

**БРУЦЕЛЛЁЗ.
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ**

*Под редакцией
академика РАН Г.Г. Онищенко,
член-корр. РАН А.Н. Куличенко*

2019

УДК 616.993
ББК 55.949.17
Б-89

Рецензенты:

И.А. Дятлов, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор;
Н.Д. Ющук, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор.

Бруцеллёз. Современное состояние проблемы / под ред. Г.Г. Онищенко,
А.Н. Куличенко. - Ставрополь: ООО «Губерния», 2019. - 336 с.

Монография отражает современное состояние проблемы бруцеллёза в Российской Федерации и за рубежом. Представлены данные о распространенности бруцеллёзной инфекции, изложены исторические аспекты изучения бруцеллёза в мире и в России, приведена современная классификация возбудителей бруцеллёза, подробно рассмотрены последние данные по микробиологии бруцелл, их эволюции, генетическом разнообразии, филогенетических связях. В работе дана обоснованная оценка современной эпидемиологической ситуации по бруцеллёзу в Российской Федерации, проанализированы проблемы организации эпидемиологического надзора за бруцеллёзом, подходы к проведению организационных и противозидемических мероприятий, в том числе основанные на использовании современных информационных технологий, а также законодательные аспекты

Обобщена новая информация, касающаяся иммунологических аспектов патогенеза бруцеллёзной инфекции - механизмов внутриклеточной персистенции и взаимодействия бруцелл с клетками хозяина на уровне различных звеньев врожденного и адаптивного иммунитета. Изложены современные принципы клинической и лабораторной диагностики бруцеллёза, обобщены и представлены последние достижения в области лечения и профилактики инфекции. Особое внимание уделено перспективам разработки новых современных бруцеллёзных вакцин.

Монография рассчитана на широкий круг специалистов учреждений здравоохранения и науки: эпидемиологов, бактериологов, инфекционистов, терапевтов, зоологов, организаторов здравоохранения, научных работников.

DOI

ISBN 978-5-6041215-6-6

© ФКУЗ Ставропольский противочумный институт, 2019

© Оформление ООО «Губерния», 2019

Авторы:

Г.Г. Онищенко (Российская академия наук);

А.Н. Куличенко, О.В. Малецкая, Д.Г. Пономаренко, Е.А. Манин,
Д.А. Ковалев, Д.В. Русанова, Н.С. Саркисян, Т.В. Таран, Е.Л. Ракитина
(ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора);

Н.А. Осина, Ж.А. Касьян, И.А. Касьян, С.А. Щербакова
(ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора);

Ю.К. Кулаков (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России);

В.В. Михайлова, Е.П. Ляпина, А.А. Шульдяков, Д.Ю. Лёвин
(ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России)

**BRUCELLOSIS.
CURRENT STATE OF THE PROBLEM**

*Edited by
Academician of the RAS G.G. Onishchenko
Corresponding Member RAS A.N. Kulichenko*

2019

UDC 616.993
BBK 55.949.17
B-89

Reviewers:

I.A. Dyatlov, Academician of the RAS, Ph.D. in Medicine, Professor;
N.D. Yushchuk, Academician of the RAS, Ph.D. in Medicine, Professor.

Brucellosis. The current state of the problem / Edited by G.G. Onishchenko,
A.N. Kulichenko. - Stavropol: OOO «Gubernia», 2019. - 336 p.

The monograph reflects the current state of the problem brucellosis in the world and in Russian Federation. Data on the prevalence of brucellosis infection are presented, historical aspects of studying brucellosis in the world and in Russia are presented, a modern classification of pathogens brucellosis is given, the latest data on the microbiology of brucella, their evolution, genetic diversity, phylogenetic relationships are examined in detail. The work provides a reasonable assessment of the current epidemiological situation of brucellosis in the Russian Federation analyzes the problems of organizing epidemiological surveillance of brucellosis, approaches to organizational and anti-epidemic measures, including those based on the use of modern information technologies, as well as legislative aspects

New information is summarized regarding the immunological aspects of the pathogenesis of brucellosis infection - mechanisms of intracellular persistence and the interaction of brucella with host cells at the level of various links of innate and adaptive immunity. The modern principles of the clinical and laboratory diagnosis of brucellosis are stated, the latest advances in the treatment and prevention of infection are summarized and presented. Particular attention is paid to the prospects of developing new modern brucellosis vaccines.

The monograph is designed for a wide range of specialists from healthcare and science institutions: epidemiologists, bacteriologists, infectious disease specialists, therapists, zoologists, healthcare organizers, and scientists.

DOI

ISBN 978-5-6041215-6-6

© Stavropol Plague Control Research
Institute, 2019

© Execution company «Guberniya», 2019

Authors:

G.G. Onishchenko (Russian Academy of Sciences);

A.N. Kulichenko, O.V. Maletskaya, D.G. Ponomarenko, E.A. Manin,
D.A. Kovalev, D.V. Rusanova, N.S. Sarkisyan, T.V. Taran, E.L. Rakitina
(Stavropol Plague Control Research Institute);

N.A. Osina, J.A. Kasyan, I.A. Kasyan, S.A. Shcherbakova
(Russian Plague Control Research Institute «Microbe»);

Yu.K. Kulakov (Federal Research Center for Epidemiology
and Microbiology named after N.F. Gamaleya);

V.V. Mikhailova, E.P. Lyapina, A.A. Shuldyakov, D.Yu. Levin
(Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky)

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
Перечень сокращений и обозначений	9
ВВЕДЕНИЕ	11
ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ БРУЦЕЛЛЁЗА, ВКЛАД ОТЕЧЕСТВЕННЫХ УЧЁНЫХ	15
МИКРОБИОЛОГИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ БРУЦЕЛЛЁЗА	25
Морфология бруцелл	26
Культуральные свойства бруцелл	27
Антигенная структура бруцелл	28
Дифференциальные свойства видов бруцелл	32
Биохимическая и метаболическая активность бруцелл	35
Изменчивость бруцелл (R-, L-формы)	36
Характеристика генома возбудителя бруцеллёза	40
Структурная характеристика пангенома возбудителя бруцеллёза	40
Межвидовые и биоварные особенности структуры генома бруцелл	44
Функциональная характеристика генома бруцелл	52
Структура и функции островов патогенности в геноме бруцелл	54
Генетические детерминанты аттенуации вирулентных штаммов возбудителя бруцеллёза	64
Гипотезы эволюции генома бруцелл	65
Распространение бруцеллёза в мире	83
Бруцеллёз в Российской Федерации	108
ЭПИДЕМИОЛОГИЯ БРУЦЕЛЛЁЗА	134
Основные резервуары и источники инфекции	134
Резервуары и источники инфекции в природе	137
Механизм заражения бруцеллёзом. Пути и факторы передачи возбудителя	147

Восприимчивость и иммунитет	148
Эпидемиологический надзор за бруцеллёзом. Основные направления совершенствования эпиднадзора	156
Современные аспекты патогенеза бруцеллёзной инфекции, персистенции и взаимодействия бруцелл с макроорганизмом	162
Патогенез бруцеллёза	162
Механизмы персистенции возбудителя бруцеллёза и взаимодействия бруцелл с макроорганизмом	190
Клиника и лечение бруцеллёза	207
Клиника бруцеллёза	207
Лечение больных бруцеллёзом	220
Лабораторная диагностика бруцеллёза у людей	241
Бактериологический и биологический методы	241
Иммунологические методы	243
Молекулярно-генетические методы	253
Профилактика бруцеллёза	281
Противоэпидемические (профилактические) мероприятия (неспецифическая профилактика)	283
Специфическая профилактика	300
Заключение	328

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

APC	-	антигенпрезентирующие клетки
BCV	-	Brucella containing vacuole - содержащая бруцеллы вакуоль
IFN-gamma, IFN γ	-	интерферон гамма
Ig	-	иммуноглобулин
IL	-	интерлейкин
NLR	-	Nod-подобный рецептор
PAMP	-	Pathogen Associated Molecular Pattern - патогенассоциированные молекулярные паттерны
PRR	-	паттерн распознающий рецептор
TGFB1	-	трансформирующий ростовой фактор бета 1
Th1	-	T-хелперы 1
TLR	-	Toll-подобный рецептор
TSS4	-	система секреции IV типа
АО	-	автономный округ
АСТ	-	аспартатаминотрансфераза
ДВ	-	дистиллированная вода
ИП	-	средний многолетний интенсивный показатель заболеваемости на 100 тыс. населения
ИФА, ELISA	-	иммуноферментный анализ
КРС	-	крупный рогатый скот
КФК МВ	-	креатинфосфокиназа-МВ (индекс)
ЛДГ	-	лактатдегидрогеназа
ЛПС, LPS	-	липополисахарид
м.к.	-	микробные клетки
мес.	-	месяц
МРС	-	мелкий рогатый скот
МФС	-	моноцитарно-фагоцитарная система
ОБ	-	острый бруцеллёз
ОДА	-	опорно-двигательный аппарат
ООН	-	Организация Объединённых Наций
п.н.	-	пар нуклеотидов

ПНС	- периферическая нервная система
ПС	- полисахарид
ПФО	- Приволжский федеральный округ
РА	- реакция агглютинации
РД	- Республика Дагестан
РК	- Республика Калмыкия
РК	- реакция кольцепреципитации
РПГА	- реакция пассивной гемагглютинации
рРНК	- рибосомная РНК
РСК	- реакция связывания комплемента
СЗФО	- Северо-Западный федеральный округ
СИЗ	- средства индивидуальной защиты
СК	- Ставропольский край
СКФО	- Северо-Кавказский федеральный округ
СНГ	- Содружество Независимых Государств
ССС	- сердечно-сосудистая система
СФО	- Сибирский федеральный округ
т.п.н.	- тысяч пар нуклеотидов
тыс	- тысяча
ТДЗ АОС	- тиолдисульфидное звено антиоксидантной системы
УФО	- Уральский федеральный округ
ФНО	- фактор некроза опухолей
ХАБ	- хронический активный бруцеллёз
ХБ	- хронический бруцеллёз
ХНБ	- хронический неактивный бруцеллёз
ЦНС	- центральная нервная система
ЦФО	- Центральный федеральный округ
ЭР	- эндоплазматический ретикулум
ЮФО	- Южный федеральный округ

ВВЕДЕНИЕ

Более 160 лет назад, описывая неизвестную болезнь, хирург ВМФ Британии Джеффри Аллен Мерстон указывал на её клинические признаки: рецидивирующая, изнуряющая лихорадка ремиттирующего типа, прогрессирующая анемия, отёки в области суставов, обильное потоотделение, явления пояснично-крестцового радикулита и другие системные патологические процессы. Так бруцеллёз, или в то время «мальтийская лихорадка», был выделен в качестве самостоятельной нозологической формы. Знаковыми событиями в изучении бруцеллёза, окончательно закрепившими положение о нозологической самостоятельности этого заболевания, стали открытие *D. Bruce* (1886) возбудителя (*Micrococcus melitensis*) и установление греческим врачом *T. Zammit* (1904-1907) источника и факторов передачи инфекции.

Дальнейшее систематическое изучение бруцеллёза привело к постепенному раскрытию особенностей микробиологии, разработке систематики и классификации возбудителя, выявлению эпизоотолого-эпидемиологических и клиничко-патогенетических закономерностей этой опасной инфекции. После многолетних наблюдений и анализа данных большого количества отечественных и зарубежных исследователей сформировалось определённое понятие о бруцеллёзе как об инфекционном заболевании, возбудителем которого могут быть несколько видов бруцелл, а источником инфекции - сельскохозяйственные, домашние и дикие животные.

Бруцеллы могут инфицировать множество наземных и водных млекопитающих, включая коз, овец, крупный рогатый скот (КРС), свиней, собак, северных оленей, кабанов, кошек, дельфинов, китов, тюленей, пустынных и лесных мелких млекопитающих, представителей земноводных, морских рыб и др. Обстоятельства, определяющие у бруцелл предпочтения биологических хозяев, могут быть уточнены в перспективе при углубленном исследовании генов, регулирующих хозяин-специфическую адаптацию.

Из-за высокой геномной гомологии среди типичных видов бруцелл в 1980-х годах предполагалось, что бруцелла является моновидовым родом - *Brucella melitensis*, который имеет шесть биоваров, различающихся по распространённости среди естественных хозяев. Внедрение в практику инструментов молекулярно-биологического генотипирования позволило уточнить (усовершенствовать) номенклатуру *Brucella* spp., различные виды бруцелл были переименованы, например, *B. abortus* ранее классифицировался как *B. melitensis* biovar abortus. К настоящему времени род бруцелл представлен 12 видами. Многообразие видового состава *Brucella* spp. создает пестроту в клиничко-патогенетическом проявлении инфекции, иммуногенезе и исходе заболевания. Особенности видового пейзажа бруцелл, циркулирующих на определенной территории неблагоприятных регионов, накладывают опреде-

ленный отпечаток на эпизоотологические и эпидемиологические закономерности функционирования различных очагов бруцеллёза.

Бруцеллёз - убиквитарная инфекция. Мировое распространение бруцеллёза от Заполярья до Новой Зеландии и Огненной Земли свидетельствует о широких приспособительных возможностях возбудителя. Вряд ли можно назвать другое заболевание с таким широким распространением по всем континентам, особенно в странах Средиземноморья, Восточной Европы, Южной и Центральной Америки, Африки, Центральной и Южной Азии, Кавказа, Аравийского полуострова, Ближнего Востока. В этих регионах бруцеллёз встречается в основном у КРС, овец и коз, а также у диких свиней, бизонов, лосей, зайцев. По самым скромным подсчётам более 300 миллионов из 1,4 миллиарда поголовья КРС в мире заражены возбудителем бруцеллёза. Хроническое, чаще бессимптомное и длительное течение бруцеллёзной инфекции у животных делает её трудно диагностируемой. Устойчивость к факторам внешней среды и исключительная пластичность возбудителя, при наличии достаточно относительного постинфекционного иммунитета, определяют всю сложность борьбы с инфекцией.

Заболевание людей бруцеллёзом является следствием вовлечения их в эпизоотический процесс. По мнению Б.Л. Черкасского (1988), использовать термин «эпидемический процесс» в отношении бруцеллёза можно лишь в случае его более широкой трактовки, имея при этом в виду процесс возникновения и распространения среди людей заболевания, обусловленного заражением человека от больного животного. Основная роль в поддержании возбудителя в природе принадлежит эпизоотическому процессу, в частности среди КРС и мелкого рогатого скота (МРС).

Вместе с тем при бруцеллёзе, как и при антропонозах, налицо взаимодействие всех обязательных звеньев эпидемического процесса - источника инфекции, путей передачи возбудителя и восприимчивого организма. Инфицирование человека обычно происходит в результате прямого контакта с выделениями, кровью инфицированных животных, употребления не обеззараженных продуктов животного происхождения (молоко, мясо и продукты на их основе). Практически ежегодно в мире регистрируются случаи инфицирования людей бруцеллёзом в лабораторных условиях при работе с культурами бруцелл и биоматериалом, контаминированным возбудителем.

Несмотря на определенные успехи в борьбе с бруцеллёзом, особенно в Австралии, Новой Зеландии, Японии, в ряде стран Западной, Центральной Европы и Северной Америки, заболеваемость людей в мире остается значительной, что отражает неблагоприятную эпизоотологическую ситуацию, особенно в регионах развитого животноводства. В эпоху активного международного туризма бруцеллёз стал распространенным завозным заболеванием в развитых странах.

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодно более чем в 170 странах мира регистрируется свыше 500 000 случаев впервые выявленного бруцеллёза, из которых больше половины - среди населения стран Восточного Средиземноморья и Ближнего Востока. В неблагоприятных по бруцеллёзу регионах реальная заболеваемость может быть от 10 до 25 раз больше официально регистрируемой. На эндемичных по бруцеллёзу территориях, где бруцеллёз - глубоко укоренившаяся проблема, инфекция имеет глобальные, далеко идущие негативные последствия для здравоохранения и экономики государств.

К одной из актуальных проблем борьбы с бруцеллёзной инфекцией, предупреждения эпизоотий и, соответственно, минимизации эпидемиологических рисков относится разработка более безопасных и эффективных вакцин. В последние десятилетия в мире активно проводятся исследования в этом направлении. В качестве наиболее перспективных рассматриваются кандидатные препараты бруцеллёзных вакцин на основе генно-инженерных аттенуированных штаммов, ДНК, вирусных и бактериальных векторов, субъединичных иммунодоминантных белков.

Проблема создания безопасной и эффективной вакцины против бруцеллёза для иммунизации людей ещё достаточно далека от своего решения. По мнению исследователей, наиболее оптимальный вакцинный препарат для профилактики бруцеллёза должен отвечать нескольким минимальным требованиям: генерировать мощный ответ клеточного иммунитета, минимизировать синтез агглютининов, мешающих дифференциальной серодиагностике бруцеллёза, используемый вакцинный штамм должен быть безопасен для человека и животных, не вызывать антительный ответ при применении бустеров, не реверсировать в вирулентное состояние *in vivo* или *in vitro*, быть доступным для массового применения.

