмах адаптации/персистенции и патогенности холерных вибрионов с помощью процесса везикуляции.

Заключение

Получены результаты, свидетельствующие о выявлении различий в композиционном составе препаратов OMV, получен-

ных из токсигенных и нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп. Детектированы отличия в белковых масс-спектрах, в спектрах ЖК, а также в представленности некоторых антигенных детерминант (OmpT и OmpU, ХТ).

По результатам полногеномного секвенированияустановлено, что в составе препаратов OMV из токсигенных и нетоксигенных штаммов холерных вибрионов были обнаружены фрагменты хромосом *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп, а также выявлено сходство и отличие представленности некоторых генов. Получены приоритетные данные, которые могут быть использованы как при разработках в РФ платформы для производства современных вакцинных препаратов с использованием OMV, полученных из штаммов холерных вибрионов, так и для расшифровки роли OMV в механизмах патогенности, адаптации и персистенции.

Список литературы

1. *Алексеева Л.П., Якушева О.А., Зюзина В.П., Дуванова О.В., Шипко Е.С., Писанов Р.В.* Современные методические приемы очистки холерного токсина // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. — 2019. — № 15(1). — С. 5–9.
2. *Дуванова О.В., Мишанькин Б.Н., Сорокин В.М.* N-ацетил–β–D-глюкозоаминидаза холерных вибрионов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2016. — № 2. — С. 41–48.
3. *Евдокимова В.В., Алексеева Л.П., Кретенчук О.Ф. Кругликов В.Д., Архангельская И.В., Бурша О.С.* Моноклональные антитела к термостабильным поверхностным антигенам холерных вибрионов О1- и О139-серогруппы // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2015. — № 20 (3). — С. 51–57.
4. *Евдокимова В.В., Алексеева Л.П., Кретенчук О.Ф., Кругликов В.Д., Архангельская И.В., Бурша О.С.* Иммуноферментные методы анализа в диагностике холеры // Клиническая лабораторная диагностика. — 2016. — № 5. — С. 303–307.
5. Луста К.А. Бактериальные мембранные внеклеточные нановезикулы: строение, биогенез, функции, использование в биотехнологии и медицине (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. — 2015. — № 51(5). — С. 443–452. — DOI: 10.24411/2075-4094-16306
6. *Луста К.А., Кондашевская М.В.* Участие внеклеточных мембранных нановезикул бактерий в патологических процессах (обзор литературы) // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. — 2019. — № 2. — С. 148–157. — DOI: 10.24411/2075-4094-2019-16306
7. *Шипко Е.С., Дуванова О.В.* Влияние температурного стресса на спектр жирных кислот штаммов *Vibrio cholerae* // Вестник Пермского университета. — 2022. — № 2. — С. 143–154. — DOI: 10.17072/1994-9952-2022-2-143-154

8. *Jan A.T.* Outer membrane vesicles (OMVs) of gram-negative bacteria: a perspective update. Front Microbiol. 2017; 8:1–11. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01053
9. *Kuehn M.J., Kesty N.C.* Bacterial outer membrane vesicles and the host–pathogen interaction. Genes Dev. 2005; 19 (22): 2645–2655. DOI: 10.1101/gad.1299905
10. *Langlete P., Krabberød A.K., Winther-Larsen H.C.* Vesicles from *Vibrio cholerae* contain AT-rich DNA and shorter mRNAs that do not correlate with their protein products. Front. Microbiol. 2019; 22(10): 2708. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02708

ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛЬНОГО РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ, ОБУСЛОВЛЕННЫХ ВОДНЫМ ПУТЕМ ПЕРЕДАЧИ

Журавлев П.В.

ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Сохранение здоровья населения является приоритетным направлением в работе органов здравоохранения. В современных условиях здоровье населения во многом определяются воздействием факторов окружающей среды. К числу важнейших факторов, характеризующих санитарно-эпидемическое благополучие, относится обеспечение населения доброкачественной питьевой водой [Государственный доклад..., 2019; Алешня В.В.и др.,1995; Борзунова Е. А. и др., 2007; Журавлев П.В., 2010].

Водные ресурсы, используемые для питьевых, хозяйственно-бытовых и рекреационных целей, являются одним из главных факторов риска, оказывающим значительное влияние на здоровье населения как на популяционном, так и на индивидуальном уровне. Бактериальные кишечные инфекции представляют собой риск для здоровья, связанный с условиями водопользования [Рахманин Ю.А., Доронина О.Д., 2010; Журавлев П.В. и др., 2018].

Оценка микробного риска играет важную роль при определении очередности мероприятий по обеспечению здоровья населения и предотвращению распространения кишечных инфекций, связанных с водным фактором. Выявление и регулирование возможного риска, особенно связанного со спорадическими вспышками острых кишечных инфекций [ОКИ], можно прогнозировать с помощью количественной оценки риска [Hrudey S.E. et al, 2006; Загайнова А.В. и др., 2010].

В связи с этим применение метода математического моделирования бактериальных кишечных инфекций, передаваемых водным путем, позволяет прогнозировать эпидемическую ситуацию. Оценка микробного риска играет важную роль при определении очередности мероприятий по обеспечению здоровья населения и предотвращению распространения кишечных инфекций, связанных с водным фактором [Журавлев П.В. и др., 2012; Загайнова А.В. и др., 2010].

Цель работы

Определение влияния санитарно-гигиенических условий населенного пункта на заболеваемость ОКИ, ассоциированными с водной средой.

Материалы и методы

Исследования проводили в г. Азове (население около 87 тыс. человек) Ростовской области. В основу работы положены методические рекомендации покомплексной оценке риска возникновения бактериальных кишечных инфекций, передаваемых водным путем [МР 2.1.10.0031-11].

Исследования были проведены с использованием расчета по оценочной шкале баллов (балльный метод или метод полуколичественного расчета), наиболее доступным для практического здравоохранения.

Результаты и обсуждение

Исследования проводились с использованием метода расчета степени эпидемической опасности возникновения ОКИ, передаваемых водным путем в зависимости от санитарно-гигиенических условий водопользования по оценочной шкале баллов.

Нами обобщен и проанализирован фактический материал исследований за 2015–2019 гг. питьевой воды г. Азова, воды р. Дон в районах водозабора и зонах рекреации, а также использованы материалы органов Роспотребнадзора, данные Водоканала, бюро технической экспертизы на изучаемой территории.

В ходе санитарно-бактериологического исследования воды определяли, помимо нормируемых микроорганизмов (ОКБ, ТКБ, ОМЧ), патогенные энтеробактерии — сальмонеллы, а также глюкозоположительные колиформные бактерии (ГКБ) и потенциально патогенные бактерии (клебсиеллы и синегнойные палочки). Их количественное содержание в воде было взято в расчет при определении степени потенциального риска возникновения бактериальных ОКИ водного происхождения.

Установлена высокая степень загрязнения воды водоисточника, зоны рекреации и питьевой воды г. Азова. В месте водозабора хозяйственно-питьевого водопровода г. Азова процент нестандартных проб воды (с индексом ОКБ > 1000 КОЕ/100 мл) составил — 100. За изученный период сальмонеллы были выделены в среднем в 48,5% проб воды, клебсиеллы и синегнойные палочки — в 100 % проб. Степень потенциальной эпидемической опасности (СПЭО) водоисточника по оценочным таблицам определена как высокая (24 балла) и не изменялась на протяжении всего периода наблюдения.

В зонах рекреации СПЭО воды за этот же период времени по бактериологическим показателям рассчитана как высокая (33 балла). Это связано с содержанием в пробах воды ОКБ со средним индексом 412 000 КОЕ/100 мл, а также с наличием патогенных микроорганизмов (сальмонелл и шигелл).

В предыдущий период (2010–2014) по нашим данным в среднем в питьевой воде г. Азова помимо ОКБ (25,7%) и ТКБ (7,9%), обнаружены потенциально патогенные микроорганизмы в 28,7% проб. В 2010 г. выделены сальмонеллы в 8 % проб воды. СПЭО питьевой воды г. Азова за период 2010–2014 гг. определена как высокая (61 балл).

На основании наших материалов в МП «Водоканал» были приняты меры по улучшению качества питьевой воды с проведением ряда технических мероприятий на водоочистных сооружениях и частичной заменой труб в разводящей городской сети.

В связи с этим в последующие годы (2015–2019) качество питьевой воды г. Азова значительно улучшилось. Патогенные эн-

теробактерии — сальмонеллы — не обнаруживались. В 2015–2019 гг. степень потенциального риска оценена как средняя (47 баллов). Снижение степени риска связано со снижением процента проб, в которых обнаружены потенциально патогенные бактерии. Также снизился процент проб, в которых обнаружены ОКБ и ТКБ, перед поступлением в распределительную сеть и в распределительной сети.

Оценка эпидемической опасности, связанной с условиями коммунального благоустройства г. Азова оценена как средняя. При этом отмечено снижение степени микробного риска от 21 балла в 2006 г. до 13 баллов к 2014 г., что обусловлено увеличением процента жителей, проживающих в благоустроенных домах коммунального и частного секторов, а также заменой труб в распределительной сети.

Комплексная оценка эпидемической опасности,связанной с санитарно-гигиеническими условиями водопользования населения, включает такие факторы как уровень загрязнения водоисточника и зоны рекреации, количество нестандартных проб воды централизованного водоснабжения и уровень коммунального благоустройства населенного места. По этим критериям степень возможной эпидемической опасности возникновения бактериальных ОКИ, связанных с водным фактором передачи, для населения г. Азова оценена в рассматриваемый период как средняя (110 баллов).

Выводы

Таким образом, выявлена зависимость эпидемиологического благополучия населения от качества водоснабжения и санитарно-технического состояния системы жилищно-коммунального хозяйства.

Список литературы

1. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 г.: Государственный доклад. — М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2019. — 210 с.
2. *Алешня В.В., Журавлев П.В., Головина С.В.* Влияние санитарно-гигиенических условий населенных пунктов на уровень заболеваемости населения кишечными инфекциями // Гигиена и санитария. — 1995. — № 2. — С. 6–8.

3. *Борзунова Е. А. Кузьмин С.В., Акрамов Р.Л., Киямова Е.Л.* Оценка влияния качества питьевой воды на здоровье населения // Гигиена и санитария. — 2007. — № 3. — С. 32–34.
4. *Журавлев П.В., Алешня В.В., Головина С.В., Панасовец О.П.* Мониторинг бактериального загрязнения водоемов Ростовской области // Гигиена и санитария. — 2010. — № 5. — С. 33–35.
5. *Рахманин Ю.А., Доронина О.Д.* Стратегические подходы управления рисками для снижения уязвимости человека вследствие изменения водного фактора // Гигиена и санитария. — 2010. — № 2: 8–13.
6. *Журавлев П.В., Алешня В.В., Ковалев Е.В, Швагер М.М.* Комплексное изучение микробного риска возникновения острых кишечных инфекций при оценке эпидемической безопасности питьевого водопользования. Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. — 2018. — № 7(3). — С. 7–14.
7. *Hrudey S.E., Hrudey E. J., Pollard S.J.* Risk management for assuring safe drinking water. Environ. Int. 2006; 32(8): 948–957.
8. *Загайнова А.В.* и др. Оценка микробного риска для установления зависимости между качеством воды и заболеваемостью населения кишечными инфекциями. Гигиена и санитария. 2010. — № 3. — С. 28–31.
9. *Журавлев П.В., Алешня В.В., Панасовец О.П., Артемова Т.З., Загайнова А.В.* Оценка микробного риска возникновения бактериальных кишечных инфекций, передаваемых водным путем (на примере городов Ростовской области). Инфекция и иммунитет. — 2012. — № 2(1–2). — С. 44.
10. Методические рекомендации «Комплексная оценка риска возникновения бактериальных кишечных инфекций, передаваемых водным путем»: МР 2.1.10.0031-11. — М.: Федеральный центр эпидемиологии и Роспотребнадзора, 2012. — 47 с.

АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ РЕГУЛЯТОРНЫХ ГЕНОВ ГЕНОВАРИАНТОВ *VIBRIO CHOLERAE* O1 БИОВАРА EL TOR, ВЫДЕЛЕННЫХ В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ТЕКУЩЕЙ ПАНДЕМИИ ХОЛЕРЫ

Заднова С.П., Плеханов Н.А., Федоров А.В.,
Кураташвили А.Ю., Челдышова Н.Б.

ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия

Введение

Текущая, 7-ая, пандемия холеры включает несколько линий штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара El Tor с определенной струк-

турой генов *ctx*B и *tcp*A, кодирующих основные факторы патогенности — холерный токсин (ХТ) и токсин-корегулируемые пили адгезии (ТКПА): типичные штаммы (*ctx*B3/*tcp*AEl Tor); первые генетически измененные варианты *V. cholerae* O1 El Tor (геновариантs, *ctx*B1/*tcp*AEl Tor), современные геновариантs (*ctx*B7/*tcp*ACirs) [Bhandari M. et al., 2021]. Геновариантs отличаются повышенной вирулентностью в связи с изменением структуры генов *ctx*B и *tcp*A, а также появлением мутаций в регуляторных генах [Satchell K.J.F. et al., 2016; Carignan B.M. et al., 2016], распространенность которых в геноме геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor, завезенных в разные годы на территорию РФ и сопредельных стран исследована фрагментарно.

Цель работы — сравнительный анализ структуры регуляторных генов геновариантов *V. cholerae* O1 биовара El Tor, изолированных на территории Российской Федерации и сопредельных стран в разные периоды седьмой пандемии холеры.

Материалы и методы

Использовали нуклеотидные последовательности полных геномов 30 токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, изолированных с 1988 по 2023 г. Последовательности представлены в свободном доступе в NCBI GenBank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov) или получены в ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» (таблица). Анализ структуры регуляторных генов проводили с помощью программы BioEdit v7.2.6.1. и алгоритма Blast NCBI GenBank.

Результаты и обсуждение

Проведен сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей десяти регуляторных генов (*toxT, aphA, aphB, hns, hapR, vieA, luxO, luxT, carS, carR*). Установлена идентичность структуры гена toxT референсному штамму *V. cholerae* N16961 O1 El Tor практически у всех изученных штаммов. Исключение составил геновариант *V. cholerae* M3210 (2023, Ростов-на-Дону), у которого выявлена замена гуанина на аденин в позиции 436 (G436A), что привело к смене аминокислот валина на изолейцин в позиции 146 (V146I) в белке ToxT. Данные представлены в

таблице. Ранее показано, что при замене валинана аргинин (V146A) мутантный штамм сохранял высокий уровень продукции ХТ и ТКПА при выращивании в разных средах (AKI, LB) при температуре 30 °С, в тоже время при температуре 37 °С происходило значительное снижение биосинтеза ХТ (9% от исходного) и отсутствие продукции ТКПА [Childers B.M et al., 2007]. Возможно, у штамма *V. cholerae* M3210 биосинтез ХТ и ТКПА также будет зависеть от температуры культивирования. Не выявлено изменений и в нуклеотидной последовательности генов *aphA* и *aphB*, стабильное сохранение структуры которых может указывать на их важную роль в биологии возбудителя холеры. Так, белок AphA участвует не только в контроле продукции ХТ и ТКПА, но и в биосинтезе ацетоина, который противодействует закислению среды при росте вибриона в присутствии глюкозы, а также контролирует процесс формирования биопленки [Kovacikova G. et al., 2005].

Многофункциональным является и белок CarR, который как и AphA взаимодействует с промотером *tcpP* при нахождении патогена invivo, что способствует увеличению колонизирующей способности штаммов, а также обеспечивает устойчивость возбудителя к действию катионных антимикробных пептидов, синтезируемых хозяином [Liu Y. et al., 2022]. В гене *carR* (из оперона *carSR*) у трех геновариантов присутствует замена G256A, приводящая к смене аминокислот D89N. Ранее установлено, что в результате данной мутации синтезируется нефункциональный белок CarR [Samanta P. et al., 2020].Нуклеотидная последовательность гена *carS* является интактной у всех изученных штаммов.

Как известно референсный штамм *V. cholerae* N16961 в результате делециитимина в гене *hapR* синтезирует нефункциональный белок HapR [Kovacikova G., Skorupski K.,2002]. Большинство изученных нами штаммов продуцируют функционально активный белок HapR в результате вставки тимина в позиции 219 в гене *hapR*. Исключение составил геновариант *V. cholerae* M3208 (Тамбов, 2023), у которого выявлена вставка 5 нуклеотидов (insCTAAA97) и сдвиг рамки считывания в гене *hapR*. Возможно, указанная структура *hapR* характерна только для данно-

Таблица

Характеристика некоторых геновариантов *V. cholerae* O1 биовара El Tor, использованных в работе

Штамм	Год и место выделения	Структура гена*						
		ctx*B/*tcp*A*	***toxT* VC0838**	***hns* VC1130**	***hapR* VC0583**	***vieA* VC1652**	***luxO* VC1021**	***carR* VC1320**
P13762[LQYD01]	1988, Узбекистан	*ctx*B1/*tcp*A[El Tor]	int	int	insT219	int	int	int
R17644[JRTW01]	1997, РФ, Ачинск	*ctx*B1/*tcp*A[El Tor]	int	G319A (G107S)	insT219	int	T62A (I21N)	int
M1327[LRFE01]	1998, РФ, Дагестан	*ctx*B1/*tcp*A[El Tor]	int	int	insT219	int	int	int
M1429[LAEM01]	2004, РФ, Башкортостан	*ctx*B1/*tcp*A[Cirs]	int	G319A (G107S)	insT21	C235T (L79F)	int	int
89[NDXR01]	2010, Украина, Ялта	*ctx*B1/*tcp*A[El Tor]	int	int	insT219	int	T287G (I96S)	int
153[MWRE01]	2011, Украина, Мариуполь	*ctx*B7/*tcp*A[Cirs]	int	G319A (G107S)	insT219	C235T (L79F)	G268T (G90C)	int
3265/80[JRQL01]	2014, РФ, Москва	*ctx*B7/*tcp*A[Cirs]	int	G319A (G107S)	insT219	C235T (L79F)	int	G256A (D89N)
M3210	2023, РФ, Ростов-на-Дону	*ctx*B1/*tcp*A[El Tor]	G436A (V146I)	int	insT219	int	G331A (A111T)	int
M3208	2023, РФ, Тамбов	*ctx*B7/*tcp*A[Cirs]	int	G319A (G107S)	insCTAAA97 (33fs)	C235T (L79F)	int	G256A (D89N)

Примечания: в надстрочечном индексе штаммов указан сокращенный код доступа в GenBank; int — структура гена соответствует референс-штамму *V. cholerae* N16961; int — интактный; ins — инсерция; fs — сдвиг рамки считывания; * — в скобках указана замена аминокислот; ** — структура генов *ctx*B и *tcp*A приведена согласно [Смирнова Н.И. и др., 2023].

го штамма, но не исключена вероятность ее распространения. При анализе другого негативного регулятора факторов вирулентности — белка H-NS установлено, что 47% изученных геновариантов с аллелем *ctxB1*, а также все изоляты с аллелем *ctxB7* имеют несинонимичную SNP (G319A) в гене *hns*, что привело к замене аминокислот в позиции 107 (G107S). Стоит отметить, что мутация G319A у геновариантов *V. cholerae* O1 биовара El Tor возникла, видимо, вскоре после их появления, так как уже в 1997 году на территорию РФ были завезены штаммы (R17644^{JRTW01}, Ачинск) с мутированным геном *hns*. B.M. Carignan с соавт. показали, что мутированный белок H-NS теряет способность связываться с ДНК и репрессировать транскрипцию гена *toxT*, что приводит к увеличению продукции белка ToxT (а также ХТ и ТКПА) и повышению вирулентных свойств штаммов [Carignan B.M. et al.,2016]. Далее был проведен анализ структуры гена *vieA* из оперона *vieSAB* и установлено, что уже с 2004 года в РФ были завезены штаммы с мутацией в данном гене (C235T). Как известно, белок VieA играет важную роль в биологии штаммов классического биовара, так как регулирует транскрипцию 401 гена (10,3% генома). В то же время у El Tor вибрионов под контролем VieA находятся всего несколько генов. Однако показано, что изменения в структуре *vieA* важны для El Tor вибрионов в совокупности с вариабельностью гена *hns*. Мутация G319A в *hns* приводит к повышению экспрессии штаммами ХТ, ТКПА, а также гемолизина HlyA и MARTX токсина, но при нахождении в кишечнике данные гипервирулентные штаммы становятся чувствительными к действию антимикробных пептидов и желчи. В тоже время при продукции мутантного белка VieA данные штаммы приобретают устойчивость к действию указанных стрессоров [Russell R. et al., 2018]. Так же стоит отметить, что в экспериментально полученных штаммах, содержащих нуклеотидную последовательность *hapR* с инсерцией тимина в позиции 219, с измененной структурой *hns* (G319A) и/или *vieA* (C235T) биосинтез ХТ значительно возрастал, что доказывает участие белков-регуляторов с мутациями в повышении вирулентности возбудителя [Carignan B.M. et al., 2016]. Среди изученных нами штаммов ряд геновариантов с аллелем *ctxB1*, а так-

же все изоляты с аллелем *ctxB7* включают указанные гены с мутациями. На заключительном этапе работы была изучена структура гена *luxO*, установлена его вариабельность у 50% изученных геновариантов. Влияние выявленных замен на функциональную активность LuxO не известно, но наличие функционального LuxT практически у всех штаммов, также, как и LuxO, выполняющего ингибирующую функцию в отношении *hapR*, может компенсировать снижение или отсутствие активности LuxO.

Заключение

Значимыми изменениями современных геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor, которые можно использовать как генетические метки данных штаммов, являются мутации в регуляторных генах *hns* (G319A), *vieA* (C235T) и *carR* (G256A), кодирующие белки, контролирующие продукцию факторов вирулентности, а также другие важные процессы в клетках патогена.

Список литературы

1. *Смирнова Н.И., Рыбальченко Д.А., Плеханов Н.А., Лозовский Ю.В., Федоров А.В., Кутырев В.В.* Новые генетические варианты возбудителя холеры и их распространение в эндемичных странах и России // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. — 2023. — № 41(1). — С. 10–17. — DOI: https://doi.org/10.17116/molgen20234101110
2. *Bhandari M., Jennison A.V., Rathnayake I.U., Huygens F.* Evolution, distribution and genetics of atypical *Vibrio cholerae* — a review. Infec. Genet. Evol. 2021; 89:104726. DOI: https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104726
3. *Carignan B.M., Brumfield K.D., Son M.S.* Single nucleotide polymorphisms in regulator-encoding genes have an additive effect on virulence gene expression in a *Vibrio cholerae* clinical isolate. mSphere. 2016;1(5):e00253–16. DOI: https://doi:10.1128/mSphere.00253-16
4. *Childers B.M., Weber G.G., Prouty M.G., Castaneda M.M., Peng F., Klose K.E.* Identification of residues critical for the function of the *Vibrio cholerae* virulence regulator ToxT by scanning alanine mutagenesis. J. Mol. Biol. 2007; 367: 1413–1430. DOI: https://doi:10.1016/j.jmb.2007.01.061
5. *Kovacikova G., Skorupski K.* Regulation of virulence gene expression in *Vibrio cholerae* by quorum sensing: HapR functions at the aphA promoter. Mol. Microbiol. 2002; 46: 1135–1147. DOI: http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.03229.x
6. *Kovacikova G., LinW., Skorupski K.* Dual regulation of genes involved in acetoin biosynthesis and motility/biofilm formation by the virulence activator AphA and

the acetate-responsive LysR-type regulator AlsR in *Vibrio cholerae*. Mol. Microbiol. 2005; 57: 420–433. DOI: https://doi: 10.1111/j.1365-2958.2005.04700.x
7. *Liu Y., Xu T., Wang Q., Huang J., Zhu Y., Liu X., Liu R., Yang B., Zhou K. Vibrio cholerae* senses human enteric α-defensin 5 through a CarSR two-component system to promote bacterial pathogenicity. Comm. Biol. 2022; 5:559. DOI: https://doi.org/10.1038/s42003-022-03525-3
8. *Russell R., Wang H., Benitez J.A., Silva A.J.* Deletion of gene encoding the nucleoid-associated protein H-NS unmasks hidden regulatory connections in El Tor biotype *Vibrio cholerae*. Microbiol. 2018; 164:998-1003. DOI: https://doi.org/10.1099/mic.0.000672
9. *Samanta P., Mandal R.S., Saha R.N., Shaw S., Ghosh P., Dutta S.* et al. A point mutation in carR is involved in the emergence of polymyxin B-sensitive *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype by influencing gene transcription. Infect. Immun. 2020; 88(5): e00080–20. DOI: https://doi.org/10.1128/IAI .00080-20
10. *Satchell K.J., Jones C.J., Wong J., Queen J., Agarwal S., Yildiz F.H.* Phenotypic analysis reveals that the 2010 Haiti cholera epidemic is linked to a hypervirulent strain. Infect. Immun. 2016; 84: 2473–2481. DOI: https://doi:10.1128/IAI.00189-16

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, ВЫДЕЛЕННЫХ С ПРИМЕНЕНИЕМ НОВОЙ ЭЛЕКТИВНОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ В РАМКАХ МОНИТОРИНГОВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ COVID-19, ОСЛОЖНЕННЫХ ВНЕБОЛЬНИЧНЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ В г. МАРИУПОЛЬ ДНР РФ

Ковалевич А.А., Писанов Р.В., Водопьянов А.С.

ФКУЗ Ростовски-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*) является распространенным сопутствующим патогеном, выявленным у пациентов с Covid-19 [Shiralizadeh S., 2023]. P. aeruginosa относится кусловно-патогенным микроорганизмом с множественной лекар-

ственной устойчивостью (МЛУ), вызывающим острую или хроническую инфекцию у лиц с ослабленным иммунитетом, страдающих хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), муковисцидозом, онкологией, травмами, ожогами, сепсисом и пневмонией, связанной с искуственной вентиляцией легких, включая пневмонии, вызванные Covid-19 [Lansbury L., 2020]. *P. aeruginosa* в форме биопленки может выживать в гипоксической атмосфере или других экстремальных условиях. Кроме того, лечение инфекции *P. aeruginosa* чрезвычайно затруднено из-за ее быстрых мутаций, и как следствие приобретение устойчивости к антибиотикам. Кроме того, *P. aeruginosa* входит в топлист патогенов, вызывающих нозокомиальные инфекции, которые широко встречаются при использовании медицинских приборов (аппараты искусственной вентиляции легких), поскольку микроорганизм способен размножаться на влажных поверхностях [Qin S. 2022]. Важно отметить, что *P. aeruginosa* является одним из возбудителей, входящих в группу ESKAPE, включающих такие патогены, как *Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas. aeruginosa* и *Enterobacter*. Нозокомиальные инфекции, вызванные *P. aeruginosa*, характеризуются устойчивостью к традиционно эффективным антибиотикам, представляя существенную проблему для здравоохранения. *P. aeruginosa* с резистентностью к карбапенему была включена ВОЗ в «критическую» группу патогенов, которые срочно нуждаются в разработке новых антибиотиках для эффективной борьбы с ней [Haque M., 2018].

Идентификация вирулентных штаммов, групп штаммов, связанных с внебольничными пневмониями, имеет решающее значение, как для понимания эволюции патогенности, так и для лучшего противодействия распространению инфекций.

Генотипирование штаммов, выделенных от больных и из объектов окружающей среды, необходимо для выявления источника инфекции, раскрытия генеза вспышек и определения необходимого объема санитарно-эпидемиологических мероприятий. Поэтому оценка генетического профиля, а также реальной и потенциальной опасности *P. aeruginosa* на современном уровне приобретает особую актуальность.

Цель

Цель настоящего исследования состояла в разработке новой элективной среды для выделения чистой культуры *P. aeruginosa* из клинического материала и изучении генетического разнообразия штаммов *P. aeruginosa*, выделенныхот пациентов с новой коронавирусной инфекцией, осложненной пневмонией в г. Мариуполь ДНР РФ.

Материалы и методы

В работе использовали 16 полных геномов штаммов *P. aeruginosa*, выделеных из клинического материала в г. Мариуполе ДНР РФ. Анализ полногеномных последовательностей проводился с помощью ранее созданной и зарегистрированной программы «Pseudomonas Analyser» http://antiplague.ru/pseudomonas-analyser) [Ковалевич А.А. и др., 2023].В разработке и проверке питательной среды были использованы следующие тест-штаммы бактерий: *P. aeruginosa* АТСС 27853, *P. aeruginosa* Р-5810, *P. aeruginosa* 8633, *P. aeruginosa* 8642, *E. coli* 18, *K. pneumoniae* 3454, *K. pneumoniae* 3361, *S. aureus* АТСС 25925, *P. vulgaris* НХ19 (222), полученных в ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, подготовка к контролю была проведена в соответствии с требованиями методических документов [МУК 4.2.2316-08.]. Кластерный анализ и построение дендрограммы проводили с использованием авторского скрипта по методу UPGMA. Для построения дендрограммы использовали программу MEGA 5.

Результаты и обсуждение

Первоочередной задачей в баклаборатории становится получение чистой культуры искомого микроорганизма в кратчайшие сроки, а в случае работы в мобильной лаборатории СПЭБ — это снижение количества пересевов и биохимических тестов, сокращающих время видовой идентификации.

Для выделения штаммов P. aeruginosa из клинических проб, поступивших на ПЦР-скрининг, нами была разработана элективная питательная среда, позволяющая без дополнительных биохимических тестов выделять чистые культуры P. aeruginosa за

12–16 часов. Основным компонентом, обеспечивающим селективные свойства среды, служит вещество — риванол или этакридина лактат. Данное вещество может утилизироваться псевдомонадами, что положительно влияет на ее рост, одновременно подавляя рост посторонней микрофлоры [Лазарева А.В. 2015].

Тестирование разработанной среды проводили параллельно с другими средами, которые традиционно используются для выделения *P. aeruginosa*. Основными положительными качествами этой среды стали: простота приготовления без автоклавирования, длительность хранения в готовом состоянии, высокая элективность, даже в условиях высокой контаминации проб посторонней микрофлорой (секционный материал).

Выделение культуры *P. aeruginosa* осуществлялось путем посева на сектора по 30 мкл пробы, поступившей на ПЦР-исследование. Пробы для посева отбирались у пациентов с подтвержденным диагнозом Covid-19 при наличии тяжелых форм пневмоний.

В процессе бактериологического мониторинга нами были отобраны 16 клинических изолятов, имеющий характерный для *P. aeruginosa* рост на элективной среде. Для подтверждения их видовой принадлежности и дальнейшей генетической характеристики проведено полногеномное секвенирование.

Следующим этапом работы было установление клональных связей выделенных штаммов на основе данных полногеномного секвенирования. С целью решения этой задачи был разработан способ INDEL — типирования. Он основан на определении «вставок-делеций» (INsertion-DELetion) в различных генах, что позволяет выявлять индивидуальные различия между штаммами микроорганизма. Данный метод не использовался ранее для идентификации упомянутогомикроорганизма. Это позволило выявить гены, отличающиеся у разных штаммов за счет делеций и вставок. По итогам выравнивания установленных генов были разработаны праймеры, фланкирующие выявленные «вставки-делеции», что дало возможность дифференцировать штаммы по размеру получаемого ампликона. Разработанные праймеры были апробированы in vitro. Для анализа INDEL-маркеров в ге-

номах *P. aeruginosa in silico* нуклеотидные последовательности сконструированных нами праймеров были внесены в ранее разработанную программу. Результаты проведенного анализа с помощью программы (*in silico*) и ПЦР методом (*in vitro*), полностью совпали. Это дает возможность проводить анализ не только *in silico*, используя разработанную программу, но и осуществлять исследования без использования полногеномного секвенирования.

Изученные нами штаммы были сгруппированы в 10 кластеров (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J). Из 10 кластеров 5 (B, D, F, I, J) были образованы уникальными генотипами, состоящими из одного штамма. В то же время кластер A был образован тремя штаммами, принадлежащими к единому клональному комплексу, на что указывает их единое место выделения, сходная картина наблюдается и для кластеров C и H. Хотя несмотря на то, что штаммы в кластерах E и G, также имели единый генотип, нельзя говорить об их клональности, так как они были выделены в разных лечебно-профилактических учреждениях. При этом штамм 3842 из кластера E и 8610 из кластера G, выделены в одном учреждении, но, однако не имели общего генотипа для формирования единого кластера.

Заключение

Разработана элективная питательная среда для выделения микроорганизмов P. aeruginosa, обладающая рядом факторов, способствующих успешному получению чистых культур и их дальнейшему анализу без дополнительных биохимических тестов.

INDEL-типирование позволяет провести молекулярно-генетическую оценку клональности клинических штаммов, отражая генетическое родство штаммов, несмотря на различные источники выделения, отобразить филогенетические связи. В случае отсутствия методов полногеномного секвенирования, INDEL-типирование можно провести ПЦР методом.

Список литературы

1. *Ковалевич А.А., Водопьянов А.С., Писанов Р.В.* Программа для ЭВМ «Pseudomonas Analyser» — программа для анализа данных полногеномного секвенирования возбудителя синегнойной инфекции». Свидетельство о государственной регистрации № 2023667063 от 09.08.2023.

2. *Лазарева А.В., Чеботарь И.В., Крыжановская О.А., Чеботарь В.И., Маянский Н.А. Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2015. — № 17(3). — С. 170–186.
3. Методические указания: Методы контроля бактериологических питательных сред: МУК 4.2.2316 — 08 (утверждены Главным санитарным врачом Российской Федерации 18.01.2008). — М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. — 52 с.
4. *Haque M., Sartelli M., McKimm J., Bakar M.A.* Health care-associated infections–an overview. Infection and drug resistance; 2018: 2321–2333.
5. *Lansbury L., Lim B., Baskaran V., Lim W.S.* Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. Journal of infection. 2020; 81(2): 266–275.
6. *Qin S., Xiao W., Zhou C., Pu Q., Deng X., Lan L., Wu M.* Pseudomonas aeruginosa: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. Signal transduction and targeted therapy. 2022; 7(1): 199.
7. *Shiralizadeh S., Keramat F., Hashemi S.H., Majzoobi M.M., Azimzadeh M., Alikhani M.S., Alikhani M.Y.* Investigation of antimicrobial resistance patterns and molecular typing of Pseudomonas aeruginosa isolates among Coronavirus disease-19 patients. BMC microbiology. 2023; 23(1): 84.

МНОГООБРАЗИЕ ВИДОВ РОДА *LISTERIA* И ИХ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ РОДСТВО НА ОСНОВАНИИ АНАЛИЗА ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНА *MPRF*

Кожинова Э.В.[1], Ябурова Е.В.[2], Полюдова Т.В.[1,2]

[1]ФГБОУ ВО «Пермский аграрно-технологический университет имени академика Д.Н. Прянишникова», г. Пермь, Россия
[2]«Институт экологии и генетики микроорганизмов» ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

Бактерии рода *Listeria* — это грамположительные палочки, среди которых встречаются патогенные виды. Листерии широко распространены в различных экологических системах, в том числе связанных с деятельностью человека (фермы, теплицы, перерабатывающие предприятия). Это в первую очередь шесть

классических видов, включенных в данный род до 2010 г. (*L. monocytogenes, L. seeligeri, L. welshimeri, L. innocua, L. ivanovii и L. grayi*). К патогенным видам относятся бактерии *L. monocytogenes* и *L. ivanovii* [Dworkin M., 2006]. Бактерии *L. ivanovii* вызывают заболевания у животных, а *L. monocytogenes* являются причиной инфекций, как у животных, так и у людей. Инфицирование, чаще всего, происходит через продукты питания [Сагдуллаева Г.У. и др., 2020]. Изучение непатогенных видов представляет практический интерес, поскольку представители разных видов *Listeria* активно развиваются в аналогичных условиях, что и патогенные. Выявление листерий в объектах окружающей среды может свидетельствовать и о наличии патогенных представителей *L. ivanovii* и *L. monocytogenes*. В последнее десятилетие благодаря развитию генетических технологий было идентифицировано еще 23 вида рода *Listeria*. Широкому распространению листерий в окружающей антропогенной среде способствуют их высокие адаптационные возможности. Бактерии в целом и листерии в частности, способны быстро приобретать устойчивость к антибактериальным агентам. Одним из механизмов устойчивости к противомикробным соединениям катионной природы является снижение общего отрицательного заряда поверхности клетки за счет присоединения остатков аминокислот к фосфолипидам мембран. Данная реакция катализируется ферментом MprF (multipeptide resistance factor / фактор множественной пептидной устойчивости), который кодируется геном *mprF*. Данный механизм у листерий является малоизученным.

Цель работы — сравнение последовательностей гена *mprF* в геномах листерий, представленных в базе данных National Center for Biotechnology Information (NCBI), для выявления степени родства по данному гену между представителями разных видов.

Материалы и методы

Биоинформатический анализ методом множественного выравнивания последовательностей гена *mprF* посредством инструмента BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Поиск гена проводился среди эталонных геномов всех видов листерий,

доступных в базе данных NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov). Шаблоном служила последовательность гена *mprF L. monocytogenes* (номер в GenBank: NZ_CP023861.1).

Результаты и обсуждение

В базе данных NCBI представлено 29 видов бактерий рода *Listeria*. В номенклатуру бактерий могут быть включены названия, утвержденные в списке валидации, регулярно обновляемом в International Journal of Systematic Bacteriology. Поэтому, вид *L. kieliensis*, не прошедший валидацию по правилам Международного кодекса номенклатуры прокариот (Bacteriological Code) [Parker C.T. et al., 2019] и вид *L. thailandensis* для которого отсутствуют данные о ДНК в базе данных NCBI, были исключены из дальнейшего исследования.

Данные полногеномного секвенирования в базе NCBI представлены для девятивидов (*L. grayi, L. innocua, L. ivanovii, L. marthii, L. monocytogenes, L. newyorkensis,L. seeligeri, L. welshimeri, L. weihenstephanensis*). Все геномы данных видов бактерий содержат ген *mprF*. Большая часть генетических последовательностей в базе представлены сборками на уровне контигов и скаффолдов [Смагин В.Д. и др., 2021], все они также содержат ген *mprF*.

Поиск в базе NCBI с помощью BLAST позволил установить, что гены *mprF* бактерий *Listeria* spp. имеют различную степень сходства, на основании которой виды можно разделить на две группы. Виды листерий, у которых степень сходства последовательностей нуклеотидов гена *mprF* превышает 80%, относятся к первой филогенетической группе (I — *Listeria sensustrictu*). С меньшей степенью идентичности — ко второй (II — *Listeria sensulato*) (табл. 1).

Таблица 1

Степень сходства нуклеотидных последовательностей гена *mprF L. monocytogenes* с генами *mprF* эталонных геномов разных видов бактерий рода *Listeria*

Вид	Совпадение с длиной гена-шаблона, %	Идентичность, %
L. monocytogenes	100	100,00
L. swaminathanii	100	87,49
L. marthii	100	87,26

Окончание табл. 1

Вид	Совпадение с длиной гена-шаблона, %	Идентичность, %
L. cossartiae	100	86,49
L. farberi	100	84,64
L. welshimeri	100	84,30
L. innocua	100	84,10
L. seeligeri	100	82,22
L. immobilis	100	81,79
L. ivanovii	99	81,63
L. fleischmannii	97	71,88
L. goaensis	97	71,25
L. aquatica	97	71,19
L. floridensis	98	71,03
L. kieliensis	97	70,43
L. valentina	97	70,32
L. ilorinensis	97	70,27
L. rocourtiae	97	70,11
L. cornellensis	92	69,67
L. riparia	95	69,66
L. rustica	97	69,60
L. weihenstephanensis	97	69,52
L. portnoyi	97	69,34
L. grandensis	92	69,29
L. costaricensis	98	69,23
L. grayi	97	69,00
L. booriae	96	68,89
L. newyorkensis	97	67,83

Данные, полученные в результате анализа генов *mprF*, полностью совпадают с делением листерий на две группы, основанном на анализе последовательностей генов 16S рРНК [Orsi R.H. et al., 2023].

Таким образом, ген *mprF* характерен, практически, для всех представителей рода *Listeria* и является универсальным меха-

низмом их адаптации к неблагоприятным условиям, вызванным действием катионных соединений. Необходимы дальнейшие исследования фенотипов листерий, обусловленных работой данного гена.

Список литературы

1. *Dworkin M*. The prokaryotes: vol. 4: bacteria: firmicutes, cyanobacteria. Springer Science & Business Media, 2006.
2. *Сагдуллаева Г.У.*, *Мустафаева М.И*. Изучение периода генерации листерий, выделенных из молока на питательных средах с теллуритом // Евразийский союз ученых. — 2020. — № 6–5(75). — С. 28–30. — DOI: 10.31618/ESU.2413-9335.2020.5.75.857
3. *Смагин В.Д., Русакович А.Н*. Применение методов машинного обучения в задаче секвенирования генома // Системный анализ в науке и образовании. — 2021. — № 1. — С. 23–32.
4. *Orsi R.H., Liao J., Carlin C.R., Wiedmann M*. Taxonomy, ecology, and relevance to food safety of the genus Listeria with a particular consideration of new Listeria species described between 2010 and 2022. mBio. 2023. DOI: 10.1128/mbio.00938-23
5. *Parker C.T., Tindall B.J., Garrity G.M*. International Code of Nomenclature of Prokaryotes. Int. J. Systematic and Evolutionary Microbiology. 2019; 69, Is. 1A. P. S1–S111.

ВЫЯВЛЕНИЕ МОБИЛЬНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ С АНТИФАГОВЫМИ СИСТЕМАМИ В ТОКСИГЕННЫХ ШТАММАХ *VIBRIO CHOLERAE* О1 БИОВАРА ЭЛЬ ТОР

Кураташвили А.Ю., Плеханов Н.А., Челдышова Н.Б., Заднова С.П.

ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия

Введение

Проведенный молекулярно-генетический анализ значительного количества штаммов *Vibrio cholerae* О1 биовара Эль Тор, выделенных в разных странах и в различные периоды текущей пандемии холеры, позволил установить, что распространение

Эль Тор вибрионов происходило в виде трех независимых, но перекрывающихся волн из одного места — Бенгальского залива. Считается, что именно здесь происходит формирование штаммов возбудителя холеры с новыми свойствами, которые затем распространяются по всему миру [Mutreja A. et al., 2011]. Важная роль в генетическом разнообразии и эволюции *V. cholerae* O1 Эль Тор принадлежит холерным литическим бактериофагам (фагам). Холерные фаги постоянно выделяются на эндемичной территории из водной среды, а также обнаруживаются совместно с патогеном в стуле больных холерой [Seed K.D. et al., 2011]. Высказывается предположение, что такие важные мобильные генетические элементы (МГЭ), необходимые для проявления вирулентных свойств *V. cholerae*, как профаги CTXφ и RS1φ, TLC элемент, система секреции 6 типа были приобретены от фагов [Pukatzki S. et al., 2007; Faruque S.M., Mekalanos J.J., 2012]. Для защиты от фагов *V. cholerae* выработал различные механизмы. В том числе недавно обнаружены фагоиндуцируемые PLE (Phage-inducible Chromosomal Island-like Elements) острова, способствующие устойчивости патогена к действию фага ICP1, который является самым распространенным литическим фагом на территории эндемичных стран. В настоящее время описано 10 типов PLE островов и изучен механизм их действия [O'Hara B.J. et al., 2017; Angermeyer A. et al., 2022]. Антифаговые системы обнаружены также в составе МГЭ, ранее не рассматриваемых, как связанные с защитой от фагов. Так данные гены выявлены в составе «пятой горячей точке» (HS5) ICESXT элементов, участвующих в распространении генов, кодирующих множественную устойчивость к антибиотикам [Le Gault K.N. et al., 2021]. Наличие генов антибиотикорезистентности и тип ICE SXT элементов в штаммах *V. cholerae* O1 Эль Тор, завезенных на территорию РФ и некоторых сопредельных стран, изучено ранее другими исследователями. В то же время структура HS5 в данных штаммах, а также присутствие PLE островов, исследовано не в полной мере.

Цель работы — выявление мобильных генетических элементов, содержащих антифаговые системы, в токсигенных штаммах *V. cholerae* O1 серогруппы биовара Эль Тор, изолированных

в разные периоды седьмой пандемии холеры на территории Российской Федерации и сопредельных стран, и их филогенетический анализ.

Материалы и методы

В работе использовали нуклеотидные последовательности полных геномов 96 токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, изолированных с 1970 по 2023 г. Последовательности представлены в свободном доступе в NCBI GenBank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov) или получены в ФКУН Российский противочумный институт «Микроб». Для анализа применяли алгоритм Blast NCBI GenBank (http://blast.ncbi) и программу BioEdit V.7. В качестве референсных при анализе антифаговых систем в ICE SXT элементах использовали штаммы *V. cholerae* и нуклеотидные последовательности, приведенные в работе K.N. LeGault et al. (2021). Кластерный анализ проводили с использованием сервера REALPHY, в котором нуклеотидные последовательности геномов (или фрагментов) изучаемых штаммов сравниваются с наиболее близкими аналогами (дивергенция < 5%), представленными в NCBI GenBank (http://realphy.unibas.ch). Визуализацию результатов проводили с помощью программы FigTree v1.4. Вывод о наличии связи между присутствием в геноме различных МГЭ подтверждали с помощью chi-square test (при $\alpha = 0{,}05$, $df = 1$) в программе Rstudio.

Результаты и обсуждение

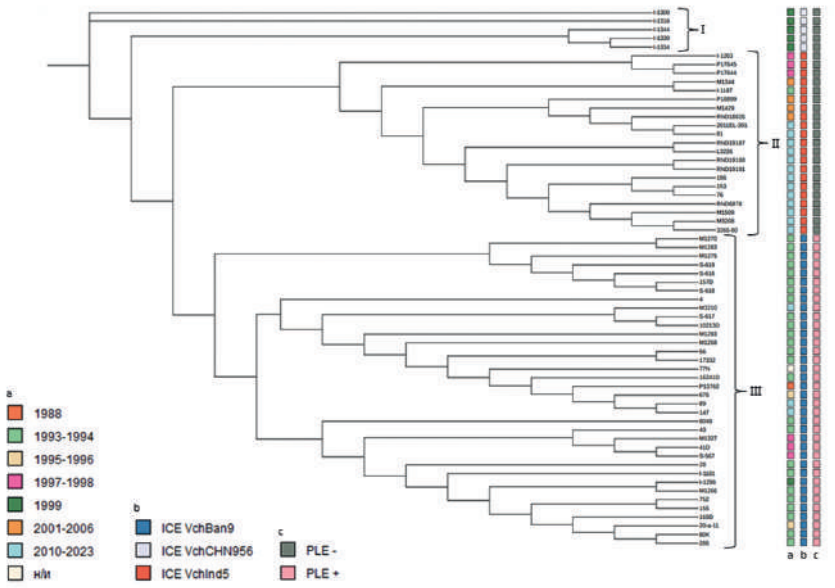
В ранее проведенных исследованиях в геноме ряда штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор, завезенных в РФ и сопредельные страны, было обнаружено присутствие антифагового острова PLE4, а при изучении структуры HS5 ICE SXT элементов выявлено три типа антифаговых систем: BREX система и ген *abi*, специфичные для ICE *Vch*Ind5; BREX, характерная для ICE *Vch*Ban9, и DISARM система, выявленная в ICE *Vch*CHN956 [LeGault K.N. et al., 2021; Angermeyer A. et al., 2022]. Мы продолжили данные исследования и показали, что типичные штаммы *V. cholerae* O1 Эль Тор, изолированные в 1970–1991 гг., не содержат данные МГЭ с антифаговыми генами. Среди геновариантов *V. cholerae*

O1 Эль Тор с аллелем *ctx*B1, выявлено 14 штаммов, содержащих остров PLE4. Другие типы PLE островов среди изученных штаммов не обнаружены. Геновариант с аллелем *ctx*B7 не имеют PLE островов. Также установлено, что геновариант с аллелем *ctx*B1 включают как антифаговую BREX систему и ген *abi*, что характерно для ICE *Vch*Ind5, так и BREX, типичную для ICE VchBan9. У всех изученных геновариантов *V. cholerae* O1 Эль Тор, имеющих аллель *ctx*B7, в HS5 выявлена BREX система и ген *abi*, что указывает на присутствие ICE *Vch*Ind5.

Необходимо отметить, что PLE4 обнаружен только в штаммах *V. cholerae* O1 Эль Тор, содержащих в HS5 BREX систему, специфичную для ICE *Vch*Ban9. Исключение составил штамм *V. cholerae* 89NDXR01 (Ялта, 2010), имеющий указанную антифаговую систему в ICE *Vch*Ban9, но PLE4 остров в данном штамме отсутствует. Учитывая, что штамм 89 изолирован из водной среды, можно было бы высказать предположение, что, возможно, PLE4 был утерян при его нахождении в данных условиях. Однако другие изоляты, также выделенные из внешней среды: M1266 (Пермь, 1994), 56^{LJFI01} (Украина, 1994), $676^{JAEEFY01}$ (Дагестан, 1996), 147^{NDXQ01} (Ялта, 2010), M3210 (Ростов-на-Дону, 2023), содержат данный антифаговый остров, как и BREX систему ICE *Vch*Ban9.

Далее для изучения взаимоотношений между изученными геновариантами *V. cholerae* O1 Эль Тор, имеющими разный набор МГЭ с антифаговыми системами, был проведен кластерный анализ. В исследование не были взяты типичные штаммы, у которых данные элементы отсутствуют. В итоге установлено, что все геноварианты, независимо от места и года выделения четко разделились на три кластера, полученные данные приведены на рисунке. В первый (I) кластер вошли 5 изолятов, завезенные в 1999 году в Южно-Сахалинск и Владивосток. Согласно данным литературы указанные штаммы не содержат PLE островов и имеют DISARM систему, характерную для ICE *Vch*CHN956 [LeGault K.N. et al., 2021; Angermeyer A. et al., 2022]. Вторую группу (II) составили штаммы с аллелями *ctx*B1/*ctx*B7, лишенные PLE4, и включающие BREX систему и ген *abi*, специфичные для ICE *Vch*Ind5. В третьей кладе (III) объединились штам-

мы с PLE4 и антифаговой BREX системой, типичной для ICE *Vch*Ban9. Полученные нами сведения согласуются с данными A. Angermeyer et al. (2022), которые при кластерном анализе штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделенных в Бангладеш в 2016–2019 гг., установили, что тип PLE острова коррелирует с типом ICE SXT элемента.



Обозначения столбцов: a — год выделения штаммов, b — ICESXT элементы с разными антифаговыми системами в HS5, c — наличие/отсутствие острова PLE4

Рис. 1. Кластерный анализ геновариантов *V. cholerae* O1 Эль Тор, имеющих разный набор МГЭ с антифаговыми системами

Заключение

Полученные данные расширяют сведения о генетической организации штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, завезенных на территорию РФ и сопредельных стран. Присутствие нескольких МГЭ с антифаговыми системами в ряде изученных штам-

мов может указывать на их существование в условиях активного воздействия литических холерных фагов. Изучение структуры антифаговых систем в «горячей точке 5» ICE SXT элемента позволяет выявлять генетические различия между штаммами *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, содержащими идентичный набор генов патогенности, пандемичности и антибиотикорезистентности. Полученные данные указывают на возможность быстрого и точного определения типа ICE SXT элемента в штаммах *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор на основе тестирования антифаговых систем в пятой «горячей точке». Учитывая активно развивающееся направление по использованию фагов в качестве лечебных и профилактических препаратов, необходимо проводить предварительное изучение присутствия антифаговых систем в штаммах возбудителя, что может внести вклад в повышение эффективности назначаемой фаговой терапии.

Список литературы

1. *Angermeyer A., Hays S.G., Nguyen M.H.T., Johura F., Sultana M., Alam M., Seed K.D.* Evolutionary sweeps of subviral parasites and their phage host bring unique parasite variants and disappearance of a phage CRISPR-Cas system. mBio. 2022; 13(1): e03088–21. DOI: https://doi.org/10.1128/mbio.03088-21
2. *Faruque S.M., Mekalanos J.J.* Phage-bacterial interactions in the evolution of toxigenic *Vibrio cholerae*. Virulence. 2012; 3: 556–65. DOI: 10.4161/viru.22351.
3. *LeGault K.N., Hays S.G., Angermeyer A., McKitterick A.C., Johura F., Sultana M., Ahmed T., Alam M., Seed K.D.* Temporal shifts in antibiotic resistance elements govern phage-pathogen conflicts. Science. 2021; 373(6554): e2166. DOI: https://doi.org/10.1126/science.abg2166
4. *Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G.* Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. Nature. 2011; 477:462–5. DOI: https://doi.org/10.1038/nature10392
5. *O'Hara B.J., Barth Z.K., McKitterick A.C., Seed K.D.* A highly specific phage defense system is a conserved feature of the *Vibrio cholerae* mobilome. PLoS. Genet. 2017; 13: e1006838. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006838
6. *Pukatzki S., Ma A.T., Revel A.T., Sturtevant D., Mekalanos J.J.* Type VI secretion system translocates a phage tail spike-like protein into target cells where it cross-links actin. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007; 104(39): 15508–15513. DOI: https://doi.org/10.1073pnas.0706532104
7. *Seed K.D., Bodi K.L., Kropinski A.M., Ackerman H-W., Calderwood S.B., Qadri F., Camilli A.* Evidence of a dominant lineage of *Vibrio cholerae*-specific lytic bacteriophages shed by cholera patients over a 10-year period in Dhaka Bangladesh. mBio. 2011; 00334–10. DOI: https://doi.org/10.1128/mbio.00334-10

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДЕЛИ МОРСКИХ СВИНОК ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *COXIELLA BURNETII*

Левченко Д.А., Евдокимова В.В., Ренгач М.В.,
Симакова Д.И., Мелоян М.Г.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Информация о распространении известных природно-очаговых инфекций, а также выявление и характеристика новых потенциально опасных для человека инфекционных агентов является научной основой для обеспечения биологической безопасности. Значимой экологической особенностью Ростовской области является наличие ландшафтов, подходящих для существования переносчиков, обеспеченных достаточным числом прокормителей, что в целом создает постоянные риски осложнения санитарно-эпидемиологической обстановки в регионе [Орехов И.В. и др., 2011].

К природно-очаговым инфекциям преимущественно сельскохозяйственных животных с длительным самостоятельным существованием внутристадных очагов относится лихорадка Ку (коксиеллез). Коксиеллез вызывается Coxiella burnetii, характеризуется наличием на отдельных территориях, смешанных природно-хозяйственных (антропургических) очагов с разнообразными путями передачи возбудителя, развитием распространенного ретикулоэндотелиоза, клинически сопровождающегося лихорадкой, интоксикацией, полиморфной симптоматикой [Рудаков Н.В. и др., 1996; 2016; СанПиН 3.3686-21]. Коксиеллы Бернета — облигатные фаголизосомальные паразиты эукариотических клеток, не размножающиеся на бактериологических питательных средах. Выделяют фазовые вариации коксиелл, аналогичные R- и S-формам бактерий. В естественных условиях (в организме клещей и животных) коксиеллы находятся в I фазе, при длительном лабораторном культивировании в развиваю-

щихся куриных эмбрионах или в клеточных культурах коксиеллы переходят во II фазу. Это определяется, в частности, формированием генетических вариантов, затрагивающих структуру генов поверхностных липополисахаридов. Биологические свойства коксиелл, находящихся в разных фазовых состояниях, существенно различаются [Рудаков Н.В. и др., 2016; СанПиН 3.3686-21; Злобин В.И. и др., 2015; Maurin M. et al, 1999; Munderloh U.G. et al, 2008; Kurtti T.J. et al, 1996].

С момента открытия *C. burnetii* в 1930-х годах было использовано множество моделей животных для изучения патогенеза лихорадки Ку и оценки защитных способностей разработанных вакцин [Bewley KR., 2013]. В настоящее время при проведении лабораторной диагностики *C. burnetii* культивируют в желточных мешках развивающихся куриных эмбрионах, культурах клеток, в биопробах на различных лабораторных животных (морских свинках, беспородных белых мышах) [Рудаков Н.В. и др., 2021]. Морские свинки были одним из первых видов животных, которые использовали в качестве моделей заражения Ку-лихорадкой. Предполагается, что данная модель является наиболее физически релевантной моделью Ку-лихорадки из-за ее близкого сходства с большинством заболеваний человека [Metters G. et al., 2019]. Дифференциация штаммов *C. burnetii* и характеристика популяции этого возбудителя сопряжены с определенными трудностями и имеют ряд особенностей, которые связаны с трудоемкостью и длительностью культивирования коксиеллы в условиях лаборатории [Фрейлихман О.А. и др., 2017].

Long C.M. et al. (2019) проведены эксперименты по внутрибрюшинному заражению морских свинок штаммами *C. burnetii* — представителями шести геномных групп [11]. При этом патологические изменения в организме биомодели и исход заболевания зависел от того, к какой геномной группе относится данный изолят. Авторами исследовано по два изолята каждой группы с целью выявления взаимосвязи между геномным составом и потенциалом вирулентности. Вирулентность штаммов оценивали путем изучения реакции на лихорадку, потери массы тела, спленомегалии и других информативных конечных точек [Long C.M. et al., 2019].

Диагностика коксиеллеза сопряжена с недостаточным оснащением лабораторной базы диагностическими препаратами (отсутствие набора реагентов, позволяющих проводить дифференциацию разных фазовых состояний коксиелл, препаратов для иммунофлуоресценции).

На территории Ростовской области после периода длительного эпидемиологического благополучия в 2023 г. было выявлено девять случаев лихорадки Ку. Отмечено расширение нозоареала за счет регистрации спорадической заболеваемости в Дубовском районе, который относится к природно-сельскохозяйственной зоне с развитым скотоводством, в том числе, овцеводством [Сокиркина Е.Н. и др., 2023].

В связи с этим цель данной работы — оценка возможности культивирования жизнеспособной *C. burnetii* из сывороток крови больных острой лихорадкой Ку на модели морских свинок.

Материалы и методы

Образцы сывороток. В работе использованы образцы сывороток крови трех пациентов (№ 75 (Ct 22.13), № 88 (Ct 21.98), № 96/97 (Ct 22.14)) с подтвержденным диагнозом «Лихорадка Ку», взятые на 7–8-й день от начала появления клинических симптомов, поступившие из ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области» Роспотребнадзора.

ПЦР-анализ. Выделение ДНК *C. burnetii* из исследуемых образцов и ПЦР проводили коммерческими наборами «РИБО-преп» и «АмплиСенс® Coxiella burnetii-FL» (ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора). Результат считался положительным при значении Ct < 39. В качестве отрицательного контроля в ПЦР использовали суспензии органов здоровых морских свинок.

Биопробные животные. В качестве биопробных животных использовали морских свинок (самцов) массой 250–300 гр. Введение антигена (пул 3 сывороток) проводили внутрибрюшинно в объеме 2 мл (первый пассаж) с последующей перевивкой (суспензии легких, селезенки и макрофагов) здоровым лабораторным животным — внутрибрюшинно по 1 мл (второй пассаж). Содержание биопробных животных осуществляли в системе

индивидуально вентилируемых клеток (ИВК) с блоком ВЕНТ-БИО-1М в соответствии с требованиями биологической безопасности. В период с 0 по 14 день исследования проводили измерение температуры тела в прямой кишке электронным термометром, в каждой группе животных в течение всего периода наблюдений измерение производили одним термометром в одно и то же время. Вскрытие первого пассажа биопробных животных проводили на 7, 9 и 14 дни исследования. Вскрытие животных второго пассажа проводили на 14 день исследования.

Животных эвтаназировали (ингаляционный наркоз хлороформом) и в асептических условиях производили вскрытие и отбор органов (перитонеальные макрофаги, легкие, селезенка). Работу с животными проводили в соответствии с этическими принципами проведения экспериментов на животных изложенными в «Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях».

Подготовка материала. Прижизненно проводили отбор крови из сердца для получения сыворотки. В асептических условиях осуществляли вскрытие и отбор органов (легкие, селезенка) с последующей подготовкой суспензии клеток в 0,9 % физиологическом растворе. Перитонеальные макрофаги отбирали методом промывания брюшной полости культуральной средой RPMI-1640.

Хранение материала. К инфекционному материалу, оставшемуся после проведения исследования, добавляли сыворотку плода коровы (СПК) и замораживали при –80 °С.

Все работы проводились в соответствии требованиями СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Результаты и обсуждение

Для проведения первого пассажа использовали три особи морских свинок. Заражение лабораторных животных осуществляли путем введения в брюшную полость образца, включающего пул из 3 сывороток крови пациентов (Ct 21,98-22,14) с подтвержденным диагнозом «Лихорадка Ку». Термометрию тела

лабораторных животных до и после заражения проводили ежедневно в одно и то же время. Отмечено понижение температуры тела биопробных животных на первый день наблюдения до 35,8–36,2 °С с последующим повышением до 36,7–37,6 °С на шестой день после заражения. На седьмой день исследования температура тела биопробных животных все еще оставалась ниже нормы и варьировала от 26,8 до 37,5 °С. На девятый день у одного биопробного животного температура тела нормализовалась и равнялась 38,0 °С. В течение 14 дней наблюдения за биопробами лихорадки не наблюдалось. Однако по данным литературы, у морских свинок в результате заражения через неделю должна была развиться лихорадка (до 40–41 °С), продолжающаяся 5–7 дней [12].

Вскрытие биопробных животных осуществляли на 7-й, 9-й и 14-й день после заражения. В ПЦР-анализе проверяли суспензии органов и сыворотку крови на наличие ДНК C. burnetii. Результаты эксперимента по заражению морских свинок представлены в табл. 1. На седьмой день пассажа в исследуемом материале (легкие, макрофаги, сыворотка крови) установлены следующие значения пороговых циклов в ПЦР (Ct) равные 35,8; 31,6 и 31,5 соответственно. В селезенке ДНК коксиеллы не обнаружено. На девятый день эксперимента в суспензии селезенки и макрофагах значение Ct составило 28,8 и 23,2 соответственно, что свидетельствовало о накоплении возбудителя. В сыворотке крови биопробы значение Ct оставалось на прежнем уровне. В суспензии легких биопробного животного коксиелл не обнаружено. При увеличении срока пассажа до 14 дней значение Ct оставалось на прежнем уровне, а в сыворотке крови лабораторных животных ДНК C. burnetii не обнаружено. Установлено, что коксиеллы в диагностически значимом количестве накапливаются на 14-й день после заражения в следующих органах биопробных животных: легкие, селезенка и макрофаги.

После вскрытия биопроб от пассажей сроком 7, 9 и 14 дней проводили перевивку инфекционного материала (суспензия легких, селезенки и макрофагов) здоровым морским свинкам (второй пассаж). При проведении термометрирования на протяжении 14 дней исследования (второй пассаж) повышение

температуры тела лабораторных животных выше 38,0 °С так и не наблюдалось.

В результате изучения материала второго пассажа на морских свинках длительностью 14 дней (перевивка суспензии макрофагов от вскрытых животных здоровым) наблюдали либо снижение количества специфической ДНК коксиелл, либо ее отсутствие, а также обнаружение ДНК в сыворотке крови только у одного из животных (табл. 1).

Таким образом, в нашем опыте у лабораторных животных на протяжении 28 дней исследования (первый и второй пассажи) развития лихорадки не наблюдалось. Отмечено увеличение числа копий генома *C. burnetti* в первые 14 дней культивирования в макрофагах (первый пассаж). Существенной разницы в накоплении ДНК *C. burnetii* в легких и селезенке биопроб отмечено не было.

В данной работе максимальный срок наблюдения за биопробными животными составил 28 дней, что не позволило накопить специфическую ДНК коксиелл ниже значения Ct 22,4 в ПЦР с исходным пороговым циклом Ct 21,98–22,14. В связи с этим перспективным направлением является поиск альтернативной модели, наиболее эффективной для накопления исследуемого микроорганизма.

Список литературы

1. *Злобин В.И., Рудаков Н.В., Малов И.В.* Клещевые трансмиссивные инфекции. — Новосибирск: Наука, 2015. — С. 1–224.
2. *Орехов И.В., Москвитина Э.А., Пичурина Н.Л., Забашта М.В., Адаменко В.И., Феронов Д.А.* Мелкие млекопитающие как компоненты паразитарных систем при природно-очаговых инфекциях в Ростовской области // Национальные приоритеты России. — 2011. — № 2. — С. 81–82.
3. *Рудаков Н.В.* Лихорадка Ку как зооноз. Результаты эколого-эпидемиологических исследований в России. Природно-очаговые болезни человека: респ. сборник научных работ. — Омск; 1996: 214–220.
4. *Рудаков Н.В., Егембердиева Р.А., Дуйсенова А.К., Сейдулаева Л.Б.* Клещевые трансмиссивные инфекции человека: учеб. пособие. — Омск — Алматы, 2016. — С. 192.
5. *Рудаков Н.В., Зеликман С.Ю., Шпынов С.Н.* Лихорадка Ку: эколого-эпидемиологические аспекты: информационное письмо. — Омск: КАН, 2021. — 28 с.
6. *Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Токаревич Н.К., Носков А.К.* Лабораторная диагностика лихорадки Ку: практическое руководство. — Омск: КАН, 2023. — 84 с.

Таблица 1

Результаты обнаружения ДНК *C. burnetii* в суспензии органов биопробных животных, зараженных пулом сывороток пациентов с подтвержденным диагнозом «Лихорадка Ку» (первый пассаж) и в суспензии органов животных при перевивке инфекционного материала (второй пассаж)

Первый пассаж												
Материал для заражения, исходный Ct	Пассаж 7 дней, значение Ct				Пассаж 9 дней, значение Ct				Пассаж 14 дней, значение Ct			
	легк.	сел	м/ф	сыв	легк.	сел	м/ф	сыв	легк.	сел	м/ф	сыв
Пул сывороток крови больных (Ct21,98–22,14)	35,8	отр	31,6	31,5	отр	28,8	23,2	32,4	27,1	25,1	22,4	отр
Второй пассаж												
Материал для заражения, пассаж	Пассаж 14 дней, значение Ct											
	легк.		сел		м/ф		сыв					
суспензия 1 (пассаж 7 дней)	отр		отр		отр		отр					
суспензия 2 (пассаж 9 дней)	30,3		отр		32,1		34,9					
суспензия 3 (пассаж 14 дней)	—*		—		—		—					

Примечания: м/ф — макрофаги, легк. — клетки легкого, сел. — клетки селезенки, сыв. — сыворотка крови.

7. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» Утверждены постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2021 № 4.
8. *Сокиркина Е.Н., Тушинский А.А., Савина И.В., Леоненко Н.В., Шитова Н.В., Симакова Д.И.* Анализ заболеваемости лихорадкой Ку в Ростовской области за 2022–2023 гг. В сб.: Актуальные вопросы эпидемиологического надзора за чумой и другими опасными инфекционными болезнями. Матер. научн.-практ. конф. — Горно-Алтайск, 2023. — С. 65–66.
9. *Фрейлихман О.А., Токаревич Н.К., Кондрашова В.Д.* Лабораторные методы диагностики ку-лихорадки и генотипирование *Coxiella burnetii* // Инфекционные болезни. — 2017. — № 2. — С. 49–60.
10. *Kurtti T.J., Mattila J.T., Herron M.J.* et al. Transgene expression and silencing in a tick cell line: A model system for functional tick genomics. Insect. Biochem. Mol. Biol. 2008; 38. (10):963–968. https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2008.07.008
11. *Long C.M., Beare P.A., Cockrell D.C., Larson C.L., Heinzen R.A.* Comparative virulence of diverse Coxiella burnetii strains. Virulence. 2019; 10 (1):133–150. DOI: 10.1080/21505594.2019.1575715
12. *Maurin M., Raoult D.* Q fever. Clin. Microbiol. Rev. 1999; 12(4):518–553.
13. *Munderloh U.G., Madigan J.E., Dumler J.S.* et al. Isolation of the equine granulocytic ehrlichiosis agent, Ehrlichia equi, in tick cell culture. J. Clin. Microbiol. 1996; 34:664–670.
14. *Metters G., Norville H., Richard W. Titball, Claudia M. Hemsley.* From cell culture to cynomolgus macaque: infection models show lineage-specific virulence potential of Coxiella burnetii. J. Med. Microbiol. 2019; 68(10):1419-1430. DOI: 10.1099/jmm.0.001064
15. *Bewley KR.* Animal models of Q fever (Coxiella burnetii). CompMed. 2013;63(6):469–76.

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ РОТОГЛОТКИ И НОСОГЛОТКИ ПАЦИЕНТОВ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА, НАХОДЯЩИХСЯ НА СТАЦИОНАРНОМ ЛЕЧЕНИИ В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Маркова К.Г., Голошва Е.В., Алешукина А.В.

ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Новым вызовом системе здравоохранения России и всех стран мира стала новая коронавирусной инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2 (COVID-19), представляя особую угрозу для людей пожилого и старческого возраста. Риск тяжелого течения заболевания и неблагоприятных исходов у пациентов старших возрастных групп связывают со снижением функций иммунной системы, происходящих с возрастом, снижением физиологических резервов, полиморбидностью [Пшеничная Н.Ю. и др., 2020, Shuai Z. et al., 2022]. Во время пандемии новой коронавирусной инфекции значительно возрос научный интерес, в том числе и к изучению влияния вируса SARS-CoV-2 и последствий перенесенного заболевания на микробиоту человека [Богданова Т.А. и др.2021, Гриневич В.Б. и др. 2021].

Цель

Изучить особенности микрофлоры ротоглоток и носоглоток пациентов пожилого и старческого возрастов, находящихся на стационарном лечении в гериатрическом отделении ФБУ РО «Госпиталь для ветеранов войн» города Ростов-на-Дону, во время широкого распространения пандемии новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2.

Материалы и методы

В рамках данной работы проведено изучение микрофлоры ротоглоток и носоглоток пациентов гериатрического отделения ФБУ РО «Госпиталь для ветеранов войн» города Ростов-на-Дону. За период 2020–2022 годов было обследовано 86 человек старше 60 лет, которые были рандомизированы на две возрастные группы: I группа — люди пожилого возраста (60–74 года), и II группа — люди старческого возраста (75 лет и старше). Качественный и количественный анализ состава микрофлоры осуществляли в соответствии с общепринятыми методиками.

Результаты и обсуждение

Среди обследованных пациентов в 2020 году преобладали люди старческого возраста (76,2%), в то время как в 2022 году доля таких пациентов была значительно ниже (27,3%). Количество людей пожилого возраста обследованных в 2020 и 2022 году составило 23,8% и 72,7% соответственно. До широкого распространения новой коронавирусной инфекции COVID-19 в ротоглотках пожилых пациентов гериатрического отделения доминировали стафилококки и дрожжеподобные грибы рода *Candida* (по 80%). Среди стафилококков преобладали коагулазоотрицательные виды в количестве lg4, что является нормой для данной возрастной категории. Коагулазоположительные (*S. aureus*) составили 20%, в количестве, незначительно превышающем норму (lg3,5). Энтеробактерии из ротоглоток выделялись в 75,6% случаев и в основном были представлены *E. coli,* в количестве lg7- lg8. Неферментирующие бактерии встречались в 20% случаев в высоких количествах (lg7,5). Следует отметить, что в ротоглотках пациентов стационара I возрастной группы частота встречаемости таких представителей нормофлоры, как нейссерии и стрептококки, была невысока (40% и 20% соответственно).

Исследование микрофлоры ротоглоток пациентов старшего возраста во время широкого распространения пандемии коронавирусной инфекции показало, что произошла смена доминирующих видов, по сравнению с доковидным периодом. Так, в ротоглотках было обнаружено нарастание количества условно-патогенных энтеробактерий (УПЭБ) и патогенных стрептокок-

ков, в то время как снизилось число стафилококков, неферментирующих бактерий (НФБ) и дрожжеподобных грибов рода *Candida*.

В группе пожилых людей доминантами по выявляемости в 2022 году были представители семейства *Enterobacteriaceae*, частота встречаемости которых составила 100%, причем, в 31,2% случаев были обнаружены ассоциации двух и более представителей УПЭБ. В отличие от предыдущих лет наблюдения в ротоглотках пожилых людей в 2022 году снизились как частота выделения, так и видовое разнообразие стафилококков (коагулазоотрицательные составили 6,2%, в количестве lg2, *S. aureus* — 12,5%, в количестве lg3,5). Также наблюдалась тенденция к снижению частоты выделения и количества НФБ (12,5% случаев, lg 5 — в 2022 году, по сравнению с 20% и lg7,5 — в 2020 году) и дрожжеподобных грибов рода *Candida* (18,7 % случаев, lg2 — в 2022 году по сравнению с 80% случаев, lg3,5 — в 2020 году).

В 2022 году в ротоглотках пациентов I возрастной категории частота встречаемости бактерий рода *Neisseria* была практически той же, что и в 2020 год, но значительно выросла частота обнаружения стрептококков (93,7%), при этом патогенный стрептококк (Streptococcus pneumonia) составил 50% случаев.

В группе пациентов старческого возраста, обследованных в доковидный период, распределение по видам и частоте встречаемости была схожей с результатами, полученными при обследовании людей пожилого возраста. Однако более часто встречались энтеробактерии (87,5%, в основном за счет выявления кишечной палочки), в то время как в несколько раз реже встречались представители НФБ (7,7%) и стрептококков (3%). Во II группе пациентов в 2022 году видовое разнообразие микрофлоры ротоглоток было аналогично группе пожилых, однако наблюдалось небольшое снижение частоты встречаемости УПЭБ (66,7%) и патогенного стрептококка (33,4%). У людей старческого возраста по сравнению с пожилыми пациентами значительно увеличилось число выявленных дрожжеподобных грибов рода *Candida* (до 50%) и представителей рода *Staphylococcus* (до 33,4%).

Заключение

Особенностью микробиоты обследуемой гериатрической группы населения в период пандемии новой коронавирусной инфекции явилось широкое разнообразие микрофлоры и высокая степень обсемененности ротоглоток и носоглоток пациентов. Во время широкого распространения новой коронавирусной инфекции у пациентов из изученных биотопов, по сравнению с доковидым периодом, отмечено резкое нарастание частоты выделения условно-патогенных энетеробактерий, золотистых стафилококков и патогенных стрептококков (*Streptococcus pneumoniae*), которые могут рассматриваться в качестве маркеров иммунодефицитного состояния, обусловленного перенесенным инфекционным заболеванием, вызванным SARS-CoV-2. Значительная обсемененность различных биотопов дрожжеподобными грибами рода *Candida* у пациентов гериатрического отделения является вариантом возрастной нормы [Маркова К.Г., 2021]. Однако в период широкого распространения новой короновирусной инфекции у обследованного пожилого контингента было обнаружено значительное снижение частоты выделения и видового разнообразия кандид (в 2,8 раза в ротоглотках и в 1,4 раза в носоглотках), которые могут быть обусловлены применением препаратов, входящих в протокол лечения COVID-19.

Список литературы

1. *Богданова Т.А.* Особенности гериатрического статуса пациентов в период пандемии COVID-19. Российский семейный врач. 2021; 25; 4:23–30.
2. *Гриневич В.Б., Кравчук Ю.А.* Болезни органов пищеварения и COVID-19. Известия Российской Военно-медицинской академии. 2021;40; 3:39–44.
3. *Пшеничная Н.Ю., Веселова Е.И., Семенова Д.А.* [и др.] COVID-19 — новая глобальная угроза человечеству. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2020; 1:6–13.
4. *Маркова К.Г., Голошва Е.В., Алешукина А.В.* [и др.] Особенности возрастных изменений микробиоты людей старших возрастных групп, проживающих в Донском регионе. Микробиологические аспекты диагностики инфекционных заболеваний: Сборник научно-практических работ IX Всероссийской научно-практической онлайн-конференции, Ростов-на-Дону, 12–13 мая 2021 года. — Ростов-на-Дону: Изд-во Ростовского гос. медицинского университета, 2021. — С. 35–38.
5. *Zhao Shuai, Feng Pengya, Meng Wenbo, Jin Weilin, Li Xun, Li Xiangkai.* Modulated Gut Microbiota for Potential COVID-19 Prevention and Treatment. FrontiersinMedicine. 2022; 9: 2212.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕТОДОВ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУЛЯРЕМИИ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ПОЛЕВОГО МАТЕРИАЛА

Махмудов Р.С., Сорокин В.М., Цимбалистова М.В., Анисимова А.С., Аронова Н.В.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Туляремия, одна из наиболее распространенных и опасных природно-очаговых инфекций, представляет особую угрозу, поскольку ее очаги отличаются стабильностью и встречаются во всех регионах России, включая Ростовскую область (РО), Луганскую Народную Республику (ЛНР), Донецкую Народную Республику (ДНР), Запорожскую и Херсонскую области [4]. Устойчивость очагов обусловлена своеобразием паразитарных систем, определяемыми биологическими особенностями возбудителя, переносчиков, носителей.

В последние годы наблюдается четкая тенденция к активизации природных очагов туляремии после длительного периода относительного затишья [2, 3]. В связи с этим проведение регулярного мониторинга состояния очагов и совершенствование методов диагностики приобретает особую важность для своевременной профилактики и борьбы с заболеванием [6].

Современные методы диагностики туляремии включают как традиционные (серологические, биологические), так и инновационные (молекулярно-генетические). В частности, для обнаружения ДНК туляремийного микроба широко используется полимеразная цепная реакция (ПЦР), а для обнаружения антигенов — серологические реакции (РНАт, РНГА, РА, ИФА, РКОА). Все более популярным становится иммунохроматографический анализ (ИХ-тест) благодаря своей высокой специфичности и удобству. При выделении чистой культуры Francisella tularensis для молекулярно-генетической характеристики штам-

мов в практику внедрены VNTR-анализ (MLVA-типирование), INDEL-типирование, полногеномное секвенирование.

Тем не менее, для обнаружения живых бактериальных клеток наиболее чувствительным остается биологический метод, позволяющий выявить даже единичные микробные клетки.

В период с 2020 по 2023 г. в ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора было проведено 2581 исследование полевого материала из очагов РО, ДНР, ЛНР, Запорожской и Херсонской областей. Наличие ДНК *F. tularensis* в пробах первичного полевого материала определяли методом ПЦР, а специфического туляремийного антигена методом — РНАт. При положительных результатах в одной из реакций образцы дополнительно изучались для детекции живых бактерий *F. tularensis* с помощью биологической пробы на модели высоко чувствительных к инфекции белых мышах.

В результате проведенной работы биологическим методом удалось изолировать 25 культур возбудителя туляремии. Наибольшее количество выделено: Новоазовский район ДНР (8), Ремонтненский район РО (5), Сальский и Целинский районы РО — 4 культуры. Основными источниками выделения возбудителя стали клещи (8), обыкновенные полевки (6), домовые мыши (4) и малые белозубки (3).

Сравнительный анализ эффективности используемых методов диагностики (ПЦР, РНАт, ИХ-тест) показал их высокую информативность. Так, ПЦР-диагностика дала положительные результаты в образцах с выделением культуры в 80% случаев (20 из 25), а РНАт — в 56% (14 из 25). При сомнительных результатах РНАт дополнительно мы использовали ИХ-тест. Туляремийный антиген в этих пробах был обнаружен в 50% образцов. По-видимому, это связано с его более низкой чувствительностью выявления возбудителя (не менее 10^7 м.к./мл).

В 40% проб с последующим выделением культуры данные на наличие маркеров возбудителя в ПЦР и РНАт совпадали. Однако в некоторых пробах наблюдались положительные находки только в одной из реакций. Тем не менее в таких случаях благодаря биологическому методу удавалось успешно изолировать культуру туляремийного микроба.

Особый интерес представляли результаты сравнительного анализа позитивных находок от общего количества исследованных проб в зависимости от вида изучаемого материала.