Бруцеллёз на современном этапе рассматривается специалистами как один из наиболее опасных зоонозов. В современных реалиях при глобальном распространении бруцеллёза среди животных не исключается потенциальная возможность заболевания людей ни для одной из стран мира ввиду наличия источника инфекции на данной или граничащей с ней территории. Необходимо принимать во внимание, что официальные данные далеко не исчерпывают сведения о поражённости животных, особенно об интенсивности проявлений этой инфекции у отдельных видов скота. В некоторых странах, где, по официальным сведениям, бруцеллёз является редким заболеванием, углубленное эпизоотологическое обследование выявляет высокую поражённость животных, а при эпидемиологическом обследовании обнаруживаются заболевания людей. По данным ВОЗ, в развитых странах диагностируется лишь 10 % бруцеллёза, тогда как в развивающихся, вероятно, не более 1 % случаев.

Активная международная реализация животных, продуктов и сырья животного происхождения из стран, эндемичных по бруцеллёзу,

может быть причиной существенных экономических потерь, обусловленных распространением бруцеллёзной инфекции среди восприимчивого поголовья, возникновения групповых вспышек бруцеллёза среди населения. Хронические формы бруцеллёза у людей нередко приводят к длительной утрате трудоспособности и инвалидности. Потери в продуктивности животноводства ставят под угрозу развитие производства и продовольственную безопасность стран.

Во многих странах мира разработаны и часто с успехом реализуются государственные программы по предупреждению и ликвидации бруцеллёза. Совершенствуется система мониторинга инфекции на основе внедрения научно обоснованных современных геоинформационных технологий, рискологических моделей, знаний о генномолекулярном профиле бруцелл, циркулирующих на отдельных территориях. Одними из основных препятствий для успешной реализации комплексных программ по профилактике и искоренению бруцеллёза, особенно в развивающихся странах, являются низкая культура ведения животноводства, несоблюдение ветеринарных требований при приобретении, реализации и содержании животных, несанкционированное перемещение больного скота, слабая техническая и экономическая база животноводческих хозяйств, низкая мотивация владельцев животных в проведении профилактических и противобруцеллёзных мероприятий, низкий уровень ответственности владельцев животных, несовершенство системы страхования скота (компенсации).

В монографии представлены современные научно-практические материалы в области учения о бруцеллёзе, освещены все сложности многогранной проблемы профилактики бруцеллёзной инфекции и её искоренения в популяции животных. Авторы надеются, что книга принесёт пользу специалистам научно-исследовательских и практических учреждений.

ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ БРУЦЕЛЛЁЗА, ВКЛАД ОТЕЧЕСТВЕННЫХ УЧЁНЫХ

Бруцеллёзная инфекция известна с давнего времени. Так, описание клиники заболевания людей встречается более 2000 лет назад у Гиппократов [7]. Позже болезнь неоднократно описывалась рядом авторов на протяжении XVII-XVIII столетий под разными названиями. Более современная история изучения бруцеллёза начинается со второй половины XIX столетия, она в основном связана с районом Средиземного моря, на побережье и островах которого рассеяны многочисленные очаги этой инфекции. В прошлом это обстоятельство нашло отображение и в соответствующих «географических» названиях болезни: средиземноморская лихорадка, мальтийская лихорадка, гибралтарская лихорадка, критская лихорадка, неаполитанская лихорадка. В этом периоде (1860-1907) история изучения болезни теснейшим образом связана с английскими исследователями на острове Мальта [2, 7, 8]. В 1861 г. J.A. Marston дифференцировал бруцеллёз у людей как самостоятельную клиническую единицу [8].

Историческим этапом в учении о бруцеллёзе является 1886 г., когда английский исследователь D. Bruce открыл на острове Мальта возбудителя инфекции, микроскопически обнаружив его в препаратах из селезёнки солдата, погибшего от мальтийской лихорадки [4]. В 1887 г. D. Bruce удалось выделить возбудителя в чистой культуре. Позднее D. Bruce путём экспериментального заражения обезьян чистой культурой выделенного микроорганизма вызвал у этих животных заболевание, по клинической картине сходное с заболеванием человека [3]. Вновь открытый микроб, получивший название *Micrococcus melitensis* (мальтийский микрококк), был первым представителем позднее дифференцированной группы бактерий, названной в честь автора Bruce - «*Brucella*».

Через 10 лет после выделения Д. Брюсом возбудителя два английских исследователя - A. Wright и D. Semple (1897) [11] - установили, что сыворотка больных мальтийской лихорадкой обладает способностью специфически агглютинировать культуры мальтийского микрококка. Эти находки легли в основу современной серодиагностики бруцеллёза с помощью реакции агглютинации, получившей название реакции Райта, которая до настоящего времени сохраняет значение основного лабораторного метода при распознавании бруцеллёзной инфекции у людей и животных.

В 1897 г. датские исследователи Б. Банг и В. Стрибольд установили, что одной из причин абортов коров является инфекция, вызываемая особым микроорганизмом, которого этим учёным удалось выделить [2]. Они назвали его бактерией аборта коров. Вскоре стало известно, что от больных животных могут заражаться и люди. Заболевание, наблюдаемое у людей, основными проявлениями которого являются длительная лихорадка, поражение мышечно-суставной системы, получило название болезни Банга.

В 1914 г. ветеринарный специалист Д. Траум [10], работавший

в США, выделил возбудителя инфекционного аборта свиней (*Bact. abortus suis*). В дальнейшем появились сообщения и о заболеваниях людей, вызываемых бактерией свиного аборта.

Таким образом, за 30-летний период учеными разных стран, работавшими на различных территориях независимо друг от друга, были описаны возбудители трёх инфекций, которые первоначально рассматривались как не связанные друг с другом заболевания. Долгое время мальтийская лихорадка у людей и массовые аборты у домашних животных считались самостоятельными заболеваниями. В 1918-1920 гг. американские учёные А. Evans [5], М. Fusier [6], К. Meyer [9], проведя сравнительное изучение мальтийского микрококка, бактерии аборта коров и бактерии аборта свиней, обнаружили их чрезвычайную близость как по строению микробных клеток, так и по биохимическим свойствам, и по структуре антигенов. Эти исследования явились основанием для объединения указанных возбудителей в одну родовую группу под наименованием *Brucella*, а вызываемые ими заболевания именовать бруцеллёзом.

Значительный вклад в изучение бруцеллёзной инфекции, борьбу с бруцеллёзом и разработку вакцинопрофилактики внесли отечественные учёные. Систематическое изучение проблемы бруцеллёза в Советском Союзе связано с научными работами Павла Феликсовича Здродовского (1890-1976), возглавившего научные исследования по бруцеллёзу в созданной им в 1932 г. специальной лаборатории в Институте экспериментальной медицины в Ленинграде (рисунок 1), затем лаборатории бруцеллёза Всесоюзного института экспериментальной медицины (ВИЭМ) в г. Москве, далее - в Институте эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи.

В 1922 г. в Азербайджане он впервые выявил очаг бруцеллёза среди людей - 6 случаев [18]. В 1928 г. на XI Всесоюзном съезде бактериологов, эпидемиологов и санитарных врачей П.Ф. Здродовский докладывал уже о 207 случаях бруцеллёза людей, роли овец и коз как источника инфекции для людей и широком распространении бруцеллёза на территории СССР. Было выяснено, что бруцеллёз является эндемическим заболеванием и распространяется не только на южные и юго-восточные районы Советского Союза, а захватывает также и некоторые районы северной полосы.

Под руководством будущих академиков АМН СССР П.Ф. Здродовского и П.А. Вершиловой в специализированной лаборатории началось системное научное изучение бруцеллёзной инфекции [19]. П.Ф. Здродовский проявил себя блестящим организатором и руководителем масштабной экспедиции, которая работала с мая 1933 по май 1936 гг. на Северном Кавказе в племенном овцеводческом хозяйстве, неблагополучном по бруцеллёзу. В ходе работы экспедиции впервые экспериментально был изучен патогенез бруцеллёза у овец, выяснены пути инфицирования, длительность персистенции возбудителя в организме овцы

и чувствительность овец к разным видам возбудителя. Полученные в ходе экспедиции данные открыли понимание эпизоотического процесса при овечьем бруцеллёзе как источника инфекции для человека. Было доказано, что распространение бруцеллёза среди людей соответствует зонам распространения его среди домашних животных - рогатого скота и свиней. При этом зоны распространения спорадического бруцеллёза типа болезни Банга соответствуют районам, где по преимуществу концентрируется крупное животноводство и свиноводство. Напротив, зоны эпидемического бруцеллёза типа мальтийской лихорадки совпадают с районами преимущественного распространения козоводства и овцеводства. В отличие от прежних представлений, когда мальтийская лихорадка относилась к тропическим болезням, было установлено, что очаги эпидемического бруцеллёза могут возникать в любой из северных широт при наличии там животных, болеющих бруцеллёзом.

Первые опыты по иммунизации овец против бруцеллёза убитыми и живыми культурами ослабленной вирулентности определили пути дальнейших исследований по вакцинопрофилактике бруцеллёза [17]. Малоэффективные результаты были получены в многочисленных опытах при иммунизации животных с помощью различных убитых вакцин [11, 13, 16].

В 40-60-х гг. XX века экспериментальное изучение способности возбудителя бруцеллёза персистировать во внутренних органах животных показало связь персистенции с особенностями приобретённого иммунитета, была доказана возможность миграции *B. melitensis* на крупный рогатый скот и других животных [11, 12]. На основе анализа результатов многочисленных экспериментов под руководством П.А. Вершиловой в лаборатории бруцеллёза в 1947 г. была предложена живая бруцеллёзная вакцина из штамма *B. abortus* 19-ВА для испытания на людях в очагах козье-овечьего бруцеллёза (рисунок 2). С 1952 г. эта вакцина была внедрена в масштабное (до 5 млн. доз) производство в Институте эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, установлена её низкая реактогенность и высокая эпидемиологическая эффективность, заболеваемость снизилась в 3-25 раз среди различных контингентов риска [11, 14].

В послевоенные годы на юге европейской части России вновь сформированные хозяйства МРС и КРС в подавляющем большинстве случаев были неблагополучными по бруцеллёзу, так как массовые перемещения скота, скопление его на территориях, неблагополучных по бруцеллёзу, приводили к быстрому распространению инфекции среди здоровых животных и групповой заболеваемости людей. Внедрение вакцинопрофилактики бруцеллёза у людей в конце 40-х годов не привело к ожидаемым результатам. Радикальный метод борьбы с бруцеллёзом - забой больных животных - в этот период был неприемлем, так как поголовье больных бруцеллёзом животных составляло до 30 %.

Для решения проблемы борьбы с бруцеллёзом на юге России

были привлечены научные кадры созданного в 1952 г. научно-исследовательского противочумного института Кавказа и Закавказья. С этой целью была организована лаборатория бруцеллёза под руководством А.М. Поляковой. Большая заслуга в организации научно-исследовательских работ в этой области принадлежала директору института В.Н. Тер-Вартанову и профессору М.П. Покровской, которые чётко понимали, что решение проблемы борьбы с бруцеллёзом требует совместных усилий научных работников, ветеринарных и медицинских специалистов. В разработке основных направлений борьбы с бруцеллёзом в Ставропольском крае участвовали академик АМН СССР П.А. Вершилова, профессор Х.С. Котлярова, начальник Ставропольского краевого управления сельского хозяйства В.Т. Чумаков, ведущие ветеринарные специалисты края и работники краевой санэпидстанции. Творческое сотрудничество специалистов противочумного института с учёными Всесоюзного научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи АМН СССР позволило развернуть исследования по применению штамма *B. abortus* 19 для вакцинации животных (рисунок 3, 4).

В 1960-х гг. группой исследователей во главе с И.Ф. Тараном в противочумном институте Кавказа и Закавказья было проведено сравнительное изучение остаточной вирулентности вакцин на основе штаммов бруцелл: *B. melitensis* Rev-1, *B. abortus* 104-М, *B. abortus* 19 и *B. suis* 61 на моделях четырех видов животных (овцы, морские свинки, белые мыши и белые крысы). Была доказана зависимость остаточной вирулентности (персистенции возбудителя в органах животных) с напряженностью поствакцинального иммунитета [15, 20, 23, 24]. Высокая иммуногенность и безопасность штамма *B. abortus* 104-М была подтверждена в опытах на овцах (даже для суягных овец). Наряду с этим для людей, отличающихся более выраженной реактивностью и малым диапазоном допустимых доз, по показателю безопасности использования эта вакцина оказалась непригодна [21, 22, 25].

За 35 лет (1922-1957) российские ученые, проделав огромную исследовательскую работу, заняли вполне самостоятельную позицию в современном учении о бруцеллёзе, разрешили ряд новых, принципиальных вопросов.

Начиная с 1957 г., заболеваемость людей овечьим бруцеллёзом на юге России существенно снизилась, эпизоотическая и эпидемическая обстановка по бруцеллёзу в регионе Кавказа относительно стабилизировалась. Перед учёными стояли задачи углублённого изучения эпизоотологии, эпидемиологии, иммунологии и микробиологии бруцеллёза. Исследования по этим направлениям возглавил И.Ф. Таран.

Были изучены эпизоотолого-эпидемиологические особенности бруцеллёза в регионе Кавказа и Закавказья, особенности па-

тогенеза бруцеллёзной инфекции у экспериментальных животных, особенности метаболизма бруцелл, антигенная структура возбудителей бруцеллёза, явления бактериофагии, L-трансформации, бактериоциногенности у бруцелл и другие биомедицинские аспекты бруцеллёзной инфекции, обоснована таксономия бруцелл, разработаны технология изготовления бруцеллёзных диагностических препаратов, методы и схемы лечения экспериментальной бруцеллёзной инфекции современными антибактериальными и иммуномодулирующими препаратами [24].

В период 40-80-х гг. отечественными учёными были изучены закономерности и сроки персистенции вирулентных и вакцинных штаммов бруцелл *in vivo* на разных биомоделях, определены положения инфекционного и стерильного иммунитета, доказана главенствующая роль клеточных механизмов иммунитета в развитии и персистенции бруцеллёзной инфекции. Эти фундаментальные научные основы способствовали развитию в стране вакцинопрофилактики бруцеллёза сельскохозяйственных животных и позволили получить первую в мире живую вакцину *B. abortus* 19-ВА с высокой эпидемиологической эффективностью, используемую до настоящего времени в России для профилактики людей против самого опасного козье-овечьего бруцеллёза [26, 27].



Рисунок 1. П.Ф. Здродовский в рабочем кабинете Института экспериментальной медицины, Ленинград, 1934 г.

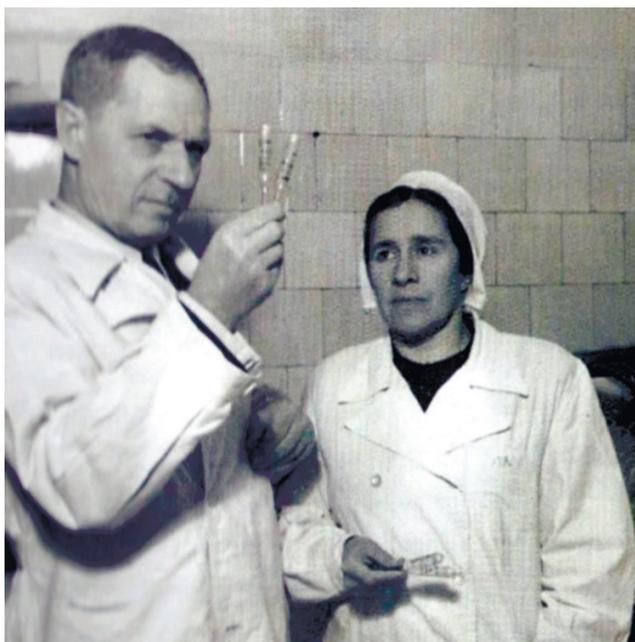


Рисунок 2. П.Ф. Здродовский и П.А. Вершилова осматривают ампулы с живой сухой вакциной против бруцеллёза на основе штамма *B. abortus* 19-ВА, Москва, 1950 г.



Рисунок 3. На фото (слева направо) В.Г. Пилипенко, И.Ф. Таран, Г.В. Шамраева, П.А. Вершилова на Межинститутской конференции по бруцеллёзу, проходившей в научно-исследовательском противочумном институте Кавказа и Закавказья, Ставрополь, 4-6 октября 1971 г.



Рисунок 4. На фото (слева направо) В.А. Проскурина, И.Ф. Таран, П.А. Вершилова на Всесоюзной научно-практической конференции по бруцеллёзу, Алма-Ата, 3-5 мая 1978 г.

История становления научной методологии эпиднадзора за бруцеллёзом в СССР

Существующие в настоящее время положения эпидемиологического надзора за бруцеллёзом опираются на огромный научно-методический опыт борьбы с этим зоонозом, представленный в многочисленных трудах академиков АМН СССР П.Ф. Здродовского и П.А. Вершиловой, которые впервые разработали комплексный научный подход к борьбе с проблемой бруцеллёза в стране и внесли огромный вклад в формирование системы эпиднадзора за бруцеллёзом.