Таблица

Сравнительный анализ эффективности методов выявления *F. tularensis* в полевом материале (*n* =2581)

Вид полевого материала	Методы исследования			
	РНАт	ПЦР	ИХ-тест	Выделенная культура
Мелкие млекопитающие (мыши, полевки, белозубки и др.) *n* = 169	125 (74%)	62 (37%)	8 (5%)	17 (10%)
Клещи, кровососущие (комары, слепни и др.) *n* = 85	77 (90%)	7 (8%)	3 (3,5%)	8 (9%)
Объекты внешней среды (сено, зерно, солома, фураж, вода и др.) *n* = 20	7 (35%)	18 (90%)	0	0
Гнездово-норовый субстрат (ГНС) *n* = 9	9 (100%)	0	0	0
ПП, ПХМ *n* = 6	6 (100%)	0	0	0

В итоге проведенного исследования отмечается четкая тенденция к различной эффективности используемых методов в зависимости от вида полевого материала. Например, в ГНС и погадках птиц наиболее информативным являются методы обнаружения антигенов туляремийного микроба с помощью серологических реакций. При этом с помощью ПЦР нам не удалось выявить специфических фрагментов ДНК *F. tularensis*. В то же время, согласно нашим данным, в таких объектах окружающей среды как сено, зерно, фураж и др. наиболее адекватными являются методы ПЦР диагностики.

Обращает на себя внимание тот факт, что, несмотря на меньшую чувствительность РНАт по сравнению с ПЦР этот диагностический прием позволил нам в большем количестве случаев обнаружить антигены туляремийного микроба в организмах мелких грызунов, клещей и кровососущих. Возможно, это обусловлено стабильностью липополисахарида *F. tularensis* как основного доминирующего специфического антигена. В противо-

положность этому ДНК туляремийного микроба, по-видимому, менее стабильно, что подтверждают результаты изучения ГНС и погадок птиц.

Таким образом, применение комплекса методов диагностики, включающего биологический метод, ПЦР и РНАт, позволяет повысить эффективность выявления возбудителя туляремии и обеспечить своевременные мероприятия по борьбе с заболеванием.

Все изолированные штаммы были охарактеризованы по фенотипическим и молекулярно-биологическим свойствам. Изучение биологических свойств выделенных штаммов (окраска по Граму, морфология колоний, агглютинация со специфической туляремийной сывороткой, фосфатазная и β-лактамазная активности, устойчивость к антибиотикам) показало, что все они являются типичными представителями *F. tularensis* subsp. *holarctica Ery*^{R}. В связи с растущим значением молекулярно-биологических методов исследования инфекционных агентов были использованы методы INDEL-типирования и полногеномного секвенирования для определения филогенетического родства штаммов. INDEL-типирование подтвердило, что все штаммы, изолированные во время эпизоотии 2020–2023 гг. в РО, ДНР и ЛНР к подвиду *holarctica* и основной генетической подгруппе B12. Генотипирование по пяти VNTR-локусам позволило разделить изученные штаммы на шесть генотипов. Генотипы 1–4 принадлежат геновариантам штаммов, выделенных в РО в 2020 г. [5], тогда как генотипы 3–6 относятся к штаммам 2022–2023 гг.

Геновариант 3 представлен штаммами, выделенными только в РО, тогда как к генотипу 4 относятся не только штаммы, выделенные в РО, но и штаммы из Новоазовского района ДНР и Краснодонского района ЛНР. Культуры *F. tularensis*, выделенные в ДНР (Новоазовский район) и ЛНР (Краснодонский район), оказались генетически близки штаммам, изолированным на территории четырех районов РО, что позволяет подтвердить гипотезу о существовании общего очага туляремии [1].

На территории Тельмановского района ДНР также выделен штамм генотипа 5 с довольно значительным генетическим удалением от общего генотипа 4 и на территории Орловского района РО два штамма с генотипом 6.

На основании полученных данных мы заключаем, что:

- биологический метод остается золотым стандартом для обнаружения живых бактерий *F. tularensis* в полевом материале;
- серологический метод, основанный на выявлении специфических антигенов, является надежным дополнением биологическому методу для определения циркуляции возбудителя в очаге туляремии в случаях, когда выделение бактерий затруднено;
- молекулярно-биологические методы (ПЦР) являются наиболее эффективными при исследовании материалов из объектов окружающей среды (сено, фураж и др.);
- сочетанное использование серологических и молекулярно-биологических методов позволяет повысить эффективность и точность выявления возбудителя туляремии в объектах окружающей среды.

Список литературы

1. *Добровольский О.П., Пичурина Н.Л., Орехов И.В., Полонский А.В., Гончаров А.Ю.* и др. Сравнительный анализ биоценотической структуры носителей возбудителя туляремии в очагах степного типа приграничных территорий Ростовской области // Пест-Менеджмент. — 2020. — № 3. — С. 13–19. — DOI: 10.25732/pm.2020.115.3.002
2. *Забашта М.В., Пичурина Н.Л., Хаметова А.П., Забашта А.В., Орехов И.В., Добровольский О.П.* и др. Эпизоотия туляремии в популяции обыкновенной полевки в природном очаге степного типа на юго-востоке Ростовской области в 2020 году // Проблемы особо опасных инфекций. — 2022. — № 3. — С. 75–81. — DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-75-81
3. *Кудрявцева Т.Ю., Попов В.П., Мокриевич А.Н., Куликалова Е.С., Холин А.В., Мазепа* и др. Множественная лекарственная устойчивость клеток *F. tularensis* subsp. *holarctica*, анализ эпизоотологической и эпидемиологической ситуации по туляремии на территории Российской Федерации в 2022 г. и прогноз на 2023 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 1. — С. 37–47. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-37-47
4. Туляремия: состояние проблемы и методы исследования Мокриевич А.Н., Кравченко Т.Б., Фирстова В.В., Титарева Г.М., Дятлов И.А., Тимофеев В.С. / Под ред. И.А. Дятлова. — М.: Династия, 2019. — 264 с.
5. *Цимбалистова М.В., Сорокин В.М., Аронова Н.В., Анисимова А.С., Пичурина Н.Л., Пасюкова Н.И., Селянская Н.А., Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Павлович, Ковалев Е.В., Носков А.К.* Биологические свойства и генетическая характеристика штаммов *Francisella tularensis*, изолированных на территории Ростовской области в 2020 г. // Проблемы ООИ. — 2021. — № 3. — С. 134–140.
6. *Laura Mkrtchyan*. Comparisonof Serological Methods for the Diagnosis of Tularemia (P2-20). Abs. 10th Intern. Conference on Tularemia. Grenoble, France; 2023. P. 94.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ПЕРЕХОД ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ ИЗ БИОПЛЕНКИ В НЕКУЛЬТИВИРУЕМОЕ СОСТОЯНИЕ

Меньшикова Е.А., Титова С.В., Водопьянов С.О.,
Селянская Н.А., Егиазарян Л.А.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Холерные вибрионы большую часть своего жизненного цикла проводят вне организма человека-хозяина в водной среде, для переживания в которой *Vibrio cholerae* использует ряд стратегий, например, образование биопленок на биотических поверхностях, включая хитин, переход в жизнеспособную, но некультивируемую форму (НФ) [Соколенко А.В. и др., 2014; Марков Е.Ю. и др., 2015; Colwell R.R. et al., 1981; Lutz C. et al., 2013].

Впервые факт существования НФ *V. cholerae* O1 El Tor описали Colwell R.R. et al. (1981), высказав мнение о значимости этой формы холерных вибрионов в персистенции возбудителя холеры в окружающей среде. НФ холерных вибрионов были обнаружены на поверхности ракообразных и водорослей в планктоне и бентосе, присоединенными к кладке яиц хирономид, а также взвешенными в бактериопланктоне. Следует отметить, что в НФ холерные вибрионы сохраняют вирулентность и способность к колонизации. Однако все сведения о переходе в НФ в основном касаются исключительно планктонной формы [Соколенко А.В. и др., 2014; Colwell R.R. et al., 1981], и остается актуальным вопрос о переходе холерных вибрионов из биопленки, сформированной на «природном» хитине, в НФ.

Целью работы явилось экспериментальное изучение влияния температуры водной среды на переход *V. cholerae* O1 El Tor из биопленки в некультивируемое состояние.

Материалы и методы

В работе использовали штаммы *V. cholerae* O1 El Tor, содержащие и не содержащие ген *ctx*AB ивыделенные в разные годы из воды поверхностных водоемов г. Ростова-на-Дону. Биопленки холерных вибрионов получали на хитине широкопалого речного рака *Astacusastacus*, добавляя исследуемые штаммы в среду культивирования (автоклавированная при 132 °С в течение 60 минут речная вода) до конечной концентрации 10^4 м.к./мл. Контролем служили планктонные культуры этих штаммов. Подсчет в биопленке жизнеспособных, но некультивируемых клеток холерных вибрионов проводили методом Real-time ПЦР [Mishra A. et al., 2012, Водопьянов С.О. и др., 2019]. Жизнеспособность исследуемых штаммов подтверждали бактериологическим методом, отпечатывая фрагменты хитинового панциря с биопленкой на агаре Мартена. Для изучения влияния температуры на переход холерных вибрионов из биопленки в НФ опытные и контрольные пробы культивировали при температуре, соответствующей условиям воды поверхностных водоемов в летний (25 ± 1 °С) и зимний (6 ± 1 °С) периоды г. Ростова-на-Дону.

Результаты и обсуждение

Анализ динамики температуры в поверхностных водоемах г. Ростова-на-Дону за пять лет (2019–2023) показал, что значение среднемесячной температуры в зимний период составляет 6,4 ± 0,39 °С, в летний — 25,6 ± 0,35 °С [https://pogoda1.ru/water/reka-don 2022].

При культивировании холерных вибрионов в условиях, моделирующих летнюю температуру воды (25 ± 1 °С) на 30 сутки инкубации концентрация контрольных штаммов составляла 10^6 м.к./мл, опытных — 10^9 м.к./мл, соответственно. При высеве опытных и контрольных штаммов отмечали сливной рост на агаре Мартена. Для изучения влияния температуры на холерные вибрионы в «зрелой биопленке» и планктоне опытные и контрольные пробы помещали в условия, моделирующие зимнюю температуру поверхностных водоемов г. Ростова-на-Дону (6 ± 1 °С) и культивировали в течение 70 суток. По окончании периода наблюдения определяли жизнеспособность штаммов холерных

вибрионов бактериологическим методом и в Real-time ПЦР. На агаровой среде при высеве из контрольных и опытных проб колоний холерных вибрионов не обнаружено. По результатам исследований методом ПЦР установлено, что концентрация *V. cholerae* O1 El Tor опытных штаммов (биопленка) составляла 1×10^3 м.к./мл, в контрольных пробах (планктонная форма) холерных вибрионов не обнаружено.

При повышении температуры среды культивирования до 25 ± 1 °С в течение трех суток (ежедневный контроль) в отпечатках фрагментов хитина на агаре Мартена, независимо от токсигенности штаммов, отмечали рост единичных колоний *V. cholerae* O1 El Tor. При ежедневном высеве контрольных штаммов на агаровые пластины в течение пяти суток колоний вибрионов не обнаружено. Возможно, что холерные вибрионы в планктонной форме не способны переживать низкую температуру длительное время.

Выводы

Таким образом, экспериментально показано, что температура влияла на переход холерных вибрионов, независимо от наличия *ctx*AB гена, из «зрелой биопленки» в НФ и на способность сохраняться жизнеспособными в течение длительного времени. Состояние НФ холерных вибрионов обеспечивает низкий уровень гибели популяции и позволяет бактериям восстановиться при благоприятных условиях окружающей среды. Способность холерных вибрионов колонизировать поверхность хитиновых субстратов и переходить в некультивируемое состояние может привести к накоплению возбудителя в поверхностных водоемах в случае заноса токсигенного штамма с эндемичной по холере территории.

Список литературы

1. *Марков Е.Ю., Куликалова Е.С., Урбанович Л.Я., Вишняков В.С., Балахонов С.В.* Хитин и продукты его гидролиза в экологии холерного вибриона. Биохимия. — 2015. — № 80(9). — С. 1109–1116. — DOI: 10.1134/S0006297915090023
2. *Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Меньшикова Е.А., Курбатова Е.М., Титова С.В.* Способ моделирования биопленок, формируемых *Vibrio cholerae* O1 серогруппы на поверхности хитина. Патент РФ 20192685878, МПК 51 C12N 11/00. / № 2018103604.

3. *Соколенко А.В., Миронов А.Ю.* Некультивируемые формы *Vibrio cholerae* O1/O139. Национальные приоритеты России. — 2014. — № 3. — С. 86–89.
4. Погода 1. Климат России [Электронный ресурс]. — URL: https://pogoda1.ru/water/reka-don 2022
5. *Colwell R.R., Seidler R.J., Kaper J.* et al. Occurence of *Vibrio cholerae* serotype 01 in Maryland and Lousiana estuaries. Appl. Environ. Microbiol. 1981; 41(2): 555–558.
6. *Lutz C., Erken M., Noorian1 P., Sun S. McDougald D.* Environmental reservoirs and mechanisms of persistence of Vibrio. Front. Microbiol. 2013; 4:344–375. DOI: 10.3389/fmicb.2013.003752
7. *Mishra A., Taneja N., Sharma M.* Viability kinetics, induction, resuscitation and quantitative real-time polymerase chain reaction analyses of viable but nonculturable *Vibrio cholerae* O1 in freshwater microcosm. J. Appl. Microbiol. 2012;(112):945–953. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2012.05255

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА САЛЬМОНЕЛЛ И ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ Р. ТЕМЕРНИК И УСТЬЕВОЙ ЧАСТИ Р. ДОН

Морозова М.А.[1], Калюжин А.С.[2,3], Седова Д.А.[4]

[1]ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия
[2]ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, г. Мытищи, Россия
[3]ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Волгоград, Россия
[4]Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Патогенные и потенциально патогенные бактерии, переходя в водную среду из организма человека или животного, повышают свои адаптивные возможности в меняющихся условиях неблагоприятной среды обитания и гетерогенности популяций.

В борьбе за существование и с целью сохранения биологического вида микроорганизмы приобретают факторы патогенности. В качестве защитных свойств бактерии, продуцируют ферменты защиты и агрессии, участвующие в процессах защиты и инвазии [Анганова Е.В., 2010]. Они способны проявлять гемолитическую, ДНК-азную, адгезивную и инвазивную активности, продуцировать токсины — энтеротоксины и цитотоксины. Высокий уровень антропогенного загрязнения водоемов может способствовать усилению адаптационных свойств бактерий, в данном случае факторов патогенности. В частности, в водоемах Ростовской области выявление потенциально патогенных бактерий (клебсиелл и синегнойных палочек) с гемолитической активностью в период 2006–2010 гг., было значительно выше, чем в период 1996–2000 гг. ($t = 3{,}24$; $P = 0{,}02$ и $t = 3{,}11$; $P = 0{,}04$). Указанные изменения связаны со спадом промышленного производства в 90-е годы и, соответственно, с уменьшением антропогенной и техногенной нагрузки на водные объекты [Журавлев П.В., Алешня В.В., 2016]. Кроме того, показано, что выделенные из воды Цимлянского водохранилища и Нижнего Дона, клебсиеллы и синегнойные палочки проявляли патогенные свойства в большей степени, чем сальмонеллы по ряду ферментов патогенности (ДНК-аза, лецитиназа, фосфатаза). Это указывает на более высокие адаптационные возможности потенциально патогенной микрофлоры по сравнению с патогенными бактериями, хотя повреждающее воздействие на организм человека сильнее выражено у традиционных патогенов [Журавлев П.В. и др., 2018].

В инфекционной патологии человека недостаточно изученной остается проблема циркуляции в водных экосистемах антибиотикорезистентных бактерий с учетом их высокой адаптации по сравнению с возбудителями классических инфекций [Рахманин Ю.А. и др., 2016]. Поступление в поверхностные водоемы сточных вод формирует резервуар для резистентных к антибиотикам микроорганизмов. Актуальность изучения антибиотикорезистентности микробных сообществ водных биотопов связана с необходимостью прогнозирования риска возникновения полирезистентных штаммов в конкретном регионе и распро-

странения лекарственно-устойчивых микроорганизмов в водоеме.

Цель исследования: изучение антибиотикорезистентности и ряда ферментов патогенности (лецитиназа, желатиназа, ДНК-за, фосфатаза), гемолизина у бактерий р. *Salmonella, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa*, выделенных из воды реки Темерник и устьевой части реки Дон.

Материалы и методы

Отбор проб воды проводился ежемесячно с апреля по ноябрь в период 2022–2023 гг. в районах азовского и ростовского водозаборов, зон рекреации, селитебных территорий и ниже выпуска городских канализаций.

Патогенные свойства бактерий изучали путем определения у них наличия ДНК-азы, лецитиназы, желатиназы, фосфатазы и гемолизина. Гемолитическую активность бактерий выявляли на 5%-ом кровяном агаре, лецитиназу на желточном агаре по Чистовичу, ДНК-азу на ДНК-азном агаре с толуидиновым синим [МУК 4.2.2602-10]. Наличие желатиназы выполняли с помощью быстрого теста на разжижение скошенной желатиназы с феноловым красным [Определитель..., 1999]. Определение бактериальной щелочной фосфатазы осуществляли на мясопептонном агаре с натриевой солью дифосфатфенолфталеина.

Чувствительность бактерий к антибактериальным препаратам (АБП) определяли диско-диффузионным методом [МУК 4.2.1980-04]. Исследование проводили на агаре Мюллера-Хинтон в соответствии с действующими рекомендациями EUCAST от 2021 года.

Результаты и обсуждение

Гидролитические ферменты и гемолизины являются важными внеклеточными веществами, вырабатываемыми многими бактериями. Мы исследовали 20 штаммов патогенных бактерий р. *Salmonella* и потенциально патогенных бактерий — 113 штаммов *K. pneumoniae* и 132 штамма *P. aeruginosa*. В большей степени встречаемость ДНК-азы, лецитиназы и гемолизина наблюдалось у представителей потенциально патогенной микрофлоры —

K. pneumoniae и *P. aeruginosa*, чем у *Salmonella* sp. Установлено, что штаммы *P. aeruginosa* продуцируют лецитиназу (87,2%) и гемолизин (84,8%) чаще, чем штаммы *K. pneumoniae* (соответственно, 56,6%, 26,5%). Наибольшее число штаммов, обладающих ДНК-азой установлено среди клебсиелл (61,9%). Тогда как доля сальмонелл с наличием этого фермента составила 20%, а синегнойных палочек — 35,6% штаммов. Фосфатазой обладали более половины выделенных сальмонелл и клебсиелл (65% и 69,9% соответственно). У псевдомонад фосфатазная активность выявлена только у 42,4 % штаммов. Среди синегнойных палочек установлено наибольшее число штаммов с протеазной активностью (желатиназа — 97,7%). При этом ни один из проанализированных штаммов сальмонелл не продуцировал желатиназу.

Чувствительность сальмонелл оценивали по отношению к 22 антибактериальным препаратам 7 функциональных классов (β-лактамам, аминогликозидам, фторхинолонам, сульфаниламидам, нитрофуранам, тетрациклинам, амфениколам).

Анализ спектра антибиотикорезистентности 20 штаммов из речных биотопов, выявил распространенную устойчивость к препаратам первого поколения для лечения сальмонеллезов: триметоприм/сульфаметоксазолу (20/20), ампициллину (9/20), хлорамфениколу (2/20). Среди препаратов второго поколения (фторхинолоны, цефалоспорины расширенного спектра), были обнаружены соответствующие резистентные штаммы *Salmonella* sp. Устойчивость установлена к цефтазидиму (5/20), цефоперазону (1/20) и умеренная резистентность к ципрофлоксацину (4/20). К препаратам группы аминогликозидов устойчивость определялась к гентамицину (9/20) и амикацину (1/20). Половина выделенных сальмонелл оказалась резистентной к доксициклину (10/20). Кроме того, из воды реки Темерник изолирован штамм, устойчивый к 10 из 22 протестированных АБП, а именно к пяти бета-лактамным препаратам (ампициллину, цефоперазону, цефтазидиму, цефтибутену, цефазолину), к аминогликозидам II и III поколения (гентамицину, амикацину) и доксициклину, хлорамфениколу, триметоприм/сульфаметоксазолу.

Среди испытанных препаратов наибольшая устойчивость *P. aeruginosa* выявлена к хлорамфениколу (85%) и ампициллин/

сульбактаму (64,2%). Аналогичные результаты антибиотикорезистентности *P. aeruginosa* из воды Нижнего Дона, были получены в 2016–2020 гг. Наблюдается тенденция к увеличению числа устойчивых к хлорамфениколу штаммов. При этом псевдомонад, устойчивых к гентамицину не выявлено, тогда как в предыдущие годы их доля составляла 19,7%.

Анализ чувствительности *K. pneumoniae* к беталактамным препаратам показал широкую циркуляцию штаммов, устойчивых к ампициллину (85%), устойчивость к группе цефалоспоринов была несколько ниже, к цефазолину и цефтазидиму по 26,9%, цефоперазону –15,4%, цефепиму — 7,7% штаммов. Менее трети составила доля штаммов, резистентных к доксициклину (30,7%) и нитрофурантоину (23,1%).

Заключение

Устьевой участок реки Дон в силу своего географического положения аккумулирует совокупное воздействие водохозяйственной деятельности со всего речного бассейна. Значительный вклад в биологическое загрязнение вносит правый приток р. Дон в нижней ее части — река Темерник. Учитывая, что река Дон служит для рекреационных и рыбохозяйственных целей и является единственным источником водоснабжения для г. Ростова-на-Дону и г. Азова, распространение в речной воде штаммов *Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa* и патогенных бактерий р. Salmonella, устойчивых к ряду современных лекарственных препаратов широкого спектра действия и обладающих гемолитической активностью и ферментами патогенности (ДНК-аза, лецитиназа, фосфатаза), может указывать на эпидемическую опасность водопользования.

Список литературы

1. *Анганова Е.В.* Биологические свойства условно-патогенных бактерий водных экосистем // Гигиена и санитария. — 2010. — № 5. — С. 69–70.
2. *Журавлев П.В., Алешня В.В., Панасовец О.П.* Ферменты патогенности у бактерий, выделенных из воды открытых водоемов // Здоровье населения и среда обитания. — 2018. — № 1. — С. 11–14.
3. *Журавлев П.В., Алешня В.В.* Факторы патогенности у потенциально патогенных микроорганизмов выделенных из воды открытых водоемов // Современные методологические проблемы изучения, оценки и регламенти-

рования факторов окружающей среды, влияющих на здоровье человека. — 2016. — С. 217–220.
4. МУК 4.2.1884-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. — М.: Федеральный центр госэпиднадзора Минздрава России, 2004. — 91 с.
5. МУК 4.2.2602-10 Система предрегистрационного доклинического изучения безопасности препаратов. Отбор, проверка и хранение производственных штаммов, используемых при производстве пробиотиков: Методические указания. — М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. — 60 с.
6. Определитель нетривиальных патогенных грамотрицательных бактерий / Р. Вейант, У. Мосс, Р. Уивер. [и др.] пер. с анг. — М.: Мир, 1999. — 791 с.
7. *Рахманин Ю.А.* и др. Распространение бактерий рода *Klebsiella* в водных объектах и их значение в возникновении водообусловленных острых кишечных инфекций // Гигиена и санитария. — 2016. — № 95(4). — С. 397–406. — DOI: 10.18821/0016-9900-2016-95-4-397-406

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТИПИРОВАНИЕ ШТАММОВ KLEBSIELLA PNEUMONIAE, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ, ОСЛОЖНЕННОЙ ПНЕВМОНИЕЙ, ИЗ МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ Г. МАРИУПОЛЬ ДНР РФ

Писанов Р.В., Водопьянов А.С., Ковалевич А.А., Водопьянов С.О.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Согласно данным многочисленных исследований, частота заболеваемости пневмонией в мире колеблется от 11,8% среди пациентов молодого и среднего возраста до 46% у больных старше 60 лет. Только в США ежегодно регистрируется 4–6 миллионов случаев внебольничных пневмоний, из которых 20–25% сопровождается госпитализацией.

Особую клиническую значимость, как этиологический агент различных пневмоний, по мнению некоторых авторов, пред-

ставляет *Klebsiella pneumoniae*. Идентификация и точное определение вирулентных клонов, групп штаммов с одним предком, связанными с внебольничными пневмониями, имеет решающее значение как для понимания эволюции патогенности, так и для лучшего контроля распространения инфекций. *K. pneumoniae* стала глобальной угрозой здоровью человека в течение последнего десятилетия [Shelenkov A. et al., 2020].

Цель настоящего исследования состояла в изучении генетического разнообразия и установления клональных связей штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов с новой коронавирусной инфекцией, осложненной пневмонией, в г. Мариуполь ДНР РФ.

Исследования проводились в мобильной лаборатории СПЭБ в период с ноября по декабрь 2022 года. Пробы поступали из трех медицинских организаций г. Мариуполь.

Для выделения штаммов из клинических проб, поступивших на ПЦР-скрининг, нами была разработана селективная питательная среда, позволяющая без дополнительных биохимических тестов выделять чистые культуры *K. pneumoniae*. Посев осуществлялся на сектора по 30 мкл пробы, поступившей на ПЦР-исследование. Пробы для посева отбирались у пациентов с подтвержденным диагнозом Covid-19 при наличии тяжелых форм пневмоний. В основу среды заложена высокая концентрация железа, которую могут выдерживать клинические штаммы *K. pneumoniae*, обладая системой активного захвата железа. Высокая концентрация железа стимулирует рост и интенсивное капсулообразование из-за чего колонии *K. pneumoniae* становятся каплевидными, выпуклыми, слизистыми и легко отличимыми от других микроорганизмов.

Причем гипермукоидные варианты *K. pneumoniae* сохраняют способность образовывать тяж при стринг-тестировании. Дополнительным тестом на этой среде служит уреазная активность, в результате которой происходит покраснение среды вокруг колонии. При тестовых испытаниях нами установлено, что на данной среде уже через 12–16 часов вырастают представители рода *Klebsiella*, а рост посторонней микрофлоры отсутствует.

В процессе бактериологического мониторинга нами были отобраны 31 штамм, имеющий характерный для *K. pneumoniae* рост на селективной среде. Штаммы в дальнейшем были идентифицированы методом MALDI как *K. pneumoniae*. Дискодиффузионным методом проведено изучение антибиотикорезистентности по 28 антибиотикам. Установлено, что все штаммы были мультирезистентны, что характерно для клинических и внутрибольничных штаммов, но не идентичны по спектру устойчивости, что свидетельствовало в пользу отсутствия их клональности.

Дополнительно было проведено фенотипическое типирование штаммов по признаку гипермукоидности стринг-тестом, но были получены неоднозначные результаты. Часть штаммов при пересеве с селективной среды на LB агар временно утрачивали образование капсульного тяжа и восстанавливали его при следующем пересеве. По мнению зарубежных авторов, стринг-тест не является 100% подтверждением гипермукоидности клинических штаммов *K. pneumoniae* и требуется его генетическая валидация [Walker K.A. et al., 2019]. В качестве генетического маркера используют ген *rmpA*. Данный ген описан как регулятор синтеза гиперкапсулы и его наличие коррелирует с гипермукодностью. Особенностью гипермукоидных штаммов является наличие двух копий этого гена: в геноме *rmpA* и на большой плазмиде *rmpA2*. Анализ генотипа гипермукоидности показал, что в общей сложности 27 (87,1%) из 31 изолятов были положительны по этому признаку. Только 4 (12,9%) имели классический генотип и фенотип. При этом все гипермукоидные изоляты имели гены *rmpA* и *rmpA2*, что отличало их от классического варианта. Таким образом, генетически установлено, что в Мариуполе циркулируют мультирезистентные штаммы преимущественно гипермукоидного генотипа.

В настоящее время золотым стандартом генетического анализа является MLST-типирование выделенных штаммов Klpn. Типирование проводится по 7 генам домашнего хозяйства и различают более 4000 ST-типов. Зарубежные программы для типирования обладают рядом недостатков: низкой производительностью (один геном за один запуск) и при наличии незарегистрированной мутации в одном из 7 генов выдают ошибку.

Для анализа ST-типа нами была разработаны программа MLST_typer, лишенная этих недостатков. Анализ сиквенс-типа (ST) этой программой показал, что доминирующим типом является гипермукоидный ST23 (35,5%) и ST86 (16,13%). Остальные гипермукоидные изоляты представлены ST806, ST268, ST380, ST25, ST60. В ходе анализа были выявлены два не описанных ранее гипермукоидных ST. Классические патотипы были представлены ST309, ST485, ST37, ST4859.

Для генетического анализа факторов патогенности нами разработана программа «KlebsiellaAnalyZer». В программу заложены функции по определению капсульного типа, наличие 35 генов, связанных с патогенностью, 9 генов репликонов плазмид *Klebsiella pneumoniae*, 19 INDEL маркеров и наличие CRISPR системы, как фактора устойчивости к лечебным бактериофагам [Ostria-Hernández M.L. et al., 2015].

По результатам капсульного типирования установлено, что доминирующим типом среди циркулирующих штаммов являются K1 и K2 как наиболее распространенные и более вирулентные. В нашей выборке штаммов K1 принадлежал ST23 и K2 ST86 типам, описанные в зарубежных публикациях как высоковирулентные [Lam M.M.C. et al., 2021]. В отношении 27 гипермукоидных изолятов были выявлены комплексы генов, синтезирующие сидерофоры (иерсинеобактин, сальмохелин, энтеробактин). Наибольшим количеством генов патогенности обладали штаммы ST23 K1 и ST86 K2 генотипов.

Для установления клональных связей нами проведено SNP-типирование 31 штамма с использованием 90069 SNP. Так, например, при анализе полученной дендрограммы установлено, что штаммы ST23 типа 3947, 3374 и 3347, 3948, 3361 группируются в два кластера, как клональные. Вместе с тем, штаммы были выделены от разных пациентов из разных медицинских организаций и имеют отличия по спектру антибиотикорезистентности.

Анализ штаммов 3947, 3374 и 3347, 3948, 3361 программой «Klebsiella AnalyZer» выявил существенные различия в их генетической структуре. По полученным данным все штаммы ST23 генотипа группируются в единый кластер как родственные, но не идентичные. Различия наблюдаются в генетической органи-

зации их внехромосомных элементов, двух плазмидах 250 кб и 95 кб. В случае клональности плазмиды должны быть идентичны, но этого не наблюдалось, более того, штаммы имели разные гены, ответственные за репликацию этих плазмид, что свидетельствует об их дифференциальном происхождении. Таким образом, каждый из 31 изученных штаммов, выделенных в трех медицинских организациях в г. Мариуполе ДНР РФ от пациентов с новой коронавирусной инфекцией, осложненной пневмонией, не связаны между собой, что исключает внутрибольничное инфицирование.

Таким образом, нами установлено, что общепринятый анализ SNP не является корректным для оценки клональности клинических штаммов единого ST-типа. INDEL типирование в сочетании с DFR-анализом по генам патогенности дает более корректное представление об их филогенетических связях.

Список литературы

1. *Lam M.M.C.* et al. A genomic surveillance framework and genotyping tool for Klebsiella pneumoniae and its related species complex. Nature communications. 2021;12(1): 4188.
2. *Ostria-Hernández M.L.* et al. Survey of clustered regularly interspaced short palindromic repeats and their associated Cas proteins (CRISPR/Cas) systems in multiple sequenced strains of Klebsiella pneumonia. BMC research notes. 2015; 8: 1–10.
3. *Shelenkov A.* et al. Molecular typing, characterization of antimicrobial resistance, virulence profiling and analysis of whole-genome sequence of clinical Klebsiella pneumoniae isolates. Antibiotics. 2020; 9(5): 261.
4. *Walker K.A.* et al. A Klebsiella pneumoniae regulatory mutant has reduced capsule expression but retains hypermucoviscosity. MBio. 2019; 10(2). DOI: 10.1128/mbio.00089-19

ОБНАРУЖЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНЫХ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ С ПОМОЩЬЮ БАКТЕРИОФАГА НА ОСНОВЕ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПЦР

Погожова М.П.[1], Водопьянов С.О.[1], Водопьянов А.С.[1], Зулькарнеев Э.Р.[2], Тюрина А.В.[1], Сизова Ю.В.[1], Иванова И.А.[1]

[1]ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия
[2]ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Введение

На сегодняшний день «золотым стандартом» анализа жизнеспособности бактерий считается культуральный метод, который показывает наблюдаемое деление отдельной клетки на колонии на чашках с агаром или в жидкой среде, тем самым доказывая, что клетки живы.

Культуральный (бактериологический) компонент лабораторной идентификации высоко эффективен, но его проведение трудоемко и длительно (36–48 ч для холерного вибриона) [МУК 4.2.3745-22]. Молекулярно-генетический компонент исследования, являясь быстрым, высокочувствительным и специфичным, не позволяет определить жизнеспособность микроорганизмов. Фаговый метод обладает достаточно высокой специфичностью и экономичнее бактериологического, так как на его проведение затрачивается меньшее количество лабораторной посуды, сред и реактивов.

Для ускорения выдачи ответа и ухода от длительных и трудоемких бактериологических процедур подтверждения жизнеспособности бактерий нами предложен подход с использованием для этой цели формата ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ), позволяющий проводить количественную оценку ДНК-мишени фага в процессе амплификации. Выбор такого подхода был обо-

снован возможностью установить разницу в уровнях накопления ампликонов при исследовании проб, содержащих живые и неживые бактерии в контакте с бактериофагом в течение определенного времени.

Цель — определение жизнеспособных холерных вибрионов в пробах с помощью нарастания нуклеиновой кислоты (НК) специфического бактериофага в сочетании ПЦР-РВ.

Материалы и методы

В исследование взят холерный бактериофаг RostovM3 (миовирус класса *Caudoviricetes* [Turner D. et al., 2021, 2023], Genbank (NCBI): MN379460.1-MN379463.1), выделенный из внешней среды и активный в отношении *Vibrio cholerae* O1 серогруппы двух биоваров classical и El Tor с литической активностью 83,3% и 43,3% соответственно. НК данного фага использовалась в качестве мишени при ПЦР-РВ.

Важнейшим этапом при разработке ПЦР, обеспечивающим получение корректного результата, является правильный подбор мишеней для посадки праймеров. С помощью комплекса программного обеспечения https://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/ были созданы праймеры на фаг Rostov M3 для ПЦР. Для этого в программу вносили последовательность бактериофага и зонда, который был сконструирован вручную. Для оценки специфичности праймеров и зонда использовано 7 бактериофагов различных энтеробактерий. Все использованные фаги хранятся в коллекции-депозитарии лаборатории бактериофагов ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора.

Изучение биологических свойств фагов проводили общепринятыми методами [Каттер Э., Сулаквелидзе А., 2012]. Выделение ДНК осуществляли комплектом реагентов «РИБО-преп» вариант 100 АмплиСенс®согласно инструкции производителя. ДНК секвенирована с помощью полногеномного секвенатора Miseq (Illumina).

Методика для обнаружения жизнеспособных холерных вибрионов O1 серогруппы биоваров classical и El Tor при помощи бактериофага заключалась в приведении проб, подозрительных

на наличие *V. cholerae*, в контакт с бактериофагом Rostov M3 и последующее проведение во времени T_0 и T_n ПЦР-РВ с детекцией Ср, свидетельствующего в пользу увеличения НК вирусных частиц использованного бактериофага Rostov M3, что указывает на присутствие в пробах жизнеспособных холерных вибрионов О1 серогруппы биоваров classical и El Tor.

Результаты и обсуждение

Сконструированная система из праймеров (PhaP_F,PhaP_R) и зонда (PhaP Z) была специфична для бактериофага Rostov M3. С помощью этой системы осуществляли детектирование увеличения матрицы ДНК. Проведена подготовка стандартов фаговой ДНК от 10^8 до 10^3 БОЕ/мл для калибровочной кривой при учете результатов в ПЦР. Далее авторами подобраны условия для проведения реакции ПЦР. Амплификацию проводили в амплификаторе DTlite5 (ДНК-технология), по следующей схеме: денатурация при 94 °С — 2 мин (1 цикл); затем 35 циклов: денатурация при 94 °С — 8 секунд, отжиг и учет по каналу HEX при 60°С — 12 секунд. Учет результатов проводили геометрическим методом путем регистрации показателей Ср.

Для увеличения частиц фага M3 при инкубировании с жизнеспособными культурами использовали 3 штамма *V. cholerae* О1 биовара classical и 3 штамма биовара El Tor. После инкубации проб с живыми культурами и фагом наблюдалось нарастание количества частиц фага, оцениваемое по снижению величины Ср после 1 (Ср = 17,5 ± 0,4), 2 (Ср = 16,5 ± 0,3) и 3 часов (Ср = 15, 0,3) инкубирования в пептоне относительно нулевой точки (Ср = 20,5 ± 0,3), а после показатель вышел на плато. Положительный контроль соответствовал величине Ср = 14,6 ± 0,3. Учет результатов, проведенный геометрическим методом путем регистрации на калибровочной кривой Ср, показал, что происходит нарастание количества НК вирусных частиц указанного бактериофага M3 после инкубирования проб в течение нескольких временных приемов не менее трех часов. На основании полученных результатов сделано заключение о присутствии в пробе жизнеспособных холерных вибрионов О1 серогруппы биоваров classical и El Tor.

Для обнаружения накопленных частиц фага М3 при инкубировании с прогретыми (нежизнеспособными) культурами взяты те же штаммы *V. cholerae* О1 биовара classical ($n = 3$) и биовара El Tor ($n = 3$). После контакта с фагом отбирались аликвоты для выделения ДНК в том же временном режиме (через 0, 1, 2 и 3 часа). В результате обнаружено, что относительно нулевой точки показатель Ср не изменялся и был равен 20 в любое время отбора аликвот. Таким образом, можно сделать заключение о нахождении в исследуемом материале культуры *V. cholerae* О1 серогруппы, находящейся в инактивированном состоянии, но положительной при анализе тест-системой АмплиСенс® «*Vibrio cholerae*-FL».

Заключение

Предложенный метод совмещает идентификацию *V. cholerae* специфическим фагом, как компонент бактериологической диагностики, а также молекулярно-генетическую детекцию, что позволяет сохранить специфическую идентификацию и ускорить выдачу ответа. В течение 4–5 часов после поступления пробы будет известно, что в ней присутствуют либо отсутствуют живые холерные вибрионы.

Список литературы

1. *Каттер Э., Сулаквелидзе А.* Бактериофаги: Биология и практическое применение / Пер. с англ. коллектив переводчиков; науч. ред. А.В. Летаров. — М.: Научный мир; 2012. — 640 с.
2. МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры» (утв. 12.05.2022).
3. *Turner D., Kropinski A.M., Adriaenssens E.M.* A Roadmap for Genome-Based Phage Taxonomy. Viruses. 2021; 13(3): 506. DOI: 10.3390/v13030506
4. *Turner D., Shkoporov A.N., Lood C.* et al. Abolishment of morphology-based taxa and change to binomial species names: 2022 taxonomy update of the ICTV bacterial viruses subcommittee. Arch Virol. 2023; 74: 168. DOI: 10.1007/s00705-022-05694-2

МЕТАГЕНОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОБЫ ВОДЫ ПОВЕРХНОСТНОГО ВОДОЕМА г. ИРКУТСКА В ПЕРИОД ВЫДЕЛЕНИЯ НЕТОКСИГЕННЫХ ШТАММОВ *V. CHOLERAE*

Пономарева А.С., Миронова Л.В., Эрдынеев С.В.,
Федотова И.С., Хунхеева Ж.Ю., Басов Е.А.

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

Введение

В рамках надзора за холерой на территории Иркутской области осуществляется микробиологический мониторинг поверхностных водоемов в 136 эпидемиологически обоснованных стационарных точках отбора. На территории г. Иркутска на настоящий момент мониторинг проводится в 15 стационарных точках, одной из таких точек является место отбора в устье реки Ушаковка, используемой населением для неорганизованного рекреационного водопользования. С 2000 года из р. Ушаковка изолировано 142 штамма *Vibrio cholerae* неО1/О139, 19 штаммов *V. cholerae* El Tor O1 серогруппы и *V. cholerae* R-варианта. В августе 2017 г. (с 07.08.2017 по 18.08.2017) из стационарной точки данного водоема было выделено 34 штамма V. cholerae: 10 штаммов *V. cholerae* El Tor O1 Inaba и 24 штамма *V. cholerae* не O1/O139. Первые штаммы холерных вибрионов были изолированы 7 августа 2017 г. Представляет интерес исследование структуры микробного сообщества в период обнаружения V. cholerae.