П.Ф. Здродовский в книге «Проблема бруцеллёза применительно к патологии человека» и в последующих трудах акцентировал значение работ экспедиции 1933-1936 гг. на Северном Кавказе, на основании которых впервые в мире наметились перспективы по практической профилактике эпидемического бруцеллёза [17, 19]. По его мнению, радикальное разрешение проблемы бруцеллёза в отношении человека неразрывно связано с ликвидацией возбудителя среди животных. В этой связи показательной представляется экспериментальная работа необычного дизайна по оздоровлению бруцеллёзных отар, которая завершила синтез теории с практикой на заключительном этапе работы экспедиции на Северном Кавказе. Был проведён масштабный опыт санации бруцеллёзного стада овец, из

которого осенью 1935 г. по аллергологической методике (с использованием «бруцеллизата ВИЭМ») были выделены: «оздоровленная» отара из 1200 голов, «сомнительная» и «бруцеллёзная» из 2500 и 3145 овец соответственно. Отары были территориально изолированы, искусственно оплодотворены, а в апреле 1936 г. (по истечении сроков abortного периода) результаты показали, что в «оздоровленной» отаре бруцеллёзных abortов нет, а в «сомнительной» и «бруцеллёзной» - 56 и 92 % соответственно [17]. Этот пионерский опыт дал обнадеживающие результаты, впервые в мире доказав реальность выделения здорового поголовья на основе иммунодиагностического отбора, что позволяло решать задачи крупнейшего санитарного и экономического значения. В результате выполненных экспедиционных работ уже в конце 1936 г. в широкую практику была введена аллергологическая диагностика бруцеллёза у овец для ключевого решения задачи оздоровления в стадах и искоренения инфекции. В приложении к монографии были представлены инструкции по диагностике бруцеллёза у людей, овец и карты эпидемиологического обследования среди людей и животных [19]. Ещё в 1934 г. была выпущена первая инструкция, регулирующая порядок проведения противобруцеллёзных мероприятий. Диагностика бруцеллёза строилась на бактериологическом, серологическом и аллергологическом методах.

В 1936 г. по инициативе П.Ф. Здродовского Наркомздрав СССР организовал республиканские и краевые бруцеллёзные станции («станции Здродовского») для организации борьбы с бруцеллёзом в масштабах страны. Через них бруцеллёзная лаборатория ВИЭМ выполняла функцию научно-методического центра по всей стране. Для координации научной и практической работы бруцеллёзных станций ежегодно созывались конференции по бруцеллёзу с участием представителей бруцеллёзных станций, ветеринарных научных учреждений и работников здравоохранения.

В октябре 1958 г. Министерством здравоохранения СССР и Министерством сельского хозяйства по инициативе П.А. Вершиловой была организована межведомственная научно-методическая комиссия по борьбе с бруцеллёзом. В состав первоначальной комиссии вошли известные специалисты противочумных, ветеринарных и военных научно-исследовательских институтов СССР, представители из республиканских министерств (И.Ф. Таран, М.Н. Покровская, Г.П. Руднев, Е.И. Кайтмазова, М.Ф. Шмутер, И.К. Каракулов, Е.С. Орлов, С.М. Смирнов, Н.И. Александров и др.). Председателями были назначены профессор П.А. Вершилова (НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР) и профессор М.М. Иванов (Ветеринарный контрольный институт). Комиссия выполняла функцию координирующего органа, направляющего научно-исследовательскую работу медицинских и ветеринарных институтов в области изучения и разработки мероприятий по снижению заболеваемости и ликвидации бруцеллёза сельскохозяйственных животных и людей. В результате более чем 20-летней работы комиссии была усовершенствована научно обоснованная система мероприятий по

борьбе с бруцеллёзом во взаимодействии работы медицинских и ветеринарных специалистов. В практику здравоохранения были введены новые современные методы лабораторной диагностики и вакцинопрофилактика людей и животных, были ликвидированы многие очаги бруцеллёза МРС и КРС. Комплексные противобруцеллёзные мероприятия способствовали резкому снижению: в 27,6 раза показателя заболеваемости людей по стране (1960 г. - 13,8, а к 1982 г. - 0,5 на 100 000 населения).

Список литературы

1. Bang B. The etiology of epizootic abortion / B. Bang // *J. Comp. Path. Therap.* -1897. - № 10. - P. 125.
2. Bruce D. Malta Fever / D. Bruce // *J. Br. Med.* - 1889. - № 1. - P. 1101-1107.
3. Bruce D. Note on the discovery of a microorganism in Malta Fever / D. Bruce // *Practitioner.* - 1887. - № 29. - P. 161.
4. Evans A.C. Further studies in *Bacterium abortus* and related bacteria. II A comparison of *Bacterium abortus* with *Bacterium bronchosepticus* and with the organism which causes Malta fever / A.C. Evans // *J. Inf. Dis.* - 1918. - № 23. - P. 354.
5. Fusier M.L. Principles in serological grouping of *B. abortus* and *B. melitensis*: correlation between absorption and agglutination tests / M.L. Fusier, K.F. Meyer // *J. Inf. Dis.* -1920. - № 27. - P. 185.
6. Hughes M.L. Mediterranean, Malta or Undulant Fever / M.L. Hughes // Macmillan London. - 1887. - P. 1-166.
7. Marston J.A. Report on fever (Malta). In: Army Medical Department Reports London / J.A. Marston // HMSO - 1861. - Vol. 3. - P. 486-521.
8. Meyer K.F. A comparison of the morphologic, cultural and biochemical characteristics of *B. abortus* and *B. melitensis*: studies on the genus *Brucella* nov. gen I / K.F. Meyer, E.B. Shaw // *J. Inf. Dis.* - 1920. - № 27. - P. 173.
9. Traum J. Report of the Chief of the Bureau of Animal Industry / J. Traum Washington: United States Department of Agriculture. - 1914 (USDA) [Google Scholar].
10. Wright A.E. On the employment of dead bacteria in the serum diagnosis of typhoid and Malta Fever / A.E. Wright, D.Br. Semple // *J. Med.* - 1897. - № 1. - P. 1214.
11. Вершилова П.А. Бруцеллез. - М.: Медицина, 1972. - 439 с.
12. Вершилова П.А. Живая вакцина против бруцеллеза. В кн.: Профилактика инфекций живыми вакцинами. М., 1960, С. 270-302.
13. Вершилова П.А. Опыт иммунизации морских свинок и белых мышей против бруцеллеза авирулентной культурой бруцелл и полисахаридно-липоидным комплексом. ЖМЭИ. - 1947. № 7. - С. 17-23.
14. Вершилова П.А. Сравнительное определение вирулентности вакцинных штаммов *B. abortus* 19-ВА и 104-М, предложенных для иммунизации людей // ЖМЭИ. 1959. - № 11. - С. 41-44.
15. Вершилова П.А., Курдина Д.С. Изучение напряженности перекрестного и типового иммунитета при бруцеллезе // ЖМЭИ. 1963. - № 8. - С. 34-39.
16. Вершилова П.А., Чернышева М. И., Князева Э. Н. Патогенез и иммунология бруцеллеза. Москва: Медицина; 1974. - 271 с.
17. Здродовский П.Ф. Бруцеллез. Труды экспедиции ВИЭМ по изучению овечьего бруцеллеза (1933-1936). Москва: ВИЭМ, 1937. - 455 с.
18. Здродовский П.Ф. К характеристике мальтийской лихорадки в Азербайджане

не // Тр. Азерб. инст. микробиол. и гигиены. 1925. - Т. 2-3, С. 101-122.

19. Здродовский П.Ф. Проблема бруцеллеза применительно к патологии человека. Москва: ВИЭМ; 1936.

20. Таран И.Ф. Итоги изучения иммунологической и эпидемиологической эффективности вакцины из штамма *B. abortus* 104-М / И.Ф. Таран, Е.И. Замахаева, А.М. Полякова, С.В. Абакин // ЖМЭИ. - 1965. - № 8. - С. 99-104.

21. Таран И.Ф. К изучению реактогенности, безвредности и иммунологической эффективности вакцины из штамма *B. abortus* 104-М для людей / И.Ф. Таран, А.М. Полякова, Е.И. Замахаева // Сб. Зоонозы (бруцеллез, лептоспироз и др.). - 1966, С. 87-91.

22. Таран И.Ф. Характеристика иммунитета при накожной вакцинации и ревакцинации вакциной из штамма *B. abortus* 104-М (сообщение 1). Экспериментальное обоснование эффективности накожного метода вакцинации против бруцеллеза вакциной из штамма *B. abortus* 104-М / И.Ф. Таран, А.М. Полякова, М.И. Чернышева // ЖМЭИ. - № 3. - 1963. - С. 21-25.

23. Таран И.Ф. Иммунологическая характеристика и вакцинопрофилактика при бруцеллезе: Автореф. дис. ... д.м.н. - Саратов, 1967. - 35 с.

24. Таран И.Ф. Бруцеллёз (микробиология, иммунология, эпидемиология, профилактика) / И.Ф. Таран, Г.И. Лямкин. - Ставрополь, 1996. - 173 с.

25. Таран И.Ф. Сравнительное изучение вакцинного процесса и напряженности иммунитета у морских свинок, привитых *B. abortus* 19 и 104-М / И.Ф. Таран, Н.М. Неляпин, А.М. Полякова, Е.А. Лунина // ЖМЭИ. - 1964. - № 2. - С. 53-59.

26. Цирельсон Л.Е. Обзор проблем вакцинопрофилактики бруцеллеза / Л.Е. Цирельсон, М.М. Желудков, Ю.К. Кулаков // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. - 2013. - № 3 (70). - С. 78-82.

27. Цирельсон Л.Е. Бруцеллез в России: профессиональные заболевания и трудовой прогноз / Л.Е. Цирельсон, М.М. Желудков // Эпид. инф. бол. - 2011. - № 5. С. 43-47.

МИКРОБИОЛОГИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ БРУЦЕЛЛЁЗА

Согласно современной классификации микроорганизмов, бруцеллы относятся к домену Бактерии (*Bacteria*), типу - Протеобактерии (*Proteobacteria*), классу - Альфа-протеобактерии (*Alphaproteobacteria*), порядку - Ризобиевые (*Rhizobiales*), семейству - *Brucellaceae*, роду - *Brucella* [14, 43].

Род *Brucella* состоит из 12 самостоятельных видов, различающихся по генетическим, биохимическим, антигенным и вирулентным характеристикам: *B. melitensis* представлен 3 биоварами, основной хозяин - мелкий рогатый скот (козы и овцы) [99, 136, 150, 183, 199]; *B. abortus* - 7 биоварами, основной хозяин - крупный рогатый скот [98, 119, 128]; *B. suis* представлен 5 биоварами, носители - свиньи (1, 2, 3 биовары), зайцы - 2 биовар, северные олени - 4 биовар, мышевидные грызуны - 5 биовар [98, 183]; *B. neotomae* (пустынные кустарниковые крысы) [57, 83, 101, 150, 183, 188, 199, 208]; *B. ovis* (бараны) [191]; *B. canis* (собаки) [46, 103, 183, 208]; *B. ceti* (китообразные) [213, 78]; *B. pinnipedialis* (ластоногие) [78, 119]; *B. microti* (серая полевка) [176]; *B. inopinata* (основной хозяин - не установлен) [177]; *B. papionis* (бабуины *Papio* spp.) [210]; *B. vulpis* (обыкновенная рыжая лисица *Vulpes vulpes*) [178].

Некоторые одомашненные и свободно живущие дикие животные могут быть «случайными» хозяевами эпидемиологически значимых видов бруцелл. В ряде стран Ближнего Востока, Африки и Центральной Азии регистрируются случаи бруцеллёза у людей, вызванные *B. abortus* и *B. melitensis*, в которых источником инфекции были верблюды. Регистрировали случаи выделения возбудителей бруцеллёза - *B. suis*, *B. abortus* и *B. canis* от кошек (Южная Америка, Россия, Китай и др.). Возбудитель бруцеллёза *B. melitensis* был выделен от нильского сома (*Clarias gariepinus*) и некоторых видов бесхвостых земноводных. «Морские» виды бруцелл были обнаружены у многих видов морских млекопитающих, а также наземных животных - белые медведи. В экспериментальных условиях удавалось воспроизвести бруцеллёзную инфекцию у различных видов рыб. ДНК возбудителя бруцеллёза выделяли от летучих мышей (*Miniopterus schreibersii*, *Myotis blythii*). Микроорганизмы, идентифицированные как представители рода *Brucella*, были изолированы от хвостолообразных скатов и некоторых морских рыб [162, 174].

Возбудитель бруцеллёза обладает общей, характерной для неспорообразующих бактерий, устойчивостью к воздействию факторов окружающей среды, способен длительное время сохраняться в различных субстратах. Во влажной среде при температуре 55 °С возбудитель бру-

целлѐза погибает через 60 мин, при 60 °С - через 30 мин, при 70 °С - через 10 мин, при кипячении - моментально. Сухой жар (90-95 °С) убивает бруцеллы в течение часа. Под действием солнечного света бруцеллы погибают в сроки от нескольких минут до 7-8 дней в зависимости от интенсивности инсоляции, атмосферных условий и т.д.

В сыром молоке, хранящемся в холодильнике, возбудитель бруцеллѐза сохраняется до 10 дней, в сливочном масле - более 4 недель, в домашнем сыре - до 3 недель, брынзе - до 45 дней, в простокваше, сметане - до 15 дней, в кумысе, шубате (сброженное верблюжье молоко) - до 3 суток, в мясе - до 12 дней, во внутренних органах, костях, мышцах и лимфатических узлах инфицированных туш - более 1 мес., в овечьей шерсти, смушках - до 4 мес. В замороженных инфицированных мясных и молочных продуктах бруцеллы остаются жизнеспособными в течение всего срока хранения. В почве сохраняют жизнеспособность до 100 дней, в воде - до 114 дней.

Возбудитель бруцеллѐза чувствителен к различным дезинфицирующим веществам. Выраженной бактерицидной активностью по отношению к бруцеллам обладают 0,5-3,0 % раствор хлорамина; 3 % раствор перекиси водорода и 1,0-4,0 % формалина, 0,02-0,3 % (по сумме ДВ) растворы дезинфицирующих средств на основе четвертичных аммониевых соединений (ЧАС), триамина и полигексаметиленгуанидина (ПГМГХ).

Морфология бруцелл

Бруцеллы всех видов мало отличаются друг от друга по морфологическим признакам. Это полиморфные бактерии шаровидной, овоидной или палочковидной формы, расположены одиночно, парами, короткими цепочками, небольшими скоплениями. Размеры микробной клетки в среднем составляют 0,3-0,6 мкм для кокковых и 0,5-0,7 × 0,6-1,5 мкм - для палочковидных форм. Бруцеллы спор не образуют, не имеют таких распространенных факторов патогенности как капсула, пили, экзотоксины и токсины, кодируемые профагами, секретлируемые протеазы и цитолизины, а также плазмид [62, 126, 153, 163]. Окрашиваются всеми анилиновыми красителями, грамотрицательны.

У бруцелл описаны и L-формы, которые в ряде случаев выделяются из крови больных, прошедших курс лечения антибиотиками, через 1 мес. и спустя 4-6 мес. после окончания курса антибиотикотерапии, а также больных хронической формой бруцеллѐза в период обострения (особенно при субфебрилитете) перед началом лечения.

По морфологии L-формы бруцелл представляют собой полиморфные клетки в виде шаров, грушевидных и неправильной формы тел от 1 до 6 мкм с цитоплазмой разной оптической плотности с вакуолями

и зернистостью. Зерна-гранулы могут располагаться внутри крупных клеток или находиться в виде свободных зернистых масс. В препарате могут находиться гетероморфные клетки от 0,2 до 0,5 мкм или близкие по морфологии к S-формам бруцелл. Реверсивные формы могут быть в виде коротких палочек, кокков, расположенных поодиночке или парно. В ряде случаев из клеточного детрита, окрашенного по Граму в красный цвет, могут формироваться грамтрицательные или грамположительные сферопласты, палочковидные полиморфные клетки или продолговатые, неровные, палочковидные, полиморфные, плохо очерченные образования [1, 12].

Культуральные свойства бруцелл

Бруцеллы - аэробы или микроаэрофилы, в анаэробных условиях не растут. Они относятся к гетеротрофным микроорганизмам и способны расти на многих питательных средах. Ауксотрофы - при использовании минимальных питательных сред было установлено, что для культивирования возбудителя бруцеллёза необходимо наличие α -аланина, α -лизина, α -гистидина, α -метионина, α -цистеина. Особыми питательными потребностями обладают культуры вида *B. ovis*, для успешного культивирования которых обязательно внесение в состав среды 10 % нормальной кроличьей сыворотки или аминокептида.

Температурный оптимум для роста составляет 36-37 °C; pH 7,0-7,2; хорошо растут на питательных средах с добавлением сыворотки или крови. Особенностью *B. abortus* и *B. ovis* является потребность в повышенном содержании CO₂ (5-10 %) в атмосфере культивирования. Для бруцелл характерен медленный рост, особенно в первых генерациях. На плотных питательных средах колонии бруцелл мелкие, круглые, выпуклые, гомогенные, в падающем свете - белесоватые, в проходящем - прозрачные с янтарным оттенком, иногда с нежной зернистостью в центре, с гладкой поверхностью (S-формы) или шероховатые (R-формы). С возрастом нежные и прозрачные вначале колонии мутнеют, в бульонных средах образуют равномерное помутнение.

Величина колоний может быть различной. Наряду с крупными, достигающими в диаметре 3-4 мм и больше, могут быть очень мелкие - точечные колонии 0,05 - 0,1 мм. Различные факторы (pH питательной среды, влажность, наличие бактериофага в культуре и др.), влияющие на биологию культуры, могут привести также к изменению внешнего вида колоний (встречаются зернистые, стекловидные колонии, растущие в толще агара, эрозированные, сухие, слизистые, радиально очерченные и др.).

L-колонии бруцелл могут быть изолированными или иметь вид нежного сплошного налета, очень слабого наложения, сходного с инеем

на поверхности агара. Колонии диаметром 2-3 мм имеют золотистый цвет, слизистую консистенцию, часто врастают в агар. При просмотре через стереоскопическую лупу L-колонии имеют вид «яичницы» - плотный центр и ажурные светлые края. Начальному росту L-форм бруцелл сопутствуют частичный распад клеток и агрегация освободившегося при этом внутриклеточного вещества. При культивировании на питательных средах отмечаются клетки с утонченной стенкой, представляющиеся в виде «теней» или «чехлов» клеток [1, 12, 71].

Антигенная структура бруцелл

Как у других грамотрицательных бактерий, клеточная стенка бруцелл состоит из внутренней цитоплазматической мембраны, которая окружена пептидогликановым слоем, связанным с наружной мембраной, представляющей собой комплекс фосфолипидов, липополисахаридов и белков наружной мембраны. Пептидогликан бруцелл сходен с таковым у всех грамотрицательных микроорганизмов и включает глюкозамин, мураминую кислоту, аланин, глутаминовую кислоту, диаминопимелиновую кислоту [106].

ЛПС бруцелл представляет собой сложный амфипатический биополимер, имеющий три основные структуры (области строения): липид А, ядро олигосахарид и О-антиген (О-боковой цепи) (рисунок. 5). О-полисахарид *Brucella* гладкого типа (S-ЛПС) представляет собой неразветвленный гомополимер 1,2-связанного 4,6-дидезокси-4-формамидо- α -D-маннопиранозила, обычно со средней длиной цепи от 96 до 100 гликозил субъединиц. О-полисахарид связан с основным олигосахаридом, состоящим из маннозы, глюкозы, 2-амино-2,6-дидезокси-D-глюкозы (хиновозамина), 2-амино-2-дезокси-D-глюкозы (глюкозамина), 3-дезокси-D-манно-2-октулозоновая кислота (КДО) и других не идентифицированных сахаров. Липид А, связанный с центральным олигосахаридом, содержит 2,3-диамино-2,3-дидезокси-D-глюкозу (диаминоглюкозу) в качестве основной цепи, насыщенную амидной и сложноэфирной связью с длинной цепью (С 16-18) и гидроксильированных (3-ОН-С12 - 29-ОН-С30) жирных кислот. Гидрофобная липидная область А составляет в основном внешнее покрытие наружной мембраны и отвечает за многие эндотоксические свойства, присущие ЛПС. Липид А *Brucella* spp. содержит прочно связанные фрагменты белка наружной мембраны. Именно данная часть ЛПС во многом определяет вирулентные, антигенные свойства грамотрицательных микроорганизмов. Длинные полисахаридные цепи ЛПС S-форм являются барьером для иммунологических факторов защиты хозяина и тем самым предохраняют бактерии от разрушения [184].

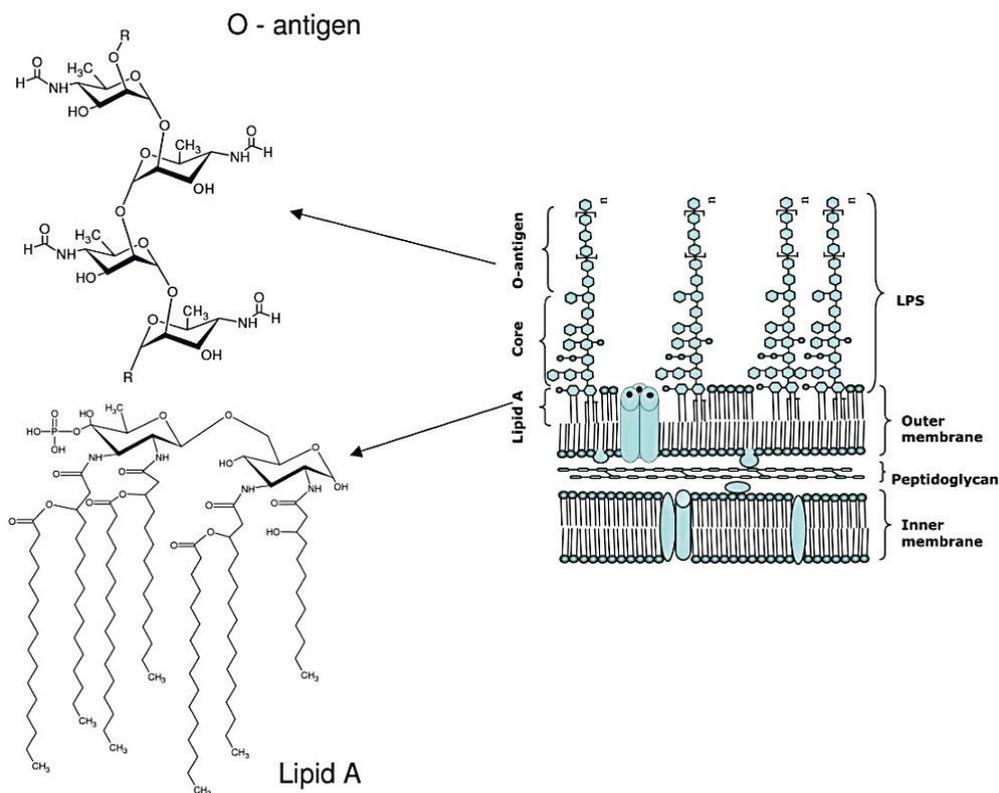


Рисунок 5. Схематическая структура липополисахарида *Brucella* spp. (*O*-antigen - *O*-антиген, *Core oligosaccharide* - Основной олигосахарид; *Lipid A* - липидная часть *A* (липид *A*), *Outer membrane* - наружная мембрана, *Peptidoglycan* - пептидогликан, *Inner membrane* - внутренняя мембрана) [по P.G. Cardoso et al., 2006]

Из-за «неканонической» структуры липида *A* в составе *Brucella* ЛПС биологическая (антигенная) активность липополисахарида количественно и качественно отличается от «классического» ЛПС энтеробактерий. Гетерогенность энтеробактериального ЛПС связана с длиной его *O*-полисахарида и различными химическими заменами в ядре олигосахарида и липида *A*. В липиде *A* энтеробактерий степень гетерогенности зависит от различных комбинаций, в которых в молекуле присутствуют амидные и сложнэфирные жирные кислоты, фосфаты, нейтральные сахара, этаноламин и различные типы основных аминсахаров. В липиде *A* бруцелл степень гетерогенности может зависеть главным образом от различных замен жирных кислот. Отсутствие основных компонентов (кроме липидов) и сложнэфирных ацилоксиацильных остатков у бруцелл может объяснять ограниченное количество вариантов по сравнению с липидом *A* энтеробактерий. Ядро, с которым связаны ацилированные цепи, имеет

полисахаридную последовательность, консервативную среди видов бруцелл.

Выявление S-липополисахарида (O-антигена) служит одним из дополнительных критериев принадлежности к роду *Brucella* [2]. Связь между ацилированной цепью и ядром осуществляется через амидную связь. O-боковая цепь S-ЛПС бруцелл представляет собой цепь повторяющихся звеньев сахаров с вариабельностью, которая позволяет дифференцировать виды. В отличие от S-ЛПС кишечных бактерий бруцеллы не содержат гектозы [11, 41, 45, 120, 127, 128].

S-ЛПС бруцелл способствует защите бактериальной клетки от губительного действия факторов, обеспечивающих антимикробную активность фагоцитов (катионные белки, пероксидаза, активные формы кислорода), общий соматический антиген патогена ингибирует каскадную систему протеолитических ферментов (систему комплемента), орнитинсодержащие липиды и липопротеины наружной мембраны экранируют клетку от детекции факторами естественной резистентности [55, 120].

ЛПС и его липидный фрагмент «А» является важной сигнальной молекулой для факторов врожденного иммунитета и связывается с TLR4 / белка миелоидной дифференцировки 2 (MD-2) на плазматической мембране иммунокомпетентных клеток, которые индуцируют сигнальный каскад, что приводит к активации фактора транскрипции - NF- κ B, который затем запускает выработку провоспалительных медиаторов, таких как TNF- α , IL-6 и IL-1 β [160].

Основные гены, участвующие в биосинтезе ЛПС *Brucella* spp., включают в себя гены для GDP-маннозной дегидратазы, перозаминсинтетазы, фосфоглюкомутазы, фосфоманномутазы, маннозоизомеразы, маннозо-гуанилилтрансферазы, O-антиген-экспортной пермеазы, АТФ-связывающей формы, белка, связывающего АТФБ, протеин-связывающий белок, АТФБ-связывающий белок и N-формил-перозаминилтрансфераза [196].

Молекулы S-липополисахарида несут на себе A- и M-антигенные эпитопы бруцелл, которые имеют различное количественное распределение в зависимости от биовара бруцелл, т.е. проявляют видоспецифичность. На основании этого штаммы можно отнести к одной из трех групп: A⁺ M⁻, A⁻ M⁺ и A⁺ M⁺. Два антигена были признаны неразделимыми. Химическая структура каждого из них была окончательно установлена только в 2013 г. (рисунок 6) [112].

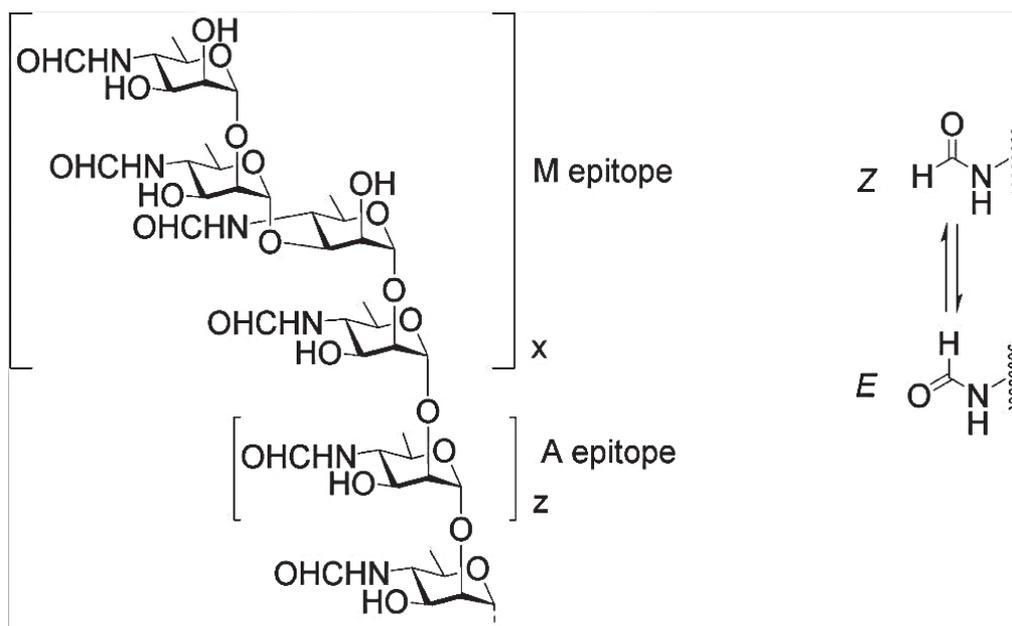


Рисунок 6. Структура OPS *B. abortus*, *B. melitensis* и *B. suis* (кроме биовара 2). OPS бруцелл характеризуется как блок-сополимер двух различных гомополисахаридных последовательностей. На рисунке показаны элементы М и А блока-сополимера молекулы липополисахарида. Относительная длина сегментов М и А определяется количеством повторов x и z и различна между штаммами [по D.R. Bundle, J. McGiven, 2017].

Установлено, что А- и М-антигены бруцелл структурно похожи и являются линейным О-гомополимером, состоящим из 96-100 остатков 4-формамидо-4,6-дидезокси-α-D-маннопиранозы, соединенных через 1,2-углеродные связи в случае А-антигена и через 1,3-углеродные связи - М-антигена [41, 42, 51, 70, 135]. Перекрестное серологическое реагирование между S-формами бруцелл и *Escherichia coli* O:116 и O:157, *Francisella tularensis*, *Salmonella* группы N(O:30) Кауфмана-Уайта, *Pseudomonas maltophilia*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica* O:9 связано с тем, что эти микроорганизмы имеют такие же остатки 4-формамидо-4,6-дидезокси-α-D-маннопиранозы в О-цепях S-ЛПС [41, 51, 70, 135].

В состав S-ЛПС входят следующие кислоты: 50 % пальмитиновой кислоты, около 10 % стеариновой кислоты, менее 5 % гидроксильных жирных кислот, отсутствует β-гидроксимиристиновая кислота.

R-ЛПС находится в водной фазе при водно-фенольной экстракции в отличие от S-ЛПС, что объясняется связью R-ЛПС с нуклеиновой кислотой. Чистый R-ЛПС не содержит нуклеиновых кислот и не содержит вообще или содержит в малом количестве белки. Жирные кислоты иден-

тичны S-ЛПС, а сахара представлены глюкозой, маннозой (в меньшем количестве, чем в S-ЛПС), КДО и глюкозамином. В отличие от S-ЛПС в R-ЛПС отсутствует квиновозамин [191].

Белки наружной мембраны *Brucella* разделяются на 3 группы:

1 группа - порины с молекулярной массой 36-38 кД - это мембранные белки с митогенными свойствами в отношении В-лимфоцитов;

2 группа - протеины с молекулярной массой 25-27 кД, содержащие углеводороды. В клетке они существуют в виде ди- или тримеров;

3 группа - липопротеины, ковалентно связанные с пептидогликаном.

Белки наружной мембраны 1 и 2 группы в целом сходны с белками OmpF и OmpA *E. coli*, а липопротеины бруцелл аналогичны липопротеинам *E. coli*. Вторая группа белков у различных видов бруцелл сходна по антигенным свойствам [214].

Дифференциальные свойства видов бруцелл

Определение видов и биоваров бруцелл на конкретных территориях и в очагах инфекции имеет важное эпидемиологическое значение с точки зрения классификации очагов, оценки состояния эпизоотического процесса, установления фактов миграции бруцелл с одного вида животных на другой.

Для дифференциации бруцелл исследуют («золотой стандарт»):

- потребность бруцелл в повышенном содержании углекислого газа (CO₂) в среде роста;

- способность к образованию сероводорода (H₂S);

- редуцирующая активность в отношении красителей (тионин, основной фуксин);

- способность агглютинироваться моноспецифическими бруцеллэзными сыворотками (*anti-abortus*, *anti-melitensis*);

- чувствительность к бруцеллэзному диагностическому бактериофагу Тб, а также Wb, Fi, Bk₂.

Потребность бруцелл в повышенном содержании углекислого газа (CO₂) в среде роста.

Культуры бруцелл видов *B. suis* и *B. melitensis* растут в аэробных условиях, тогда как первые генерации культур *B. abortus* и *B. ovis* удается выделить лишь в присутствии повышенного содержания углекислоты (5-10 %). При последующих пересевах культуры *B. abortus* утрачивают потребность в повышенном содержании углекислоты в атмосфере культивирования и растут в обычных условиях.

Способность к образованию сероводорода (H_2S).

Наиболее выраженной способностью к образованию сероводорода обладают бруцеллы вида *B. suis* (биовар 1), в меньшей степени - *B. abortus* (биовары 1-4, 9), *B. inopinata* и *B. neotomae*. Отдельные штаммы *B. abortus* (биовар 6) способны к продукции H_2S . Культуры *B. melitensis*, *B. abortus* (биовар 5), *B. ovis*, *B. canis*, *B. pinnipedialis*, *B. ceti*, *B. microti* - сероводород не образуют.

Редуцирующая активность в отношении красителей.

Культуры *B. abortus* 1 биовара растут на средах с фуксином, на средах с тионином рост отсутствует. Культуры *B. suis* 1 биовара растут на средах с тионином при отсутствии роста на средах с фуксином. Культуры вида *B. melitensis* растут на средах, содержащих оба красителя.

Агглютинация моноспецифическими (A-, M-, R-) сыворотками.

Агглютинация культур бруцелл моноспецифическими сыворотками *anti-melitensis* (M), *anti-abortus* (A) зависит от их биовара. Для культур бруцелл видов *B. ovis* и *B. canis*, а также для культур других видов и биоваров бруцелл, находящихся в R-форме, для реакции агглютинации используют моноспецифическую *anti-R* сыворотку.

Чувствительность к бруцеллёзному диагностическому бактериофагу Тб, а также Wb, Fi, Bk2.

Бруцеллы вида *B. abortus* лизируются всеми четырьмя бактериофагами; *B. melitensis* - только бактериофагом Bk₂; *B. suis* - Bk₂ и Wb; *B. pinnipedialis* и *B. ceti* - Wb, Fi, Bk₂; бактериофаг Fi лизирует культуры *B. abortus*, *B. neotomae* и частично *B. suis*. Культуры *B. ovis* и *B. canis* фагами не лизируются.

Основные дифференциальные свойства видов и биоваров бактерий рода *Brucella* spp. представлены в таблице 1.