Цель — определение таксономического состава микробного сообщества пробы воды в момент выделения холерного вибриона.

Материалы и методы

Отбор пробы воды для метагеномного анализа проводился дополнительно в объеме 1 литр в рамках мониторинговых исследований на наличие холерного вибриона из р. Ушаковка 7 августа 2017 г.

Фильтрацию воды осуществляли через закрытую от внешней среды систему поликарбонатных фильтров, состоящую из префильтра (размер пор 5 мкм), и основного кассетного фильтра (размер пор 0,22 мкм). Экстракцию ДНК осуществляли, комбинируя химические и физические способы лизиса клеток.

Подготовку библиотек для исследования полного метагенома проводили в соответствии с рекомендуемым протоколом Nextera XT DNA Library Prep, секвенирование проводили на платформе MiSeq.

Исходные данные секвенирования содержали по 10 608 795 прямых и обратных ридов. С помощью языка программирования R исходные данные подверглись очистке от прочтений, содержащих неизвестные нуклеотиды (N). Количество парных прочтений для дальнейшего анализа составило 10 592 980 с длинами от 35 до 251 оснований.

Для классификации метагеномных последовательностей по таксономической принадлежности и оценки количества видов использовались программы Kraken2 v2.1.3 [Wood D.E. at al., 2019] и Brackenv 2.9 [Lu J. et al., 2017]. Анализ проведен с помощью базы данных RefSeqNCBI от 12 января 2024 года. Объем базы составил 77,1 ГБ, содержащей последовательности 1087 архей, 18 639 вирусов, 99 180 бактерий, 81 155 плазмид, 3157 генетических конструкций (векторы, адаптеры, праймеры и др.) и геном человека. Значения длин k и l для создания базы данных Kraken2 выбраны по умолчанию 35 и 31 соответственно, длина прочтений для получения классификаций установлена на 250, определение до вида. Визуализация результатов метагеномной классификации проведена в Pavian [Breitwieser F.P. et al., 2020].

Результаты и обсуждение

Первичный анализ метагеномных данных позволил классифицировать 40,1% прочтений. Большая часть классифицированных прочтений (35,8%) принадлежали микроорганизмам, включая бактерии (35,5%) и вирусы (0,0255%) (рис. 1).

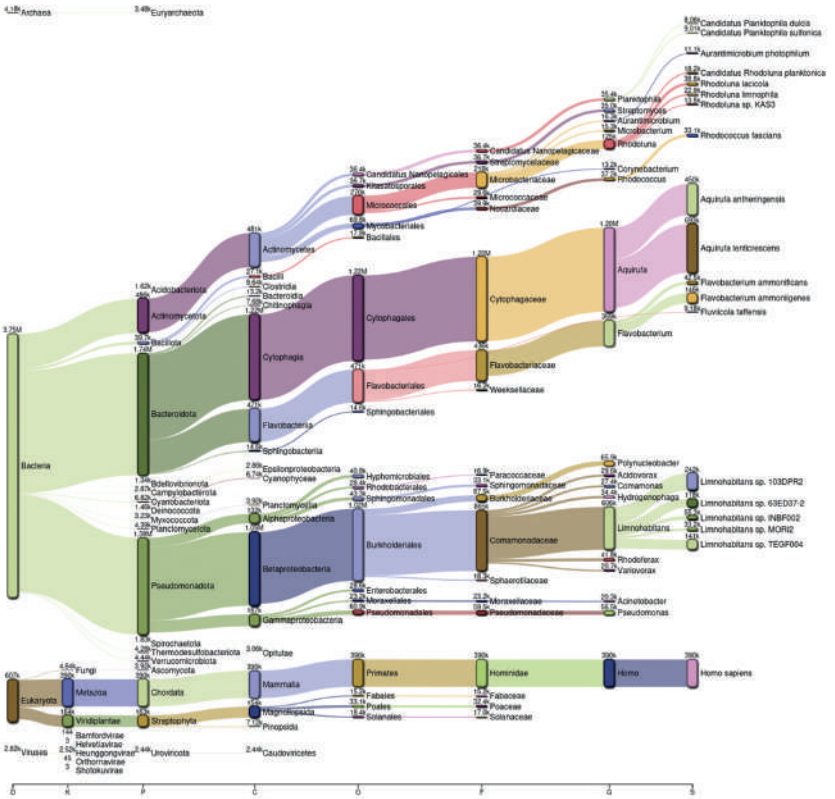


Рис. 1. Распределение классифицированных ридов по таксономическим рангам в пробе воды р. Ушаковка

Высокий процент неклассифицированных ридов вероятно обусловлен отсутствием референсных последовательностей для ряда организмов (растений, грибов, других животных и микроорганизмов) в использованной базе данных.

После переоценки классифицированных ридов с помощью Bracken было сохранено 98,6% данных. Всего выявлено 38 фил, большинство относилось к доменам бактерий и эукариот. При этом 89,11% ридов принадлежали к четырем основным филам: *Bacteroidetes* (*Bacteroidota*, 41,60%) — самая многочисленная и представленная классами *Cytophagia* (29,13%), *Flavobacteriia*

(11,46%), *Sphingobacteriia* (0,43%), *Bacteroidia* (0,38%) и *Chitinophagia* (0,19%); *Proteobacteria* (*Pseudomonadota*, 34,45%) включала классы *Betaproteobacteria* (26,55%), *Gammaproteobacteria* (4,25%) и *Alphaproteobacteria* (3,6%); *Actinobacteria* (*Actinomycetota*) представлена классом *Actinomycetes* (11,66%); *Firmicutes* (*Bacillota*, 0,72%) включала классы *Bacilli* (0,5%) и *Clostridia* (0,18%). Эукариоты представлены филой *Chordata* (10,87%), одним видом *Homo sapiens*.

Самыми многочисленными родами в данном микробном сообществе оказались: *Aquirufa* (класс *Cytophagia*, 28,64%), *Limnohabitans* (*Betaproteobacteria*, 15,53%), *Flavobacterium* (*Flavobacteria*, 9,2%), *Rhodoluna* (*Actinomycetes*, 3,15%), *Polynucleobacter* (*Betaproteobacteria*, 1,58%), *Pseudomonas* (*Gammaproteobacteria*, 1,49%).

Доля ридов, отнесенных к роду *Vibrio*, составила 0,09% от общего числа, что соответствует результатам аналогичных исследований, проведенных в Танзании, по данным которых в образце из реки Морогоро обнаружено всего 0,02% ридов, относящихся к роду *Vibrio* [Vezzulli L. et al., 2016].

Заключение

Проведеный метагеномный анализ пробы воды из реки Ушаковка в момент обнаружения холерного вибриона показал, что микробное сообщество данной пробы характеризуется высоким разнообразием таксономического состава, включающего представителей доминирующих фил *Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes* и *Chordata*. Среди микробного сообщества наиболее распространенными родами были *Aquirufa, Limnohabitans, Flavobacterium, Rhodoluna, Polynucleobacter* и *Pseudomonas*.

К роду *Vibrio* была отнесена малая доля ридов, что, вероятно, связано с доминированием других микроорганизмов.

Таким образом, дальнейшие исследования могут быть направлены на более глубокое понимание функциональной и видовой структуры микробного сообщества в водных экосистемах, с акцентом на выявление микроорганизмов, влияющих на присутствие и распространение холерных вибрионов, включая их потенциальные метаболические пути и взаимодействия.

Список литературы

1. *Lu J., Breitwieser F.P., Thielen P., Salzberg S.L.* Bracken: estimating species abundance in metagenomics data. PeerJ Computer Science. 2017; 3:e104. DOI: 10.7717/peerj-cs.104
2. *Wood D.E., Lu J., Langmead B.* Improved metagenomic analysis with Kraken2. Genome Biol. 2019; 20:257. DOI: https://doi.org/10.1186/s13059-019-1891-0.
3. *Breitwieser F.P., Salzberg S.L.* Pavian: interactive analysis of metagenomics data for microbiome studies and pathogen identification. Bioinformatics. 2020; 36(4):1303–1304. DOI: 10.1093/bioinformatics/btz715
4. *Vezzulli L., Grande C., Tassistro G., Brettar I., Höfle M.G., Pereira R.P., Mushi D., Pallavicini A., Vassallo P., Pruzzo C.* Whole-Genome Enrichment Provides Deep Insights into *Vibrio cholerae* Metagenome from an African River. Microb Ecol. 2017; 73(3):734–738. DOI: 10.1007/s00248-016-0902-x

АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ВЫРАБОТКИ ИНФ-γ АНТИГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКИМИ Т-ЛИМФОЦИТАМИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТРОМ БРУЦЕЛЛЁЗЕ

Пономаренко Д.Г., Ракитина Е.Л., Логвиненко О.В., Костюченко М.В., Хачатурова А.А., Жаринова И.В., Кондратьева Ю.В., Матвиенко А.Д.

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

Введение

Цитокинам, принимающим непосредственное участие как во врожденном, так и адаптивном иммунитете, отводится одна из ключевых ролей в защите организма от бруцеллёзной инфекции [Qureshi K.A. et al., 2023]. Как известно, продукция ИФН-γ, являющегося единственным представителем II типа интерферонов, специфична для активированных Т-клеток. Лимфоциты при первичном контакте с антигеном проходят фазу активации, в результате которой формируется пул антиген-специфичных клеток. При повторном контакте с антигеном активированные Т-лимфоциты и Т-клетки памяти способны продуцировать

ИФН-γ *in vitro* [Луцкий А.А. и др., 2015; Schlingmann T.R., Parent M., 2009].

В лабораторной практике используются тесты для выявления антигениндуцированной продукции ИФН-γ, которые основаны на анализе способности *in vitro* (*ex vivo*) продукции Т-лимфоцитами ИФН-γ при контакте с антигеном в крови иммунных (сенсибилизированных) животных и людей.

Динамику выработки ИНФ-γ при развитии острой бруцеллёзной инфекции возможно проследить в эксперименте при заражении лабораторных животных патогенным штаммом бруцелл. Вне зависимости от метода детекции, продукция ИФН-γ используется как показатель напряженности специфического Th1-клеточного иммунного ответа.

Цель работы — изучить динамику антигениндуцированной ex vivo выработки ИНФ-γ сенсибилизованными Т-лимфоцитами при развитии острой бруцеллёзной инфекции в условиях эксперимента.

Материалы и методы

Эксперимент проводили с использованием аутбредных белых мышей-самцов весом 18–20 г. Для воспроизведения острой бруцеллёзной инфекции животных заражали патогенным штаммом *Brucella melitensis* 548 в дозе $3{,}3 \times 10^6$ ж.м.к. в паховую область подкожно в объеме 0,3 мл стерильного физиологического раствора. Высокая инфицирующая доза обеспечивала развитие бруцеллёзной инфекции у 100% экспериментальных биомоделей. На 2-е, 7-е, 9-е, 14-е, 20-е, 42-е, 49-е, 56-е, 63-е и 70-е сутки после заражения у биомоделей (по 6 особей на каждый срок) проводили взятие крови. Кровь стабилизировали антикоагулянтом гепарином. Для контроля использовали интактных мышей, которым вводили стерильный 0,9% раствор хлорида натрия. Все манипуляции с животными проводили согласно рекомендации Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14 ноября 2023 г. № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований».

Стимуляцию *ex vivo* лимфоцитов в смешанной культуре клеток осуществляли антигеном бруцеллёзным АБПК (ФКУЗ

Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора) [МР 3.1.0207-20]. Исследования с биоматериалом от заражённых животных проводили согласно санитарно-эпидемиологическим требованиям по профилактике инфекционных болезней [СанПиН 3.3686-21].

В две пробирки вносили по 200 мкл гепаринизированной крови. В контрольную добавляли 100 мкл 0,9% раствора хлорида натрия, в опытную — 100 мкл АБПК. Экспозиция 24 ± 2 часа при 37 °С. Содержание ИНФ-γ в плазме определяли методом ИФА, используя наборы фирмы производителя «Cloud Clone Corp.» (Китай). Относительный уровень антигениндуцированной продукции Т-лимфоцитами ИНФ-γ рассчитывали путём вычитая контрольные значения концентрации цитокина из значений ИНФ-γ, полученных после при стимуляции АБПК.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ *Microsoft Excel*. Определяли медиану (Me) и диапазон (n÷n) значений.

Результаты и обсуждения

Анализ полученных данных показал, что у контрольных животных медианные значения содержания ИНФ-γ в плазме крови составляли 24,9 (15,8÷45,4) пг/мл, на 2-е сутки после заражения *Me* уровня исследуемого цитокина оставалась в среднем на уровне контрольных показателей 24,25 (16,5÷36,9) пг/мл. На 7-е сутки после инфицирования отмечали более чем двукратное увеличение концентрации ИНФ-γ до *Me* 58,92 (37,0÷78,9) пг/мл, и в последующие сроки наблюдения уровень содержания ИНФ-γ у зараженных животных оставался на высоком уровне, в 2–3 раза превышая контрольные значения.

Анализ динамики продукции антиген-стимулированного ИНФ-γ в плазме крови зараженных животных выявил следующую закономерность. На 2–7-е сутки после инфицирования только у 40,1–43,7 % биомоделей наблюдалась индуцированная антигеном выработка *ex vivo* Т-клетками цитокина ИНФ-γ, уровень которого статистически значимо превышал контрольные значения. У иммунных животных медианные значения ИНФ-γ составили 9,41 (6,34÷12,5) пг/мл и 19,1 (5,98÷51,4) пг/мл.

На 14-е сутки и последующие сроки обследования с развитием бруцеллёзной инфекции антигенная активация отмечалась у всех (100%) зараженных мышей. Кроме того, у лабораторных животных наблюдался более выраженный ответ Т-лимфоцитов на антигенную активацию *in vitro*. Так, через две недели после заражения интенсивность индуцированной секреции Т-клетками ИНФ-γ значительно увеличилась и медианные значения достигли — 33,5 (8,8÷78,31) пг/мл. На 21-е сутки после заражения показатель несколько снизился, составив *Me* 10,8 (4,09÷19,3) пг/мл. Через 42 дня у зараженных возбудителем бруцеллёза биомоделей отмечалось повторное более чем двукратное увеличение активности *ex vivo* продукции Т-лимфоцитами ИНФ-γ — *Me* 23,9 (11,7÷42,05) пг/мл. На 49-е, 56-е, 63-и и 70-е стуки после заражения медианные значения исследуемого показателя у иммунных к возбудителю бруцеллёза биомоделей составили 16,95 (10,5÷23,9) пг/мл, 8,77 (4,05÷17,8) пг/мл, 9,67 (8,28÷39,16) пг/мл, 8,76 (5,28÷81,77) пг/мл.

Заключение

Таким образом, в результате исследований были установлены особенности индуцированной антигеном продукции ИНФ-γ Т-лимфоцитами в условиях *ex vivo* в динамике развития бруцеллёзной инфекции. Можно отметить, что на ранних сроках после инфицирования (2–7-е сут) антигениндуцированный ответ Т-лимфоцитов отмечался у менее половины инфицированных биомоделей (40,1–43,7 %). Это обусловлено тем, что у большей части лабораторных животных на ранних сроках после заражения ещё не сформировался пул антиген-специфических Т-клеток, что обусловлено относительной медленностью иммунного ответа макроорганизма на бруцеллы [Rajashekara G. et al. 2005; Qureshi K.A. et al., 2023] и, вероятно, гетерогенностью популяции биомоделей. На 14-е сутки и последующие сроки до 70-го дня после инфицирования у лабораторных животных наблюдался выраженный ответ Т-лимфоцитов на антигенную активацию *in vitro*, что обусловлено формирование адаптивного клеточного иммунитета к возбудителю бруцеллёза. Вместе с тем интенсивность выработки ИНФ-γ Т-клетками имела волно-

образный характер с нисходящим трендом и стабилизацией на 56–70-й день на медианном уровне 8–10 пг/мл.

Кроме того, анализ наличия корреляции фоновых значений содержания ИНФ-γ в плазме крови и выработки цитокина в условиях *in vitro* при антигенной стимуляции указал на отсутствие таковой связи (r_{mean} = –0,0324, r_{Me} = 0,0337). Аналогичные результаты получены при регрессионном анализе — $R^2_{mean} = 0,001$, $R^2_{Me} = 0,001$, что указывает на отсутствие детерминированности вариации значений при *in vitro* индуцированной продукции ИНФ-γ Т-клетками и естественной выработке интерферона в динамике развития бруцеллёзной инфекции.

Список литературы

1. *Луцкий А.А., Жирков А.А., Лобзин Д.Ю.* Интерферон-γ: биологические функции и значение для диагностики клеточного иммунного ответа // Инфектология. — 2015. — № 7(4). — С. 10–12.
2. Методические рекомендации МР 3.1.0207-20 «Цитометрический анализ антигенреактивности лейкоцитов in vitro для диагностики и оценки эффективности иммунопрофилактики бруцеллёза у людей» [Электронный ресурс]. — URL: https://base.garant.ru/402622756
3. Санитарные правила и нормы СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» [Электронный ресурс]. — URL: https://docs.cntd.ru/document/573660140
4. *Rajashekara G., David A. Glover, Michael Krepps, Gary A. Splitter.* Temporal analysis of pathogenic events in virulent and avirulent Brucella melitensis infections. Cell Microbiol. 2005; 7: 1459–1473.
5. *Qureshi K.A., Parvez A., Fahmy N.A., Abdel Hady B.H., Kumar S., Ganguly A., Atiya A., Elhassan G.O., Alfadly S.O., Parkkila S., Aspatwar A.* Brucellosis: epidemiology, pathogenesis, diagnosis and treatment-a comprehensive review. Ann Med. 2023; 55(2): 2295398. DOI: 10.1080/07853890.2023.2295398
6. *Schlingmann T.R.* Parent M. Increased per cell IFN-gamma productivity indicates recent in vivo activation of T cells. Cell Immunol. 2009; 258(2): 131–137.

ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТИ НЕТОКСИГЕННЫХ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ ЭЛЬ ТОР, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И В РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Селянская Н.А., Дегтярева О.Н.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Холерные вибрионы ежегодно изолируются из водных объектов на территории Российской Федерации (РФ). Анализ данных многолетних мониторинговых исследований на холеру показал, что на территории России существует ряд областей с водными экосистемами, в которых нетоксигенные (*ctx*$^{-}$) холерные вибрионы могут переживать на протяжении летнего периода [Кругликов В.Д. и др., 2019]. Так, на территории Ростовской области (РО), которая относится к I типу по эпидемическим проявлениям холеры, ежегодно выделяются штаммы *Vibrio cholerae* O1 El Tor, лишенные гена холерного токсина, а в редких случаях и токсигенные штаммы. Нетоксигенные штаммы способны длительно сохраняться в межэпидемический период в водной среде, образуя биопленки на биотических и абиотических субстратах. Такие штаммы могут вызывать спорадические заболевания или вспышки с клиническими проявлениями гастроэнтерита. Последний раз такая вспышка была зарегистрирована в 2005 г. в Ростовской области [Онищенко Г.Г. и др., 2007]. В условиях сложных микробных взаимодействий с обитателями водной среды, с условно-патогенными бактериями, в том числе холерными вибрионами, относящимися к не O1/ не O139 серогруппам, возможно возникновение новых экологических линий холерных вибрионов, циркулирующих на определенной терри-

тории, обладающих уникальными фено- и генотипическими свойствами, включая антибиотикоустойчивость.

Цель

Сравнительный анализ резистентности к антибактериальным препаратам штаммов холерных вибрионов О1 и не О1/не О139 серогрупп, выделенных из водных объектов окружающей среды на территории Российской Федерации (РФ) и Ростовской области (РО).

Материалы и методы

В работе использованы нетоксигенные штаммы *V. cholerae* O1 El Tor (80) и *V. cholerae* non O1 / nonO139 (364), изолированные из объектов окружающей среды в 2012–2023 гг. в ходе мониторинга холеры на территории РО, а также *V. cholerae* O1 El Tor (549), выделенные в других регионах РФ. Чувствительность/устойчивость штаммов к 11 антибактериальным препаратам определяли методом серийных разведений на плотной питательной среде в соответствии с нормативными документами [МУК 4.2.3745-22].

Результаты и обсуждение

Единичные штаммы оказались устойчивыми к тетрациклину, доксициклину, левомицетину, рифампицину, гентамицину, ципрофлоксацину. Низкий процент устойчивости (до 12,6%) обнаружен в отношении цефтриаксона, налидиксовой кислоты и стрептомицина. Около половины штаммов были нечувствительны к триметоприму/сульфаметоксазолу. Наибольшая устойчивость обнаружена к фуразолидону (87%) (табл. 1).

В отличие от штаммов, изолированных в РФ, на территории РО не были выделены культуры холерного вибриона, устойчивые к тетрациклину, доксициклину, левомицетину и ципрофлоксацину (см. табл. 1). В пять раз меньше встречались штаммы, устойчивые к стрептомицину (2,1% против 10%). Зато наблюдалось увеличение в 6 раз числа культур, резистентных к рифампицину (4,3%). Устойчивость к цефтриаксону, налидиксовой кислоте, фуразолидону, триметоприму/сульфаметоксазолу не

отличалась у вибрионов обеих групп. Штаммы содержали одновременно до четырех детерминант устойчивости.

Таблица 1

Антибиотикорезистентность штаммов холерных вибрионов, выделенных на территории Российской Федерации и Ростовской области

Антибактериальные препараты	РФ		РО			
	V. cholerae O1 El Tor		*V. cholerae* O1 El Tor		*V. cholerae* non O1 / non O139	
	R	S	R	S	R	S
	% штаммов					
Тетрациклин	0,7	99,3	0	100	10	90
Доксициклин	0,7	99,3	0	100	0	100
Левомицетин	0,7	99,3	0	100	15	85
Рифампицин	0,7	99,3	4,3	95,7	10	90
Цефтриаксон	12,6	87,4	10,1	89,9	0,5	99,5
Налидиксовая кислота	8	92	8,7	91,3	7	93
Ципрофлоксацин	0,2	99,8	0	100	1	99
Стрептомицин	10	90	2,1	97,9	3	97
Гентамицин	0,4	99,6	0	100	0	100
Фуразолидон	87	13	86	14	80	20
Триметоприм/ сульфаметоксазол	47,6	52,4	34,8	65,2	31	69

Интересные результаты получены при сравнении между собой чувствительности/устойчивости к антибактериальным препаратам холерных вибрионов О1 и не О1/не О139 серогрупп, выделенных на одной территории (РО) (см. табл. 1). Литературные данные свидетельствуют о вариабельности и непредсказуемости спектра антибиотикорезистентности холерных вибрионов, даже выделенных на определенной территории в течение короткого периода времени [Parvin I. et al., 2020]. В нашей работе штаммы характеризовались схожим спектром антибиотикорезистентности, однако среди *V. cholerae* non O1 / nonO139 чаще встречались устойчивые к рифампицину (10% против 4,3%), и в 20 раз реже — устойчивые к цефтриаксону (0,5% против 10,1%). Кроме того, в этой группе штаммов наблюдалась устойчивость к тетрациклину (10%), левомицетину (15%), ципрофлоксацину (1%).

Штаммы *V. cholerae* non O1 / non O139 характеризовались большим богатством фенотипов, в сравнении с холерными вибрионами Эль Тор. Анализ профилей резистентности выявил у этих штаммов 20 фенотипов с одновременным содержанием до семи детерминант устойчивости. Пластичность генома холерных вибрионов, содержание генов антибиотикорезистентности на мобильных генетических элементах, в том числе ICE, способствуют передаче генетической информации от штаммов не O1/ не O139 серогруппы представителям *V. cholerae* O1 El Tor [Rodríguez-Blanco A. et al., 2012].

Заключение

Таким образом, сравнительный анализ антибиотикорезистентности нетоксигенных штаммов холерного вибриона O1 серогруппы биовара Эль Тор, выделенных в РО или в целом на территории РФ, а также штаммов

V. cholerae O1 El Tor и *V. cholerae* non O1 / nonO139 (*ctx*$^{-}$), изолированных в одном регионе, не выявил каких-либо отличительных особенностей. На территории РО и РФ показана циркуляция разнообразных фенотипов антибиотикорезистентности, при этом антибиотикоустойчивость холерных вибрионов не O1/не O139 серогруппы отличалась большей вариабельностью. Обнаружение общей тенденции штаммов к устойчивости к фуразолидону и триметоприму/сульфаметоксазолу с колебаниями резистентности к другим препаратам, а также выделение штаммов, устойчивых к фторхинолонам ограничивают использование этих препаратов для профилактики и лечения холеры в случае возникновения эпидосложнений.

Список литературы

1. *Кругликов В.Д., Левченко Д.А., Титова С.В., Москвитина Э.А., Архангельская И.В., Гаевская Н.Е., Ежова М.И.* Холерные вибрионы в водоемах Российской Федерации // Гигиена и санитария. — 2019. — № 98 (4). — С. 393–399. — DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0016- 9900-2019-98-4-393-399
2. Методы лабораторной диагностики холеры. Методические указания. МУК 4.2.3745-22. — М., 2022.
3. *Онищенко Г.Г., Ломов Ю.М., Москвитина Э.А., Подосинникова Л.С., Водяницкая С.Ю., Прометной В.И.* и др. Холера, обусловленная *Vibrio cholerae* O1 *ctx*AB^{-} *tcp*A^{+} // Журнал микробиологии. — 2007. — № 1. — С. 23–29.

4. *Parvin I., Shahunja K.M., Khan H., Alam T., Shahrin L., Ackhter M., Sarmin M., Dash S., Rahman M.W., Mohammad A.S., Shahid S., Faruque A.S.G., Ahmed T., Chisti M.J.* Changing Susceptibility Pattern of *Vibrio cholerae* O1 Isolates to Commonly Used Antibiotics in the Largest Diarrheal Disease Hospital in Bangladesh during 2000-2018. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2020; 103(2):652–658. DOI: 10.4269/ajtmh.20-0058
5. *Rodríguez-Blanco A., Lemos M., Osorio C.* Integrating conjugative elements as vectors of antibiotic, mercury, and quaternary ammonium compound resistance in marine aquaculture environments. Antimicrob. AgentsChemother. 2012; 56(5): 2619–26. DOI: 10.1128/AAC.05997-11

ЛАБОРАТОРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ХОЗЯЙСТВЕННО-БЫТОВЫХ СТОЧНЫХ ВОД ЭПИДЕМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ОБЪЕКТОВ В ПЕРИОД ПРОВЕДЕНИЯ ВСЕМИРНОГО ФЕСТИВАЛЯ МОЛОДЕЖИ В 2024 Г. (Г. СОЧИ)

Сокиркина Е.Н.[1], Кузнецова Д.А.[1], Ежова М.И.[1], Евтеев А.В.[1], Заикина И.Н.[2], Сирица Ю.В.[2]

[1]ФКУЗ Ростовский-на Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия
[2]ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

Введение

По определению Всемирной организации здравоохранения, массовое мероприятие представляет собой событие с участием большого количества людей в определенном месте и с определенной целью (крупное общественное событие, спортивные соревнования и другие). При этом принимающей стороне при проведении таких мероприятий с иностранным участием приходится принимать серьезные меры по предотвращению эпидемиологических угроз и минимизации эпидемиологических последствий катастроф природного и антропогенного характера в местах проведения массового мероприятий [Грижебовский Г.М. и др., 2015].

Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения и защиты от биологических угроз — составная часть государственной системы национальной безопасности Российской Федерации (РФ) [Онищенко Г.Г. и др., 2015]. Выполнение этой задачи в период крупных международных мероприятий имеет политическое значение. В РФ накоплен большой опыт по разработке и организации противоэпидемических (профилактических) мероприятий при проведении международных массовых и общественно-политических мероприятий особой важности [Онищенко Г.Г. и др., 2013; Патяшина М.А. и др., 2014; Онищенко Г.Г., Куличенко А.Н., 2015; Носков А.К. и др., 2016; Попова А.Ю. и др., 2019].

По Указу Президента РФ от 05.04.2023 г. Всемирный фестиваль молодежи в 2024 году прошел с 1 по 7 марта на федеральной территории «Сириус» г. Сочи, в котором приняли участие около 20 тысяч участников из более 180 стран мира.

По распоряжению главного государственного санитарного врача РФ Поповой А.Ю. для усиления работы сотрудников сочинского отделения и специализированной противоэпидемической бригады (СПЭБ) ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора прибыли специалисты ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора для оказания консультативно-методической помощи в организации эпидемиологического надзора для предупреждения заноса холеры и обеспечения лабораторной диагностики на бактериальные и вирусные кишечные инфекции хозяйственно-бытовых сточных вод медицинских организаций, в которые поступали инфекционные больные (участники, волонтеры и обслуживающие Всемирный фестиваль молодежи), гостиниц, в которых проживали участники и волонтеры фестиваля, а также сточных вод сливных устройств самолетов, прибывших из стран, том числе, неблагополучных по холере.

Цель

Проведение лабораторного исследования хозяйственно-бытовых сточных вод медицинских организаций, в которые посту-

пали инфекционные больные (участники, волонтеры и работники Всемирного фестиваля молодежи); гостиниц проживания участников и волонтеров фестиваля, сливных устройств самолетов, прибывших из стран неблагополучных по холере для предупреждения заноса инфекции.

Материалы и методы

Лабораторное исследование 141 пробы сточных вод из двух медицинских организаций, ГБУЗ «Инфекционная больница №2 г. Сочи» МЗ Краснодарского края, ГБУЗ «Краевая больница №4» МЗ Краснодарского края) (объекты 1), девяти корпусов двух отелей «Альфа Сириус» и «Бархатные сезоны (объекты 2) и из сливных систем 38 самолетов (объект 3) проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на перечень возбудителей: *Vibrio cholerae*, Shigella spp., энтероинвазивные *E. coli (EIEC), Salmonella spp., Campylobacter spp., Adenovirus F, Rotavirus A, Norovirus 2-й геномп, Astrovirus, Human enterovirus, Poliovirus*. Отбор проб осуществляли в соответствии с МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры» и МУК 4.2.2029-05 «Санитарно-вирусологический контроль водных объектов».

Результаты и обсуждение

В исследуемом материале обнаружено 18 положительных проб (12,8%), в которых выявлены маркеры этиологических агентов вирусной и бактериальной этиологии ОКИ. Удельный вес положительных проб, отобранных из сточных вод объектов 1, 2 и 3 был примерно одинаков, составил 4,3%, 5,0%, 3,5%, соответственно. Возбудителей холеры и полиомиелита не обнаружено. На рис. 1 представлен спектр выявленных ДНК и РНК возбудителей ОКИ.

Возбудители адено- и норовирусной инфекций выделены из проб сточных вод указанных выше объектов.

В пробах из сточных вод медицинских организаций дополнительно были обнаружены маркеры *Shigella spp, Campylobacter spp*. и *Rotavirus A*. Это объясняется тем, что в период фестиваля в инфекционную больницу поступили больные с симптомами ОКИ, у троих из которых лабораторно подтвержден диагноз:

шигеллез — 1, кампилобактериоз — 1 и норовирусная инфекция — 1. У семи человек с симптомами ОКИ результаты лабораторного исследования клинического материала было отрицательными.

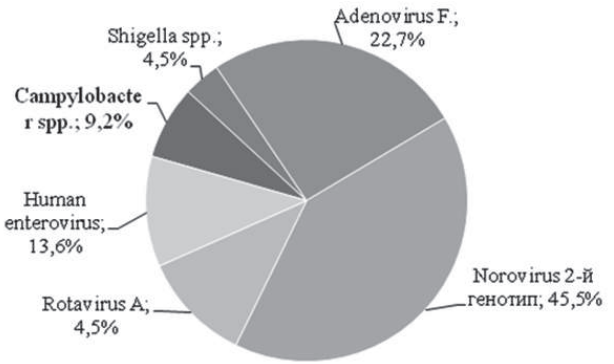


Рис. 1. Удельный вес обнаруженных ДНК/РНК возбудителей ОКИ в пробах сточных водах. Краснодарский край. Сочи. 2024 г.

При этом в пробах из сточных вод гостиниц была обнаружена РНК *H. enterovirus*. Однако больные с энтеровирусной инфекцией в период проведения фестиваля за медицинской помощью не обращались, что может свидетельствовать о том, что в отеле проживали или работали не выявленные больные энтеровирусной инфекцией или носители возбудителя.

Заключение

Таким образом, целенаправленный выбор точек отбора проб сточных вод с учетом существующих рисков инфицирования населения позволил выявить и оценить контаминацию сточных вод объектов риска с целью своевременного проведения санитарно-профилактических (противоэпидемических) мероприятий при кишечных инфекциях бактериальной и вирусной этиологии в период проведения массового мероприятия с международным участием. Использованная методика выявления рисков возможного заноса и распространения возбудителей инфекционных болезней, в том числе, холеры и полиомиелита показала свою эффективность.

Список литературы

1. *Грижебовский Г.М., Куличенко А.Н., Еременко Е.И., Агапитов Д.С., Зуева Л.П., Асланов Б.И., Гончаров А.Е., Любимова А.В.* Словарь-справочник терминов и понятий в области эпидемиологии чрезвычайных ситуаций. — СПб.: Фолиант, 2015. — 264 с.
2. *Онищенко Г.Г., Кузькин Б.П., Ракитин И.А., Башкетова Н.С., Коржаев Ю.Н., Гречанинова Т.А., Дятлов И.А., Кутырев В.В., Топорков А.В., Карнаухов И.Г., Топорков В.П., Щербакова С.А., Казакова Е.С., Шарова И.Н.* Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки и проведения саммита «Группы двадцати» в Санкт-Петербурге в 2013 г. Сообщение 2. Организация и приоритетные направления работы в период проведения саммита // Проблемы особо опасных инфекций. — 2013. — № 4. — С. 11–15.
3. *Патяшина М.А., Трофимова М.В., Имамов А.А., Авдонина Л.Г., Балабанова Л.А., Замалиева М.А.* Об обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки и проведения Универсиады-2013 в г. Казани // Здоровье населения и среда обитания. — 2014. — № 4. — С. 45–47.
4. XXII Олимпийские зимние игры и XI Паралимпийские зимние игры 2014 года в г. Сочи. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия / Под ред. Г.Г. Онищенко, А.Н. Куличенко. — Тверь: Триада, 2015. — 576 с.
5. *Носков А.К., Акимова И.С., Вержуцкий Д.Б., Климов В.Т., Чеснокова М.В., Косилко С.А., Балахонов С.В.* Обеспечение эпидемиологического благополучия при проведении регионального мероприятия с международным участием // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2016. — № 2. — С. 34–39.
6. *Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Скударева О.Н., Карнаухов И.Г., Топорков В.П., Удовиченко С.К., Шиянова А.Е., Кедрова О.В., Казакова Е.С., Щербакова С.А., Кутырев В.В.* Совершенствование научно-обоснованной модели обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия при массовых мероприятиях на примере чемпионата мира по футболу в России в 2018 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2019. — № 1. — С. 6–16. — DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-6-16

MLVA-25 ГЕНОТИПЫ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS* ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЛИНИИ 4.ANT ИЗ ТУВИНСКОГО ГОРНОГО И СМЕЖНЫХ ОЧАГОВ ЧУМЫ

Станковцева Е.В., Оглодин Е.Г., Ерошенко Г.А.

ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия

Введение

Yersinia pestis, представитель семейства *Yersiniaceae* рода *Yersinia*, является возбудителем одного из самых опасных инфекционных заболеваний — чумы. На территории Российской Федерации ежегодная эпизоотическая активность наблюдается в нескольких очагах, одним из которых является Тувинский горный очаг чумы, где постоянно происходят эпизоотии и выделяются культуры возбудителя [Попов Н.В. и др., 2024]. Активность Тувинского горного очага чумы обуславливает необходимость исследования молекулярно-генетических профилей распространенных здесь штаммов *Y. pestis* для проведения генотипирования и молекулярно-эпидемиологического мониторинга этого и смежных с ним очагов чумы.

В работе был применен MLVA25-анализ (анализ множественных локусов VNTR), показавший высокую дифференцирующую способность в отслеживании изменений генетического материала у штаммов, циркулирующих на смежной территории [Ярыгина М.Б. и др., 2022; Горюнова П.А. и др., 2023].

Цель

Проведение MLVA- 25 генотипирования штаммов *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANT из Тувинского горного и смежных природных очагов чумы.

Материалы и методы

В работе использована 51 нуклеотидная последовательность штаммов *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANT, из которых

36 относились к Тувинскому горному очагу, 11 — к Горно-Алтайскому высокогорному очагу и 4 — к очагам чумы Монголии. Штаммы получены в период с 1971 по 2020 г. Поиск VNTR-локусов производился при помощи авторских программ, разработанных сотрудниками ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия. Подсчет количества повторов выполнялся в программе «Tandem Repeat Finder» при соблюдении следующих параметров: параметры выравнивания — 2, 3, 5 (совпадение, несовпадение, удаление соответственно); минимальное количество соответствий, чтобы сообщить о повторении — 50; максимальный размер периода — 500. Построение дендрограммы на основе числа вариабельных тандемных повторов выполнялось в программе BioNumerics 7.6 методом UPGMA (попарная невзвешенная кластеризация с арифметическим усреднением).

Результаты и обсуждения

По результатам MLVA25-анализа было установлено 14 MLVA-генотипов. Вариабельными для данной группы штаммов оказались локусы *yp1290ms04* (количество тандемных повторов: 6, 7); *yp3057ms09* (6-32); *yp0559ms15* (8, 9); *yp4042ms35* (9, 10); *yp4425ms38* (5, 8); yp2612ms54 (4, 6); *yp3060ms56* (8, 9); *yp4280ms62* (6-13); *yp1580ms70* (4, 5). По остальным локусам (*yp0120ms01; yp1935ms05; yp2769ms06; yp2916ms07; yp1814ms20; yp1895ms21; yp0581ms40; yp0718ms41; yp1018ms44; yp1108ms45; yp1335ms46; yp2058ms51; yp1118ms69; yp1925ms71; yp3236ms73; yp3245ms74*) все штаммы идентичны. При построении дендрограммы установлено, что исследуемые штаммы разделились по географической принадлежности на четыре кластера. Три отдельных кластера образовали штаммы филогенетической линии 4.ANT, выделенные на территории Тувинского природного горного очага в периоды 1971–1986 гг. — территория Саглинского мезоочага; 1992–2015 гг. — территория верхней части реки Каргы; 2006–2020 гг. — территория левого берега реки Толайлыг. Штаммы с территории Горного Алтая и Монголии образовали общий кластер, отдельный от описанных ранее.

Выводы

Проведено MLVA-25 типирование 51 штамма *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANTиз Тувинского природного горного и смежных очагов чумы, выделенных в период с 1971 по 2020 г. Определено 14 MLVA-генотипов, образовавших на дендрограмме четыре кластера. В три отдельных кластера вошли штаммы, выделенные на территории Тувинского природного горного очага в периоды 1971–1986 гг. — Саглинский мезоочаг; 1992–2015 гг. — территория верхней части реки Каргы; 2006–2020 гг. — территория левого берега реки Толайлыг. Четвертый кластер сформирован штаммами из Горного Алтая и Монголии.

Полученные данные могут быть использованы для детализации молекулярно-генетической паспортизации очагов с циркуляцией штаммов *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANT. Установленные MLVA-генотипы и вариабельные участки нуклеотидных последовательностей позволят оценить пространственную и временную изменчивость генетического материала штаммов линии 4.ANT.