Таблица 1. Дифференциальные свойства видов и биоваров бактерий рода *Bifissella*

Виды бруцелл	Биовар	Референтные штаммы	Потребность в CO ₂	Производство H ₂ S	Рост на средах, содержащих		Агглютинация моноспецифическими сыворотками				Лизис фагами в ДРТ				Основные хозяева
					T	Φ	A	M	R	T6	Wb	Fi	Bk2		
<i>B. melitensis</i>	1	16-M	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	Овцы, козы
	2	63/9	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	
	3	Ether	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	
<i>B. abortus</i>	1	544	(+)	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	КРС
	2	86/8/59	(+)	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	
	3	Tulya	(+)	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	
	4	292	(+)	+	-	(+)	+	+	-	-	+	+	+	+	
	5	B-3196	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	
	6	870	-	(+)	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	
<i>B. suis</i>	9	C-68	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	Свины
	1	1330	-	+	+	(-)	+	-	-	-	+	+	±	±	
	2	Thomsen	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	±	±	
	3	686	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	±	±	
	4	40	-	-	+	(-)	+	-	-	-	+	+	±	±	
	5	513	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	±	±	
		5K33	-	+	-	-	+	-	-	±	+	+	+	+	
		63/290	+	-	+	(-)	-	-	+	-	-	-	-	-	
		RM 6/66	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
<i>B. pinnipedialis</i>		не определен	+	-	+	+	+	±	-	(-)	(+)	+	+	+	Ластоногие
		не определен	-	-	+	+	+	±	-	(-)	(+)	+	+	+	
<i>B. microti</i>		не определен	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	X	X	Серая полевка
		не определен	-	-	+	+	+	-	-	P	X	X	X	X	
<i>B. inopinata</i>		не определен	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	X	X	Не установлен

+ – признак определяется у всех представителей,
 - – признак отсутствует у всех представителей,
 ± – признак выявляется у некоторых штаммов,
 (+) – большинство культур имеют данный признак,
 (-) – большинство культур не имеют данный признак,
 P – неполный лизис фагом T6 при 10⁴RTD (Scholz et al, 2010) или не чувствительны к фагу T6 (De et al, 2008),
 X – сведения отсутствуют.

Биохимическая и метаболическая активность бруцелл

Для более точного установления биовара бруцелл FAO/WHO (1986) рекомендовано дополнительно проводить изучение окислительно-метаболической активности штаммов в отношении субстратов - *L*-аланин, *L*-аспарагин, *L*-глутаминовая кислота, *L*-аргинин, *L*-цитруллин, *DL*-орнитин, *L*-лизин, *D*-рибоза, *D*-ксилоза, *D*-галактоза, *D*-глюкоза, *i*-эритритол (таблица 2) [106].

Таблица 2. Биохимическая активность некоторых видов бруцелл в отношении аминокислот и углеводов

		<i>B. melitensis</i>	<i>B. abortus</i>	<i>B. suis</i>	<i>B. neotoma</i>	<i>B. canis</i>	<i>B. ovis</i>
Аминокислоты	<i>L</i> -аланин	+	+	+/-	+/-	+/-	+/-
	<i>L</i> -аспарагин	+	+	+/-	+	-	+
	<i>L</i> -глутамат	+	+	+/-	+	+	+
	<i>L</i> -аргинин	-	-	+	-	+	-
	<i>DL</i> -цитруллин	-	-	+	-	+	-
	<i>L</i> -лизин	-	-	+/-	-	+	-
	<i>DL</i> -орнитин	-	-	+	-	+	-
Углеводы	<i>L</i> -арабинозы	-	+	+/-	+	+/-	-
	<i>D</i> -галактоза	-	+	+/-	+	+/-	-
	<i>D</i> -рибоза	-	+	+	+/-	+	-
	<i>D</i> -ксилоза	-	+/-	-	-	-	-
	<i>D</i> -Глюкоза	+	+	+	+	+	-
	Изоэритритол	+	+	+	+	+/-	-
Уреазная активность (гидролиз мочевины)		+	+	+	+	+	+
		(1 час)	(1 час)	(5 мин)	(1 час)	(5 мин)	(7 дней)

+ - признак определяется у всех представителей,

- - признак отсутствует у всех представителей,

+/- - переменный признак

Аденозиндезаминазная активность отсутствует у всех видов бруцелл, а в отношении адениндезаминазы положительно проявляют себя *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. suis* 1, 2, 5 биоваров, а все штаммы *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. canis*, *B. suis* 3 и 4 биоваров - отрицательно. Тест на аденозиндезаминазу может использоваться в качестве дополнительного при идентификации и дифференциации бруцелл [9].

Бруцеллы имеют ограниченную возможность в усвоении экзогенных гуанина и гуанозина и неспособны превращать ГМФ в АМФ, в чём проявляется сходство с туляремийным микробом [20].

Изучение метаболических процессов бруцелл показало наличие у них генетически детерминированных метаболических блоков усвоения

и взаимопревращения пуриновых оснований, связанных с внутриклеточным паразитированием. По количеству метаболических блоков род *Brucella* делится на 3 группы [10, 18, 19]:

1 - группа с минимумом метаболических блоков, присущая роду бруцелл в целом (большинство биоваров *B. suis*, *B. neotomae*);

2 - промежуточная группа, имеющая дополнительные блоки (*B. ovis*, *B. canis*, *B. suis* 4 биовар);

3 - группа с максимумом метаболических блоков (*B. abortus*, *B. melitensis*).

Бруцеллы редуцируют нитраты в нитриты, обладают каталазной и оксидазной активностью, но *B. neotomae*, *B. ovis* и некоторые штаммы *B. abortus* оксидазонегативны. Бруцеллы не ферментируют углеводы в обычных условиях, не разжижают желатин, не свертывают молоко, не лизируют эритроциты, не образуют индол.

Бруцеллы окисляют различные аминокислоты и углеводы, гидролизуют мочевины и редуцируют соли тетразолина в разной степени [38]. Цитраты не используются бруцеллами как единственный источник углерода. В реакции Фогес-Проскауэра бруцеллы дают отрицательный результат. Реакция питательной среды при росте бруцелл остается либо нейтральной, либо изменяется в щелочную сторону. Система электронного транспорта бруцелл содержит цитохромы а, а3, b, с и о [16].

Изменчивость бруцелл (R-, L-формы)

Морфология колоний (S-, R- форм) зависит от структуры ЛПС. Гладкий фенотип (S-форма) формируется благодаря присутствию полного ЛПС, который состоит из липида А, корового олигосахарида и O-боковых цепей полисахарида. ЛПС R-штаммов не содержит боковые O-цепи. ЛПС антигены являются поверхностными, в то время как большинство белковых антигенов обнаруживается вosome микробной клетки [129].

R-трансформация бруцелл

При длительном культивировании *in vitro*, а также при неблагоприятных для роста условиях культуры бруцелл могут диссоциировать из S- в R-формы через промежуточные этапы и наоборот. Негладкие формы колоний отличаются от гладких немного большими размерами и зернистой или слизистой поверхностью. Цвет колоний изменяется от беловатого до коричневого в отраженном или проходящем свете. Колонии обычно прозрачные, но могут быть и непрозрачными. R- колонии менее выпуклые, чем S-колонии, иногда неправильно контурированные, грубозернистые с зеленоватым металлическим оттенком. В бульоне R- формы дают рост с хлопьями, осадком и просветлением [3].

Механизмы фенотипических изменений *Brucella* spp. из гладких

S-форм в шероховатые R-формы, которые возникают при культивировании в определенных условиях, генетически детерминированы и имеют большое значение в фундаментальных исследованиях и производстве вакцин. Склонность к «шероховатости» в лабораторных условиях отражает тот факт, что О-ПС необходим для выживания и персистенции в естественных нишах (в организме хозяев). Мутанты, дефектные по О-ПС, как правило, чувствительны к активным компонентам системы комплемента сыворотки крови, поскольку их липид А представляет собой незащищенную мишень.

Структурная организация О-ПС кластеров, расположение О-ПС GT у бруцелл и механизмы диссоциации схожи для многих грамотрицательных бактерий. Бруцеллы несут нестабильные подвижные элементы, участвующие в делециях хромосом, которые приводят к потере генов ЛПС [130, 155].

Существуют непредсказуемые мутации ЛПС из-за стохастического (случайного) повреждения некоторых генов и мутации, возникающие при дискретных и воспроизводимых событиях рекомбинации. Типичными примерами случайных мутаций являются те, которые проявляются аттенуированными вакцинными штаммами, полученными в результате нескольких пассажей. Соответствующий R-связанный генетический дефект может быть идентифицирован, как в случае со штаммом *B. abortus* RB51. Транспонирование элемента IS 711 в *wboA* вызвало разрушение гена - факт, который способствовал мутации штамма *B. abortus* RB51 [155].

Эти фрагменты ДНК часто изменяются под селективным воздействием в организме хозяина и при изменениях окружающей среды. Это особенно касается бруцелл, у которых локусы О-ПС расположены в местах рекомбинации. Например, локус *wbo* может самопроизвольно вырезать хромосому из-за того, что является частью геномного острова. Иссечение вызвано сайт-специфической рекомбинацией между фланкирующими повторами 41 п.н., катализируемыми фаг-связанной интегразой *GI-2* [130].

Диссоциация, наряду со спонтанными мутациями в генах *wbk*, может происходить и в эволюции естественного вида *B. ovis*, у которого отсутствует *GI-2* [131, 204]. Делеция 351 п.н., включающая гены *wbkF-wbkD*, привела к появлению фенотипа R *B. canis* [216].

Известно, что О-ПС S-форм бруцелл - один из ключевых факторов патогенности, который участвует в обеспечении стратегии незаметного проникновения в организм и персистенции на начальных этапах инфекционного процесса. В организме хозяина диссоциация является естественным процессом, происходящим во время инфекции, которая необходима патогену для более быстрого проникновения в фагоциты (механизм липидного рафтинга) и дальнейшей реализации патогенного потенциала уже в реверсированной - S-форме [32, 67, 154, 198].

Известно, что R-варианты *B. melitensis* иногда выделяют из образцов козьего молока, что позволяет предположить, что R-типы могут выживать в молочной железе. Есть основания предполагать, что при диссоциации преобладают только те мутации, которые порождают R-типы со сбалансированной внутриклеточной приспособленностью, позволяющей конкурировать с S-клетками. Блокировка механизмов или путей диссоциации может предопределять негативное влияние на приспособляемость образующихся R-мутантов и на исход инфекции.

Формирование R-типов бруцелл *in vitro*, а также в естественных условиях предполагает способность патогена к фенотипической гетерогенности и проявлению патогенности S-клеток. Диссоциация может происходить во внеклеточной среде, что подтверждается открытием изолятов *B. microti*, лишенных О-ПС [23]. Кроме того, сообщалось о реверсии (от R до S) *in vivo*, что объясняет упомянутую гетерогенность во время взаимодействия хозяина с патогеном [155].

Принадлежность бруцелл к S- или R-формам оценивают с помощью трех тестов: проба с трипафлавином, реакция термоагглютинации (проба с нагреванием), проба Уайт-Вильсона [106].

Шероховатые формы, в отличие от гладких, агглютинируются R-сывороткой [21].

У R-форм бруцелл отсутствует антиген О-цепи. *B. canis* был идентифицирован L.E. Carmichael и D.W. Bruner (1968) [46] как штамм, вызывающий аборт у собак. Было обнаружено, что *B. canis* растет в виде мукоидных колоний, но по своим биохимическим свойствам очень похож на *B. suis*. Несмотря на отсутствие О-гладкого полисахаридного антигена, *B. canis* полностью вирулентен для собак, а также вызывает инфекцию у человека, хотя и в меньшей степени, чем гладкие виды *Brucella* [28]. *B. ovis* является также естественным шероховатым микроорганизмом, вызывающим эпидидимит у баранов, и связан с абортами у овец [39]. У *B. ovis* отсутствует часть хромосомы [58, 96], включая фрагмент размером 15,1 Кб, связанный с геномным островом 2, который относится к синтезу липополисахарида [158].

Переход бруцелл из S-формы в R носит название диссоциации, а из R- в S-форму - реверсии. Колонии *B. canis*, *B. ovis* всегда имеют R-форму.

L-трансформация бруцелл

L-трансформация бактерий считается одним из важных факторов, создающих условия для сохранения патогенов и рецидивов инфекционных заболеваний. Формирование L-форм бактерий - своеобразная форма их адаптации к измененным условиям среды обитания. На данный момент однозначность этого явления и других проявлений гетероморфизма бактерий не установлена. L-трансформация характерна для

многих бактерий и *in vivo* может происходить под воздействием различных эндогенных факторов, прежде всего лизоцима, лизосомальных ферментов и аминокислот. Бактериальные ферменты фагоцитов, которые воздействуют на фосфолипиды и пептидогликаны бактериальных стенок, оказывают повреждающее действие на бактерии, инициируя при определенных условиях L-трансформацию [40, 187].

Механизмы L-трансформации связаны с перекисным окислением липидов клеточных мембран под воздействием различных повреждающих факторов.

В организме человека под влиянием химиотерапии часть бруцелл может переходить в L-формы и длительно сохраняться внутриклеточно. Бруцеллы, находясь внутри фагоцитов, могут формировать L-формы и длительно персистировать, что приводит к появлению гранулём [5].

В процессе культивирования L-формы могут возникать спонтанно, когда в среду культивирования попадают агрессивные для патогена вещества. Скопление в среде продуктов метаболизма, наличие антител, бактериофага или антибиотиков также могут быть стимулами к образованию L-форм.

На основании изменений культуральных свойств и морфологии *B. abortus* под действием пенициллина (*in vitro*) выделяют три стадии (фазы) L-трансформации [12, 187]:

1. Начальная стадия (1-4 пассажа) - набухание бактерий, образование гигантских шаровидных тел, ветвистых форм, затем типичных L-клеток и быстрая реверсия, затрудняющая определение степени вирулентности;

2. Промежуточная стадия (5-10 пассажей) - образование типичных L-клеток с морщинистой поверхностью, глубокими углублениями и отверстиями, а также снижение вирулентности бруцелл и инициация незначительных патоморфологических изменений в органах инфицированных животных;

3. Поздняя стадия (более 10 пассажей) - формирование типичных L-клеток и аморфных масс, дальнейшее снижение степени вирулентности. У биопробных животных при введении L-культур бруцелл в больших дозах формируются патоморфологические изменения токсического характера.

На всех этапах L-трансформации культуры бруцелл показывают высокую репродуктивную способность, бинарное деление, образование элементарных тел за счет почкования как внутри, так и на поверхности L-клеток. Наиболее длительный процесс перехода S-штаммов в L-форму (до 14 пассажей *in vitro*) и способность роста на питательных средах регистрируется у эпидемиологически значимых видов бруцелл -

B. melitensis и *B. abortus*.

L-формы бруцелл относятся к переходной S-форме, но лишенной липополисахарида. Вирулентность L-форм ослабевает в процессе L-трансформации. При последовательных пассажах *in vivo* или *in vitro* может наблюдаться реверсия L-форм, но антигенная структура и химические компоненты клеток обычно восстанавливаются не полностью. Если же генетический контроль синтеза клеточной стенки нарушен, L-трансформация приобретает необратимый характер, а такие L-трансформанты по своим морфологическим, культуральным и иным свойствам становятся сходными с микоплазмами [1, 12, 106].

Способность L-вариантов к реверсии, их длительная персистенция в организме, резистентность к индуцирующим факторам дают основание считать, что L-варианты обуславливают возникновение рецидивов при бруцеллёзе, а в случаях эпизоотий могут быть опасным этиологическим агентом [129].

Характеристика генома возбудителя бруцеллёза

Структурная характеристика пангенома возбудителя бруцеллёза

В настоящее время при изучении фенотипических свойств возбудителя бруцеллёза применяются классические методы идентификации культур, имеющие существенные недостатки, связанные с низкой дифференцирующей способностью из-за относительной однородности штаммов бруцелл. Несмотря на длительность и трудоемкость, бактериологические методы лабораторной диагностики бруцеллёза остаются необходимой частью исследования [13, 65, 111, 152]. В целях точной идентификации и субтипирования изолятов бруцелл также используют молекулярно-генетические методы исследования, позволяющие не только осуществлять прямое выявление фрагментов генома в исследуемом материале, но и одновременно проводить анализ генетических характеристик по интересующим признакам.

Наиболее полная информация о структурной и функциональной организации генома может быть получена при проведении полногеномного секвенирования. Современные технологии высокопроизводительного секвенирования нуклеиновых кислот (NGS) позволяют получить данные о полных нуклеотидных последовательностях геномов микроорганизмов, выявить функциональные особенности генома, определить уровень экспрессии генов и др. [207].

Изучение генома бруцелл началось в 1960-х гг., когда оценка степени гомологии ДНК использовалась для подтверждения генетической связи между различными штаммами [96, 97]. Результаты эксперимен-

тов по ДНК-ДНК гибридизации позволили установить, что на уровне ДНК различные виды возбудителя бруцеллёза имеют гомологию порядка 90 % [9]. На основании этих данных была сформирована моновидовая концепция рода *Brucella*: выдвинуто предположение, что существует один вид бруцелл - *B. melitensis*. Указанная концепция была пересмотрена в 2006 г., в том числе в целях разделения патогенных и непатогенных для человека видов, на основании новых данных о видовых особенностях организации генома бруцелл [26, 76, 209].

Стимулом для развития молекулярно-генетических методов исследования возбудителя бруцеллёза послужила необходимость разработки быстрых и простых методов идентификации штаммов бруцелл для эпидемиологических целей. Внедрение в практику гель-электрофореза в пульсирующем поле (PFGE) произвело революцию в изучении длины фрагментов бактериальных геномов. В 1988 г. А. Allardet-Servent с соавт. [25] использовали PFGE для анализа *Xba*I профилей 23 штаммов бруцелл. Рестрикционный анализ полиморфизмов (RFLP) показал, что геном каждого штамма имеет как консервативные, так и уникальные варибельные участки.