Список литературы

1. *Горюнова П.А., Ерошенко Г.А., Балыкова А.Н., Коврижников А.В., Шевченко К.С., Куклева Л.М., Нарышкина Е.А., Червякова Н.С., Кутырев В.В.* MLVA25- и CRISPR-генотипы штаммов Yersinia pestis из Прикаспийского песчаного очага чумы // Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 4. — С. 68–76. — DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-68-76
2. Прогноз эпизоотической активности природных очагов чумы Российской Федерации на первое полугодие 2024 г. [Электронный ресурс]. — URL: https://www.microbe.ru/files/Plague2024_I.pdf (дата обращения: 05.02.2024).
3. *Ярыгина М.Б., Витязева С.А., Корзун В.М., Тунгалаг Х., Цэрэнноров Д., Балахонов С.В.* Пространственная MLVA25-генотипическая структура *Yersinia pestis ssp. pestis* в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы // Проблемы особо опасных инфекций. — 2022. — № 4. — С. 110–116. — DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-110-116

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ СЛЮНЫ КАК НОВЫЙ ПОДХОД К ПРОФИЛАКТИКЕ КОВИДАССОЦИИРОВАННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Телесманич Н.Р., Микашинович З.И., Смирнова О.Б., Киракосян А.С.

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

В последнее время возрастает число сообщений о длительных последствиях *COVID-19*, характеризующихся хроническим воспалением и нарушением энергетических процессов [Стаценко М.Е., 2021]. Входными воротами *SARS-CoV-2* являются слизистые оболочки верхних дыхательных путей посредством прикрепления вируса к рецептору ангеотензин превращающего фермента ACE2 [Zin I, 2019]. Затем вирус проникает в носоглотку, затрагивая ЖКТ и дыхательную систему. Показано, что ACE2 экспрессируется с помощью CO_2 полости рта, который в максимальных количествах представлен на эпителиальных клетках языка [Xu H., 2020]. Также определен высокий уровень ACE2 в слюнных железах, что позволило объяснить факт присутствия *SARS-CoV-2* в слюне в высокой концентрации. В связи с этим у 15% пациентов наблюдается деградация слюнных желез, а 50% жалуются на сухость во рту при постковидном синдроме. Обнаружена связь между сухостью во рту, эктазией слюнных желез и уровнем С-реактивного белка [Гриневич В.Б., 2020]. Доказано, что *SARS-CoV-2* может проникать в мозг через поврежденный гематоэнцефалический барьер и лимфатическую систему [Kemuraj D., 2020]. Обсуждается возможность попадания вируса в ЦНС через обонятельный нерв и блуждающий нерв, что объясняет наличие симптомов ЖКТ и когнитивных расстройств через ось кишечник — мозг, что связывают с инфекцией боковых

ядер гипотоламуса, которые имеют нервные и гормональные связи с ЖКТ [Bostacikinoglu M., 2020]. Эксперты ВОЗ считают, что приоритет в изучении постковидного синдрома должен отдаваться разработке неинвазивных методов диагностики и формированием критериев постковидного синдрома.

Введение методов сальводиагностики является перспективным с точки зрения формирования представлений о патогенезе и длительности постковидного синдрома и неинвазивности забора материала.

Цель

Определить в слюне постковидных пациентов показатели кислородного обмена (лактат, пируват) и АОЗ (система глутатиона, церулоплазмин и миелопероксидаза) через полгода после острой фазы COVID-19, как возможных критериев постковидного синдрома.

Материалы и методы

Подтвержденный с помощью ПЦР ковид — 26 человек, группа контроля — 28 человек, отрицавшие факт болезни. Перенесшие ковид жаловались на неврологические когнитивные расстройства, нарушение работы ЖКТ и плохое слюноотделение. Для определения концентрации пирувата использовали реакцию Фридмана [Камышников, 2009]; лактата по реакции Даниловой Л.А. (2003); глутатиона по методу Ellman (↑); активность глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы [Данилова Л.А., 2003], миелопероксидазы по методу Klebanoff [Данилова, 2003]; церулоплазмина по методу Ревина. Статическую обработку проводили с использованием прикладной программы Statistica 13.0.

Результаты и обсуждение

В слюне пациентов, перенесших COVID-19, регистрируется накопление пирувата на 25% превышающие данные контроля при достоверном уменьшении уровня лактата на 40%, что свидетельствует о снижении использования $NADH_2$ в лактат дегидрогеназной реакции и о накоплении недоокисленных продуктов.

Содержание глутатиона у постковидной группы снижалось на 56%, глутатионредуктазы на 38%, глутатионпероксидазы на 49%. Метаболическая картина отражает угнетение глутатионового звена АОЗ в постковидном периоде в среднем на 50%. Очевидно, что такая тенденция связана с накоплением свободных радикалов в виде гидроперекиси.

Таким образом, наблюдается изменение редокс потенциала и соотношения HADH и $NADH_2$, необходимых для работы глутатионредуктазы, что ведет к формированию митохондриальной деструкции в условиях микробной интоксикации.

При интоксикации антиоксидантного потенциала организма каскадное увеличение продукции свободных радикалов обуславливает нарушение функций и гибель клеток, что чревато необратимыми изменениями в нервной системе.

Миелопероксидаза (МПО) — один из ферментативных путей образования свободных радикалов, показатель противоинфекционного иммунитета в составе миелопероксидазной системы слюны [Sakamoto X., 2008]. В постковидном периоде наблюдалось повышение активности МПО на 37%, что свидетельствует о воспалительной реакции, защитной функции макрофагов с возможной хронизацией процесса.

Церулоплазмин (ЦП) относится к α2-макроглобулинам, связан с обменом меди и железа, проявляет ферроксидазную и антиоксидантную активность, основной антиоксидант плазмы крови, представляет третью линию защиты ферментативной регуляции АОЗ. Являясь белком острой фазы воспаления, ингибирует ПОЛ на стадии разветвления цепи путем окисления Fe^{2+} феррооксидазой [Ващенко В.И., 2008]. ЦП улучшает работу цитохромоксидазы, принимает участие в обезвреживании супероксиданион радикала. У пациентов в постковидном периоде содержание ЦП увеличивалось на 123%. Известно, что повышение ЦП наблюдается при острых и хронических инфекциях. Установлено, что потребность организма в меди возрастает при воспалительных процессах. Повышение активности ЦП может быть связано с изменением окисления меди. Ранее было показано, что клиническая картина при *COVID-19* сопровождается нарушением метаболизма железа и уровня ферритина [Грине-

вич В.Б., 2020]. Имеются также сведения [Быкова Е.В., 2015], что при герпес вирусных латентных инфекциях усиливается выработка неспецифических факторов защиты, таких как церулоплазмин в слюне. Несмотря на то что все перечисленные выше факторы не действуют непосредственно на вирусы изменение активности факторов АОЗ в сочетании с показателями гипоксии, может дать информацию о персистенции вируса и вялотекущем продолжении заболевания.

Заключение

Через полгода после перенесенного *COVID-19* регистрируется метаболическая картина, свидетельствующая о воспалительном процессе. Угнетение активности системы глутатиона на 50% отражает нарушение работы АОЗ и накопление свободных радикалов в виде гидроперекисей. Увеличивается активность миелопероксидазы, что свидетельствует о накоплении свободных радикалов в виде гипогаллоидов. Известно, что накопление АФК в эритроцитах вызывает повреждение клеток, если снижено содержание глутатиона и активность глутатионпероксидазы.

Рост активности церулоплазмина указывает на дефицит железа и меди, необходимых для обеспечения клеточного дыхания и окислительного фосфорилирования, что подтверждается накоплением пирувата (+25%). Снижение уровня лактата (–45%) связано с уменьшением использования $HADH_2$ и накоплением недоокисленных продуктов.

Полученные результаты обосновывают возможные пути коррекции с включением препаратов, повышающих уровень глутатиона и восстанавливающих баланс про-антиоксидантных процессов в комплексе с реабилитационными мероприятиями, улучшающими качество жизни.

Таким образом, в постковидном периоде наблюдается сдвиг redox потенциала в слюне, указывающий на накопление протонов H^+ и уменьшение pH среды, что можно рассматривать как защитную реакцию, направленную на снижении распространения вируса.

Список литературы

1. *Стаценко М.Е., Туркина С.В., Лопушкова Ю.Е.* Новые данные о хорошо известном препарате: фокус на мельдоний // Медицинский совет. — 2021. — № 14. — С. 110–117. — DOI: 10.21518/2079-701X-2021-14-110-117
   Гриневич В.Б., Кравчук Ю.А., Педь В.И., Сас Е.Л., Саликова С.П., Губонина И.В., Ткаченко Е.И., Ситкин С.И., Лазебник Л.Б., Голованова Е.В. Ведение пациентов с заболеваниями органов пищеварения в период пандемии COVID-19. Клинические рекомендации Научного общества гастроэнтерологов России // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2020. — № 179(7). — С. 4–51. — DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-179-7-4-51
2. *Быкова Е.В., Соголовская Е.С., Сотникова Т.О., Габриэль П.Г.* // Вестник Оренбургского государственного университета. — 2015. — № 12.
3. *Ващенко В.И., Ващенко Т.Н.* Биология и фармакология церулоплазмина: от эксперимента до лекарственной терапии // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. — 2008. — № 6(1). — С. 31–36.
4. *Xu H., Zhong L., Deng J.* et al.High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. IntJOralSci12, 8 (2020). DOI: 10.1038/s41368–20–0074-x
5. *Kempuraj D., Selvakumar G. P., Ahmed M. E., Raikwar SP, Thangavel R, Khan A* COVID-19, Mast Cells, Cyto-kine Storm, Psychological Stress, and Neuroinflammation. The Neuroscientist. 2020; 26(5-6): 402–414. DOI: 10.1177/1073858420941476
6. *Bostanciklioglu M.* Temporal Correlation Between Neurological and Gastrointestinal Symptoms of SARS-Cov-2 // Inflammatory bowel diseases. 2020; 26(8): P. e89–e91. URL: https://doi.org/10.1093/ibd/izaa 131
7. *Камышников В.С.* Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. — М.: МЕД пресс-информ, 2009. — 896 с.
8. Novel assay system for myeloperoxidase activity in whole saliva / W. Sakamoto, Y. Fujii, T. Kanehira, K. Asano, H. Izumi. Clinical Biochemistry. 2008; 41;584–590.
9. Справочник по лабораторным методам исследований / Под ред. Л.А. Даниловой. — СПб.: Питер, 2003.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ *BORRELIA AFFZELII*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИЯХ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ, ДНР И ЛНР В 2021–2023 ГОДАХ

Темякова С.Ю., Водопьянов А.С., Писанов Р.В.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Иксодовый клещевой боррелиоз вызывается бактериями группы *Borrelia burgdorferi sensu lato* [Guérin M. et al., 2023]. Три вида из данной группы (*B. burgdorferi sensu stricto, B. afzelii* и *B. garinii*) патогенны для человека. На Европейской части континента наиболее часто встречаются *B. afzelii* и *B. garinii*, тогда как B. burgdorferi sensu stricto выделяется спорадически [Wilske B., 2003].

Например, в 2020 г. годуиксодовый клещевой боррелиоз активно регистрировался на сопредельных Ростовской области территориях: на территории ДНР (выявлено 80 случаев заболевания), в Черниговской области — 49 случаев, в Херсонской, Запорожской, Днепропетровской, Полтавской и Черкасской областях зарегистрировано около 325 случаев заболевания, в Тернопольской 68 случаев и единичные в Винницкой и Волынской областях [Кононенко А.А. и др., 2021]. В связи с этим существует необходимость идентификации возбудителей боррелиозов для изучения их распространения на территориях юга России.

Для типирования большинства боррелий используют ген основного белка внешней поверхности мембраны (OspA), кодируемый плазмидой. Ген *ospA* разных штаммовборрелий содержит вариабельную среднюю область, тогда как N- и C-концы консервативны [Zumstein G. et al., 1992]. Анализ первичной структуры данного гена позволяет дифференцировать пять европей-

ских видов *Borrelia burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi sensu stricto, B. afzelii, B. garinii, B. valaisiana u B. lusitaniae*) [Michel H. et al., 2004]. Так, например, авторы изучили распространенность различных видов *B. burgdorferi s.l.* у клещей *Ixodesricinus* на территориях Словакии и Польши с помощью молеклярно-генетического анализа нуклеотидной последовательности гена *ospA* [Wang J. et al., 1997]. Также в литературе описывается филогенетический анализ штаммов B. garinii на основе гена *ospA* [Will G. et al., 1995].

Цель

Проведение идентификации и типирования боррелий из проб полевого материала, собранных на территориях Ростовской области, ДНР и ЛНР в 2021–2023 годах.

Материалы и методы

Из проб полевого материала, собранных в 2021–2023 годах на территориях Ростовской области, ДНР и ЛНР, выделяли ДНК с использованием набора реагентов «АмплиСенс® РИБО-преп». Для наработки специфического фрагмента гена *ospA* применяли праймеры, предложенные Zhai B., et. al. [9]. Синтез праймеров осуществляло ООО «НПФ Синтол» (г. Москва).

Полимеразную цепную реакцию проводили в объеме 25 мкл в полипропиленовых микроцентрифужных пробирках на программируемом многоканальном термоциклере «Терцик» (ДНК-технология, г. Москва). Инкубационная смесь для ПЦР содержала 20 мМтрис-HCl, pH 8,6; 7 мМ $MgCI_2$, 10 мМ $(NH_4)_2SO_4$, 0,5 мМ ЭДТА, 100 мкг/мл БСА, по 250 мкМ каждого из дезоксинуклеозидтрифосфатов, 15 нМ соответствующего праймера, 2 ед. Taq-полимеразы. Детекциюампликонов проводили в 1% агарозном геле длиной 10 см при напряжении 220 В.

Секвенирование полученных ампликонов выполняли на приборе MinIon (OxfordNanopore, Великобритания). Сборку геномов реализовывали путем выравнивания на референсную последовательность с использованием программ Minimap2 [Li H., 2018], Samtools [Li H. et al., 2009] и iVar [Grubaugh N.D. et al., 2019].

Собственное программное обеспечение и скрипты разрабатывали на языках программирования Java и Python. Для выров-

нивания нуклеотидных последовательностей и построения дендрограммы осуществляли при помощи программы MEGA 5 [Tamura K. et al., 2011]. Для построения дендрограммы использовали алгоритм MST (Minimum Spanning Tree). Для визуализации дендрограммыприменяли программу Cytoscape [Shannon P. et al., 2003].

Для сравнительного биоинформационного анализа, помимо полученных данных, были использованы данные Генбанка. Всего проанализировано 157 последовательностей фрагментов гена *ospA B. afzellii*: 8 последовательностей от проб, выделенных в 2021 и 2022 годах на территории Ростовской области, 3 последовательности от проб, выделенных в 2022 и 2023 годах на территории ЛНР, остальные 146 последовательностей фрагмента гена *ospA* были взяты из базы данных NCBI.

Результаты и обсуждение

Установлено, что 11 описанных выше проб, выделенных на территории Ростовской области, ЛНР и ДНР, содержат ДНК боррелий. В ходе исследования удалось получить ампликоны фрагментагена *ospA* и секвенировать нуклеотидную последовательность, идентичную виду *B. afzellii*.

После произведенного выравнивания и построения минимальногоостовного дерева по последовательности фрагмента гена *ospA*, стало известно, что обнаруженные *B. afzellii* попадютв один кластер. Этот факт отражает генетическое родство и свидетельствует о существовании общего очага на этих территориях. Остальные 146 штаммов из базы данных NCBI образовывают отдельные 9 кластеров.

Однако для более глубокого типирования и возможности лучшей дифференциации боррелий, анализа последовательности только лишь гена *ospA* недостаточно. В перспективе необходим поиск новой мишени для молекулярно-генетического анализа. Проанализировав ряд наиболее вариабельных генов, в качестве такой мишени нами был выбран ген мевалонаткиназы. На данном этапе осуществлен подбор праймеров для таргетного секвенирования выбранного гена и проводится отработка метода анализа.

Список литературы

1. *Guérin M.* et al. Lyme borreliosis diagnosis: state of the art of improvements and innovations. BMC microbiology. 2023; 23(1): 204.
2. *Wilske B.* Diagnosis of Lyme borreliosis in Europe. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 2003; 3(4): 215–227.
3. *Кононенко А.А., Пичурина Н.Л., Янович Е.Г., Носков А.К.* Потенциальные «внешние» эпидемиологические риски для Ростовской области (на примере сопредельного государства). Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены: Материалы XIII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора. — Екатеринбург: Федеральное бюджетное учреждение науки «Екатеринбургский медицинский — научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2021. — С. 58–60.
4. *Zumstein G.* et al. Genetic polymorphism of the gene encoding the outer surface protein A (OspA) of Borrelia burgdorferi. Medical microbiology and immunology. 1992; 181: 57–70.
5. *Will G.* et al. Sequence analysis of ospA genes shows homogeneity within Borrelia burgdorferi sensustricto and Borrelia afzelii strains but reveals major subgroups within the Borrelia garinii species. Medical microbiology and immunology. 1995; 184: 73–80.
6. *Michel H.* et al. An ospA-polymerase chain reaction/restriction fragment length polymorphism-based method for sensitive detection and reliable differentiation of all European Borrelia burgdorferi sensulato species and OspA types. Medical microbiology and immunology. 2004; 193: 219–226.
7. *Wang J., Masuzawa T., Yanagihara Y.* Characterization of Borrelia garinii isolated from Lyme disease patients in Hokkaido, Japan, by sequence analysis of OspA and OspB genes. FEMS microbiology letters. 1997; 154(2): 371–375.
8. *Will G.* et al. Sequence analysis of ospA genes shows homogeneity within Borrelia burgdorferi sensustricto and Borrelia afzelii strains but reveals major subgroups within the Borrelia garinii species. Medical microbiology and immunology. 1995; 184: 73–80.
9. *Zhai B., Niu Q., Liu Z., Yang J., Pan Y., Li Y., Zhao H., Luo J., Yin H.* First detection and molecular identification of Borrelia species in Bactrian camel (Camelus bactrianus) from Northwest China. Infect Genet Evol. 2018; 64: 149–155. DOI: 10.1016/j.meegid.2018.06.028
10. *Li H.* Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences. Bioinformatics. 2018; 34:3094–3100. DOI: 10.1093/bioinformatics/bty191
11. *Li H., Handsaker B., Wysoker A., Fennell T.* et al. The Sequence alignment/map (SAM) format and SAMtools, Bioinformatics. 2009; 25(16): 2078–2079.
12. *Grubaugh N.D., Gangavarapu K., Quick J.*, et al. An amplicon-based sequencing framework for accurately measuring intrahost virus diversity using PrimalSeq and iVar. Genome Biology. 2019; 20(8). DOI.org/10.1186/s13059-018-1618-7
13. *Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S.* MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary

Distance, and Maximum Parsimony Methods. Molecular Biology and Evolution. 2011; 28: 2731–2739.
14. *Shannon P., Markiel A., Ozier O., Baliga N.S., Wang J.T., Ramage D., Amin N., Schwikowski B., Ideker T.* Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. Genome Res. 2003; 13(11): 2498–2504. DOI: 10.1101/gr.1239303

СОХРАНЕНИЕ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ В МИКРОКОСМАХ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

Титова С.В., Меньшикова Е.А., Водопьянов С.О., Селянская Н.А., Олейников И.П., Герасименко А.А.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Существование *Vibrio cholerae* в определенных экологических нишах подтверждается постоянным выделением нетоксигенных штаммов в процессе мониторинга естественных водоемов и сточных вод, отмечается повторяемость генотипов выделенных штаммов в одном и том же или разных регионах. Продолжительное сохранение нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 El Tor в жизнеспособном состоянии в составе биопленок при уменьшении температуры до 6 ± 2 °C может быть связано с наличием в его геноме гена холодового шока (*csh I*$^{+}$) [Бородина О.В. с соавт., 2021]. Холерные вибрионы способны передавать друг другу определенные аллели генов, что может приводить к образованию геновариантов с повышенным эпидемическим потенциалом, а также детерминанты дополнительных факторов патогенности, экспрессия которых определяет их патогенетический потенциал. Наиболее вероятной нишей для такого обмена может служить биопленка, в составе которой вибрионы обретают способность к трансформации и длительному существованию в водоемах [Lutz C. et al., 2013]. Высокая пластичность, способность прикрепляться и формировать биопленки на самых различных субстратах [Vezzulli L. et al., 2008;

Silva A.J. et al., 2016], устойчивость к конкурентной активности гетерологичных организмов [Водопьянов С.О. с соавт., 2016, 2017] обеспечивает возможность холерным вибрионам колонизировать поверхность пластика [Escobar L.E. et al., 2015], хитиновых и других покровов гидробионтов [Lutz C. et al., 2013]. В последние десятилетия нарастает загрязненность вод Атлантического, Тихого, Индийского океанов [Curren E., Leong S.Ch.Y. 2019; Hirai H. et al., 2011; Oberbeckmann S., Labrenz M., 2020], Балтийского моря [Kesy K. et al., 2021], а также рек [Metcalf R. et al., 2022] пластиковым мусором, который имеет длительный период полураспада. Пластик имеет форму микропластинок (1–5 мм) с гидрофобной поверхностью, что способствует микробной колонизации и образованию биопленок, в том числе холерных вибрионов [Silva M.M. et al., 2019; Zettler E.R. et al., 2013]. Для обозначения глобального масштаба этого явления E.R. Zettler et al. (2013) предложили новый термин — пластисфера. Возможность сохранения и персистенции вибрионов в поверхностных водоемах в условиях различных температур, характерных для разных сезонов, исследована недостаточно.

Цель работы — оценка сохранения холерных вибрионов в различных микрокосмах при температурах, характерных для Ростовской области в летний, осенний и зимний период.

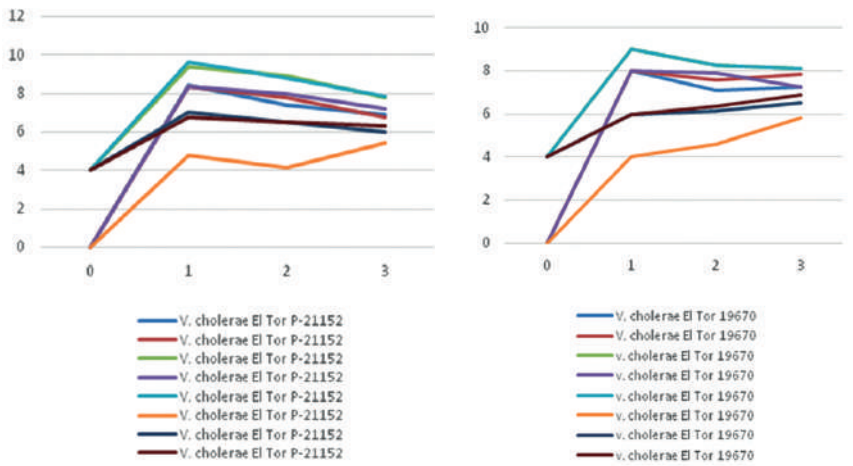
Материалы и методы

Экспериментальные микрокосмы готовили на автоклавированной речной воде, в качестве абиотического субстрата использовали пластинки из пищевого пластика, в качестве биотического — хитин речного рака Astatusastacus, чешую рыбы. Контрольные пробы не содержали абио- и биотические субстраты. Все пробы, включая контрольные, в течение месяца выдерживали при температуре 25 °С, далее в течение второго месяца — при 15 °С и третьего — при 5°С. В экспериментах использовали штаммы *Vibrio cholerae* O1 El Tor (*ctxAB*$^{+}$*tcpA*$^{+}$*csh1*$^{-}$ и *ctxA*$^{-}$*tcpA*$^{-}$ *csh1*$^{+}$), которые вносили в концентрации 104 КОЕ/мл в микрокосмы и контрольные пробы. По завершению каждого этапа инкубации извлекали образы микрокосма, выделяли ДНК. Количество клеток каждого штамма определяли, используя ПЦР-РВ с набором праймер-зонды для выявления генов *ctxAB* и *csh1*.

Результат выражали в виде десятичного логарифма числа клеток. Параллельно наличие жизнеспособных вибрионов подтверждали путем высева на плотные среды.

Результаты

Для моделирования климатических условий водоемов южных регионов России, в том числе г. Ростова-на-Дону, в периоды перехода из летнего в осенний и далее зимний сезоны, эксперименты проводили при температурах от 25 ± 1 °С до 6 ± 1 °С. Мы использовали, максимальную температуру 25 °С считая ее оптимальной для выделения холерных вибрионов из воды поверхностных водоемов [Меньшикова Е.А. с соавт., 2018].



А Б

Рис. 1. Концентрация *V. cholerae* O1 *ctx*$^{+}$(А) и *ctx*$^{-}$(Б) штаммов в биопленках при культивировании на биотических и абиотических субстратах в разных микрокосмах при температурах 25–5 °С

Примечания: По оси абсцисс время инкубации (месяц), по оси ординат десятичный Lg концентрации клеток вибрионов. БП/пластик — биопленка в пробах с субстратом из пластика; Пл/пластик — планктонная форма в пробах с субстратом из пластика; БП/хитин — биопленка в пробах с субстратом из хитина; Пл/хитин — планктонная форма в пробах с субстратом из хитина; БП пластик/чешуя 2 — биопленка из пробы с двойным субстратом; БП пластик/чешуя 1 — биопленка из пробы с моносубстратом.

При анализе полученных результатов выявлено, что температура 25 ± 1 °С способствовала повышению концентрации холерных вибрионов с первых дней во всех пробах с дальнейшим колебанием в пределах одного порядка и сохранением *V. cholerae* O1 *ctx*$^{+}$и *ctx*$^{-}$ штаммовна протяжении первого и следующего месяца, когда температура была снижена до 14 ± 1 °С (рис. 1, А, Б). Концентрация *V. cholerae* O1 El Tor (*ctx*$^{+}$/*ctx*$^{-}$) в биопленочных формах на биотических субстратах из хитиновых фрагментов и чешуи рыбы, а также в планктонных формах над этими субстратами варьировала в пределах 7,1–9,5 Lg. В микрокосмах с пластиковым субстратом и контрольных пробах концентрация холерных вибрионов так же повышалась с первых дней до значений 4,0–6,7 Lg, сохранялась в течение первого и второго месяцев в этих пределах, но была ниже, чем в пробах с биотическими субстратами. Дальнейшие снижение температуры до 6 ± 1 °С в течение третьего месяца приводило к изменениям концентрации холерных вибрионов во всех микрокосмах. В пробах с биотическими субстратами (хитин и чешуя рыбы) концентрация *V. cholerae* O1 El Tor (*ctx*$^{+}$/*ctx*) в биопленочных и планктонных формах колебалась в пределах 6,7–8,1 Lg. Было отмечено измельчение хитинового субстрата до мелких крупинок и натягивание их с током жидкости в момент высевов на агаровые среды. При высевах на питательный агар культура холерных вибрионов оставалась жизнеспособной с характерным ростом колоний холерных вибрионов на агаре Мартена. В биопленочной форме с пластиковым субстратом при снижении температуры до 6 ± 1 °С отмечалось уменьшение количества клеток *V. cholerae* O1 El Tor (*ctx*$^{+}$/*ctx*), их концентрация, определяемая в ПЦР-РВ колебалась в пределах 5,1–6,8 Lg. Однако при высевах на агар Мартена наблюдалось уменьшение КОЕ от единичных до 100 типичных колоний.

В микрокосмах с двойными субстратами, где в качестве биотического использована чешуя рыбы, абиотического — пластик, сохранялась такая же тенденция: температура 25 °С и 15 °С способствовала повышению и сохранению холерных вибрионов в живом состоянии при высоких концентрациях в пределах

$\geq 10^7$–$\geq 10^9$ м.к./мл (7,1–9,1 Lg). Снижение температуры до 6 ± 1 °С способствовало так же уменьшению количества холерных вибрионов, но культура оставалась жизнеспособной. Однако в отличие от проб, где присутствовал только абиотический субстрат, в этих микрокосмах разницы концентрации холерных вибрионов в биопленках на биотическом субстрате и субстрате из пластика не наблюдалось.

В контрольных пробах (без субстратов) концентрация холерных вибрионов при 6 ± 1 °С уменьшилась в течение двух недель и составила 5,2–4,0 Lg. После двух недель при низкой температуре жизнеспособных холерных вибрионов не обнаружено, что проявилось в отсутствии роста колоний на агаре Мартена во всех контрольных пробах.

Обсуждение

В результате экспериментальной работы нами зарегистрировано нарастание концентрации *V. cholerae* O1 серогруппы в биопленках при температуре 25 ± 1 °С с первых дней и сохранение ее на высоком уровне в течение двух месяцев (срок наблюдения), причем концентрация на биотическом субстрате была выше, чем на абиотическом или без субстратов (контрольные пробы). При моделировании изменяющихся климатических условий с летнего до осенне-зимнего периода, когда температура воды в поверхностных водоемах снижается от 25 ± 1 до 6 ± 1 °С, у исследуемых штаммов *V. cholerae* O1 серогруппы обнаружено нарастание, выход на плато и уменьшение концентрации в биопленочных и планктонных формах в зависимости от субстрата. В опытных пробах с биотическими субстратами концентрация жизнеспособных холерных вибрионов сохранялась в течение трех месяцев (срок наблюдения). В пробах с субстратом из пластика концентрация холерных вибрионов так же сохранялась в течение трех месяцев, но в некоторых пробах отмечено уменьшение до 2,0 Lg. В пробах, где присутствовало два субстрата (биотический и абиотический) различий концентрации в биопленках на субстрате из пластика от биотического не обнаружено. Все исследуемые штаммы холерных вибрионов, независимо от токсигенности, были способны к адгезии и формированию

биопленок на абиотических и биотических субстратах, а также размножению в планктонных пробах. Концентрация *V. cholerae* O1 серогрупп в контрольных пробах, т.е. без субстратов сохранялась в течение двух месяцев при 25–15 °С, в течение третьего месяца при температуре 6 ± 1 °С наблюдалось уменьшение количества образующих единиц до нулевых значений.

Таким образом, сохранение высокой концентрации на биотических субстратах возможно связано с описанной ранее способностью микроорганизмов рода *Vibrio* утилизировать в качестве питательных веществ компоненты чешуи и хитина [Полеева М.В. с соавт., 2019], а также благодаря наличию у холерных вибрионов мощного хитинолитического комплекса, способствующего образованию биопленки и интенсивному размножению на биотических поверхностях [Куликалова Е.С. с соавт., 2015; Марков Е.Ю., с соавт., 2015; Дуванова О.В. с соавт., 2016]. Способность сохраняться длительное время на абиотических субстратах в высоких концентрациях свидетельствует о том, что загрязнение водоемов материалом из пластика создает новую экологическую нишу для размножения и сохранения холерных вибрионов, в том числе токсигенных штаммов. Без субстрата для адгезии, колонизации и формирования биопленок возбудитель холеры не способен к длительной персистенции при пониженной температуре.

Список литературы

1. *Бородина О.В., Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Олейников И.П., Чемисова О.С., Полеева М.В.* Изучение встречаемости гена холодового шока *csh1* у штаммов *Vibrio cholerae*, циркулирующих на территории Российской Федерации // Бактериология. — 2021. — № (6) 3. — С. 22–23.
2. *Водопьянов С.О., Титова С.В., Водопьянов А.С., Веркина Л.М., Олейников И.П., Писанов Р.В., Лысова Л.К., Селянская Н.А., Рыковская О.А.* Изучение межвидовой конкуренции Vibriocholeraев биопленках // ЗНиСО. — 2017. — № 3. — С. 51–54.
3. *Водопьянов С.О., Титова С.В., Водопьянов А.С., Олейников И.П., Лысова Л.К.* Анализ внутривидовой конкуренции *Vibrio cholerae* в биопленках // Известия ВУЗов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. — 2016. — № 1. — С. 49–53
4. *Дуванова О.В., Мишанькин Б.Н., Романова Л.В., Титова С.В.* Хитинолитический комплекс *Vibrio cholerae*: состав и роль в персистенции // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2016. — № 5. — С. 94–101.

5. *Куликалова Е.С., Урбанович Л.Я., Саппо С.Г., Миронова Л.В., Марков Е.Ю., Мальник В.В., Корзун В.М., Миткеева С.К., Балахонов С.В.* Биопленка холерного вибриона: получение, характеристика и роль в резервации возбудителя в водной окружающей среде // Журн. микробиол.,эпидемиол. и иммунобиол. — 2015. — № 1. — С. 3–11.
6. *Марков Е.Ю., Куликалова Е.С., Урбанович Л.Я., Вишняков В.С., Балахонов С.В.* Хитин и продукты его гидролиза в экологии Vibriocholerae // Биохимия. — 2015. — № (80) 9. — С. 1334 –1343.
7. *Меньшикова Е.А., Архангельская И.В., Левченко Д.А., Курбатова Е.М., Кругликов В.Д., Титова С.В.* Влияние температурных флуктуаций воды поверхностных водоемов города Ростова-на-Дону на циркуляцию холерных вибрионов // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. — 2018. — № 4. — С. 14–20
8. *Полеева М.В., Чемисова О.С., Водопьянов С.О., Меньшикова Е.А., Курбатова Е.М.* Экспериментальное изучение особенностей формирования парагемолитическими вибрионами биопленки на поверхностях биотических объектов // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. — 2019. — № 4. — С. 417–425. DOI: 10.17072/1994-9952-2019-4-417-425.
9. *Curren E., Leong S.Ch.Y.* Profiles of bacterial assemblages from microplastics of tropical coastal environments. Science of the total environment. 2019; 655, 313–320.
10. *Escobar L.E., Ryana S.J., Stewart-Ibarraa A.M., Finkelsteing J.L., Kinga C.A., Qiaoj H., Polhemus M.E.* A global map of suitability for coastal *Vibrio cholerae* under current and future climate conditions. Acta Tropica. 2015; 149: P. 202–211/ http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.05.028
11. *Hirai H., Takada H., Ogata Y., Yamashita R., Mizukawa K., Saha M., Kwan C., Moore C., Gray H., Laursen D., Zettler E.R., Farrington J.W., Reddy C.M., Peacock E.E., Ward M.W.* Organic micropollutants in marine plastics debris from the open ocean and remote and urban beaches. Mar. Pollut. Bull. 2011; 62(8), 1683–1692.
12. *Kesy K., Labrenz M., Scales B.S., Kreikemeyer B., Oberbeckmann S.* Vibrio colonization is highly dynamic in early microplastic-associated biofilms as well as on field-collected microplastics. Microorganisms. 2021; 9, 76. DOI: 10.3390/microorganisms9010076
13. *Lutz C., Erken M., Noorian P., Sun Sh., Mc Dougald D.* Environmental reservoirs and mechanisms of persistence of *Vibrio cholerae*. Front Microbiol. 2013; 4, 375. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00375.
14. *Metcalf R., White H.L., Moresco V., Ormsby M.J., Oliver D.M., Quilliam R.S.* Sewage-associated plastic waste washed up on beaches can act as a reservoir for faecal bacteria, potential human pathogens, and genes for antimicrobial resistance. Marine Pollution Bulletin. 2022; 180, 113766. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2022.113766
15. *Oberbeckmann S., Labrenz M.* Marine microbial assemblages on microplastics: diversity, adaptation, and role in degradation. Ann. Rev. Mar. Sci. 2020; 12, 209–232.
16. *Silva A.J., Benitez J.A. Vibrio cholerae* Biofilms and Cholera Pathogenesis. PLOS Neglected Trop. Dis. 2016; (10), 2. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004330

17. *Silva M.M., Maldonado G.C., Castro R.O., Felizardo J.de Sá, Cardoso R.P., Anjos R.M., Araújo F.V.* Dispersal of potentially pathogenic bacteria by plastic debris in Guanabara Bay, RJ, Brazil. Marine Pollution Bulletin. 2019; 141, 561–568.
18. *Vezzulli L., Guzmán C.A., Colwell R.R., Pruzzo C.* Dual role colonization factors connecting *Vibrio cholerae*'s lifestyles in human and aquatic environments open new perspectives for combating infectious diseases. Curr. Opin. Biotechnol. 2008; 19, 2549.
19. *Zettler E.R., Mincer T.J., Amaral-Zettler L.A.* Life in the "plastisphere": microbial communities on plastic marine debris. Environ Sci Technol. 2013; 47(13): 7137–7146. DOI: 10.1021/es401288x. Epub 2013 Jun 19

ОСОБЕННОСТИ СОБЛЮДЕНИЯ ТРЕБОВАНИЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ВОЗБУДИТЕЛЯ ХОЛЕРЫ В ЛАБОРАТОРИЯХ РАЗЛИЧНОГО УРОВНЯ

Тюрин Е.А., Благодатских С.А., Лебедькова А.А., Храмов М.В.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.о. Серпухов, п. Оболенск, Россия

Введение

Холера — острое инфекционное заболевание, возбудитель которого относится к II группе патогенности (опасности) по классификации, принятой в Российской федерации [СП 3.3686-21]. Заболевание характеризуется диарейным синдромом, фекально-оральным механизмом передачи возбудителя, водным, пищевым и контактно-бытовым путями распространения инфекции [МУК 4.2.3745-22].

В системе противохолерных мероприятий результаты лабораторной диагностики определяют характер и объем профилактических и противоэпидемических мероприятий. При проведении исследований необходимо учитывать методику и вид работ, а также необходимо сформировать специальную структуру тре-

бований к обеспечению биологической безопасности (ББ) с учетом рисков, основанных на характеристиках возбудителя, материала его содержащего, методов и вида (технологии) проведения работ с микроорганизмами [Храмов М.В. и др., 2019].

Материалом для бактериологического анализа могут служить:

- рвотные массы, испражнения, желчь, секционный материал (отрезки тонкого кишечника и желчный пузырь);
- предметы, загрязненные испражнениями (постельное и нательное белье и др.);
- питьевая вода и вода поверхностных водоемов, ил, гидробионты, сточные воды, содержимое выгребных туалетов;
- смывы с объектов окружающей среды, пищевые продукты и др.

Цель

Оценка особенностей соблюдения требований биологической безопасности в лабораториях различного уровня при проведении работ с возбудителем холеры.

Материалы и методы

Анализ нормативных документов и состояния биологической безопасности в лабораториях различных уровней защиты, расположенных на разном территориальном уровне.

Результаты и обсуждение

Как показывает практика, профессиональная подготовка специалистов в области соблюдения требований ББ в лабораториях различного уровня является одним из важнейших элементов системы обеспечения биобезопасности. Состояние защищенности персонала лабораторий различного уровня от влияния различных биологических и прочих опасных и вредных факторов на организм человека и окружающую среду при проведении работ с биологическим материалом зависит от знания и соблюдения требований ББ [Дятлов И.А. и др.,2013. International health Regulations, WHO, 2020], а профессионализм сотрудников диагностической лаборатории различных степеней защиты

складывается из теоретических знаний и приобретенных практических навыков [Чекан Л.В. и др., 2019].

Диагностические исследования материала подозрительного на содержание или содержащего возбудитель холеры проводят в лабораториях территориального, регионального и федерального уровней. На каждом уровне проведение исследований регламентируется определенными условиями и требованиями ББ [СП 3.3686-21, МУК 4.2.3745-22].

В соответствие с положениями нормативной документации к проведению диагностических исследований допускают специалистов не моложе 18 лет, не имеющих медицинских противопоказаний к работе с патогенными биологическими агентами (ПБА) I–IV групп, имеющих высшее или среднее медицинское, или биологическое, или ветеринарное, или микробиологическое, или биотехнологическое, или пищевое профессиональное образование и дополнительное образование по специальностям, отвечающим требованиям и характеру заявленных работ [СП 3.3686-21].

Однако есть одно условие, которое должно неукоснительно соблюдаться во всех лабораториях и уровнях ББ. Сотрудники лабораторий, привлекаемые к работам должны обладать первичной профессиональной подготовкой по особо опасным инфекциям и обучены на курсах повышения квалификации по лабораторной диагностике холеры для специалистов с высшим и средним специальным образованием [СП 3.3686-21]. Для лабораторий, имеющих лицензию на осуществление деятельности с возбудителями I–II групп патогенности (опасности) и санитарно-эпидемиологическое заключение о соответствии условий федеральным нормативным документам это условие — обязательное [СП 3.3686-21, МУК 4.2.3746-22]. Для выполнения диагностических исследований на холеру привлекают специалистов лабораторий различных уровней ББ (УББ/BSL 1-3), располагающихся на различных территориальных уровнях. И, соответственно, требования ББ в них могут отличатся.

В лабораториях УББ 1-3 должна быть разработана инструкция, определяющая режим безопасной работы в конкретных условиях, с учетом характера работ, особенностей технологии,

свойств микроорганизма и продуктов его жизнедеятельности. При этом требования ББ не должны быть ниже уровня, регламентируемого санитарно-эпидемиологическими требованиями [СП 3.3686-21]. Документ согласовывается комиссией по контролю ББ и утверждается руководителем организации. При разработке и/или внедрении новых методов и методических приемов, требующих усиления мер ББ, в инструкцию вносят соответствующие дополнения или полностью ее перерабатывают. Сотрудники, осуществляющие диагностические исследования, проходят инструктажи по ББ, который оформляют в индивидуальных листах инструктажей и фиксируют в специальном журнале.

Исследования поступившего материала могут проводиться в лабораториях территориального уровня, клинических бактериологических лабораториях инфекционных больниц или отделений, а также в лабораториях Центров гигиены и эпидемиологии, работающих с возбудителями III–IV группам патогенности. Такие лаборатории относятся к базовым лабораториям с уровнем биологической безопасности 1–2.

Лаборатории 2 уровня разграничивают на «чистую» и «заразную» зоны, на границе которых находится санитарный пропускник. В «заразной» зоне определяют потоки движения персонала, поступления материала на исследование и движение отходов, что отражается на схеме, утвержденной руководителем. Передачу материала осуществляют через дверь с тамбуром или передаточное окно. Материал передают в плотно закрытых промаркированных контейнерах, биксах, сумках-холодильниках. Помещения «заразной» зоны лаборатории должны быть оборудованы отдельными автономными системами приточно-вытяжной вентиляции с механическим побуждением, оснащенными фильтрами очистки воздуха типа класса H11 на входе и класса H14 на выходе. Работы с ПБА должны выполнять в боксах микробиологической безопасности (БМБ) II класса защиты.

Перед проведением работ с ПБА заменяют личную одежду и обувь на рабочую. При выполнении исследований используют защитную одежду: противочумный халат, шапочку, медицинские перчатки, а также дополнительно используют противоаэ-

розольный респиратор не ниже FFP3 класса защиты, очки. Надевание и снятие СИЗ осуществляют в предбоксе или при входе в помещение. Твердые отходы автоклавируют, а жидкие отходы обеззараживают химическим способом. Сотрудники проходят инструктаж по ББ один раз в год.

Лаборатории, осуществляющие работу с ПБА II–IV и I–II групп, относятся к 3 уровню безопасности, то есть к изолированным лабораториям. Это лаборатории Центров индикации, Референс-центров и Центров верификации диагностической деятельности. Работу выполняют сотрудники, допущенные к работе с ПБА I–IV групп, прошедшие обучение на курсах профессиональной подготовки с освоением методов безопасной работы с ПБА. Не реже 1 раза в квартал персоналу проводится инструктаж по вопросам ББ. Сотрудники находятся под ежедневным медицинским наблюдением. В случае подозрения на заболевание, по его месту жительства направляют врача изолятора с целью уточнения эпидемиологического анамнеза и решения вопроса о необходимости его изолирования.

В лаборатории должны быть обеспечены все требования ББ, как и в базовых лабораториях, однако вводятся и более серьезные требования. Помещения лаборатории обеспечиваются системами, контроля доступа в лабораторию, устанавливается круглосуточная охранная сигнализация. На входной двери лаборатории и душевой вывешивают знак «Биологическая опасность!» международного образца красного или красно-оранжевого цвета на желтом фоне, либо отечественного образца черного цвета на желтом фоне. «Заразная» зона лаборатории оборудуется автономными системами приточно-вытяжной вентиляции с механическим побуждением, оснащенными фильтрами очистки воздуха класса H13 на входе и класса H14 на выходе. Вентиляция должна обеспечивать разницу давления между «заразной» и «чистой» зонами в минус 50 Па (5 мм водяного столба). В открытых дверных проемах на границах зон в санитарных пропускниках скорость воздушного потока должна составлять 0,4–0,7 м/сек. Твердые отходы обеззараживают химическим или физическим методами согласно режимам для вегетативных форм ПБА II группы в проходном автоклаве,

расположенном на границе зон. Жидкие отходы обеззараживают термическим способом на специальных установках перед сбросом в общую канализационную сеть с оценкой эффективности обеззараживания один раз в квартал.

Заключение

Следовательно, что чем выше уровень ББ лаборатории (УББ), тем выше ответственность специалистов, работающих в этой лаборатории и значимость соблюдения положений и вопросов ББ по снижению рисков возрастает. Мониторинг соблюдения требований ББ сотрудниками лабораторий во время проведения работ с микроорганизмами в лабораториях различного уровня должны проводить ответственные, грамотные сотрудники и критически оценивать работу сотрудников независимо от их должностных обязанностей и выполняемых функций.

Эффективное решение вопросов ББ при проведении диагностических работ с возбудителем холеры и другими возбудителями инфекционных заболеваний сможет обеспечить комплексный подход к реализации мероприятий, что позволит создавать необходимые и достаточные условия для снижения биологического риска до приемлемого уровня при работе с использованием патогенных микроорганизмов.

Список литературы

1. *Дятлов И.А., Тюрин Е.А.* Государственная санитарно-эпидемиологическая служба в обеспечении биологической безопасности // Здравоохранение Российской Федерации. — 2013. — № 2. — С. 31–35.
2. МУК 4.2.3745-22. «Методы лабораторной диагностики холеры». Методические указания. — 2022. — 79 с.
3. МУК 4.2.3746-22. «Организация и проведение лабораторной диагностики холеры в лабораториях различного уровня». Методические указания. — 2022. — 38 с
4. СанПиН 3.3686-21. «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Санитарные правила и нормы. — 2021. — 1092 с.
5. *Храмов М.В., Тюрин Е.А., Чекан Л.В.* Проблема биологической безопасности и биологические риски при осуществлении деятельности, связанной с исследованием возбудителей инфекционных и паразитарных заболеваний. Сборник статей научно-практической конференции, посвященной 85-летию Ростовского противочумного института «Актуальные вопросы изуче-

ния особо-опасных и природно-очаговых болезней». — Ростов-на-Дону, 2019. — С. 446–447.
6. *Чекан Л.В., Тюрин Е.А., Храмов В.М.* Анализ мероприятий биологической безопасности по снижению уровня риска при работе с микроорганизмами I–IV групп патогенности (опасности). Сборник статей научно-практической конференции, посвященной 85-летию Ростовского противочумного института «Актуальные вопросы изучения особо-опасных и природно-очаговых болезней». — Ростов-на-Дону, 2019. — С. 441–446.
7. Практическое руководство по биологической безопасности в лабораторных условиях, четвертое издание [Laboratory biosafety manual, fourth edition]. — Женева: Всемирная организация здравоохранения, 2020. — 133 с.

ОЦЕНКА ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ХОЛЕРНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ НА МОДЕЛИ БЕЛЫХ МЫШЕЙ

Тюрина А.В., Погожова М.П., Филиппенко А.В., Омельченко Н.Д., Иванова И.А.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Ежегодное регистрирование сезонных подъемов заболеваемости и выносов инфекции на другие территории с возможным формированием временных вторичных очагов холеры приводит к значительным социальным и экономическим потерям [Москвитина Э.А. и др., 2020; Носков А.К. и др., 2023]. Положение усугубляется происходящими в мире природными и техногенными катастрофами.

Известно, что основу лечения холеры составляет патогенетическая терапия, целью которой является восстановление и сохранение водно-электролитного баланса в организме. Этиотропная терапия холеры не играет решающей роли, но повышает эффективность регидратационной терапии путем уменьшения

длительности и объема диареи, сокращением сроков вибриононосительства [Захарова И.Н. и др., 2021]. Однако применение антибиотиков и химиопрепаратов может быть ограничено ростом лекарственной устойчивости возбудителя [Das B. et al., 2020], наличием противопоказаний к применению и частотой побочных реакций со стороны макроорганизма.

Вследствие этого, разработка и внедрение новых высокоэффективных препаратов антимикробного действия, безопасных и простых в применении актуально на сегодняшний день.

В последние годы все больше исследователей интересуют биологические агенты — бактериофаги, обладающие вышеперечисленными свойствами [Каттер Э. 2012; Асланов Б.И. и др., 2015]. Но у бактерий существует множество механизмов защиты от бактериофагов, блокирующих каждый из этапов инфицирования клеток [Заднова С.П. и др., 2023]. Поэтому, при конструировании препаратов на основе фагов необходимо провести исследование по изучению их профилактической эффективности и оценить целесообразность их дальнейшего использования в данном направлении [Киселева И.А. 2015].

Цель исследования — изучение профилактической эффективности смеси холерных бактериофагов на модели белых мышей, зараженных вирулентными штаммами *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп.

Материалы и методы

В работе использовали холерные бактериофаги Rostov-M3, Rostov-13 и ФБ1 из коллекции лаборатории бактериофагов ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. При отборе бактериофагов учитывали следующие показатели: специфичность литического действия в отношении вибрионов, максимально высокая репродуктивная активность, степень лизиса гомологичных бактерий, продолжительность культивирования, скорость размножения, посевные дозы бактерий и фагов. Полученные фаги стерилизовали фильтрацией с помощью насадки FiltropurS 0,22 мкм, затем очищали от эндотоксинов на хроматографической колонке «EndoTrapHD» (Германия) согласно инструкции производителя с использованием

буфера, разработанного этой фирмой. Для оценки вирулентности отобранных фагов проведено полногеномное секвенирование и биоинформационный анализ.

Фаговую смесь вводили взрослым белым мышам (18–20 г) внутрижелудочно в объеме 0,5 мл в концентрации $n \times 10^8$—$n \times 10^9$ БОЕ/мл, один раз в сутки в течение пяти (1, 2 опытные группы) и семи дней (3, 4 опытные группы) перед заражением. Животным из двух контрольных групп вместо фагов давали физиологический раствор тем же способом и в тех же количествах, что и опытным животным, а третью контрольную группу белых мышей поили смесью фагов в течение недели тем же способом и в тех же количествах, что и опытных животных, но без последующего заражения.

Для моделирования генерализованной формы холеры вирулентные культуры *V. cholerae* O1 № 18899 и O139 № 16066 выращивали при температуре 37 °С в течение 18 час. Готовили 1 млрд взвеси культур в хлориде натрия по стандарту мутности. Агар Нобля (Difco) растворяли в дистиллированной воде, кипятили в течение 30 мин на водяной бане при постоянном помешивании, охлаждали до 45 °С и соединяли с культурами в соотношении 1:1 до конечной концентрации агара 0,2%. Полученной взвесью (2×10^8 микробных клеток в объеме 0,2 мл) *V. cholerae* O1, либо O139 серогрупп в агаризированном растворе хлорида натрия внутрибрюшинно заражали белых мышей по окончании курсов фаготерапии. Учитывали результат только при 100% гибели контрольных животных в течение суток после заражения, что являлось подтверждением развития генерализованной формы холеры.

Статистический анализ материалов осуществляли с помощью программы Microsoft Excel 2010 и Stat Soft Statistica Windows 10.01. Определяли значения доверительных интервалов среднеарифметического (M) для уровня достоверности (P) 95%. Проводили сравнение совокупностей по качественным признакам с помощью критерия Фишера. Отличия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Для данного эксперимента предварительно были отобраны холерные фаги, обладающие высокой литической активностью в отношении холерных вибрионов О1 и О139 серогрупп. Так, Rostov-M3 имеет широкий диапазон литической активности в отношении холерных вибрионов биовара classical (83,3%); литическая активность Rostov-13 распространяется только на холерные вибрионы биовара El Tor, но в высоком проценте(97%); ФБ1 имеет литическую активность 50% в отношении *V. cholerae* О139 серогруппы. Проведеное секвенирование и биоинформационный анализ показали, что в геномах данных бактериофагов генетических детерминант, факторов резистентности и токсинов, которые характерны для умеренных фагов, не обнаружено, поэтому все выбранные бактериофаги являются вирулентными, что является главным условием применения бактериофагов в качестве профилактических и лечебных препаратов. Из отобранных фагов была составлена композиция в соотношении 1:1:1, на основе которой впоследствии планируется создание экспериментального фагового препарата для профилактики холеры.

При оценке эффективности профилактического действия смеси бактериофагов Rostov-M3, Rostov-13, ФБ1 на модели генерализованной формы холеры у белых мышей выявлено, что прием смеси бактериофагов в течение пяти дней перед заражением препятствует развитию заболевания, вызванного вибрионами О1 серогруппы, примерно у 90% животных, в то время как в группе мышей, зараженных *V. cholerae* О139, выжило только около 10%.

Семидневный профилактический курс фагов способствовал увеличению числа выживших животных при инфицировании *V. cholerae* О139, однако их количество оставалось очень низким. Следует отметить, что процентное содержание выживших животных при заражении *V. cholerae* О1 не изменилось и статистически достоверно не отличалось от такового в группе животных, получавших фагопрофилактику в течение пяти дней.

Выводы

Проведенные эксперименты по оценке профилактического действия экспериментального коктейля бактериофагов в отно-

шении холерных вибрионов О1 и О139 серогрупп на модели генерализованной инфекции у белых мышей показало высокую эффективность в отношении О1 серогруппы и недостаточную — против холерных вибрионов О139 серогруппы. Это свидетельствует о необходимости продолжения исследований и поиска новых литических бактериофагов, лизирующих даннуюсерогруппу.

Список литературы

1. *Москвитина Э.А., Янович Е.Г., Куриленко М.Л., Кругликов В.Д., Титова С.В., Левченко Д.А., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Мишанькин Б.М., Кривенко А.С., Анисимова Г.Б., Носков А.К.* Холера: мониторинг эпидемиологической обстановки в мире и России (2010–2019 гг.). Прогноз на 2020 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2020. — № 2. — С. 38–47. — DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-38-47
2. *Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Соболева Е.Г., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Меньшикова Е.А., Подойницына О.А., Ежова М.И., Евтеев А.В.* Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз на 2023 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 1. — С. 56–66. — DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66
3. *Захарова И.Н., Бережная И.В., Камилова А.Т., Дмитриева Д.К., Ахмедова Д.И.* Дифференциальный диагноз инфекционных водянистых диарей (взгляд из глубины веков до настоящего времени). Современные подходы к регидратации // Медицинский совет. 2021. — № 11. — С. 188–200. — DOI: 10.21518/2079-701X-2021-11-188-20
4. *Das B., Verma J., Kumar P., Ghosh A., Ramamurthy T.* Antibiotic resistance in *Vibrio cholerae*: Understanding the ecology of resistance genes and mechanisms. Vaccine. 2020;1:83–92. DOI: https://doi.org/ 10.1016/j.vaccine.2019.06.031
5. *Каттер Э., Сулаквелидзе А.* Бактериофаги: биология и практическое применение (пер. с англ. коллектив переводчиков; науч. ред. А.В. Летаров). — М.: Научный мир, 2012. — 640 с.
6. *Асланов Б.И.* Бактериофаги — эффективные антибактериальные средства в условиях глобальной устойчивости к антибиотикам // Медицинский совет. — 2015. — № 13. — С. 106–109.
7. *Заднова С.П., Плеханов Н.А., Спирина А.Ю., Швиденко И.Г., Савельев В.Н.* Выявление фагоиндуцируемых мобильных генетических элементов в штаммах *Vibrio cholerae* О1 биовара Эль Тор. Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 2. — С. 112–119. — DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-112-119
8. *Киселева И.А.* Специализированный продукт диетического профилактического питания на основе коктейля бактериофагов: конструирование, технология производства, оценка безопасности и эффективности применения: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.03. — М., 2015. — 207 с.

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ ГЕНОВ ХИТИНОЛИТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА В ГЕНОМАХ НЕТОКСИГЕННЫХ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAE*

Федотова И.С., Миронова Л.В.

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

Введение

Холерный вибрионсклонен к длительной персистенции в объектах окружающей среды, что доказывает регулярная изоляция нетоксигенных вибрионов со схожими генотипами из поверхностных водоемов [Носков А. К. и др., 2022, 2023; Hao T. et al., 2023]. Выживаемость *V. cholerae* зависит от разнообразных сочетаний биотических и абиотических факторов внешней среды, и в первую очередь от доступных форм питательных субстратов. Так, способность деградировать хитин является одним из успешных механизмов достижения конкурентных преимуществ *V. cholerae* перед другими микроорганизмами схожих экологических ниш. На сегодняшний день у разных микроорганизмов обнаружены сотни генов, которые кодируют сенсорные и ферментативные системы, участвующие в разложении хитина на разных этапах. Авторы отмечают вариабельность генетических профилей нетоксигенных вибрионов разных серогрупп [Миронова Л.В. и др., 2015; Левченко Д.А. и др., 2020], в том числе данного пула детерминант [Дуванова О.В. и др., 2016], что свидетельствует о эволюционной пластичности *V. cholerae* в части утилизации хитина. Учитывая перечисленные факторы, а также видовую общность нетоксигенных вибрионов с токсигенными, возникает необходимость поиска и изучения разнообразия молекулярно-генетических свойств, обусловливающих хитинолитическую способность штаммов холерного вибриона, не обладающих основными факторами патогенности.

Цель — выявить особенности нуклеотидной структуры генов хитинолического комплекса в геномах нетоксигенных штаммов *V. cholerae*.

Материалы и методы

В исследование включены 63 нетоксигенных штамма *V. cholerae* из коллекции ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, которые изолированы из водоемов Сибирского и Дальневосточного Федеральных округов. В выборку вошли вибрионы O1 ($n = 32$), O139 ($n = 3$), не O1/O139 серогрупп ($n = 6$) и R-варианты ($n = 22$). Получение нуклеотидных последовательностей осуществлено путем экстракции колоночным методом тотальной ДНК изолированных колоний штаммов с последующей подготовкой образцов в соответствии с рекомендациями к протоколам используемых NGS-платформ (MiSeq, DNBSEQ-G50, MinION) и дальнейшим полногеномным секвенированием ДНК библиотек. Биоинформатическая обработка данных секвенирования состояла из нескольких этапов: во-первых, из оценки качества и фильтрации ридов (короткие чтения — FastQC v0.12.0 и Trimmomatic v0.32, нанопоровые чтения — LongQC v1.2.1 и Guppy v6.4.8), во-вторых, сборки гибридных контигов (SPAdes v3.13.0), в-третьих, из локальных выравниваний полногеномных последовательностей на базу данных, состоящую из 13 детерминант прототипного штамма *Vibrio cholerae* O1 biovar El Tor N16961, кодирующих хитинолитическую активность (blast+ v2.14.0), в-четвертых, из трансляции целевых генетических детерминант и их сравнительного анализа (MEGA v11).

Результаты и обсуждение

Для формирования базы данных референсных последовательностей целевых локусов был проведен анализ актуальных литературных данных, содержащих информацию об этапах деградации хитина холерным вибрионом [Дуванова О.В. и др., 2016; Fennell T.G. et al., 2021], и получение последовательностей из GenBank. Так, первая стадия деградации хитина заключается в его обнаружении сенсорной мембраносвязанной хитин-чув-

ствительной гистидинкиназой ChiS, кодируемой геном *VC_RS03145* (*VC0622*). Вторая стадия — прикрепление к хитиновому субстрату в результате работы хитин-регулируемых пилей *VC_RS11205* (*VC2324*), хитин-связывающего белка *VC_RS14035* (*VCA0140*) и N-ацетилглюкозамин-связывающего белка *VC_RS17215* (*VCA0811*). Третья стадия — непосредственная деградация хитина внеклеточными хитиназами *VC_RS03855* (*VC0769*), *VC_RS09400* (*VC1952*), *VC_RS13540* (*VCA0027*), *VC_RS05275* (*VC1073*), *VC_RS03105* (*VC0613*) и *VC_RS10720* (*VC2217*). Завершающий этап состоит из проникновения олигосахаридов хитина в периплазматическое пространство за счет хитопорина *VC_RS04810* (*VC0972*) и продолжения процесса расщепления хитина уже внутри клетки хитодекстриназой *VC_RS16715* (*VCA0700*) и деацетилазой V*C_RS06245* (*VC1280*).

В результате биоинформатического анализа установлено, что локус внеклеточной хитиназы *chiA1* (*VC_RS09400*) не содержится в геномах четырех исследуемых штаммов O1 серогруппы, трех штаммов O139 серогруппы и трех R-вариантов. Вероятно, отсутствие данной детерминанты компенсируется активностью других ферментов группы хитиназ. Локус N-ацетилглюкозамин-связывающего белка не выявлен у трех штаммов O139 серогруппы и двух штаммов R варианта, в данном случае этап прикрепления вибриона к хитиновому субстрату может проходить за счет механизмов неспецифического связывания, а также ChiRP-пилей (*VC_RS11205*) и хитин-связывающего белка (*VC_RS14035*). Кроме того, в геномах трех штаммов выборки не найден ген хитопорина (*VC_RS04810*): два штамма O139 серогруппы и один R-вариант. При оценке периодов и мест выделения штаммов, не содержащих те или иные гены исследуемого хитинолитического комплекса, выявлено, что некоторые изоляты группируются между собой не только в результате молекулярно-генетического скрининга, но и согласно территории обнаружения.

Оценка структуры исследуемых нуклеотидных последовательностей в геномах вибрионов O1 серогруппы *ctxAB*$^{-}$/*tcpA*$^{+}$($n = 4$) показал, что все штаммы имеют от 5 до 7 генов, аналогичных референому, но общность хитинолитических профилей характерна только для двух штаммов этой группы, изолированных в 2011 и 2016 г. в Алтайском и Хабаровском краях.

Штаммы разных серогрупп с профилем патогенности *ctxAB*$^{-}$/*tcpA*$^{-}$ демонстрируют бóльшую структурную гетерогенность изученных локусов, кроме того, выявлены варианты, которые встречаются чаще других. Так, у 39 изолятов (O1, не O1/O139 серогруппы, R-варианты) сенсорная ChiS гистидинкиназа (*VC_RS03145*) в 755 позиции пептидной последовательности несет замещение треонина на серин, что может быть характерным молекулярно-генетическим признаком для некоторых штаммов водного происхождения. Ген хитин-регулируемых пилей (*VC_RS11205*) выявлен в 12 вариантах, при этом наиболее часто встречаемый из них ($n = 18$) содержит замещение валина на изолейцин в 462 позиции транслированной последовательности. Хитин-связывающий белок (*VC_RS14035*) 19 изолятов удлинен на аминокислоту триптофан, расположенную между 153 и 154 позициями. У другого пептида, участвующего в связывании вибриона с хитином (*VC_RS17215*), выявлены точечные замены в структуре нуклеотидной последовательности, которые в большинстве случаев не повлияли на его аминокислотный состав. Если говорить о группе хитиназ, то в данном пуле генов у всех штаммов (как *ctxAB*/*tcpA*$^{+}$, так и *ctxAB* /*tcpA*$^{-}$ разных серогрупп) наблюдались не только нуклеотидные замены, влияющие на аминокислотную последовательность, но и точечные выпадения или делеции нескольких оснований, которые не внесли модификаций в первичную структуру белка. Например, в одном из вариантов локуса *chiA1* (*VC_RS09400*) выявлено более 50 замен и 3 делеции, которые, однако, только в двух случаях приводят к замещению аминокислот: в позиции 450 аланин заменен на валин, в позиции 466 — лейцин на валин. 24 изолята O1, не O1/O139 серогрупп и R-варианта по локусу *chiA2* (*VC_RS13540*) имеют нуклеотидную идентичность прототипу 96,7%, но при трансляции не несут различий. При анализе последовательностей гена хитопорина (*VC_RS04810*) обнаружено пять профилей, в которые вошли 27, 21, 5, 3 и 2 штамма, что указывает на возможность группировки изолятов по данному признаку независимо от серогруппоспецифичности.

Заключение

Молекулярно-генетический скрининг детерминант хитинолитического комплекса в штаммах холерного вибриона из объ-

ектов окружающей среды выявил отличия их профилей от прототипа. Изоляты с токсин-корегулируемыми пилями отличаются от прочих вибрионов выборки высоким уровнем структурной гомологии исследуемых генов прототипу, что может свидетельствовать о различиях штаммов *ctxAB/tcpA*+ и *ctxAB /tcpA*$^{-}$ по активности ферментов, расщепляющих хитин. Идентифицированы генетические вариации локусов, встречающихся в геномах вибрионов *ctxAB/tcpA*$^{-}$ разных серогрупп, периодов и мест изоляции, что может указывать на закрепление определенных генотипов по профилю деградации хитина в циркулирующей популяции штаммов поверхностных водоемов.

Список литературы

1. *Дуванова О.В., Мишанькин Б.Н., Романова Л.В., Титова С.В.* Хитинолитический комплекс *Vibrio cholerae*: состав и роль в персистенции // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2016. — № 5. — С. 94–101. — DOI: 10.36233/0372-9311-2016-5-94-101
2. *Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Гаеская Н.Е., Водопьянов А.С., Непомнящая Н.Б.* Фено- и генотипические особенности нетоксигенных штаммов холерных вибрионов различного происхождения, изолированных на территории России // Проблемы особо опасных инфекций. — 2020. — № 3. — С. 89–96. — DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-89-96
3. *Миронова Л.В., Хунхеева Ж.Ю., Пономарева А.С., Басов Е.А., Гольдапель Э.Г., Урбанович Л.Я., Громова Т.В., Краснощеков В.Н., Борзов В.П., Алленов А.В., Ковальский А.Г., Балахонов С.В.* Молекулярно-эпидемиологический анализ ситуации по холере на Дальнем Востоке России в период седьмой пандемии // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. — 2015. — № 27. — С. 57–62. — https://infectpataog.elpub.ru/jour/article/view/117/118
4. *Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Монахова Е.В.., Миронова Л.В., Крицкий А.А., Лопатин А.А., Чемисова О.С., Соболева Е.Г., Иванова С.М., Водопьянов А.С., Стенина С.И., Писанов Р.В., Левченко Д.А., Подойницына О.А., Непомнящих Н.Б., Ежова М.И.* Холера: тенденции развития эпидемического процесса в 2021 г., прогноз на 2022 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2022. — № 1. — С. 24–34. — DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-24-34
5. *Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Соболева Е.Г., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Меньшикова Е.А., Подойницына О.А., Ежова М.И., Евтеев А.В.* Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз на 2023 г. // Проблемы особо опасных инфекций. — 2023. — № 1. — С. 56–66. — DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66
6. *Fennell T.G., Blackwell G.F., Thomson N.R., Dorman M.J.* gbpA and chiA genes are not uniformly distributed amongst diverse *Vibrio cholerae*. Microbial genomics. 2021; 7(6):000594. DOI: 10.1099/mgen.0.000594

7. *Hao T., Zheng W., Wu Y., Yu H., Qian X., Yang Ch., Zheng Zh., Zhang X., Guo Y., Cui M., Wang H., Pan J., Cui Y.* Population genomics implies potential public health risk of two non-toxigenic *Vibrio cholerae* lineages. Infection, Genetics and Evolution. 2023; 112:105441. DOI: 10.1016/j.meegid.2023.105441

ПРИМЕНЕНИЕ КРИОПРОТЕКТОРОВ ДЛЯ СТАБИЛЬНОСТИ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ *IN VITRO* «СЫВОРОТКА ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ХОЛЕРНАЯ НЕО1 ГРУППЫ О139 АДСОРБИРОВАННАЯ КРОЛИЧЬЯ ДЛЯ РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ НА СТЕКЛЕ»

Феськова А.С., Кириллова Т.Ю., Овчинникова М.В., Шульгина И.В., Лобовикова О.А., Комиссаров А.В., Савенкова А.А., Галетова С.С.

ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия

Введение

Лабораторная диагностика холеры имеет важнейшее значение в комплексе противоэпидемических мероприятий и, несмотря на разнообразие методов исследования объектов окружающей среды с целью обнаружения холерных вибрионов, актуальной остается реакция агглютинации (РА) на стекле. ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора является производителем медицинского изделия для диагностики *in vitro* (МИ ИВД) «Сыворотка диагностическая холерная не О1 группы О139 адсорбированная кроличья для реакции агглютинации на стекле» (ФСР 2008/03209), которое используется при проведении мониторинга объектов окружающей среды и исследовании клинического материала от подозрительных на холеру больных. МИ ИВД представляет собой лиофилизированную сыворотку крови кроликов, иммунизированных

корпускулярным антигеном штамма *Vibrio cholerae* O139, инактивированного нагреванием.

Лиофилизация или сублимационное высушивание — это процесс удаления влаги из продукта путем прямого перехода из твердого состояния в газообразное. Процесс обеспечивает сохранение физико-химических, биологических свойств и, следовательно, улучшение качества.

Сублимационная сушка состоит из трех основных этапов: замораживание — сыворотка помещается в специальную камеру, где она замораживается при температурах от –40 °С до –60 °С; сублимация — в камере с продуктом создается вакуум, который приводит к сублимации, т.е. превращению льда из твердого состояния в газообразное, минуя жидкое. Десорбция — заключительная стадия лиофилизации, при которой сыворотка в камере нагревается, что приводит к десорбции оставшейся влаги, пока не будет достигнута нужная степень сухости продукта [2].

Многочисленные исследования показали, что этапы замораживания и сушки в процессе лиофилизации в некоторых случаях могут влиять на структуру и функцию белков лиофилизируемых препаратов, приводя к потере их активности. С целью снижения воздействия множества повреждающих факторов используют защитные среды — криопротекторы [1].

Защитные среды должны соответствовать следующим требованиям:

1) эффективность: защитная среда должна обеспечивать надежную защиту от всех известных угроз и рисков;
2) надежность: защитная среда должна быть надежной и стабильной, чтобы обеспечивать защиту в течение длительного времени (срока годности);
3) простота использования: защитная среда должна быть легкой в использовании, чтобы обеспечивать удобство для пользователей;
4) гибкость: защитная среда должна быть гибкой и масштабируемой, чтобы адаптироваться к изменяющимся потребностям и условиям;
5) соблюдение стандартов: защитная среда должна соответствовать современным стандартам безопасности [3].

Цель

Изучение влияния состава защитных сред высушивания на стабильность аналитических показателей сыворотки холерной не О1 группы О139 при проведении лиофилизации и длительном хранении.

Материалы и методы

На основании практического опыта проведения лиофилизации лабильных биологических объектов и литературных данных были подобраны 5 вариантов защитных сред: пептон 5%; натрия хлорид и желатин 0,75%; пептон 5% и желатин 0,75%; натрия хлорид, желатин 0,75% и сахароза 1%; натрия хлорид, желатин 0,75% и трегалоза 1% — образцы 1, 2, 3, 4, 5 соответственно. После лиофилизации экспериментальные образцы проверяли по следующим показателям качества: внешний вид, растворимость, pH, потеря в массе при высушивании, герметизация, микробиологическая чистота, аналитическая чувствительность и специфичность. Определение стабильности экспериментальных образцов в течение установленного (и максимально возможного) срока годности препаратов использовали метод «ускоренного старения» в соответствии с ОФС 1.1.0009.15 [4]. Данный метод заключается в выдерживании испытуемых образцов при температуре и влажности, превышающих температуру и влажность их хранения в процессе обращения. В таких условиях ускоряются протекающие в экспериментальных образцах физико-химические процессы, приводящие со временем к нежелательным изменениям качества [5].

Результаты и обсуждение

В ходе работы было определено, что только образцы 3, 4, 5 сыворотки диагностической холерной О139 соответствовали техническим условиям (ТУ). Экспериментальный материал с применением двух других вариантов защитных сред не отвечал заявленным требованиям и не был взят в последующее исследование.

При применении метода «ускоренного старения» испытуемые образцы выдерживали при температуре 41 °С, проверяя со-

ответствие МИ ИВД показателям качества с интервалом 15 дней. Общая продолжительность эксперимента составила 3,5 месяца, что соответствовало 7 годам экспериментального срока годности препарата.

Экспериментальные лиофилизаты в ампулах представляли собой аморфную массу серовато-белого цвета, полностью растворяющуюся в 1 мл дистиллированной воды в течение 5 минут, после растворения — прозрачную жидкость светло-желтого цвета; pH в пределах от 6,8 до 7,6, потеря в массе при высушивании не превышала 2 %, ампулы с препаратом были герметичны, микробиологическая чистота — не более 20 колоний сапрофитов на чашке. Определение активности и специфичности показало, что экспериментальные сыворотки в разведении 1:10 агглютинировали в реакции на стекле штаммы *V. cholerae* O139 не менее, чем на 3 креста и не агглютинировали штаммы *V. cholerae* O1 и не O1 серогрупп.

Заключение

Таким образом, результаты исследования показателей качества экспериментальных образцов указанного МИ ИВД методом «ускоренного старения» свидетельствовали о том, что использование трех предложенных вариантов криопротекторов — пептон 5% и желатин 0,75%; натрия хлорид 0,9%, желатин 0,75% и сахароза 1%; натрия хлорид 0,9%, желатин 0,75% и трегалоза 1%, способствует сохранению всех аналитических свойств сыворотки холерной O139 в течение установленного срока годности (3 года по ТУ) и максимально возможного (7 лет по сроку наблюдения).

Список литературы

1. *Дмитриева М.В., Лугэнь Бу, Полозкова А.П., Орлова О.Л. Краснюк И.И., Краснюк И.И. (мл.)*. Выбор криопротектора для получения лиофилизированной липосомальной лекарственной формы производного индолокарбазола ЛХС 1269 // Российский биотерапевтический журнал. — 2021. — № 20(1). — С. 74–9. — DOI: 10.1765 / 1726 9784 2021 20 1 74 79
2. *Комиссаров А.В., Кочкалова Н.Н., Синицына Н.В., Бадарин С.А., Костылева Н.И., Волох О.А., Клокова О.Д., Никифоров А.К.* Исследование процесса сублимационного высушивания иммуногенов холерной химической вакцины // Проблемы особо опасных инфекций. — 2016. — № 1. — С. 90–93. — https://doi.org/10.21055/0370-1069-2016-1-90-93

3. Методы поддержания микробных культур. Часть 2. Лиофилизация. В.Ю. Охапкина // Теоретическая и прикладная экология. — 2009. — № 4.
4. Общая фармакопейная статья 1.1.0009.15. Стабильность и сроки годности лекарственных средств. Государственная фармакопея Российской Федерации. Изд. XIII.
5. Ускоренное старение [Электронный ресурс]. — https://en.wikipedia.org/wiki/Accelerated_aging (дата обращения: 20.03.2024).

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ В ПРИМОРСКОМ КРАЕ

Хунхеева Ж.Ю., Фортунатова А.В., Эрдынеев С.В., Басов Е.А., Миронова Л.В.

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

Введение

Одним из наиболее распространенных микроорганизмов, вызывающим пищевые отравления, связанные с употреблением морепродуктов, является галофильный вибрион *Vibrio parahaemolyticus*. Подавляющее большинство штаммов возбудителя, выделенных на различных континентах, относится к пандемичным вариантам с преобладанием *V. parahaemolyticus* O3:K6 серогруппы [1].

Цель — оценка молекулярно-генетических особенностей *V. parahaemolyticus*, выделенных из различных источников в Приморском крае.

Материалы и методы

Исследовано 80 штаммов *V. parahaemolyticus*, выделенных в Приморском крае: 17 клинических, изолированных от больных в Хасанском районе (n = 14) и в г. Владивостоке (n = 3), и 63 штамма *V. parahaemolyticus*, изолированных из поверхностных водоемов.

Экстракция бактериальной ДНК для ПЦР анализа и MLVA-типирования осуществлялась набором «Рибо-Преп», для полногеномного секвенирования — набором «Dneasy Blood & Tissue Kit» (Qiagen).

Определение гена основного фактора патогенности микроорганизма (прямого термостабильного гемолизина) *tdh*, осуществлялась в соответствии с методикой, представленной Рыковской О.А. с соавт. [2].

MLVA-типирование проводилось по семи локусам вариабельных тандемных повторов Vptr1, Vp02-07, Vptr3, Vptr4, Vptr5, Vptr6, Vptr8 [3, 4] с определением размера полученных ампликонов капиллярным электрофорезом на ДНК-анализаторе ABI Prism® 3130 Genetic Analyzer.

При проведении полногеномного секвенирования использованы наборы реагентов для платформ MiSeq (MiSeq Reagent Kitv3, DNA Prep Kit) и MinION (проточная ячейка Flow Cell, Ligation Sequencing Kit). Гибридные сборки полученных данных выполнялись с помощью программы SPAdes v.3.11.1.

В нуклеотидных последовательностях геномов проведен поиск и анализ структуры *toxRS*, отдельных детерминант системы секреции III типа T3SS (*vopQ, vopS, vopR, VPA0450, vopA, vopC, vopT, vopL*), последовательностей генов «домашнего хозяйства» (r*ecA, dnaE, gyrB, dtdS, pntA, pyrC и tnaA*) *V. parahaemolyticus*.

Идентификация аллелей генов «домашнего хозяйства» и определение сиквенс-типа изолятов проводились на основании информации, представленной на сетевом ресурсе PubMLST.org.

Результаты и обсуждение

Согласно данным Управления Роспотребнадзора по Приморскому краю ОКИ галофильной этиологии регистрируются в регионе практически ежегодно [5]. Всего в период с 1997–2021 гг. в субъекте зарегистрировано 409 случаев заболевания, вызванных галофильными вибрионами, из которых в 92,6 % случаях кишечная инфекция была обусловлена *V. parahaemolyticus*. Эпидемические проявления обусловленных *V. parahaemolyticus* ОКИ характеризовались как единичными, так и групповыми случаями заболевания. Наиболее массовые ОКИ среди населения за-

фиксированы в 1997 г. (63 случая), 2009 г. (43 случая), 2012 г. (54 случая). При этом установлена обсемененность парагемолитическим вибрионом поверхностных водоемов Приморского края: удельный вес изолированных штаммов из проб воды в местах рекреационного водопользования составил 97%.

По результатам молекулярно-генетического скрининга 80 штаммов парагемолитического вибриона на наличие гена основного фактора патогенности — прямого термостабильного гемолизина *tdh* в ПЦР показано его присутствие у 13 клинических штаммов *V. parahaemolyticus* (включая субкультуру одного из штаммов), изолированных при групповых случаях ОКИ в 2012 г. ($n = 10$) и 2017 г. ($n = 3$). При спорадических случаях клинические изоляты характеризуются отсутствием данного гена и отнесены к непатогенным, также как и водные изоляты.

По результатам выборочного анализа нуклеотидной последовательности *toxRS* 24 штаммов парагемолитического вибриона подтверждена принадлежность к пандемичному клону только патогенных изолятов

V. parahaemolyticus (*tdh*$^+$). Различия между патогенными и непатогенными вибрионами установлены и по присутствию детерминант системы секреции III типа: гены *vopQ, vopS, vopR, VPA0450* типа секреции T3SS1 присутствуют у всех исследованных вибрионов, независимо от патогенных свойств. Однако другие детерминанты патогенности, такие как *vopA, vopC, vopT, vopL* системы секреции T3SS2, выявлены преимущественно у патогенных изолятов *V. parahaemolyticus*.