В 2002 г. впервые были секвенированы полные геномы штаммов *B. melitensis* и *B. suis* [64, 153], а вскоре и *B. abortus* [93]. С того времени наблюдается ежегодный рост количества масштабных исследований с использованием технологий NGS и интенсивное накопление сведений о структуре и функциях генома штаммов всех известных видов бруцелл.

В настоящее время в международную базу данных генетических последовательностей (GenBank, NCBI) депонировано около 600 полногеномных нуклеотидных последовательностей штаммов *Brucella* spp. При этом около 80 % данных представлены не в виде полных (завершённых) геномов, а так называемыми «черновыми» сборками, которые состоят из множества отдельных фрагментов ДНК, не связанных друг с другом в единую последовательность.

Исследование возбудителя бруцеллёза в масштабе генома необходимо для выявления специфических генов, контролирующих синтез факторов вирулентности, обнаружения масштабных геномных перестроек и единичных нуклеотидных замен, наличие которых может влиять на патогенность микроорганизма, чувствительность к антибактериальным препаратам, способность к выживанию в организме хозяина [74, 77, 144].

Концепция пангенома основана на сравнении геномов представителей одного вида и дает представление о его генетической структуре [121]. Пангеном состоит из коровых генов, дополнительных и уникальных генов. Коровые гены - это гены, присутствующие в геноме

всех штаммов. Дополнительные гены представляют собой гены, которые встречаются у отдельных представителей вида. Уникальные гены специфичны для одного штамма [104,134]. Таким образом, пангеном описывает полный генетический состав вида [195]. Пангеном может быть как открытым, так и закрытым. В случае открытого пангенома вновь выделенные штаммы вида всегда несут новые гены, в то время как закрытый пангеном практически неизменен при исследовании новых представителей вида [121, 139]. Размер открытого бактериального пангенома у разных видов варьирует от двукратного индивидуально-го генома до более чем десятикратного [161]. Применение концепции корового генома позволяет получить качественно новые сведения об эволюции бактериальных видов и идентифицировать потенциально важные гены [121].

В 2009 г. J.T. Foster с соавт. опубликовал результаты анализа филогении бруцелл на основе полных сиквенсов 13 геномов. При этом штаммы *B. abortus* и *B. melitensis* группировались в отдельные кластеры, но штамм *B. canis* попал в группу штаммов *B. suis*. Множественное выравнивание геномов выявило высокую степень синтении среди разных видов бруцелл, за исключением транслокации сегмента размером 210 тыс. п.н. с хромосомы 1 на хромосому 2 у штаммов *B. suis* bv. 2. Множество перегруппировок было отмечено в структуре второй хромосомы [76].

Позднее A.R. Wattam с соавт. представили филогеномный анализ и эволюцию бруцелл на основе 40 полных геномов. В этой работе также штаммы *B. canis* и *B. suis* входили в одну генетическую группу, как и штаммы *B. ceti* и *B. pinnipedialis* [213].

Сходные результаты были получены J. Sankarasubramanian с соавт. [171] при сравнительном анализе сиквенсов 18 штаммов бруцелл. Филогенетическое дерево, построенное на основании полученных данных, в целом отражает видовую принадлежность исследованных штаммов и включает 5 основных ветвей: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. ovis*, *B. suis* и *B. canis*, а также *B. microti* и *B. pinnipedialis*. Сравнение последовательностей выявило наличие уникальных локусов в геноме отдельных штаммов возбудителя бруцеллёза, в частности: *B. microti* ССМ 4915 (NC_013118), *B. pinnipedialis* B2/94 (NC_015858) и *B. suis* ATCC 23445 (NC_010167).

Коровый геном первой хромосомы включает 1598 генов, пангеном - 7242. Примечательно, что регион NC_010167 штамма *B. suis* ATCC 23445 транслоцирован с хромосомы I на хромосому II. Геном *B. melitensis* M5-90 имеет в первой хромосоме единственный уникальный ген, кодирующий гипотетический белок, в позиции 1239320-1239492 (172 п.н.).

Анализ пангенома хромосомы II выявил у отдельных штаммов

наличие крупных делеций (1220-1420 kb). Кроме того, описано несколько уникальных областей второй хромосомы: *B. suis* ATCC 23445 (NC_010167), *B. microti* ССМ 4915 (NC_013118) и *B. pinnipedialis* B2/94 (NC_015858). Всего в структуре хромосомы II идентифицировано 234 гена, уникальных для рода *Brucella*.

Коровый геном второй хромосомы включает 875 генов, пангеном - 3953. Размер пангенома обеих хромосом разных видов возбудителя бруцеллёза закономерно увеличивается с уменьшением размера корового генома представителей соответствующего вида.

Анализ пангенома позволил обнаружить штаммоспецифичный локус в хромосоме I у *B. melitensis* M5-90 и на второй хромосоме у штаммов *B. microti* ССМ 4915, *B. pinnipedialis* B2/94 и *B. suis* ATCC 23445. Указанные регионы могли появиться в геноме штаммов посредством горизонтального переноса.

В 2017 г. J. Sankarasubramanian с соавт. при помощи SNP анализа и GWAS (Genome-Wide Association Studies - полногеномный поиск ассоциаций) геномов 552 штаммов удалось дифференцировать все известные виды возбудителя бруцеллёза в соответствии с таксономической принадлежностью [173]. В ходе исследования было установлено, что пангеном возбудителя бруцеллёза включает 11937 последовательностей, кодирующих белки. Коровый геном, составленный на основании данных 99 % выборки, представлен 972 генами. Некоровая часть пангенома - это 10965 генов - разделена на дополнительную (7940 генов) и уникальную часть (3850 генов).

Филогенетический анализ на основе полногеномного SNP показал, что базальную ветвь соответствующего дерева формируют штаммы *B. vulpis*, имеющие наибольшее количество уникальных замен (5217) [173]. Затем следуют ветви *B. inopinata* (2210 SNPs), *B. microti* (232 SNPs) и *B. neotomae* (544 SNPs). Всего филогенетическое дерево включает 16 генетических групп. Штаммы 10 видов (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. pinnipedialis*, *B. ceti*, *B. microti*, *B. neotomae*, *B. inopinata* и *B. vulpis*) образуют видоспецифичные кластеры. Ветвь *B. ceti* разделена на 2 группы в соответствии с хозяйным предпочтением (штаммы, выделенные от дельфина и морской свиньи). Ветвь *B. suis* разделена на 5 биовар-специфичных групп. Для каждого вида возбудителя бруцеллёза описаны специфичные SNP (за исключением *B. ovis*). Так, для *B. abortus* характерно 143 видоспецифичных SNP, локализованных в коровой части генома. В дальнейшем будет детально изучена связь видоспецифичных SNP с различными фенотипическими свойствами бруцелл.

Учитывая небольшое количество существующих геномных сборок штаммов целого ряда видов, в частности *B. canis*, *B. neotomae*, *B. ceti*,

B. pinnipedialis, *B. microti*, *B. ovis*, *B. inopinata* и *B. vulpis*, исследования в области структуры и эволюции пангенома возбудителя бруцеллёза будут продолжены.

Междовые и биоварные особенности структуры генома бруцелл

Геном штаммов возбудителя бруцеллёза содержит около 3 миллионов пар оснований (Mb). Геномная ДНК состоит из двух хромосом: большой (размером 2 Mb) и малой (1 Mb) [190].

Следует отметить, что у штаммов *B. suis* общее количество геномной ДНК больше, чем у представителей других видов бруцелл, при этом размер хромосомы I больше, а II - меньше по сравнению с показателями штаммов *B. abortus* и *B. melitensis* (таблица 3).

Таблица 3. Основные характеристики генома *B. abortus*, *B. melitensis* и *B. suis* (по Sturgill D.M.)

№ п/п	Вид возбудителя бруцеллёза	Размер хромосомы, Mb		Общий размер генома, Mb	GC- состав, %
		хромосома I	хромосома II		
1	<i>B. abortus</i>	2,13	1,16	3,29	57,3
2	<i>B. melitensis</i>	2,12	1,18	3,29	57,2
3	<i>B. suis</i>	2,11	1,21	3,32	57,2

Размер генома и количество хромосом также заметно варьирует в зависимости от биоварной принадлежности штамма [153]. Так, для биоваров 2 и 4 характерно наличие двух хромосом (1,85 Mb и 1,35 Mb), в то же время геном штаммов 3 биовара представлен только одной хромосомой размером около 3,1 Mb [110].

GC-состав (процентное содержание гуаниновых и цитозинового оснований) в бактериальном геноме является относительно стабильным показателем для каждого вида и может быть использован при установлении происхождения участков генома и отдельных генов. GC-состав геномов *Brucella* spp. относительно стабилен и составляет 57 %. Отклонение содержания G+C при исследовании фрагментов ДНК размером более 50 kb от указанного может считаться нетипичным и позволяет судить об их приобретении путем горизонтального переноса [190].

В настоящее время недостаточно изученным остается вопрос о строгой хозяйственной специфичности отдельных видов бруцелл при высокой генетической однородности рода *Brucella*. В частности, при сравнении полногеномных нуклеотидных последовательностей штаммов *B. canis* и *B. suis* в качестве отличий геномов были охарактеризованы только 253 SNPs [193], несмотря на узкую специфичность первого. Глубокий анализ структуры и функции генома представителей разных видов возбудите-

ля бруцеллёза может послужить основой получения качественно новых сведений о биологии бруцелл относительно предпочтения хозяина.

Применение современных методов высокопроизводительного секвенирования позволило установить, что геном бруцелл включает от 2988 до 3406 открытых рамок считывания, 528 из которых являются уникальными для рода *Brucella*. При этом функция значительной части выявленных генов остается неустановленной [190].

Геном бруцелл содержит три рРНК оперона, два из которых находятся на большой хромосоме, а один - на малой. Структурная организация рРНК у бруцелл: 5S, 16S, 23S, а также ile-, ala-, met-тРНК [56].

В настоящее время для таксономической характеристики штаммов бруцелл, помимо морфологических, культуральных, метаболических и серологических свойств, обязательно используют анализ биохимических и генетических особенностей микроорганизма. Для генетической характеристики *Brucella* spp. успешно применяют различные методы: MLVA (мультилокусный анализ варибельных тандемных повторов) [6, 8, 22, 24, 84, 86, 87, 91, 107, 182, 200], MLST (мультилокусное сиквенс-типирование) [47, 48, 164, 211], SNP (однонуклеотидный полиморфизм) [105, 172, 180, 193], RAPD (ПЦР со случайными праймерами) [194] и RFLP (анализ полиморфизма длин рестриционных фрагментов) [53, 54, 145].

В целях дифференциации *B. abortus* (1, 2, 4 биовары), *B. melitensis* (все биовары), *B. suis* (1 биовар), *B. ovis* была разработана система ПЦР, так называемая AMOS, основанная на анализе хромосомной инсерционной последовательности IS711 [36]. В дальнейшем модификация данной методики (AMOS-ERY) позволила идентифицировать штаммы *B. abortus* 3, 5, 6 и 9 биоваров [100].

За рубежом активно используется мультиплексная ПЦР-система Bruce-ladder, позволяющая идентифицировать *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae*, *B. ceti*/*B. pinnipedialis*, а также вакцинные штаммы *B. abortus* S19, *B. abortus* RB51, *B. melitensis* Rev1 [124]. Недостатком данной методики явилось отсутствие четкой дифференциации видов *B. canis* и *B. suis* среди ряда штаммов. Введение авторами дополнительных мишеней (Suis-Ladder) позволило идентифицировать штаммы *B. suis* до уровня биовара и дифференцировать *B. suis*, *B. canis* и *B. microti* [125]. Данные системы были успешно применены специалистами ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (г. Саратов) при типировании штаммов бруцелл из фонда Государственной коллекции патогенных бактерий «Микроб». В результате у 50 изолятов подтверждено таксономическое положение, указанное в паспорте штамма, у 12 - уточнена видовая принадлежность, у 3 - установлены новые генетические профили [15].

Предложенная V. Ninic et al [94] методика на основе определе-

ния делеций в генах ВМЕИ0466, BruAb2_0168, BR0952, BOV_A0504, ВМЕИ0635-0636, ВМЕИ0986-0988 позволяет дифференцировать 6 видов бруцелл (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis* и *B. neotomae* соответственно), получая результаты как в электрофоретическом формате, так и в режиме реального времени.

Ж.А. Касьян с соавт. [4] предложена методика дифференциации видов или групп видов бруцелл (*B. abortus/B. ovis*; *B. melitensis*; *B. suis/B. canis*; *B. neotomae*) методом ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени, где в качестве ДНК мишеней выбраны гены BR0262, BRA05410542, ВМЕИ0711, которые полностью или частично делетированы у разных видов бруцелл.

На основании нуклеотидной последовательности геномов бруцелл Н.И. Хаммадов с соавт. [17] использовал локусы ДНК как для индикации бактерий рода *Brucella* (BSCP31), так и для выявления видов *B. abortus* (BAW_20082) и *B. melitensis* (COR52_12390).

В качестве эффективных инструментов изучения филогеографии, установления закономерностей макро- и микроэволюции, молекулярно-эпидемиологического анализа при выявлении путей заноса и распространения возбудителя применяются методы: MLST (Multiple Loci Sequence Typing / МультиЛокусное Сиквенс-Типирование), SNP (Single Nucleotide Polymorphism / однонуклеотидный полиморфизм) и MLVA (Multiple-Locus Variable-number tandem-repeats Analysis / мультилокусный анализ тандемных повторов).

Сущность метода MLST заключается в определении структуры комплекса генов «домашнего хозяйства» микроорганизма и на основании сопоставления их нуклеотидных последовательностей получения данных о степени филогенетического родства исследуемых изолятов.

Впервые для филогенетического анализа рода *Brucella* метод MLST был применен в 2007 г. А.М. Whatmore с соавт. [211]. Авторы исследовали последовательности ДНК девяти генов у 160 изолятов, в результате было выявлено только 1,5 % полиморфных сайтов, образующих 27 ST-типов. Данные кластеризации показали, что вид *B. canis* наиболее близок к *B. suis* 3 и 4 биоваров и значительно отличается от *B. suis* 5 биовара. Отдельный кластер образовали штаммы, выделенные от морских животных. В дальнейшем метод был успешно применен для изучения генетического разнообразия штаммов возбудителя бруцеллёза, циркулирующих на территории Китая [48, 49], Таиланда [47] и Италии [164].

SNP-типирование - основной метод определения точечных мутаций, возникающих в процессе репликации ДНК и заключающихся в замене одного нуклеотида на другой. В литературных источниках описано огромное количество SNP, выявленных при полногеномном секвенировании для межвидовой дифференциации бруцелл.

Ж.Т. Foster с соавт. [105] разработали панель однонуклеотидных полиморфизмов, при использовании которой виды *B. abortus*, *B. melitensis* и *B. suis* на филогенетическом дереве образовали три отдельных кластера. Ж.С. Scott с соавт. предложили мультиплексный анализ на основе однонуклеотидных полиморфизмов в генах *glk*, *trpE* и *omp 25* для быстрой идентификации изолятов бруцелл до уровня видов (*B. abortus* генотипов А и В, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, *B. neotomae*, бруцеллы, выделенные от морских млекопитающих) [180].

В настоящее время за рубежом проведен анализ полногеномных последовательностей по SNP локусам, локализованным в ортологичных генах штаммов *B. melitensis* [193]. В результате исследования штаммы были разделены на пять основных генотипов, соответствующих пространственному происхождению изолятов: I - Средиземноморье, II - Азия, III - Африка, IV - Европа, V - Америка.

Филогенетические исследования с применением SNP анализа, направленные на изучение структуры генома *B. suis*, позволили дифференцировать штаммы до уровня биоваров, а также выделить вакцинный штамм *B. suis* S2-30 в отдельную ветвь [172].

Таким образом, анализ однонуклеотидных полиморфизмов на основании полногеномного секвенирования *Brucella* spp. позволяет не только эффективно определить филогенетические взаимосвязи изолятов, но и проводить дифференциацию возбудителя. Однако использование данного метода является длительным, трудоемким, дорогостоящим и требует участия высококвалифицированного персонала.

В настоящее время MLVA остается незаменимым инструментом при эпидемиологических расследованиях вспышек бруцеллёза, поскольку это сравнительно недорогой и надежный метод с высокой степенью дискриминации и наличием общедоступных баз данных. Метод MLVA широко используется в странах Европейского континента, Северной и Южной Америки, Азии и регионах России для молекулярного типирования изолятов бруцелл разных видов, а также для дифференциации вакцинных штаммов от полевых изолятов [6, 8, 22, 24, 84, 86, 87, 91, 107, 182, 200].

Использование метода MLVA-типирования позволяет дифференцировать изоляты одного вида возбудителя бруцеллёза и одновременно подтверждать их родственные связи. Метод основан на сравнительном анализе локусных переменных тандемных повторов I и II хромосомы бруцелл. Геномы патогенных видов бруцелл содержат много локусов, включающих тандемные повторы различной длины от 8 пар нуклеотидов (п.н.) и больше, с разным числом копий повторов в локусах у штаммов возбудителя бруцеллёза одного вида. С распространением технологий полногеномного секвенирования появилась возможность

подбора оптимальных панелей VNTR-мишеней для решения специфичных эпидемиологических задач.