При MLVA-типировании исследуемых штаммов *V. parahaemolyticus* установлена высокая генетическая гетерогенность изолятов из объектов окружающей среды и относительная консервативность клинических штаммов. При кластерном анализе генотипы штаммов дифференцировались на 65 уникальных и пять кластерных. Выявлено, что клинические *tdh*$^+$ штаммы парагемолитического вибриона, выделенные в 2012 г., вошли в отдельный кластер, как и патогенные изоляты, изолированные от больных в 2017 г. Большая часть патогенных штаммов 2012 г. (семь из десяти) характеризуется идентичным MLVA-профилем, для трех штаммов установлены одно- и двухлокусные варианты,

незначительно отличающиеся от доминирующего генотипа. Такая приуроченность выявленных MLVA-генотипов клинических штаммов к определенному эпидемическому осложнению указывает на перспективность использования метода при проведении эпидемиологического расследования. При этом из семи клинических штаммов *V. parahaemolyticus* 2012 г. с идентичным MLVA-профилем, пять изолятов характеризуются и идентичной структурой генов «домашнего хозяйства» с заменами в генах *pyrC, dtdS, gyrB*. По результатам идентификации сиквенстипа у данных изолятов определен 431 сиквенс-тип. Клинические патогенные изоляты, выделенные от больных в 2017 г., незначительно отличаются по структуре генов жизнеобеспечения от штаммов 2012 г. и отнесены к 3 сиквенс-типу. Эти два сиквенс-типа входят в состав 3 клонального комплекса, являющегося доминирующим среди пандемичных клонов *V. parahaemolyticus* в мире. В одном случае выявлена идентичная структура и локусов вариабельных тандемных повторов, и генов «домашнего хозяйства», непатогенных клинического и водного *V. parahaemolyticus.*

В отношении вибрионов, выделенных из поверхностных водоемов, показана генетическая гетерогенность популяции с дифференциацией на 65 уникальных генотипов вне зависимости от территории и времени изоляции микроорганизма, что определяет низкую эффективность MLVA в оперативном эпидемиологическом анализе при выделении *V. parahaemolyticus* из объектов окружающей среды. Данная группа штаммов характеризуется выраженным полиморфизмом структуры генов «домашнего хозяйства». При определении сиквенс-типа у части водных изолятов были идентифицированы сиквенс-типы 834, 533, 1081, 1674, распространенные среди изолятов парагемолитического вибриона в водоемах Китая.

Заключение

Таким образом, показано, что групповые случаи вызванных парагемолитическим вибрионом ПТИ, как правило, ассоциированы с патогенными вариантами *V. parahaemolyticus*, несущими детерминанты основных и дополнительных факторов пато-

генности. При MLVA-типировании установлено, что штаммы, выделенные при групповых случаях, имеют идентичные или сходные MLVA-профили, специфичные для отдельных эпидемических осложнений. По структуре генов «домашнего хозяйства» патогенные изоляты *V. parahaemolyticus* принадлежат к двум сиквенс-типам ST431 и ST3, входящим в состав единого клонального комплекса CC3, что свидетельствует о клональном происхождении патогенных изолятов парагемолитического вибриона. Изолированные из поверхностных водоемов и при спорадических случаях ПТИ непатогенные V. parahaemolyticus демонстрируют высокую генетическую гетерогенность.

Список литературы

1. *Nair G.B., Ramamurthy T., Bhattacharya S.K., Dutta B., Takeda Y., Sack D.A.* Global dissemination of Vibrio parahaemolyticus serotype O3:K6 and its serovariants. Clin. Microbiol. Rev. 2007; 20 (1): 39–48.
2. *Рыковская О.А., Шалу О.А., Монахова Е.В., Смоликова Л.М., Чемисова О.С., Голенищева Е.Н., Санамянц Е.М., Гальцева Г.В., Алленов А.В., Мурначев Г.П., Хоменко Т.В.* Разработка комплексного метода оценки вирулентности парагемолитических вибрионов // Клин. лаб. диагностика. — 2013. — № 2. — С. 38–41.
3. *Kimura B., Sekine Y., Takahashi H., Tanaka Y., Obata H., Kai A., Morozumi S., Fujii T.* Multiple-locus variable-number of tandem-repeats analysis distinguishes Vibrio parahaemolyticus pandemic O3:K6 strains. J. Microbiol. Methods. 2008; 72(3): 313–320.
4. *Harth-Chu E., Espejo R.T., Christen R., Guzman C.A., Hofle M.G.* Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis for clonal identification of Vibrio parahaemolyticus isolates by using capillary electrophoresis. Appl. Environ. Microbiol. 2009; 75(12): 4079–4088.
5. *Тарасенко Т.Т., Косенок Е.В., Кривоногова В.А., Шевердина Ф.Н.* Заболеваемость прочими кишечными инфекциями в Приморском крае // Здоровье. Медицинская экология. Наука. — 2016. — № 3. — С. 127–134.

ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ШТАММОВ *V. ALGINOLYTICUS* И *V. DIABOLICUS*

Цырулина О.А., Чемисова О.С., Водопьянов А.С.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов на Дону, Россия

Введение

История таксономии рода *Vibrio* очень динамична. За последние четыре десятилетия число признанных видов выросло до 175 [Bergey`s Manual of Systematic Bacteriology, 2005]. Систематика этого рода также постоянно пересматривается. Зачастую трудно очертить видовые границы между представителями некоторых близкородственных видов вибрионов особенно по морфологическим и биохимическим признакам [Thompson F.L. et al., 2006]. Ярким примером этого является представители вида *Vibrio alginolyticus*, которые обладают сходными биохимическими и культуральными признаками, а также филогенетически близки с представителями видов *V. parahaemolyticus* и *V. diabolicus*.

Цель работы — определение видовой принадлежности и внутривидовая дифференциация коллекционных штаммов *V. alginolyticus* на основе данных высокопроизводительного секвенирования.

Материалы и методы

В работу было взято 54 штамма *V. alginolyticus*, выделенные с 1973 по 2020 г., из которых 40 — клинические и 14 — из ООС. Все культуры были получены из коллекции патогенных микроорганизмов ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. Идентификация исследованных культур проводилась методом MALDI-TOF масс-спектрометрии с использованием масс-спектрометра Autoflex speed III Bruker Dal-

tonics (Германия) с программным обеспечением Biotyper способом прямого нанесения культуры на мишень.

Полногеномное секвенирование было проведено на платформе Illumina MiSeq. Сборку геномов проводили с использованием программы Spades [Bankevich A., Nurk S., Antipov D. et al., 2012]. Поиск SNP для попарного сравнения штаммов проводили с помощью программы Snippy [Seemann T., 2015]. Построение дендрограмм проводили с помощью модуля Bio.Phylo [Talevich E. et al, 2012]. Для отображения дендрограмм использовали программу MEGA X [Kumar S. et al, 2018]. Для определения видовой принадлежности *V. alginolyticus* и метагеномного анализа использовали программу Kraken2 [Wood D.E. et al, 2019]. Поиск генов патогенности проводили с помощью пакета *tblastn* [Gertz E.M. et al, 2006] с использованием базы данных VFDB [Liu B. et al, 2019]. Для поиска генов АБ-резистентности использовали программу AMR Finder Plus [Feldgarden M. et al, 2021]. Для сравнительного анализа штаммов *V. alginolyticus* и *V. diabolicus* были использованы геномы из базы данных NCBI.

Результаты и обсуждение

Первоначально видовая принадлежность взятых в работу штаммов была подтверждена методом MALDI-tof масс-спектрометрии. Однако, анализ подвидовой принадлежности, проведенный с помощью программы Kraken2 на основе данных NGS-секвенирования, показал, что часть геномов относятся к виду *V. diabolicus*, что не совпадает с паспортными данными и результатами масс-спектрометрического анализа (табл. 1).

Таблица 1

Паспортные данные штаммов *V. alginiolyticus*, идентифицированные программой Kraken2 как *V. diabolicus*

№	Номер штамма	Дата выделения	Источник выделения	Место выделения
1	16593	07.1973	гидробионты	г. Новороссийск
2	16594	10.1973	больной	г. Новороссийск
3	16597	10.1974	больной	г. Новороссийск
4	16600	10.1975	больной	г. Новороссийск
5	16615	09.1977	больной	г. Керчь

Окончание табл. 1

№	Номер штамма	Дата выделения	Источник выделения	Место выделения
6	16625	09.1978	больной	г. Керчь
7	16631	09.1978	больной	г. Керчь
8	16635	09.1978	больной	г. Керчь
9	16645	09.1979	больной	г. Керчь
10	17728	13.08.1997	больной	г. Владивосток
11	19749	11.09.2014	больной	г. Владивосток
12	Р-16595	10.1973	человек	г. Новороссийск
13	Р-16598	10.1975	человек	г. Новороссийск
14	Р-16599	10.1975	человек	г. Новороссийск
15	Р-16601	10.1975	человек	г. Новороссийск
16	Р-16603	10.1975	человек	г. Новороссийск
17	Р-16633	09.1978	человек	г. Керчь
18	Р-16636	09.1978	человек	г. Керчь
19	17727	08.1997	человек	г. Владивосток
20	17732	08.1997	человек	г. Владивосток
21	19732	20.08.2014	человек	г. Уссурийск
22	20628	20.08.2020	устрица, мускул, мантия	озеро Донузлав, Крым

Стоит обратить внимание, что большинство штаммов — клинические, часть из которых изолированы в период вспышки ОКИ. Для проверки корректности определения вида из базы данных NCBI были скачаны геномы штаммов V. alginolyticus и V. diabolicus. Затем по SNP-маркерам была построена дендрограмма, отражающая генетическую близость между геномами исследуемых штаммов (рис. 1).

Все, взятые в работу штаммы сгруппировались в три больших кластера. Два кластера сформировали штаммы *V. alginiolyticus*. А все без исключения «сомнительные» штаммы *V. diabolicus* попали в один кластер со штаммами *V. diabolicus* из Генбанка, что свидетельствует о близости их геномов и подтверждает принадлежность этих «сомнительных» штаммов к виду *V. diabolicus*.

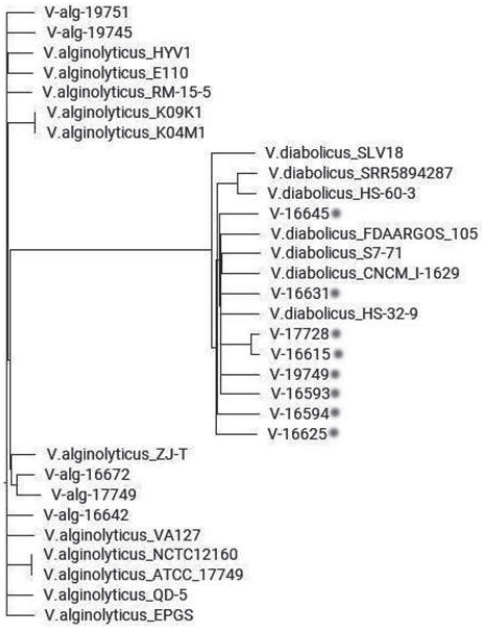


Рис. 1. Дендрограмма построенная на основе SNP-типирования штаммов *V. alginiolyticus* и *V. diabolicus* (геномы штаммов *V. alginiolyticus*, идентифицированные по результатам секвенирования, как *V. diabolicus*, отмечены точкой)

Стоит обратить внимание, что *V. diabolicus* был выделен в самостоятельный вид только в 1997 году, а большая часть штаммов *V. alginiolyticus*, не подтвердившие свою видовую идентификацию, были выделены до этого периода. А результат идентификации методом MALDI-tof масс-спектрометрии можно объяснить близким сходством этих видов и отсутствием в базе масс-спектрометра спектров, характерных для *V. diabolicus*. В литературе к виду *V. diabolicus* относятся глубоководные, факультативно анаэробные, гетеротрофные, мезофильные микроорганизмы, которые впервые были выделены из кольчатой полихеты *Alvinella pompejana*, собранной на глубоководном гидротермальном месторождении в Восточной части Тихого океана [Turner J.W. et al., 2018]. На основе фенотипических характеристик, филогенетического анализа эти бактерии были идентифицированы как новый вид рода *Vibrio* [Raguenes G. et. al., 1997]. Также

некоторыми авторами было показано, что по результатам филогенетического анализа на основе данных полногеномного секвенирования вид V. diabolicus близок к виду *V. alginolyticus* [Turner J.W. et al., 2018], что и подтверждается нашим исследованием.

Для молекулярно-генетической характеристики изучаемых штаммов *V. diabolicus* был проведен поиск генов патогенности с использованием базы данных VFDB. Гены, связанные с вирулентностью, встречались в разных вариациях как у *V. alginolyticus* так и *V. diabolicus*. Детерминанты вирулентности *tlh, vopD, vcrH, vcrD, vscN, vscT, vscU, vscL, vscJ, vscD, vscC, exsA, vopS, vopQ, flgI, flgG, flgD, cheR, cheV, fliM, fliI, fliG, fleR/flrC, cheW, fleN/flhG, flhA, luxS, flgO* присутствовали у штаммов обоих видов. И только ген *vxsC* был специфичным признаком *V. diabolicus*.

Следующий этап работы состоял в сравнительной оценке генов антибиотикорезистентности в геномах *V. diabolicus* и *V. alginolyticus*. Все без исключения штаммы *V. diabolicus* и *V. alginolyticus* обладали генами устойчивости к тетрациклину и хлорамфениколу.

Также заслуживает внимание, тот факт, что из всех известных видов вибрионов к патогенным для человека в настоящее время отнесены 12 и *V. diabolicus* в их число не входит. Однако, наши штаммы *V. diabolicus* были выделены в подавляющем большинстве от людей. В литературных источниках широко представлена информация, что V. diabolicus является патогенным для аквакультуры и нет сведения о возможности данной бактерии вызывать заболевания у человека отсутствуют. Можно предположить, что в нашем случае имела место быть микскультура (смешанная культура) микроорганизмов патогенного для человека вида *V. alginiolyticus* и *V. diabolicus*. Однако, данный вопрос требует изучения и дальнейших исследований.

Заключение

Таким образом, в ходе проведенной работы проведено углубленное молекулярно-генетическое исследование коллекционных штаммов *V. alginolyticus*. В результате полногеномного секвенирования некоторые коллекционные штаммы *V. alginolyticus* с помощью программы Kraken2 были идентифицированы как

V. diabolicus. Это позволяет рекомендовать использование данной программы для видовой идентификации с целью совершенствования коллекционной деятельности и для верификации таксономической принадлежности коллекционных штаммов патогенных бактерий.

Список литературы

1. *Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., Lesin V.M., Nikolenko S.I., Pham S., Prjibelski A.D., Pyshkin A.V., Sirotkin A.V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A.* SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. J Comput Biol. 2012; 19 (5): 455–77. https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021
2. Bergey`s Manual of Systematic Bacteriology. The Prokaryotes, Part B: The Gammaproteobacteria / George M. Garrity. 2nd. New York: Springer. 2005; 2: 494–546.
3. F*eldgarden M., Brover V., Gonzalez-Escalona N., Frye J.G., Haendiges J., Haft D.H., Hoffmann M., Pettengill J.B., Prasad A.B., Tillman G.E., Tyson G.H., Klimke W.* AMR Finder Plus and the Reference Gene Catalog facilitate examination of the genomic links among antimicrobial resistance, stress response, and virulence. Sci Rep. 2021; 11(1): 12728. DOI: 10.1038/s41598-021-91456-0
4. *Gertz E.M., Yu Y.K., Agarwala R., Schäffer A.A., Altschul S.F.* Composition-based statistics and translated nucleotide searches: improving the TBLASTN module of BLAST. BMC Biol. 2006; 4: 41. DOI: 10.1186/1741-7007-4-41
5. *Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C, Tamura K.* MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. Mol Biol Evol. 2018; 35(6): 1547–1549. DOI: 10.1093/molbev/msy096
6. *Liu B., Zheng D., Jin Q., Chen L., Yang J.* VFDB 2019: a comparative pathogenomic platform with an interactive web interface. Nucleic Acids Res. 2019; 47(D1): D687–D692. DOI: 10.1093/nar/gky1080
7. *Raguenes G., Christen R., Guezennec J., Pignet P., Barbier G. Vibrio diabolicus* sp. nov., a new polysaccharide-secreting organism isolated from a deep-sea hydrothermal vent polychaete annelid, Alvinella pompejana. Int J. Syst Bacteriol. 1997; 47(4): 989–995. doi: 10.1099/00207713-47-4-989
8. *Seemann T.* Snippy: fast bacterial variant calling from NGS reads. 2015. https://github.com/tseemann/snippy (дата обращения: 01.06.2022).
9. *Talevich E., Invergo B.M., Cock P.J., Chapman B.A.* Bio.Phylo: a unified toolkit for processing, analyzing and visualizing phylogenetic trees in Biopython. BMC Bioinformatics. 2012; 21: 209. DOI: 10.1186/1471-2105-13-209
10. *Thompson F.L., Austin B., Swings J.E.* "The Systematics of vibrions", in the Biology of Vibrions, edited by F.L. Thompson, B. Austin and J. Swings (Washington, DC: ASM Press). 2006: 29–43. DOI: 10.1128/9781555815714.ch3
11. *Turner J.W., Tallman J.J, Macias A., Lee A.M., Elledge N.C., Azadani D.N., Nilsson W.B., Paranjpye R.N., Armbrust E.V., Strom M.S.* Comparative Genomic Analysis of *Vibrio diabolicus* and Six Taxonomic Synonyms: A First Look at the

Distribution and Diversity of the Expanded Species. Microbiol. 2018; 9. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01893
12. *Wood D.E., Lu J., Langmead B.* Improved metagenomic analysis with Kraken 2. Genome Biol. 2019; 20(1): 257. DOI: 10.1186/s13059-019-1891-0

ОПЫТ ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА НА МОДЕЛИ ИСКУССТВЕННОГО ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Чемисова О.С., Березинская И.С., Дробот Г.Ю., Ермаков А.М.

ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет», г. Ростов-на-Дону, Россия

В последние годы увеличился интерес к изучению микробиоценоза кишечника и его влиянию на весь организм человека и животных. Кишечная микробиота, представляя собой комплексное сообщество микроорганизмов, играющих ключевую роль в различных физиологических процессах, рассматривается как важный элемент поддержания общего здоровья. Микробиота кишечника оказывает ключевое влияние на иммунную систему, метаболизм, синтез витаминов. Согласно исследованиям, изменения в микробиоте кишечника способствуют воспалительным процессам, нарушая баланс про- и противовоспалительных иммунных ответов [Nishida A. et al., 2018]. Нарушение микробиоты тесно связано с развитием метаболических расстройств, включая ожирение, сахарный диабет 2 типа и метаболический синдром. Показано, что у людей с ожирением наблюдается сниженное разнообразие микробов и увеличение числа *E. coli* и протеобактерий [Khan M.T. et al., 2014]. Изменения в микробиоте могут влиять на центральную нервную систему, способствуя развитию депрессии, тревожности и других психических расстройств. Это происходит через синтез и метаболизм нейротрансмиттеров, таких как серотонин и гамма-аминомасляная кислота, а также через модуляцию воспалительных про-

цессов [Foster J.A. et al., 2013]. Также не следует забывать, что дисбиоз может снижать эффективность кишечного барьера, делая его более проницаемым для патогенных микроорганизмов и токсинов. Это состояние называется «синдромом повышенной проницаемости кишечника» или «leaky gut syndrome». Повышенная проницаемость кишечника связана с развитием аутоиммунных заболеваний, аллергий и системного воспалительного ответа [Aleman R.S. et al., 2023].

С появлением молекулярных методов, таких как ПЦР, MALDI-Tof масс-спектрометрия, высокопроизводительное секвенирование геномов, исследования микробиома получили новый импульс. Эти методы позволили выявить огромное разнообразие микроорганизмов, живущих в кишечнике, многие из которых ранее были неизвестны. Исследования микробиоценоза кишечника становятся все более междисциплинарными, объединяя в себе микробиологию, молекулярную биологию, иммунологию, генетику и клиническую медицину.

Модель искусственного желудочно-кишечного тракта (ИЖКТ) является важным инструментом в современной научной практике, позволяющим детально изучать процессы пищеварения, абсорбции, микробной активности и взаимодействия различных веществ с живыми системами. Имитация физиологических условий ЖКТ открывает широкие возможности для многообразных исследований, от пищевой химии до фармакологии. Экспериментальные модели с использованием культуры клеток уже получили широкое распространение, были, например, использованы для оценки поглощения железа из различных пищевых продуктов и добавок [Uberti F. et al., 2017]. Понимание фармакокинетики и фармакодинамики лекарств требует детального изучения их поведения в желудочно-кишечном тракте. Модели ИЖКТ помогают имитировать изменения pH, ферментативную активность и другие физиологические параметры, влияющие на абсорбцию лекарственных средств. Современные исследования подтвердили эффективность использования ИЖКТ для предварительной оценки пероральных лекарственных форм [Butler J. Et al., 2019], моделирования различных патологических состояний ЖКТ, таких как воспалительные заболе-

вания кишечника, синдром раздраженного кишечника и др., что обусловливает потенциал использования таких моделей для изучения эффективных способов терапии [Xiang Y. et al., 2020]. Использование моделей ИЖКТ позволяет выявлять потенциально токсичные вещества и их метаболиты, предотвращая их негативное воздействие на организм.

Технология ИЖКТ позволяет преодолеть множество критических препятствий при исследовании биологических процессов. Во-первых, снимаются этические проблемы за счет минимизации исследований на людях и животных, а также возможности моделирования динамики кишечной микробиоты при заражении патогенными микроорганизмами. Во-вторых, модели ИЖКТ позволяют обеспечить контроль и повторяемость экспериментов. В лабораторных условиях можно точно регулировать параметры среды (pH, температуру, ферментативную активность), что сложно осуществить в живых организмах. Возможность моделирования любого отдела ЖКТ дает возможность детализировать отдельные процессы, в реальном времени наблюдать за динамикой изменения микробиоценоза, влияния на него целевых компонентов. Инновационные продукты пищевой и фармацевтической индустрии, такие как пробиотики, лекарственные препараты и пищевые добавки, можно предварительно оценивать с использованием моделей ИЖКТ, что ускоряет процессы разработки, снижает себестоимость.

Одним из примеров моделей ИЖКТ является SHIME (Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem) — модель, воспроизводящая целый ЖКТ, включая желудок, тонкую кишку и различные отделы толстой кишки, что позволяет исследовать воздействие на всю микробиоту кишечника [Van de Wiele T. et al., 2015]. TIM (TNO's In Vitro model of the Stomach and small intestine) — модель, используемая для исследований желудочного и тонкокишечного пищеварения и абсорбции лекарств и пищевых веществ, рассчитанная на короткую продолжительность процесса моделирования в течение нескольких дней, что подходит для задач по оценке немедленной метаболической активности углеводов или способности к колонизации целевого микроорганизма [Venema K. et al., 2020].

В НИЛ «Центр Агробиотехнологии» ФГБОУ ВО ДГТУ разработан программно-аппаратный комплекс, эквивалентный моделям искусственного кишечника TIM-2 и SHIME. Модульная система желудочно-кишечного тракта получена с применением технологий биологической 3D печати и имитирует системы пищеварения различных животных [https://ckp-rf.ru/catalog/usu/3559948/].

Моделирование ЖКТ человека и сельскохозяйственных животных становится критически важным в свете общих патогенов, которые могут пересекать видовую границу и вызывать заболевания как у животных, так и у людей. Такие модели помогают детально изучить механизмы взаимодействия патогенов с организмом хозяина, что способствует разработке более эффективных методов профилактики и лечения инфекций в обеих популяциях. Целью нашего исследования являлось моделирование микробиоценоза ЖКТ человека и свиньи, определение оптимальных параметров и путей стабилизации микробного состава в условиях *in vitro*.

Для моделирования ИЖКТ человека и свиньи была подобрана схема, состоящая из пяти блоков (реакторов): верхние отделы (желудок, тонкий кишечник) и нижние отделы (восходящая, поперечная и нисходящая ободочная кишка). Дополнительно для ИЖКТ свиньи введен реактор, имитирующий ротовую полость. Как правило, для человека используют пробиотические и лекарственные препараты в капсулах, что нивелирует действие на них ферментов слюны, делая необязательным введение реактора, имитирующего ротовую полость. В то же время у сельскохозяйственных животных добавки вводятся с кормами, для оценки их влияния на микробиоценоз ЖКТ принципиально важно учитывать действие ферментов ротовой полости.

Каждый реактор оснащен средствами контроля pH, температуры и ферментативной активности, чтобы максимально точно воспроизводить условия в соответствующих отделах ЖКТ. Для каждого отдела были составлены искусственные соки (имитация слюны, искусственного желудочного сока, химуса), состав которых базируется на известных физиологических характеристиках человека и свиньи. Этот подход позволяет обеспечить

максимальную достоверность моделирования и точность результатов экспериментов.

При моделировании принципиально было определить критерии (контрольные бактериологические показатели), по которым можно отслеживать стабильность искусственного микробиоценоза. В каждый ректор вводили биологический материал, отобранный из соответствующих отделов ЖКТ свиньи в смеси с искусственным желудочным соком и химусом. При введении и в течение 28 суток после отбирали пробы для бактериологического исследования содержимого отделов ЖКТ свиньи с применением идентификации методом MALDI-Tof масс-спектрометрии. В результате установлены представители 40 родов бактерий, сформировавшие микробиоценоз в условиях *in vitro*: в том числе бактерии 4 родов в желудке, 8 — в тонком кишечнике, 35 — в отделах толстого кишечника. Как в биологических образцах от свиньи, так и в искусственном желудке свиньи наиболее высокое количество микробных клеток (КОЕ) зарегистрировано для микроорганизмов р. *Lactobacillus* и р. *Streptococcus*, в тонком кишечнике — р. *Lactobacillus*, р. *Streptococcus*, р. *Enterococcus*, в толстом кишечнике — р. *Bacteroides*, р. *Clostridium*, р. *Ruminococcus*, р. *Lactobacillus*, р. *Prevotella*.

При формировании модели микробиоценоза ИЖКТ человека в качестве исходного субстрата использованы образцы *faeces*. Под воздействием разных условий в реакторах, имитирующих отделы ЖКТ человека, в модели тонкого кишечника в течение 72 часов преимущественное развитие получили бактерии р. *Lactobacillus*, р. *Streptococcus*, р. *Bacteroides*, р. *Enterococcus*, в реакторах отделов толстого кишечника — р. *Bacteroides*, р. *Clostridium*, р. *Faecalibacterium*, р. *Ruminococcus*. В реактор, имитирующий желудок человека, в искусственный желудочный сок были внесены бактерии р. *Lactobacillus*, р. *Streptococcus*, изолированные из *faeces*. В течение срока наблюдения (28 дней) нам удалось поддерживать стабильный видовой и родовой состав микробиоценоза в реакторах ИЖКТ свиньи и человека.

Таким образом, модели искусственного желудочно-кишечного тракта представляют собой мощный инструмент для современных научных исследований, обеспечивая возможность де-

тально изучать различные аспекты пищеварения, взаимодействия микробиоты и лекарственных веществ, а также токсикологические эффекты. Создание стандартизируемых искусственных желудочных и кишечных соков для разных отделов ИЖКТ человека и свиньи позволяет разрабатывать точные и адаптируемые модели для экспериментов.

Работа выполнена в рамках проекта «Молекулярные механизмы взаимодействия сообществ кишечных микроорганизмов *in vivo* и *in vitro* на базе автоматизированной системы имитации ЖКТ свиньи» (FZNE-2024-0013).

Список литературы

1. *Nishida A., Inoue R., Inatomi O.* et al. Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. Clin J Gastroenterol. 2018; 11: 1–10. DOI: https://doi.org/10.1007/s12328-017-0813-5
2. *Khan M.T., Nieuwdorp M., Bäckhed F.* Microbial modulation of insulin sensitivity. Cell Metab. 2014; 20(5): 753–760. DOI: 10.1016/j.cmet.2014.07.006
3. *Foster J.A., McVey Neufeld K.A.* Gut-brain Axis: How the Microbiome Influences Anxiety and Depression. Trends in Neurosciences. 2013; 36(5): 305–312. DOI: 10.1016/j.tins.2013.01.005
4. *Aleman R.S., Moncada M., Aryana K.J.* Leaky Gut and the Ingredients That Help Treat It: A Review. Molecules. 2023; 28(2): 619. DOI: 10.3390/molecules28020619
5. *Uberti F., Morsanuto V., Ghirlanda S., Molinari C.* Iron Absorption from Three Commercially Available Supplements in Gastrointestinal Cell Lines. Nutrients. 2017; 9(9): 1008. DOI: 10.3390/nu9091008
6. *Butler J., Hens B., Vertzoni M.* et al. In vitro models for the prediction of *in vivo* performance of oral dosage forms: Recent progress from partnership through the IMI OrBiTo collaboration. Eur. J. Pharm. Biopharm. 2019; 136: 70–83. DOI: 10.1016/j.ejpb.2018.12.010
7. *Xiang Y., Wen H., Yu Y., Li M., Fu X., Huang S.* Gut-on-chip: Recreating human intestine *in vitro*. J. Tissue Eng. 2020; 11:2041731420965318. DOI: 10.1177/2041731420965318
8. *Van de Wiele T., Van den Abbeele P., Ossieur W., Possemiers S., Marzorati M.* The Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME®). In: Verhoeckx, K., et al. The Impact of Food Bioactives on Health. Springer, Cham. 2015: 305–317. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16104-4_27
9. *Venema K., Verhoeven J., Beckman C., Keller D.* Survival of a probiotic-containing product using capsule-within-capsule technology in an in vitro model of the stomach and small intestine (TIM-1). Benef Microbes. 2020; 11(4): 403–409. DOI: 10.3920/BM2019.0209

НОВЫЕ ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ, ИДЕНТИФИКАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПАРАГЕМОЛИТИЧЕСКИХ ВИБРИОНОВ

Чемисова О.С.[1], Мазрухо А.Б.[2], Харабаджахян Г.Д.[2], Савельева И.К.[2], Цырулина О.А.[2], Сагакянц М.М.[2], Рыкова В.А.[2], Каминский Д.И.[2], Соков Д.В.[2], Ульрих Е.П.[2]

[1]ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет», г. Ростов на Дону, Россия
[2]ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов на Дону, Россия

В структуре острых кишечных инфекций вибриозы занимают одно из ведущих мест. Особое значение они имеют в прибрежной зоне Дальнего Востока и Причерноморья, где парагемолитические вибрионы являются естественными обитателями, активно обсеменяя объекты морского промысла, вызывая у некоторых из них поражение вплоть до гепатопанкреатического некроза и массовой гибели [Полеева М.В., 2021; Хунхеева Ж.Ю. и др., 2018; Dietrich et al., 2023]. Бактериологическая диагностика данных заболеваний среди населения опирается на использование щелочных сред накопления и последующего пересева на селективные среды типа TCBS [МУК 4.2.3886-23]. При этом большинство специалистов обращает внимание на низкие дифференцирующие свойства данной среды, что предполагает применение дополнительных усилий в виде среды Монсура, Вибрио-агара и т.д. [Elias N.A. al., 2023]. Фирма Biomark предлагает три варианта среды TCBS, различающиеся уровнем селективности. В последние годы массово стали использоваться хромогенные среды, обеспечивающие, кроме селективного выделения вибрионов, специфическое окрашивание колоний *Vibrio cholerae, V. vulnificus, V. parahaemolyticus* и *V. alginolyticus* в разные цве-

та: соответственно сине-зеленый, розово-лиловый и бесцветный. Однако производство хром-агаров освоено только зарубежными фирмами и значительно затратно. Остается малодоступной также среда Вагатцума, обеспечивающая определение гемолитической активности вибрионов, и, таким образом — понимание роли выделенных штаммов *V. parahaemolyticus* в патогенезе расследуемых случаев инфекционных заболеваний, связанных с морепродуктами.

За последние годы на базе отечественных питательных основ и ингредиентов авторами разработаны три специальные питательные среды для облегчения диагностики вибриозов. Первый препарат — «Набор для приготовления питательной среды для выделения и первичной идентификации парагемолитических вибрионов (Набор ПГСВ)» предназначен для селективного выделения вибрионов и последующей первичной идентификации по признаку галофильности. Составляющими данного препарата являются: ферментативный перевар мяса (ГМФ-основа), стимулятор роста гемофильных микробов (СРГМ), селективные факторы — алкилсульфаты натрия и повышенное содержание индикатора в сравнении с его содержанием в среде TCBS, а также агар-агар, соли и углеводы. Данный Набор прошел масштабные испытания на тест-штаммах и полевом материале в рамках технических и клинических испытаний. Среда активно подавляла рост кишечной микрофлоры и позволяла выделять *V. parahaemolyticus* при минимальном содержании возбудителя в посевном материале [Чемисова О.С. и др., 2021]. Он зарегистрирован как изделие медицинского назначения 10.06.2019 № РЗН 2019/8472.

Остальные два препарата: «Набор для приготовления питательной среды для подращивания парагемолитических вибрионов в тесте Канагава (Набор СПВ)» и «Агаризованная питательная среда с дифференцирующей добавкой для определения гемолитической активности парагемолитических вибрионов неселективная, готовая к использованию после переплавки (Среда СГВ)» предназначены для обеспечения проведения исследования и стандартизации определения наличия гемолизина у *V. parahaemolyticus*, выделенных из клинического материала и

объектов окружающей среды при постановке теста Канагава. Оба препарата содержат ГМФ-основу, СРГМ, натрия хлорид, соли и углеводы. Среда СПВ способствует активизации токсинообразования в жидкой культуре вибриона и последующему максимальному проявлению гемолитической активности на среде СГВ с эритроцитами. Оригинальная методика постановки теста Канагава (использование стандартизованных культур исследуемых вибрионов, посев материала по секторам агаровой пластинки) облегчает постановку теста, дает высокую воспроизводимость результатов и возможность их статистической обработки. Применение среды СГВ позволяет выявлять гемолитическую активность даже у слабо вирулентных штаммов. Представители всех трех групп штаммов, проверенных в тесте Канагава на среде СГВ, выборочно были проанализированы методом ПЦР на наличие генов *tdh, trh, KP* и *Ure*. Было подтверждено, что определенный как Канагава положительный штамм *V. parahaemolyticus* содержал следующий набор: *tdh*+ *trh*$^{-}$ *KP*$^{+}$ *Ure*$^{-}$; Канагава слабо положительный — *tdh*$^{-}$ *trh*$^{+}$ *KP*$^{-(+)}$ *Ure*$^{+}$; Канагава отрицательный штамм — *tdh*$^{-}$ *trh*$^{-}$*KP*$^{-}$*Ure*$^{-}$. На новые среды оформлены нормативно-технические документы. Состав препаратов запатентован [пат. RU 2778997, пат. RU 2711914C1]. Среда СГВ проходит этап подготовки к регистрации в качестве изделия медицинского назначения.

Таким образом, разработан комплекс препаратов, обеспечивающий высокую эффективность мониторинга за вибриозами и направленный на оптимизацию лабораторных исследований при диагностике острых кишечных заболеваний и пищевых токсикоинфекций. Их использование способствует пониманию реальной роли парагемолитических вибрионов в возникновении вибриозов, связанных с употреблением рыбы и морепродуктов.

Список литературы

1. *Полеева М.В.* Совершенствование методических подходов для идентификации штаммов *Vibrio parahaemolyticus*: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.03. — Саратов, 2021. — 165 с.
2. *Хунхеева Ж.Ю., Миронова Л.В., Воронок В.М., Тарасенко Т.Т., Косенок Е.В., Алленов А.В., Хоменко Т.В., Солодкая Н.С., Балахонов С.В.* Роль галофильных вибрионов в структуре острых кишечных инфекций на территории Приморского края. Холера и патогенные для человека вибрионы: сб. статей проблемной комиссии (48.04). — Ростов-на-Дону, 2018. — С. 95–99.

3. *Чемисова О.С., Мазрухо А.Б., Харабаджахян Г.Д., Савельева И.К., Цырулина О.А., Сагакянц М.М., Рыкова В.А., Каминский Д.И., Соков Д.В., Ульрих Е.П.* Оценка диагностической эффективности новой питательной среды для выделения и первичной идентификации парагемолитических вибрионов Астраханский медицинский журнал. — 2021. — № 16(2). — С. 62–70.
4. *Dietrich J., Hammerl J-A., Johne A., Kappenstein O., Loeffler C., Nockler K., Rosner B., Spielmeyer A., Szabo I., Richter M.H.* Impact of Climate Change on foodborne Infections and Intoxications. Journal of Health Monit. 2023; 3(8):78–92.
5. *Elias N.A., Hassan M.S.A., Yusoff N.A.H., Tosin O.V., Harun N.A., Rahmah S., Hassan M.* Potential and Limitation of Biocontrol Methods against vibriosis: a review. HassanAquacultureInt. SpringerSwitzerland; 2023; 31: 2355–2398.
6. МУК 4.2.3886-23 Лабораторная диагностика заболеваний, вызываемых парагемолитическими и другими патогенными для человека вибрионами. — 2023. — 39 с.
7. *Чемисова О.С., Мазрухо А.Б., Харабаджахян Г.Д., Савельева И.К., Сагакянц М.М., Ульрих Е.П.* Питательная среда для выделения и идентификации парагемолитических вибрионов (варианты) и способ ее получения (варианты). Патент RU 2711914C1, опубл. 23.01.2020. Бюл. № 3.
8. *Чемисова О.С., Мазрухо А.Б., Харабаджахян Г.Д., Савельева И.К., Цырулина О.А., Сагакянц М.М., Каминский Д.И., Ульрих Е.П.* Питательная среда для дифференциации парагемолитических вибрионов. Патент RU 2778997, опубл. 29.08.2022. Бюл. № 25.

ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОВ ТОКСИН-КОРЕГУЛИРУЕМЫХ ПИЛЕЙ АДГЕЗИИ *VIBRIO CHOLERAE* МЕТОДОМ ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ ПЕТЛЕВОЙ АМПЛИФИКАЦИИ (LAMP)

Чемисова О.С.[1], Цырулина О.А.[2], Трухачев А.Л.[2], Агафонова В.В.[1,2]

[1]ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет», г. Ростов-на-Дону, Россия
[2]ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Холера — острая диарейная инфекция, вызываемая бактерией *Vibrio cholerae*. Относится к группе особо опасных инфекцией из-за тенденции к эпидемическому распространению и высо-

кой летальности [Шувалова Е.П. и др., 2016]. Существует множество серогрупп *V. cholerae*, но вспышки болезни вызывают только две из них — O1 и O139. Штаммы *V. cholerae* O1 разделяют на два биовара — классический (*classical*) и эльтор (El Tor), отличающихся друг от друга по фенотипическим и генетическим свойствам [Кульшань Т.А. и др., 2014]. Основными факторами патогенности и иммуногенности холерных вибрионов являются секретируемый в среду выращивания или наружу холерный токсин, а также расположенные на поверхности клетки токсин-коррегулируемые пили адгезии, обеспечивающие колонизацию кишечника за счет адгезии микробных клеток к энтероцитам, а также образования микроколоний на начальных стадиях инфекции [Krebs S.J., Taylor R.K., 2011]. Раннее нами были сконструированы специфичные к гену *ctxA*, кодирующему холерный токсин,праймеры для определения патогенности штаммов *V. cholerae* методом изотермической петлевой амплификации (LAMP) [Чемисова О.С. и др., 2023].

Цель исследования — конструирование и проверка на специфичность праймеров для изотермической петлевой амплификации (LAMP) к гену *tcpA*, ответственному за синтез основной субъединицы токсин-корегулируемых пилей адгезии, *classical* и El Tor биоваров *V. cholerae*.

Материалы и методы

Для конструирования праймеров был использован интернет-сервис Primer Explorer 5 (LAMP primer designing software: http://primerexplorer.jp/e/), VNTI9 и BLAST NCBI. Праймеры синтезированы фирмой Lumiprobe, Москва.

В работу по проверке специфичности сконструированных нами праймеров для реакции LAMP было взято 30 штаммов бактерий *V. cholerae* O1, O139, nonO1/non 139 серогрупп с различными генетическими характеристиками и для проверки специфичности праймеров — 15 штаммов близкородственных видов и родов.

ДНК выделяли из чистой культуры микроорганизмов, используя набор реагентов «ДНК-сорб В» («Интерлабсервис», Москва). Работу проводили в соответствии с инструкцией производителя.

Для анализа применяли набор БиоМастер LAMPSYBR (2x) отечественного производства (ООО «Биолабмикс»). В состав реакционной смеси входили: 12,5 мкл смеси для LAMP, 2,5 мкл смеси праймеров, 2–3 мкл образца, воды до конечного объема 25 мкл. Детекция специфического сигнала проводилась по каналу для флуорофора FAM с использованием амплификатора DT-lite 5.

Результаты и обсуждение

Первоначально сконструированные наборы праймеров к генам *tcpA classical* и El Tor биоваров *V. cholerae* были виртуально *in silico* с помощью программы BLAST (NCBI, USA) апробированы на 300 штаммах *V. chorelae* из базы данных GenBank (NCBI, USA). Для проверки праймеров in vitro были отобраны те наборы для каждого из генов, которые показали 100% специфичность *in silico*, а именно *tcpEl Tor40, tcpEl Tor70, tcpcl1, tcpcl43.*

Затем была проведена оценка специфичности отобранных праймеров для изотермической петлевой амплификации (LAMP) на коллекционных штаммах. Результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты проверки специфичности праймеров для LAMP *in vitro*

Штамм		Праймеры			
		tcpEl Tor70	***tcpEl Tor40***	***tcpcl1***	***tcpcl43***
V. cholerae O1El Tor	*tcpA*$^+$	100%	—	—	—
	tcpA$^-$	—	—	—	—
V. cholerae O1classical	*tcpA*$^+$	—	—	80%	100%
	tcpA$^-$	—	—	—	—
V. cholerae O139	*tcp*A$^+$	100%	—	—	—
	tcpA$^-$	—	—	—	—
V. cholerae nonO1/nonO139	*tcpA*$^+$	100%	—	—	—
	tcpA$^-$	—	—	—	—
V. parahaemolyticus		—	—	—	—
V. alginolyticus		—	—	—	—
V. vulnificus		—	—	—	—
V. fluvialis		—	—	—	—

Окончание табл. 1

Штамм		Праймеры			
		tcpEl Tor70	***tcpEl Tor40***	***tcpcl1***	***tcpcl43***
V. harveyi		—	—	—	—
E. coli		—	—	—	—
Aeromonas	—	—	—	—	
Plesiomonas	—	—	—	—	
Pseudomonas aeruginosa	—	—	—	—	

Только праймеры *tcpEl Tor70* и *tcpcl43* показали 100%-ю специфичность по отношению к *tcpA*$^+$ штаммам *V. cholerae* (рис. 1).

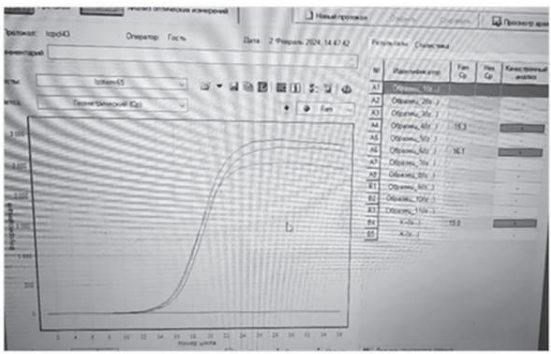


Рис. 1. Регистрация результатов амплификации ДНК гена *tcpcl43 V. cholerae* в режиме «реального времени»
Образец 4, 6 — штаммы *V. cholerae* O1 *classical tcpA*$^+$ № 438, 27;
Образец 1,2, 7, 8 — штаммы *V. cholerae* O1 El Tor *tcpA*$^+$;
Образец 3, 5, 10 — штаммы *V. cholerae* O1 *tcpA*$^-$;
Образец 9 — V. cholerae non O1/non O139 20565 *tcpA*$^-$;
Образец 11 — штамм *V. parahaemolyticus*;
К$^+$ — положительныйконтроль (штаммы *V. cholerae* O1 *classical tcpA*$^+$ № 569),
К$^-$ — отрицательный контроль

Чувствительность праймеров оценивали с помощью проб ДНК, выделенных из десятикратных разведений штаммов *V. cholerae* № 569 и *V. cholerae* № 18203. Анализ результатов показал, что чувствительность разработанных олигонуклеотидных последовательностей составила 1×10^4 м.кл./мл. Время реакции при этом составило 30–60 минут.

Заключение

Таким образом, полученные праймеры могут быть использованы для дальнейшей работы по конструированию диагностической тест-системы, позволяющей в короткий срок с высокой чувствительностью и специфичностью проводить детекцию и идентификацию в том числе эпидемически опасных штаммов вида *V. cholerae*, содержащих ген токсинкорегулируемых пилей адгезии как классического, так и эльтор биотипов.

Список литературы

1. *Шувалова Е.П., Белозеров Е.С., Беляева Т.В., Змушко Е.И.* Инфекционные болезни. СпецЛит, 2016. — 783 с.
2. *Krebs S.J., Taylor R.K.* Protection and attachment of *Vibrio cholerae* mediated by the toxin-coregulated pilus in the infant mouse model/ J. Bacteriol. 2011; 193 (19): 5260–5270. DOI: 10.1128/JB.00378-11
3. *Кульшань Т.А., Челдышова Н.Б., Гусева Н.П., Смирнова Н.И.* сравнительный анализ участков генома, связанных с вирулентностью, у природных штаммов *Vibrio cholerae* классического и эльтор-биоваров // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2024. — № 2. — С. 26–33. ID: 21533183
4. *Чемисова О.С., Цырулина О.А., Трухачев А.Л., Носков А.К., Морозова И.В.* Анализ специфичности праймеров для выявления генов *Vibrio cholerae* методом изотермической петлевой амплификации (LAMP) *in silico* и *in vitro* // Клиническая лабораторная диагностика. — 2023. — № 68 (3). — С. 178–184. — DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-3-178-184

ВЕЗИКУЛЫ ГЕНОВАРИАНТОВ *VIBRIO CHOLERAE* O1 EL TOR И ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА

Якушева О.А., Алексеева Л.П., Евдокимова В.В., Мелоян М.Г.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение

Везикулы наружной мембраны (ВНМ) являются сферическими функциональными наноструктурами, гетерогенными по размеру с диаметром от 20 до 250 нм, образуемыми в результате

контролируемого выпячивания наружной мембраны с захватом части периплазматического содержимого и последующего отщепления. Эти частицы включают разнообразные молекулы: ДНК, РНК, белки, липиды, липополисахарид (ЛПС), токсины, адгезины, другие факторы вирулентности и иммуномодулирующие молекулы и способны доставлять их в клетки-хозяева [Zingl F.G. et al., 2021]. Образование везикул наружной мембраны *V. cholerae* O1 не ограничивается конкретными условиями, этот процесс наблюдается во время роста бактерий в жидких, агаровых средах, в составе биопленки, а также после попадания возбудителя в организм хозяина [Sjöström A.E., et al., 2015]. В нашей работе было показано образование ВНМ геновариантами *V. cholerae* O1 El Tor в среде AKI, которая является наиболее оптимальной для продукции холерного токсина (ХТ) [Якушева О.А., с соавт. 2024]. Несмотря на имеющиеся сведения в отношении везикул холерного вибриона, остается много вопросов, требующих продолжения исследований. В частности, в недавно опубликованной работе приведены данные, что ВНМ способны не только проникать в эукариотические клетки, но и усиливать адгезию бактерий к этим клеткам [Божокина Е.С., Берсон Ю.М., 2021]. Появились также сообщения, свидетельствующие, что ВНМ *V. cholerae* O1 обладают способностью влиять на структуру биопленок в зависимости от их состава [Potapova A. et al., 2024]. При этом сведения, касающиеся функциональных свойств везикул холерных вибрионов Эль Тор крайне ограничены.

Цель работы — выделение везикул из типичных клеток и геновариантов холерных вибрионов биовара Эль Тор, их характеристика.

Материалы и методы

В работе использовали токсигенные штаммы *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa: прототипный: № 1310; и геновариант: «предгаитянский» № 18367, «гаитянский» № 19188/2, «постгаитянский» № 19667, полученные из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. Штаммы *V. cholerae* O1 El Tor с раз-

личным генотипом, были подобраны согласно их паспортным данным. Все исследуемые штаммы были типичными по морфологическим, культуральным, биохимическим и серологическим свойствам. Штаммы культивировали на агаре Мартена, pH 7,7, а для получения везикул их выращивали на агаре Мартена с добавлением 0,1% жёлчи. Все этапы работы с живыми культурами различных штаммов *V. cholerae* O1 El Tor проводили с учетом требований СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Выделение мембранных везикул проводили методом дифференциального центрифугирования из агаровых культур по методу [Sjöström A.E. et al., 2015]. Общую концентрацию белка измеряли методом Лоури. Концентрацию белка рассчитывали по калибровочной кривой, построенной для БСА. Ультраструктурный анализ везикул проводили с помощью трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) х 100000. Наличие ЛПС определяли иммуноферментным методом с использованием моноклональных антител, направленных к эпитопам ЛПС *V. cholerae* O1. Для выявления мембранных белков применяли моноклональные антитела гибридомы (ГХ-A5D8/OmpU), депонированной в «ГКПМ-Оболенск» [Евдокимова и др., 2016]. Детекцию холерного токсина проводили после обработки везикул 0,1М ЭДТА в течение часа при 37° С и последующей постановкой GM1-ИФА [Guerrant R.L. et al., 1974] с поликлональным кроличьим антитоксическим пероксидазным конъюгатом [Якушева и др., 2020]. В качестве положительного контроля использовали очищенный холерный токсин [Алексеева и др., 2019]. Электрофоретический анализ препаратов везикул проводили в ПААГ с градиентом плотности 6% и 12,5% в денатурирующих условиях с додецилсульфатом натрия и β-меркаптоэтанолом. В качестве маркеров использовали смесь белковых стандартов «Blue Plus II Protein Marker» (14–120 кДа). Для обнаружения белков использовали окраску Кумасси синий R-250 [Laemmli, 1970].

Количественную оценку адгезии штаммов *V. cholerae* после обработки клеток мембранными везикулами, проводили по методу [Татаренко О.А. и др. 2016].

Биологическую активность везикул оценивали на перевиваемых клеточных линиях *CHO-K1* (овариальные клетки китайского хомячка), *HuTu 80* (человек, аденокарцинома двенадцатиперстной кишки) и г. Санкт-Петербург), как описано [Якушева О.А. и др., 2024].

При анализе результатов были использованы статистические методы ($p < 0,05$) [Ашмарин И.П., Воробьев А.А., 1962].

Результаты и обсуждение

ВНМ многих патогенных бактерий все чаще признаются ключевыми детерминантами вирулентности, выполняя важную роль во взаимодействии патоген-хозяин, предполагающую высвобождение различных факторов вирулентности и их доставку непосредственно в клетки-хозяева. По мнению [Rueter C., Bielaszewska M., 2020], ВНМ из патогенных бактерий «отпочковываются» в повышенных количествах и поэтому можно предположить, что они являются дополнительным механизмом их вирулентности. Нами было показано, что типичные штаммы и геновариантов *V. cholerae* El Tor в жидкой среде AKI образуют ВНМ, содержащие широкий спектр биологически активных веществ, в том числе и холерный токсин, локализованный внутри везикул [Якушева О.А. и др., 2024]. Вполне вероятно, упомянутые штаммы могут использовать везикулы в качестве системы транспорта факторов вирулентности в клетки-мишени.

В данной работе везикулы выделяли из клеток типичного штамма и природных геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor, выращенных в течение 18 часов на агаре Мартена с добавлением 0,1% желчи. С целью получения везикул исследуемых штаммов без сопутствующих примесных компонентов использовали дифференциальное центрифугирование и их чистоту, и размеры контролировали с помощью ТЭМ. Диапазон размеров везикул варьировал от 50 до 200 нм и был аналогичен размеру везикул, полученных в предыдущем исследовании, в котором испытуемые штаммы культивировали в среде AKI до начала логарифмической фазы. Вариации в размере везикул, позволяют предположить, дифференциальную сортировку белков. Для того чтобы сравнить белковый состав везикул из штаммов типичного и ге-

новариантов *V. cholerae* O1 El Tor, выращенных в разных условиях и в средах, отличающихся по составу, было проведено их электрофоретическое разделение с последующей окраской геля Кумасси синий R-250. В результате анализа электрофореграмм было установлено, что образцы везикул, изолированных из агаровых культур, имеют в своем составе меньше белков, чем везикулы, полученные из бульона AKI, которые характеризовались большим числом белков с преобладанием высокомолекулярных.

Располагая набором МКА к детерминантам основных антигенов внешней мембраны *V. cholerae* O1, мы с помощью иммуноферментного анализа определили их наличие в составе везикул, выделенных из клеток агаровых культур *V. cholerae* O1 El Tor. На основе моноклональных антител гибридомы (ГХ-A5D8/OmpU), предназначенных для выявления белка наружной мембраны OmpU, являющегося маркерным белком везикул, обнаружено, что все полученные препараты везикул содержали этот белок. Его присутствие в ВНМ очень важно, так как он играет ключевую роль в устойчивости к желчи, адгезии и выживании возбудителя холеры в тонком кишечнике [Montero D.A. et al., 2023]. После инкубации ВНМ с моноклональными антителами, направленными к эпитопам ЛПС *V. cholerae* O1, последний также выявлен во всех препаратах. Применение GM1-ИФА позволило выявить холерный токсин в составе ВНМ. Из вышеприведенных результатов следует, что везикулы, изолированные из клеток агаровых культур, несмотря на меньшую представленность белков в своем составе, содержат основные компоненты внешней мембраны. Одновременно необходимо отметить возможность получения большего количества везикул, если их источником служат клетки агаровых культур, по сравнению с бульонными культурами *V. cholerae* O1 El Tor. Для оценки биологической активности полученных препаратов везикул использовали две линии культуры клеток (*CHO-K1* и *HuTu 80*), поскольку первая традиционно используется для детекции холерного токсина, а другая представляет собой эпителиальные клетки кишечника человека. Препараты везикул в определенной дозе вносили в лунки планшета с клеточными культурами, помещали в CO_2-инкубатор и в динамике через 4, 6, 8 и 24 часов оцени-

вали в инвертированном микроскопе морфологию обеих клеточных линий. Контроль морфологических изменений культуры клеток при тестировании препаратов везикул позволил выявить значительное удлинение клеток *CHO-K1*, и появление игольчатых отростков в культуре клеток *HuTu 80*, характерное для действия холерного токсина, уже через 4 и 6 часов соответственно. Как видно, определение биологической активности препаратов везикул можно проводить на двух клеточных линиях — *CHO-K1* и *HuTu 80*. Однако вопрос, каким образом везикулы из клеток *V. cholerae* O1 El Tor проникают в клетки-мишени и реализуется действие холерного токсина, в виде их удлинения, остается открытым.

Клеточная адгезия является первым шагом во взаимодействии хозяин-патоген, а факторы адгезии являются важными компонентами бактериальной инфекции. По мнению [Божокина Е.С., Берсон Ю.М., 2021] компоненты, присутствующие в везикулах Serratiagrimesii, усиливают, способность бактериальных клеток прикрепляться к эпителиальным клеткам. В настоящее время неизвестно, как именно, локализованный в везикулах холерных вибрионов материал может влиять на прикрепление родительских клеток. Вначале, мы оценили адгезивные свойства клеток холерных вибрионов на двух клеточных линиях *HuTu 80* и *CaCo-2*. Результаты исследования показали, что типичный штамм *V. cholerae* O1 El Tor № 1310, являлся низкоадгезивным с индексом адгезии 3,2, геноварианты штаммов *V. cholerae* O1 El Tor № 18367 и № 19188/2 отличались среднеадгезивной активностью с показателем адгезии 10,18 и 12,28. Штамм *V. cholerae* O1 El Tor № 19667 был высокоадгезивным, его индекс адгезии равнялся 23,7. Влияние везикул, полученных из клеток агаровых культур на адгезивные свойства штаммов оценивали после их преинкубации в течение часа с клеточными линиями *HuTu 80* и *CaCo-2*, а затем вносили клетки холерных вибрионов и их совместное культивирование продолжалось 1,5 часа. В результате проведенных исследований установлено, что везикулы, полученные из агаровых культур, усиливали прикрепление холерных вибрионов к клеткам-мишеням в 1,5–2,5 раза в зависимости от штамма. Можно предположить, что везикулы способ-

ствуют усилению адгезии за счет увеличения числа связей между бактериальными и эпителиальными клетками кишечника, или путем изменения экспрессии рецепторов на поверхности клеток-мишеней.

Заключение

Из клеток типичного штамма и геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor, выращенных на агаре Мартена с 0,1% жёлчью, были выделены везикулы методом дифференциального центрифугирования. В результате электрофоретического разделения везикул, изолированных из агаровых культур, установлено, что они содержат меньшее количество белков по сравнению с везикулами, выделенными из бульонных культур, но при этом в их составе присутствуют все основные компоненты внешней мембраны. Модель клеточных линий, включающая клетки животного происхождения *CHO-K1* и клетки кишечного эпителия человека *HuTu 80*,может быть использована для оценки биологической активности везикул. Оценка адгезивной активности типичного штамма и геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor показала, что их совместная инкубация с везикулами способствует усилению адгезии в 1,5–2,5 раза.

Список литературы

1. *Алексеева Л.П., Якушева О.А., Зюзина В.П., Дуванова О.В., Шипко Е.С., Писанов Р.В.* Современные методические приемы очистки холерного токсина // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. — 2019. — № 15(1). — С. 5–9.
2. *Ашмарин И.П., Воробьев А.А.* Статистические методы в микробиологических исследованиях. — Л.: Медгиз, 1962. — 180 с.
3. *Божокина Е.С., Берсон Ю.М.* Роль мембранных везикул Serratia grimesii при взаимодействии бактерий с клетками *CaCo-2* Цитология. — 2021. — № 63(1). — С. 43–52.
4. *Евдокимова В.В., Алексеева Л.П.* Разработка препаратов моноклональных антител для выявления холерных вибрионов О1 и О139 серогрупп иммуноферментными методами и оценка их диагностической значимости // Холера и патогенные для человека вибрионы: Материалы проблемной комиссии. — 2018. — № 31. — С. 144–145.
5. *Татаренко О.А., Коршенко В.А., Титова С.В., Алексеева Л.П., Черепахина И.Я.* Способ оценки адгезивных свойств холерных вибрионов *Vibrio cholerae* El Tor и *Vibrio cholerae* O139 на клеточной культуре *HuTu 80.* Патент РФ № RU 2 595 423 C2 27.08.2016 Бюл. № 24.

6. *Якушева О.А., Алексеева Л.П., Зюзина В.П., Архангельская И.В., Яговкин М.Э.* Характеристика и оценка диагностической значимости поли- и моноклональных пероксидазных конъюгатов к холерному токсину // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. — 2020. — № 16(2). — С. 37–43.
7. *Якушева О.А., Алексеева Л.П., Евдокимова В.В., Мелоян М.Г., Зюзина В.П., Симакова Д.И.* Везикулы токсигенных штаммов холерных вибрионов О1 Эль Тор, их выделение и характеристика // Вестник Пермского университета. Серия «Биология». — 2024. — № 1. — С. 61–73. — DOI: 10.17072/1994-9952-2024-1-61-73
8. *Guerrant, R.L., Brunton L.L., Schnaitman T.C., Rebhun L.I., Gilman A.G.* Cyclic adenosine monophosphate and alteration of Chinese hamster ovary cell morphology: a rapid, sensitive in vitro assay for the enterotoxin of *Vibrio cholerae* and Escherichia coli. Infect. Immun. 1974; 10 (2): 320–327.
9. *Iwanaga M., Kuyyakanond T.* Large production of cholera toxin by *Vibrio cholerae* O1 in yeast extract peptone water. Journal of Clinical Microbiology. 1987; 25 (1): 2314–2316.
10. *Laemmli U.K.* Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 1970; 227(5259): 680–685.
11. *McBroom A.J., Kuehn M.J.* Release of outer membrane vesicles by Gram-negative bacteria is a novel envelope stressresponse. Mol. Microbiol. 2007; 63 (2): 545–558.
12. *Montero D.A., Vidal R. M., Velasco J., George S., Lucero Y., Gómez L.A., Carreño L.J., García-Betancourt R., Ryan M.O. Vibrio cholerae*, classification, pathogenesis, immune response, and trends in vaccine development Front Med (Lausanne). 2023; 10: 1155751. DOI: 10.3389/fmed.2023.1155751
13. *Pinto M., Robine-Leon S., Appay M.D.* Enterocyte-like differentiation and polarization of the human colon carcinoma cell line *CaCo-2* cells in culture. Biol. Cell. 1983; 47: 323–330.
14. *Potapova A., Garvey W., Dahl P., Guo S., Chang Y., Schwechheimer C., Trebino M.A., Floyd K.A., Phinney B.S., Liu J., Malvankar N. S, Yildiz F.H.* Outer membrane vesicles and the outer membrane protein OmpU govern *Vibrio cholerae*biofilm matrix assembly mBio. 2024; 15(2). DOI:10.1128/mbio.03304-23.
15. *Rueter C., Bielaszewska M.* Secretion and Delivery of Intestinal Pathogenic Escherichia coli Virulence Factors via Outer Membrane Vesicles Front Cell Infect Microbiol. 2020; 10: 91. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00091
16. *Sjöström A.E., Sandblad L., Uhlin B.E., Wai S.N.* Membrane vesicle-mediated release of bacterial RNA 2015.
17. *Zingl F.G., Thapa H.B., Scharf M., Kohl P., Müller A.M., Schild S.* Outer Membrane Vesicles of *Vibrio cholerae* Protect and Deliver Active Cholera Toxin to Host Cells via Porin-Dependent Uptake. mBio. 2021; 12 (3). DOI: 10.1128/mBio.00534-21

СОДЕРЖАНИЕ

Ростовский-на-Дону противочумный институт: дорога длиною в 90 лет
Гаевская Н.Е., Агафонова В.В., Полеева М.В., Кретенчук О.Ф., Коршенко В.А. 3

О направлениях научных исследований, выполняемых в 2023 г. в рамках деятельности проблемной комиссии «Холера и патогенные для человека вибрионы» и перспективах на 2024 г.
Носков А.К., Чемисова О.С., Полеева М.В., Кретенчук О.Ф. 10

Целевое обучение в ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора
Коршенко В.А., Кретенчук О.Ф., Полеева М.В., Гаевская Н.Е. 19

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ

Основные направления совершенствования эпидемиологического надзора за холерой на территории Российской Федерации
Попова А.Ю., Носков А.К. 24

Проактивный эпидемиологический надзор за холерой в Российской Федерации
Носков А.К., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Кругликов В.Д., Чемисова О.С., Пичурина Н.Л., Гаевская Н.Е., Москвитина Э.А., Савина И.В., Ежова М.И., Евтеев А.В., Меньшикова Е.А., Дуванова О.В., Селянская Н.А., Сокиркина О.Н. 28

Тактика и алгоритм лабораторной диагностики холеры в Российской Федерации
Носков А.К., Кругликов В.Д., Чемисова О.С., Москвитина Э.А., Ежова М.И., Евтеев А.В., Меньшикова Е.А., Дуванова О.В., Селянская Н.А., Егиазарян Л.А., Савина И.В., Дегтерева О.Н., Горох А.М., Могиленко В.С. 37

Актуальность использования серологических методов для проведения эпидемиологических исследований
Ахапкина И.Г. 44

Серологический мониторинг иксодовых клещевых боррелиозов
Березняк Е.А., Тришина А.В., Хаметова А.П., Пичурина Н.Л. 49

Мониторинг контаминации вибрионами поверхностных водоемов Курской области в 2013–2023 гг.
Волгина И.В., Ковальчук М.Л., Агеева И.Б., Гривачева Р.Н. 53

Кровососущие клопы *Oeciacus hirundinis* и *Cimex pipisrtelli* в Ростовской области
Забашта А.В., Забашта М.В., Пичурина Н.Л. 60

Современная фауна иксодовых клещей Ростовской области
Забашта А.В., Забашта М.В., Пичурина Н.Л., Панасюк Н.В., Стахеев В.В. 66

Особенности организации эпидемиологического надзора за холерой в Хабаровском крае
Зайцева Т.А., Каравянская Т.Н., Карлов И.С., Гарбуз Ю.А., Ковальский А.Г. 73

Финансово-аналитическое обеспечение инновационной деятельности научных организаций как инструмент эффективного управления финансовыми ресурсами
Исенко У.А. 76

Особенности эпидемиологической обстановки по клещевым инфекциям в Ростовской области в современный период
Ковалев Е.В., Ерганова Е.Г., Леоненко Н.В. 80

Эпидемиологические и эпизоотологические проявления лихорадки Западного Нила в Нижегородской области
Колоскова А.Ю., Удовиченко С.К., Путинцева Е.В., Бородай Н.В. 85

Вспышка холеры в Тамбовской области среди трудовых мигрантов, прибывших из Индии
Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Ежова М.И., Евтеев А.В., Пичурина Н.Л., Сокиркина Е.Н., Бодрая П.В., Носков А.К. 90

Повышение квалификации специалистов по лабораторной диагностике холеры как один из этапов обеспечения противоэпидемической готовности
Люкшина Е.Ю., Кругликов В.Д., Левченко Д.А., Носков А.К. 98

Организация противоэпидемических мероприятий в очаге холеры на территории Тамбовской области
Малова Т.И., Толстова Г.А., Понкратова И.А. 104

Динамика выделения холерных вибрионов из поверхностных водоемов города Ростова-на-Дону с 2019 по 2023 г.
Меньшикова Е.А., Селянская Н.А., Титова С.В., Москвитина Э.А., Ежова М.И., Водопьянов С.О., Сагакянц М.М., Егиазарян Л.А., Евтеев А.В., Дегтерева О.Н., Кругликов В.Д. 109

Организация противоэпидемических (профилактических) мероприятий в целях предупреждения завоза и распространения холеры на территории Воронежской области
Механтьев И.И., Гунина О.М., Платунина Т.Н., Боева Г.В. 113

Эпидемиологический надзор за холерой: анализ контаминации *Vibrio cholerae* O1 водных объектов в России (2014–2023 гг.) 116

Москвитина Э.А., Соболева Е.Г., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Носков А.К......116

Холера: чрезвычайные ситуации и факторы эпидемиологического риска, способствующие активизации эпидемического процесса
Москвитина Э.А., Соболева Е.Г., Савина И.В., Носков А.К......121

Обеспечение готовности по холере ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ульяновской области»
Нафеев А.А., Салина Г.В., Сибаева Э.И., Тимиркина О.В., Жукова Е.Ю. 125

Опыт ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Башкортостан» по лабораторному обеспечению эпидемиологического надзора за контаминацией водных объектов холерными вибрионами О1/О139 серогрупп 130
Нигаматьянов А.Р., Скотарева М.А., Хисамиев И.И., Гарифуллин Б.Р., Говорова В.Г., Сыса А.М., Рожкова Е.В. 130

Анализ нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных на территории Краснодарского края
Носов Д.О., Есьман А.С., Таганова А.А., Дубаневич Б.А., Антонов А.В......135

Основные организационные и профилактические мероприятия по недопущению возникновения и распространения холеры в Волгоградской области в 2023 году
Перехожева С.В......139

Организация межведомственного взаимодействия в пунктах пропуска на территории Ростовской области при сохраняющейся угрозе заноса и распространения холеры и других инфекционных болезней
Рыжков Ю.В., Ковалев Е.В., Ерганова Е.Г., Балаян Д.Л......144

Организация эпидемиологического надзора за холерой в городе Ростове-на-Дону на современном этапе
Слись С.С., Ковалев Е.В., Ерганова Е.Г., Леоненко Н.В., Гаевская Н.Е., Кругликов В.Д. 148

Изучение структуры этиологических агентов, вызывающих инфекционные болезни у лиц из пунктов временного размещения на территории Ростовской области
Сокиркина Е.Н., Савина И.В., Соков Д.В., Мазрухо А.Б......156

Пространственно-временной анализ популяции возбудителя туляремии в Ростовской области, ДНР, ЛНР и на Украине с 1943 по 2023 год

Сорокин В.М., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Носков А.К. 162

Актуальные аспекты организации эпидемиологического надзора за холерой в Российской Федерации
Тельнова Н.В., Яшина А.Ю., Шиянова А.Е., Лопатин А.А., Скударева О.Н. 166

Пространственно-временные особенности проявлений клещевого вирусного энцефалита в Восточной Сибири
Толмачева М.И., Никитин А.Я., Андаев Е.И. 171

Серологический мониторинг лихорадки Западного Нила в Ростовской области
Тришина А.В., Березняк Е.А., Пичурина Н.Л., Любич Ю.А. 177

О совершенствовании эпидемиологического надзора за лихорадкой Западного Нила на территориях высокого эпидемиологического риска
Удовиченко С.К., Путинцева Е.В., Топорков А.В. 181

О культурах холерных вибрионов, выделенных на территории Республики Калмыкия с 2019 по 2023 г. 186
Хазыкова К.Л., Конушева С.В., Озаева С.А., Бембеева Е.С., Тюнникова В.Д., Цебекова М.Г., Кулик В.В., Бембинов А.Ю., Бебикова А.А. 186

Распространение Крымской геморрагической лихорадки в Евразии 190
Цай А.В., Пичурина Н.Л. 190

Организация работы новых инфекционных госпиталей в схеме перепрофилирования госпитальной базы Республики Башкортостан 195
Шакирова Е.С., Казак А.А., Султанова Э.В., Сальникова Д.В., Мухаметзянов А.М. 195

Деятельность ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора в рамках обеспечения эпидемиологического благополучия по холере
Шиянова А.Е., Тельнова Н.В., Иванова С.М., Лопатин А.А. 201

Результаты лабораторного исследования и эффективность противоэпидемических мероприятий по факту выделения нетоксигенных культур холерных вибрионов О1 серогруппы в Республике Крым в 2023 году
Ярымбаш Е.Г., Коношенко Е.В., Юсупова З.С, Аторина О.Н., Долу А.Э., Тихонов С.Н. 207

Масс-спектрометрия в бактериологии и паразитологии (5 лет НМЦ мониторинга за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней III–IV групп патогенности)
Алешукина А.В., Березинская И.С., Голошва Е.В., Маркова К.Г., Полищук И.С. Нагорный С.А......212

Интестинальная микробиота летучих мышей в донском регионе как возможный резервуар инфекционных заболеваний.....217
Алешукина А.В., Твердохлебова Т.И., Березинская И.С., Попов И.В., Цуркова И.С., Ермаков А.М. 217

Опыт применения метода метагеномного секвенирования для детекции и идентификации возбудителя лихорадки Ку в клиническом материале
Васильева О.В., Ульшина Д.В., Зайцева О.А., Писаренко С.В., Волынкина А.С, Сирица Ю.В., Гнусарева О.А. 222

Роль интегративных коньюгативных элементов (*ICE*) в реализации устойчивости *Vibrio cholerae* к тяжелым металлам.....226
Водопьянов С.О., Евтеев А.В., Водопьянов А.С., Селянская Н.А., Писанов Р.В......226

Характеристика антигенных компонентов холерной химической вакцины
Воробьева С.А., Громова О.В., Клокова О.Д., Волох О.А......230

Индикаторная система для выделения холерных фагов из объектов окружающей среды
Гаевская Н.Е., Погожова М.П., Тюрина А.В., Сизова Ю.В. 235

Алгоритм и программа для классификации штаммов вируса бешенства
Герасименко А.А., Водопьянов А.С......238

Изучение влияния различных консервантов на бактериофаг при конструировании комплексного препарата для лечения и профилактики холеры
Глазкова Е.А., Гумаюнова К.С., Комиссаров А.В., Овчинникова М.В......241

Изучение циркуляции антибиотикорезистентных «eskape»-микро-организмов в медицинских организациях города Ростова-на-Дону
Голошва Е.В., Маркова К.Г., Алешукина А.В. 245

Перспективные направления разработки и производства новых холерных вакцин
Громова О.В., Волох О.А., Заднова С.П., Никифоров А.К......250

Факторы патогенности представителей *Acinetobacter baumannii*, выделенных в медицинских организациях г. Ростова-на-Дону
Гудуева Е.Н., Чемисова О.С. 254

Новые подходы к борьбе с комнатной мухой с учетом мультирезистентности
Давлианидзе Т.А., Еремина О.Ю., Олифер В.В. 260

Композиционный состав препаратов везикул токсигенных и нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 El Tor и O139 серогрупп
Дуванова О.В., Шипко Е.С., Писанов Р.В., Цырулина О.А., Чемисова О.С., Полеева М.В., Евдокимова В.В., Водопьянов А.С., Кругликов В.Д., Носков А.К. 263

Оценка потенциального риска возникновения бактериальных кишечных инфекций, обусловленных водным путем передачи 269
Журавлев П.В. 269

Анализ структуры регуляторных генов геновариантов *Vibrio cholerae* O1 биовара El Tor, выделенных в разные периоды текущей пандемии холеры
Заднова С.П., Плеханов Н.А., Федоров А.В., Кураташвили А.Ю., Челдышова Н.Б. 273

Молекулярно-генетическая характеристика клинических изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных с применением новой элективной питательной среды в рамках мониторинговых исследований *Covid-19*, осложненных внебольничными пневмониями в г. Мариуполь ДНР РФ
Ковалевич А.А., Писанов Р.В., Водопьянов А.С. 279

Многообразие видов рода *Listeria* и их филогенетическое родство на основании анализа последовательности гена *mprf*
Кожинова Э.В., Ябурова Е.В., Полюдова Т.В. 284

Выявление мобильных генетических элементов с антифаговыми системами в токсигенных штаммах *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор
Кураташвили А.Ю., Плеханов Н.А., Челдышова Н.Б., Заднова С.П. 288

Использование модели морских свинок для культивирования *Coxiella burnetii* 294
Левченко Д.А., Евдокимова В.В., Ренгач М.В., Симакова Д.И., Мелоян М.Г. 294

Изучение состава микробиоты ротоглотки и носоглотки пациентов пожилого и старческого возраста, находящихся на стационарном лечении в период пандемии новой коронавирусной инфекции
Маркова К.Г., Голошва Е.В., Алешукина А.В. 302

Оценка эффективности методов выявления возбудителя туляремии при исследовании полевого материала
Махмудов Р.С., Сорокин В.М., Цимбалистова М.В., Анисимова А.С., Аронова Н.В......306

Изучение влияния температуры на переход холерных вибрионов из биопленки в некультивируемое состояние
Меньшикова Е.А., Титова С.В., Водопьянов С.О., Селянская Н.А., Егиазарян Л.А......311

Биологические свойства сальмонелл и потенциально патогенных бактерий, выделенных из р. Темерник и устьевой части р. Дон
Морозова М.А., Калюжин А.С., Седова Д.А. 314

Молекулярно-генетическое типирование штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных от пациентов с новой коронавирусной инфекцией, осложненной пневмонией, из медицинских организаций г. Мариуполь ДНР РФ
Писанов Р.В., Водопьянов А.С., Ковалевич А.А., Водопьянов С.О. 319

Обнаружение жизнеспособных холерных вибрионов с помощью бактериофага на основе количественной ПЦР
Погожова М.П., Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Зулькарнеев Э.Р., Тюрина А.В., Сизова Ю.В., Иванова И.А......324

Метагеномное исследование пробы воды поверхностного водоема г. Иркутска в период выделения нетоксигенных штаммов *V. cholerae*
Пономарева А.С., Миронова Л.В., Эрдынеев С.В., Федотова И.С., Хунхеева Ж.Ю., Басов Е.А. 328

Анализ динамики выработки ИНФ-γ антиген-специфическими Т-лимфоцитами при экспериментальном остром бруцеллёзе
Пономаренко Д.Г., Ракитина Е.Л., Логвиненко О.В., Костюченко М.В., Хачатурова А.А., Жаринова И.В., Кондратьева Ю.В., Матвиенко А.Д. 332

Характеристика антибиотикоустойчивости нетоксигенных холерных вибрионов Эль Тор, изолированных из водных объектов на территории Российской Федерации и в Ростовской области.....337
Селянская Н.А., Дегтярева О.Н. 337

Лабораторное исследование хозяйственно-бытовых сточных вод эпидемически значимых объектов в период проведения Всемирного фестиваля молодежи в 2024 г. (г. Сочи)
Сокиркина Е.Н., Кузнецова Д.А., Ежова М.И., Евтеев А.В., Заикина И.Н., Сирица Ю.В. 341

MLVA-25 генотипы штаммов *Yersinia pestis* филогенетической линии 4.Ant из тувинского горного и смежных очагов чумы
Станковцева Е.В., Оглодин Е.Г., Ерошенко Г.А......346

Метаболический скрининг слюны как новый подход к профилактике ковидассоциированных осложнений
Телесманич Н.Р., Микашинович З.И., Смирнова О.Б., Киракосян А.С.....349

Молекулярно-генетический анализ штаммов *Borrelia affzelii*, выделенных на территориях Ростовской области, ДНР и ЛНР в 2021–2023 годах
Темякова С.Ю., Водопьянов А.С., Писанов Р.В. 354

Сохранение холерных вибрионов в микрокосмах в условиях эксперимента
Титова С.В., Меньшикова Е.А., Водопьянов С.О., Селянская Н.А., Олейников И.П., Герасименко А.А......358

Особенности соблюдения требований биологической безопасности при проведении диагностических исследований возбудителя холеры в лабораториях различного уровня
Тюрин Е.А., Благодатских С.А., Лебедькова А.А., Храмов М.В. 365

Оценка профилактической эффективности холерных бактериофагов на модели белых мышей
Тюрина А.В., Погожова М.П., Филиппенко А.В., Омельченко Н.Д., Иванова И.А. 371

Особенности структуры генов хитинолитического комплекса в геномах нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae*
Федотова И.С., Миронова Л.В. 376

Применение криопротекторов для стабильности медицинского изделия для диагностики *in vitro* «сыворотка диагностическая холерная неО1 группы О139 адсорбированная кроличья для реакции агглютинации на стекле»
Феськова А.С., Кириллова Т.Ю., Овчинникова М.В., Шульгина И.В., Лобовикова О.А., Комиссаров А.В., Савенкова А.А., Галетова С.С......381

Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Vibrio parahaemolyticus*, выделенных в Приморском крае
Хунхеева Ж.Ю., Фортунатова А.В., Эрдынеев С.В., Басов Е.А., Миронова Л.В. 385

Изучение молекулярно-генетических свойств коллекционных штаммов *V. alginolyticus* и *V. diabolicus*
Цырулина О.А., Чемисова О.С., Водопьянов А.С.....390

Опыт исследования микробиоценоза кишечника на модели искусственного желудочно-кишечного тракта
Чемисова О.С., Березинская И.С., Дробот Г.Ю., Ермаков А.М. 396

Новые питательные среды для выделения, идентификации и дифференциации парагемолитических вибрионов
Чемисова О.С., Мазрухо А.Б., Харабаджахян Г.Д., Савельева И.К., Цырулина О.А., Сагакянц М.М., Рыкова В.А., Каминский Д.И., Соков Д.В., Ульрих Е.П......402

Выявление генов токсин-корегулируемых пилей адгезии *Vibrio cholerae* методом изотермической петлевой амплификации (LAMP)
Чемисова О.С., Цырулина О.А., Трухачев А.Л., Агафонова В.В......405

Везикулы геновариантов *Vibrio cholerae* O1 El Tor и их функциональные свойства
Якушева О.А., Алексеева Л.П., Евдокимова В.В., Мелоян М.Г. 409

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ, МИКРОБИОЛОГИИ, ДИАГНОСТИКИ И ПРОФИЛАКТИКИ ХОЛЕРЫ И ДРУГИХ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ
Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора
(7–8 ноября 2024 года, г. Ростов-на-Дону)

Ответственный за выпуск *Я.С. Лавелин*
Компьютерная верстка *И.А. Елисеев*
Обложка *Е. Максименко*

Подписано в печать 30.09.2024.
Формат 60×84 $^{1}/_{16}$. Бумага офсетная.
Гарнитура NewtonC. Печать офсетная.
Тираж 500 экз. Заказ №

ООО «Мини Тайп»
344002, г. Ростов-на-Дону, Серафимовича 53/60
тел. (опт.) (863) 282-63-63, 299-91-97 www.bbook.ru

Отпечатано в АО «Т8 Издательские Технологии»
109316, Москва, Волгоградский пр., д. 42, корп. 5.
Тел.: 8 (499) 322-38-30.