Тандемные нуклеотидные повторы являются наиболее перспективными генетическими маркерами для широкого практического применения, поскольку в одном локусе может присутствовать разное количество аллелей и различия в размерах соответствующих фрагментов легко устанавливаются при помощи различных способов детекции. С прикладной точки зрения MLVA может быть реализован в форме ПЦР с электрофоретической детекцией продуктов реакции [119], моноплексной [61] или мультиплексной ПЦР с анализом ампликонов путем капиллярного электрофореза [85]. Кроме того, G. Vergnaud с соавт. [200] продемонстрировали перспективы применения *in silico* MLVA-типирования штаммов возбудителя бруцеллёза на основе черновых данных полногеномного секвенирования.

В опубликованном В. J. Bricker с соавт. [35] исследовании при генотипировании бруцелл было использовано семейство тандемных повторов нескольких локусов генома возбудителей бруцеллёза. Предложенный набор из восьми микросателлитных локусов является высокоэффективным при дифференциации штаммов бруцелл в рамках локальной вспышки, но не позволяет определить биовар и даже вид микроорганизма в изоляте. Возможной причиной этого является высокая частота появления мутаций в данных локусах.

P. Le Fleche с соавт. [119] разработали достаточно удобную и точную систему для MLVA-типирования возбудителей бруцеллёза, основанную на амплификации двух групп маркерных локусов, содержащих тандемные повторы. В 2006 г. этот набор для MLVA-15 был использован для генотипирования коллекции из 236 изолятов, в которой были представлены большинство известных видов и биоваров возбудителя бруцеллёза, в результате чего была составлена соответствующая электронная база данных.

В 2018 г. G. Vergnaud с соавт. [200] провели масштабное исследование 1404 штаммов возбудителя бруцеллёза, выделенных в разных географических регионах в период с 1974 по 2006 гг., с использованием общепринятой схемы MLVA-16 [179] и новой панели MLVA-11. В результате анализа данных описана генетическая структура популяции рода *Brucella* spp. в глобальном масштабе. Авторами показаны возможности применения MLVA-генотипа в качестве основного критерия отбора штаммов для глубокого исследования с помощью полногеномного секвенирования.

В качестве дополнительных к традиционным методикам генетического типирования, применяемым при проведении эпидемиологических исследований или в научных целях, могут использоваться ме-

тоды ПЦР со случайными праймерами (RAPD - Random Amplification of Polymorphic DNA) [194] и анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP - Restriction Fragment Length Polymorphism) [54].

В результате ПЦР со случайными праймерами, один из которых обычно короткий (длиной до 10 п.н.) с низкой температурой отжига, образуется множество фрагментов, длина которых зависит от распределения вдоль ДНК места посадки праймеров, расположенных напротив друг друга. Существенным преимуществом метода является возможность работы с ДНК неизвестной структуры, в отличие от традиционного ПЦР-анализа. В то же время RAPD анализ не получил широкого применения в практике для изучения штаммов *Brucella* spp., поскольку обладает низкой воспроизводимостью из-за его чувствительности к изменениям условий реакции, характеристикам амплификаторов и др.

Более информативными для типирования бруцелл являются методы, основанные на анализе полиморфизма длин рестрикционных фрагментов, генетическими маркерами которых являются сайты узнавания рестриктазами, расположенные в хромосомной ДНК. Селективное расщепление анализируемого генома приводит к образованию специфичного набора фрагментов, число и размер которых соответствуют расположению сайтов рестрикции.

RELP-анализ генов рибосомной РНК (рРНК) позволяет осуществлять риботипирование. В этом варианте полиморфизм сайтов рестрикции, расположенных во фланкирующих участках, отражается в различии ПДРФ-профилей консервативных доменов, включающих 16S или 23S генов рРНК. Подобные ДНК-фингерпринты называются риботипами. Существуют представительные базы данных риботипов, которые позволяют стандартно и воспроизводимо типировать различные микроорганизмы (<http://www.ewi.med.uu.nl/gene/ribobank.htm>).

Рибосомный оперон высоко консервативен, поэтому проводить риботипирование можно без предварительного знания последовательности геномной ДНК объекта исследования, что является несомненным достоинством метода. Кроме того, риботипы проще интерпретировать из-за меньшего количества фрагментов в паттерне по сравнению с обычным ПДРФ фингерпринтом.

Типирование бруцелл с помощью RFLP основано на определении особенностей первичной структуры генов белков наружной мембраны. В качестве мишеней используются гены, кодирующие экспрессию двух крупных мембранных белков: *omp25* и *omp2* (*omp2a* и *omp2b*).

Анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов указанных генов позволяет дифференцировать отдельные виды и некоторые биовары возбудителя бруцеллёза [194]. Так, рестрикционный анализ гена *omp25* дифференцирует штаммы *B. melitensis* по наличию/отсут-

ствию сайта рестрикции EcoRV и штаммы *B. ovis* по короткой (50 п.н.) делеции между сайтами рестрикции MaeIII и EcoRV, включая сайт Sau3A в позиции 605.

Исследование структуры генов локуса *omp2* позволяет дифференцировать виды возбудителя бруцеллёза с более высокой точностью. Так, отсутствие сегмента длиной в 120 п.н. между сайтами рестрикции TaqI (517) and TaqI (676) характерно только для локуса *omp2a* штаммов *B. abortus* 1, 2 и 4 биоваров. На основании различий в длинах рестрикционных фрагментов *omp2b* штаммы рода *Brucella* можно разделить на 11 филогенетических групп [196].

Следует отметить, что полиморфизм гена *omp2* позволяет дифференцировать дикие и вакцинный штаммы *B. melitensis*. Анализ продуктов рестрикции PstI на амплифицированные фрагменты генома диких штаммов *B. melitensis* 1, 2 и 3 биоваров позволяет выявить два фрагмента 238 п.н. и 44 п.н. При этом действие PstI на продукт амплификации вакцинного штамма *B. melitensis* Rev-1 сопровождается детекцией фрагмента размером 282 п.н. (локус *omp2a*), а также продуктов 238 п.н. и 44 п.н. (части локуса *omp2b*) [196].

Генотипирование бруцелл можно проводить, используя в качестве мишени для RFLP нуклеотидную последовательность гена *omp31*, кодирующего экспрессию мембранных протеинов с молекулярной массой от 28 до 34 kDa. Локус *omp31* присутствует в геноме всех бруцелл, кроме штаммов вида *B. abortus*. Кроме того, анализ сайтов рестрикции *omp31* (Sau3AI, AvalI, HaeIII) позволяет дифференцировать штаммы *B. ovis*, *B. canis* и *B. suis* bv 2. RFLP анализ продукта амплификации *omp31b* (гомолог *omp31*) с помощью DdeI позволяет выявить штаммы *B. abortus*, *B. melitensis* и *B. ovis* [81].

Сравнительный анализ данных полногеномного секвенирования штаммов возбудителя бруцеллёза позволил подтвердить высокую степень консервативности и синтении геномов разных видов микроорганизма. При этом основные межвидовые и биоварные отличия заключаются в наличии индел-мутаций и рекомбинаций. Так, с помощью множественного выравнивания геномов было установлено, что одной из особенностей штаммов *B. suis* bv2 является наличие фрагмента ДНК размером 210 kb, транслоцированного с первой хромосомы на вторую [157]. В ДНК штаммов *B. abortus* существует крупный участок инверсии (около 640 kb), который был ранее идентифицирован с помощью метода рестрикционного картирования [138]. При этом подобная инверсия характерна для генома штаммов *B. abortus* 2, 3 и 4 биоваров, но не для 5, 6 и 9 биоваров. Происхождение инверсии остается неизвестным, однако рекомбинация исключена в локусе *rrn* или инсерционных последовательностях из-за отсутствия

соответствующих фланкирующих участков [138]. В ходе полногеномного сравнения черновых сборок геномов были описаны протяженные гэпы, соответствующие видоспецифичным и групповым геномным локусам (таблица 4).

В научной литературе приводятся результаты исследований инсерционной последовательности IS711, которая в вакцинном штамме RB51 локализована в последовательности гена *wboA*, а также сообщения о механизме транспозиции локуса IS711 [31, 143, 192]. J.P. Lavigne с соавт. [117] показали, что регион *IncP* у *B. suis* представлен в виде циклических интермедиатов.

Таблица 4. Видоспецифичные и групповые геномные локусы *Brucella* spp.

№ п/п	Видоспецифичные и групповые геномные локусы <i>Brucella</i> spp.					
	геномный локус	вид возбудителя бруцеллёза	хромосома	координаты, bp	GC-состав, %	размер, kb
1	S1	<i>B. suis</i>	I	924993-926746	55,8	1 753
2	S2	<i>B. suis</i>	II	343695-361343	55,6	17 648
3	MA1	<i>B. melitensis</i>	I	1724077-1743975	52,3	19 898
		<i>B. abortus</i>	I	305475-286341	52,2	19 134
4	SA1	<i>B. suis</i>	I	581316-584877	59,2	3 561
		<i>B. abortus</i>	I	632376-635569	59,2	3 193
5	SA2	<i>B. suis</i>	II	610688-619976	56,9	9 288
		<i>B. abortus</i>	II	871798-865719	56,9	6 079
6	MS2	<i>B. melitensis</i>	II	860832-885154	58,1	24 322
		<i>B. suis</i>	II	402846-428212	58,2	25 366

Несмотря на то, что у всех видов *Brucella* spp. число и расположение большинства инсерционных элементов достаточно консервативно, установлено, что одна из копий IS711 локализуется на различных участках хромосомы в зависимости от вида и биовара патогена [36]. B.J. Bricker с соавт. предложили использовать это свойство для дифференциации *B. abortus* (1, 2, 4 биовары), *B. melitensis* (все биовары), *B. suis* (1 биовар), *B. ovis*. В результате авторами была разработана система ПЦР, так называемая AMOS, основанная на анализе хромосомной инсерционной последовательности IS711 [37]. В дальнейшем мо-

дификация данной методики (AMOS-ERY) позволила идентифицировать штаммы *B. abortus* 3, 5, 6-го и 9-го биоваров [80].

D.M. Sturgill с соавт. [190] проведен анализ особенностей транскрипции генов, расположенных в составе видоспецифичных фрагментов ДНК, методом ПЦР в режиме реального времени. При этом было установлено, что геном штаммов *B. suis* содержит двадцать два гена, которые позволяют дифференцировать их с представителями видов *B. melitensis* и *B. abortus*. В ДНК штаммов *B. melitensis* был выявлен один уникальный для вида ген. В то же время геном *B. abortus* не содержал уникальных генов. Кроме того, описаны гены, характерные для каждой из пар видов бруцелл (*B. suis* и *B. melitensis*, *B. suis* и *B. abortus*, *B. melitensis* и *B. abortus*), но не характерные для третьего вида (таблица 5). Большинство из указанных специфичных генов локализовано на небольшом вариабельном участке генома (около 20 Kb), который, в том числе, обуславливает различия в размере хромосом у штаммов бруцелл разных видов.

Таблица 5. Количество и локализация открытых рамок считывания, специфичных для разных видов возбудителя бруцеллёза (по Sturgill D.M.)

№ п/п	Локализация	Вид микроорганизма		
		<i>B. suis</i>	<i>B. melitensis</i>	<i>B. abortus</i>
1	<i>B. suis</i> Chr. I	4	-	-
2	<i>B. suis</i> Chr. II	18	-	-
3	<i>B. melitensis</i> Chr. I	-	1	-
4	<i>B. abortus</i>	-	-	-
5	<i>B. suis</i> + <i>B. melitensis</i> Chr. I	1	2	-
6	<i>B. suis</i> + <i>B. melitensis</i> Chr. II	25	24	-
7	<i>B. suis</i> + <i>B. abortus</i> Chr. I	11	-	9
8	<i>B. suis</i> + <i>B. abortus</i> Chr. II	11	-	11
9	<i>B. melitensis</i> + <i>B. abortus</i> Chr. I	-	30	26

Функциональная характеристика генома бруцелл

Получение информации о полной последовательности геномов *Brucella* spp. дало возможность формирования базы данных белков, кодируемых соответствующими открытыми рамками считывания (ORF). A. Dricot с соавт., используя полную последовательность генома *B. melitensis*, создали базу данных белков и библиотеку ORFeome, представленную 3091 клоном [69]. Авторами было показано, что 15 ORF в геноме *B. melitensis* не имеют гомологии с участками ДНК *B. abortus* и 28 - *B. suis*, а также описаны 1802 открытые рамки считывания, общие для

штаммов *B. melitensis*, *Mesorhizobium loti*, *Agrobacterium tumefaciens* и *Sinorhizobium meliloti*. Эти данные позволяют косвенно подтвердить предположение, что предком современного возбудителя бруцеллёза может быть патоген растений или симбионт [68, 186].

L. Palacios-Chaves с соавт. установили, что наличие в геноме бруцелл ORF BAB1_0476, кодирующей белок синтазы CFA, ассоциировано с устойчивостью бактерии в условиях высушивания, повышенной кислотности и осмолярности [151]. Штаммы, в геноме которых присутствует данный ген, способны синтезировать лактобацилловую кислоту (C19сус), пальмитин (C16:0), цис-9,10-метилен гексадекановую (C17сус), стеариновую (C18:0), вакценовую (C18:1(n-7), предшественник C19сус) и пальмитолеиновую кислоту. Известно, что указанные компоненты клеточной стенки бруцелл способствуют выживанию вне макроорганизма.

Используя технологии биочипов, С. Viadas с соавт. [201] применили библиотеку ORFeome бруцелл для определения транскрипционного профиля штамма *B. abortus* 2308, культивируемого в лабораторных условиях. В результате были определены гены с высоким ($\text{Log}_2 > 9,7$) и низким ($\text{Log}_2 < 5,9$) уровнем экспрессии. Максимальный уровень экспрессии был отмечен для гена *Otp25b*, кодирующего белок наружной мембраны (BAB1_0989) ($\text{Log}_2 > 13,59$) [73], наименьший - для гена, кодирующего аутотранспортёр наружной мембраны (BAB2_1107) ($\text{Log}_2 < 2,87$). Гены, локализованные на первой хромосоме и кодирующие белки, участвующие в трансляции, транскрипции, репликации и репарации, метаболизме кофакторов и витаминов, характеризовались относительно высокой экспрессией. Следует отметить, что около 47 % исследуемых генов не были отнесены к определенной категории (COG). Наименее представленными были функциональные категории генов, локализованных на второй хромосоме и участвующих в процессах мембранного транспорта, метаболизма аминокислот и углеводов, а также в клеточных процессах микроба.

Анализ уровня экспрессии генов, связанных с вирулентностью, показал низкий уровень для генов системы секреции 4 типа (локус *VirB*), генов липополисахарида и генов системы регуляции *BvrR/BvrS*, что, очевидно, связано с тем, что культура выращивалась на питательной среде в лабораторных условиях.

Результаты сравнительного анализа экспрессии генов при выращивании штамма на различных питательных средах: триптическом соевом бульоне (TSB) и бруцелла-бульоне свидетельствуют об идентичной экспрессии генов, кодирующих рибосомальные белки, белки цикла Кребса, процессов окислительного фосфорилирования, O-антигена и липида-A, секреторной системы IV типа, жгутикового аппарата и денитрификации. При этом экспрессия мальтозного оперона (BAB1_0236-

0248) была существенно интенсивнее при культивировании штамма в среде TSB, а ABC-транспортёров, таких как LivF-K (BAB2_0023-0027) и PotA-D (BAB2_0428 и BAB2_1062-1064), - в среде BB.

Таким образом, при культивировании штамма возбудителя бруцеллёза в лабораторных условиях наибольшая экспрессия характерна для генов, продукты которых связаны с ростом в аэробных условиях (рибосомные белки, ферменты цикла Кребса и процессов окислительного фосфорилирования), в то время как гены, связанные с вирулентностью и внутриклеточным ростом, практически не функционируют. Кроме того, подавляющая часть активно экспрессируемых генов локализована на хромосоме I, а гены с относительно низким уровнем экспрессии - на хромосоме II [201].

Структура и функции островов патогенности в геноме бруцелл

Вирулентность и патогенность бруцелл остаются мало изученным вопросом, и применение современных методов высокопроизводительного секвенирования и инструментов биоинформатики позволяет проводить поиск участков генома, которые могут влиять на функцию промоторов и экспрессию генов, связанных с проявлением патогенных свойств. Подобные участки могут варьировать от больших геномных островов до единичных замен.

У бруцелл отсутствуют известные бактериальные факторы патогенности, такие как капсула, фимбрии, цитолизины, протеазы, плазмиды, экзотоксины и токсины, кодируемые профагами [26]. Среди основных факторов патогенности возбудителя бруцеллёза можно отметить следующие:

- система секреции IV типа (T4SS);
- двухкомпонентная система регуляции BvrR/BvrS;
- липополисахарид (LPS);
- феррохеталазы (*hemH*);
- уреазы (*ure*).

Несмотря на то, что перечисленные факторы вирулентности лишь косвенно связаны с клиническими проявлениями бруцеллёза, они имеют решающее значение для выживания и размножения бруцелл внутри клеток макроорганизма [7].

Применение технологий молекулярной генетики и биоинформационных методов позволило идентифицировать у бруцелл так называемые геномные острова (GI - области генома, прямо или косвенно связанные с патогенностью бруцеллёзного микроба и обуславливающие проникновение, персистенцию и размножение бруцелл в макрофагах организма хозяина) (рисунки 7, 8) [158].

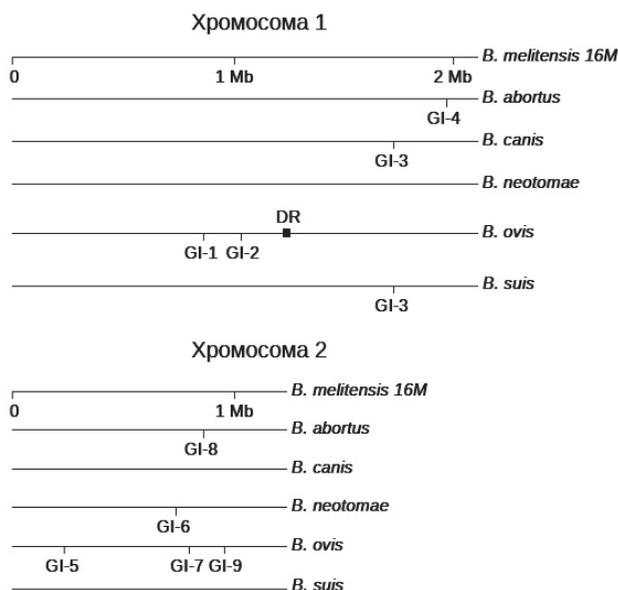


Рисунок 7. Схема расположения геномных островов в геноме штаммов *Brucella* spp., составленная на основе данных гибридизационного анализа с помощью микрочипов [по Rajashekara G.]

Геномные острова (GI) представляют собой последовательности ДНК из нескольких тысяч пар оснований (kb). Некоторые геномные острова представителей рода *Brucella* содержат фаговые и плазмидные локусы, что косвенно свидетельствует об их происхождении в результате горизонтального переноса. В природе бруцеллы физически и генетически изолированы, поскольку размножаются только в организме соответствующего хозяина и для них не характерен продолжительный период жизни в окружающей среде. В связи с этим вероятным является то, что различные штаммы бруцелл являются клонами, которые эволюционировали независимо друг от друга совместно со своими хозяевами. Многие GI обладают интегразами, принадлежащими семейству тирозиновых рекомбиназ, предполагая, что эти элементы могут быть потенциально мобильными. Кроме того, анализ генетического содержания этих регионов указывает на то, что они могут представлять собой источник факторов патогенности [92]. Позднее U. Dobrindt с соавт. [66] в своих исследованиях показали, что GI бруцелл содержат не только вирулентные гены, но и гены устойчивости к антибиотикам, метаболической активности и симбиоза. Исходя из этого, GI могут быть важны во взаимодействиях хозяина и микроба, а также выживания бактерий в сложных экологических условиях. По этой причине GI являются первичными целями для поиска генетических полиморфизмов.

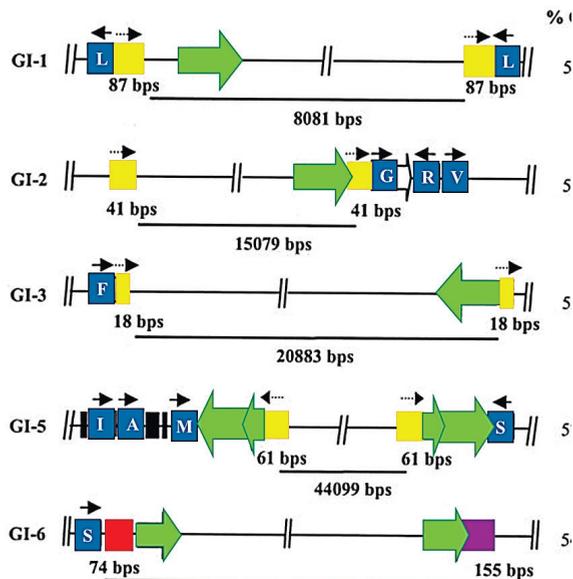


Рисунок 8. Структура геномных островов *B. melitensis* 16M (жёлтым цветом отмечены участки идентичных повторов, красным и фиолетовым - повторы, представленные в геноме несколькими копиями, синим - гены тРНК, ассоциированные с GI, чёрным - гены рРНК, ориентация каждого повтора или гена указана стрелкой, зелёными стрелками показаны открытые рамки считывания инсерционных последовательностей или интеграз; цифрами справа представлен GC-состав в %) [по Rajashekara G.]

Геномные острова можно рассматривать как закрепившиеся мутации репликативного происхождения, возникшие в геноме бруцелл после взаимодействия с макрофагами организма-хозяина. Тем не менее, GI часто сохраняют свои кодоны, то есть изменение геномного состава происходит посредством адаптивных мутаций [113]. Таким образом, основной особенностью нуклеотидной последовательности GI является атипичный нуклеотидный состав [66].

Наиболее важной характеристикой GI-подобных локусов является то, что они обычно кодируют гены, включение которых при определённых условиях окружающей среды дает микроорганизмам адаптивные преимущества: пути метаболической деградации [79], устойчивость к антибиотикам [140], симбиоз [159] и патогенные свойства [175].

Основываясь на функциональных классах генов, содержащихся в геномных островах бруцелл, их условно подразделяют на 2 группы: GI с хорошо известными или предполагаемыми факторами патогенности и GI, несущие гены, отличные от факторов патогенности, такие как метаболические, плазмидные или связанные с фагом регионы, содержащие гипотетические или неизвестные гены.

Основной интерес к геномным островам заключается в их потенци-

альной роли в приобретении вирулентности и детерминант приспособляемости. Установлено, что некоторые описанные GI неустойчивы и могут быть вырезаны из хромосомы путем рекомбинации [130]. Экспериментальные данные свидетельствуют о чужеродном происхождении таких локусов и предполагают объяснение полиморфизма, связанного с транслокацией этих крупных хромосомных областей у бруцелл.

Некоторые геномные острова бруцелл несут гены, кодирующие факторы вирулентности. Они включают *wbo* и *wbk* кластеры на хромосоме 1, кодирующие LPS, синтез полисахаридов и белков наружной мембраны [89, 114, 130]. Домен TIR содержит белок Btp1 [165] и располагается в области GI-3 размером 21 kb [114]. Белок MgtC является ключевым белком, определяющим вирулентность, принимает участие в поглощении магния [116], кодируется регионом, который явно был приобретен в результате горизонтального переноса [33], как и два гена *tatABC* и *tatD*, кодирующие двухкомпонентный транспортёр аргинина. Некоторые исследования показали роль в вирулентности GI и составляющих их генов [80, 95].

Авирулентность штаммов *B. ovis* для человека, главным образом, может быть ассоциирована с отсутствием в геноме бактерии геномного острова GI-2, необходимого для биосинтеза липополисахарида и экспрессии других важных факторов вирулентности, в том числе уреазы и белков внешней мембраны [197].

Остров патогенности GI-3, присутствующий в геноме штаммов *B. abortus*, *B. melitensis* и *B. ovis*, имеет 29 открытых рамок считывания, большинство из которых кодируют белки с неизвестной функцией [149]. В составе GI-3 находится открытая рамка считывания BAB1_0267, кодирующая гипотетический белок, содержащий домен SH3 (компактный белковый домен, взаимодействующий с белками, содержащими пролин и гидрофобные остатки), и BAB1_270, которая кодирует цинк-зависимую металлопептидазу. L. Ortiz-Roman с соавт. [149] получили делетированные мутанты *B. abortus* для ORF BAB1_0267 и BAB1_0270, которые были названы *B. abortus* 0267 и *B. abortus* 0270 соответственно. В обоих случаях мутация не влияла на рост бактерий на питательных средах. Указанные мутантные штаммы были оценены с точки зрения скорости роста, способности проникать и реплицироваться в фагоцитах, клетках HeLa, J774.A1 и сохранения *in vivo* в клетках селезенки мышей. При этом было установлено, что бруцеллы эффективно проникали в клетки HeLa и J774.A1, но оба мутанта продемонстрировали относительно низкую выживаемость внутри макрофагов и клетках HeLa через 72 и 96 ч после заражения соответственно, а в клетках J774.A1 не определялись уже через 120 ч. При изучении персистенции микроба *in vivo* мутант 0267 выявлялся на протяжении четырех недель после заражения, тогда как наличие мутанта 0270 обнаружилось через 7 дней после заражения и не определялось на второй неделе.

Таким образом, проведенные исследования показали, что белки, кодируемые открытыми рамками считывания BAV1_0267 и BAV1_270, являются важными факторами вирулентности бруцелл, способствующими их выживанию и размножению, главным образом внутри клеток ретикуло-эндотелиальной системы.

В соответствии с современными представлениями в геноме бруцелл насчитывается 15 регионов, включающих гены основных факторов вирулентности (таблица 6) [95].

Система секреции IV типа (T4SS) - ключевой фактор вирулентности возбудителя бруцелллёза. В геноме бруцелл эта система представлена опероном VirB (регион 15) размером около 11 860 п.н., объединяющим 12 генов [60, 146]. Штаммы *Brucella* spp. с частично или полностью делетированным локусом VirB не способны размножаться в эндоплазматической сети клетки организма-хозяина, что может быть связано с неспособностью формирования специализированного компартмента размножения бруцелл - бруцеллосодержащей вакуоли [63].

T4SS бруцелл обладает высокой степенью сходства с соответствующим локусом в ДНК фитопатогенных *Agrobacterium tumefaciens* [146].

J.P. Lavigne с соавт. при исследовании штаммов *B. suis* охарактеризовали фактор А вирулентности бруцелл - белок BvfA, регулируемый совместно с опероном virB и играющий важную роль во внутриклеточном размножении возбудителя бруцелллёза [118].

Анализ геномных последовательностей представителей рода *Brucella* подтвердил наличие двух открытых рамок считывания системы регуляции BvrR/BvrS на первой хромосоме: *bvrR* (2097414....2098133) и *bvrS* (2095498....2097303). Ген *bvrR* кодирует белок BvrR (237 аминокислот), а *bvrS* - белок BvrS (601 аминокислота). Существуют два вероятных промотора, расположенных в 50 п.н. выше последовательности *bvrR* и в 9 п.н. выше первого кодона [186].

Белок BvrR имеет сходство с белками-регуляторами ответа, поскольку N-концевой домен содержит фрагменты аспарагиновой кислоты и лизина. С-концевой домен по структуре близок последовательности белков семейства OmpR [133, 141]. Белок состоит из трех высококонсервативных доменов: N-концевого сенсорного, периплазматического домена с трансмембранным компонентом, цитоплазматического домена с остатком гистидина и С-концевого АТФ-связывающего домена [202].

Белок BvrS локализован в клеточной мембране [133] и включает четыре высококонсервативные области на С-концевом домене: H, N, D/F и G. Такая структура характерна для сенсорных белков семейства гистидин-протеинкиназ [189].

Система регуляции BvrR/BvrS является обязательным компонентом комплекса факторов вирулентности бруцелл, поскольку мутанты, дефектные по синтезу этих белков, не способны к инвазии, предотвра-

щению слияния фагосом с лизосомами и внутриклеточной репликации в макрофагах. Система VvrR/VvrS оказывает существенное влияние на экспрессию множества других генов [202]. В частности, VvrR/VvrS выступают в качестве регуляторов транскрипции мембранных белков: Omp3b (Omp22) или Omp3a (Omp25a), а также на биосинтез небелковых мембранных молекул и, следовательно, играют важную роль в обеспечении мембранного гомеостаза [132]. Мутации в генах, кодирующих VvrR/VvrS, приводят к структурным изменениям в молекуле LPS. При этом O-цепи, по-видимому, не нарушаются. Подобные мутанты не способны активировать ГТФазу (Cdc42) перед проникновением в клетку, поэтому непатогенны [90]. Кроме того, установлено, что система VvrR/VvrS отвечает за ограниченное слияние лизосом и внутриклеточный перенос возбудителя бруцеллёза [123].

Действие системы VvrR/VvrS бруцелл активирует сенсорный домен белка VvrS, распознавая сигналы из окружающей среды посредством активности киназы. Функции белка VvrS индуцируют фосфорилирование и активацию белка VvrR. В свою очередь, VvrR активирует транскрипцию *omp3a*, *omp3b* и других генов, ответственных за структуру липида А, и, возможно, коровую часть липополисахарида. Все это объясняет, почему мутанты, не содержащие гены *bvrS/bvrR*, более чувствительны к катионным пептидам и проявляют повышенную проницаемость для поверхностно-активных веществ [123, 181].

Было доказано, что двухкомпонентная система VvrR / VvrS регулирует экспрессию белков virB путем положительной регуляции экспрессии транскрипционного фактора VjbR (ген *vjbR*), взаимодействующего с промотором virB [133].

Таблица 6. Специфичные регионы в геноме *Brucella* spp. («+» - наличие региона в полном составе, «±» - наличие региона с потерей отдельных участков и генов, «-» - отсутствие региона) [по Wattam A.R.]

№ п/п	Вид	Хромосома 1													
		GI-3	SAR 1-2	Wbk	GI-Bs2	SAR 1-5	SAR 1-6	GI-2	Reg. 2	GI-1	Reg. 3	SAR 1-12	SAR 1-14	SAR 1-16	SAR 1-17
1	<i>B. abortus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	<i>B. melitensis</i>	+	+	+	±	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
3	<i>B. ovis</i>	+	+	±	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+
4	<i>B. ceti</i>	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	<i>B. pinnipedialis</i>	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	<i>B. suis</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	<i>B. suis</i> bv. 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	<i>B. neotomae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	<i>B. microti</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

№ п/п	Вид	Хромосома 2														
		Reg. 5	mgtc	virB	Reg. 7	Reg. 8	Reg. 9	IncP	Reg. 10	26,5 kb	SAR 2-7	SAR 2-8	SAR 2-10	GI-5	Reg. 14	Reg. 13
1	<i>B. abortus</i>	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+
2	<i>B. melitensis</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
3	<i>B. ovis</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
4	<i>B. ceti</i>	+	+	+	±	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+
5	<i>B. pinnipedialis</i>	+	+	+	±	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+
6	<i>B. suis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
7	<i>B. suis</i> bv. 5	+	+	+	+	+	+	±	+	-	+	+	+	+	+	+
8	<i>B. neotomae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
9	<i>B. microti</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+

Регион 4 (*shared anomalous region* 1-14, SAR 1-14) содержит гены, кодирующие ферменты синтеза полисахаридов [205] и ген *omp31*, кодирующий фосфолипазу, гомологичную эукариотическому пататину. Геномы многих патогенов животных и растений включают гены с доменами пататина. Вероятно, соответствующие белки участвуют в процессах адаптации к новым условиям окружающей среды и взаимодействии с организмом хозяина [30].

Регион 7 содержит два белка с высокой гомологией к эукариотическим белкам (BRA0135 и BRA0136) и белок, сходный с фосфолипазой, секретируемой легионеллами (BRA0131) [213].

Регион 14 включает несколько генов, аналоги которых обнаружены в островах патогенности микроорганизмов, паразитирующих на растениях, включая ген *hpaE* (BRA1161) [44].

Возбудитель бруцеллёза испытывает кислотный стресс в ходе инфекционного процесса: агрессивная среда в желудке при пероральном пути заражения и низкий pH в фагосоме [156]. Кислая среда индуцирует экспрессию целого ряда факторов вирулентности бруцелл [34]. Гены, ответственные за устойчивость микроорганизма к кислой среде, локализованы в регионе 9. Данный регион содержит Hfq-регулируемый ген *hdeA* (отвечает за устойчивость в слабокислой среде) [34], оперон *gad* (VBIBruSui107850_2552 и VBIBruSui107850_2553), продуцирующий непротеиногенную γ -аминомасляную кислоту (GABA), обеспечивающую устойчивость *B. microti* при pH < 3 [148]. Регион 9 постепенно подвергается деградации, о чем свидетельствует наличие отдельных нефункциональных генов вследствие мутаций сдвига рамки считывания или стоп-кодонов.

Уреаза - металлофермент, разлагающий мочевину до углекислоты и катиона аммония, что сопровождается увеличением pH - продуцируется всеми бактериями, принадлежащими к роду *Brucella*, за исключением *B. ovis* [169]. Действие уреазы позволяет микроорганизмам вы-

жизнью в кислой среде [181], в том числе при попадании в организм хозяина с пищей (перорально) [29].

Металлофермент уреазы синтезируется на хромосоме I двумя оперонами: *ure-1* и *ure-2*, разделёнными участком ДНК размером 1 Мб. *Ure-1* и *ure-2* кодируют структурные гены: *ureA*, *ureB*, *ureC* и вспомогательные гены: *ureD*, *ureE*, *ureF*, *ureG* [142].

Сравнение геномов бруцелл показало наличие второго оперона уреазы (*ure-2*) в полном составе у штаммов *B. suis* и *B. melitensis*. В геноме *B. abortus* отмечен сдвиг рамки считывания в гене *ureE2*, у *B. ovis* - в последовательностях *ureG2* и *ureT*.

Цитохромоксидаза - фермент, способствующий выживанию бруцелл в макрофагах в условиях относительно низкого содержания кислорода. Геном бруцелл включает два оперона, кодирующих два типа оксидаз с высоким сродством к кислороду: цитохром типа *cbb3* и цитохром *bd* (убихинолоксидазы). Цитохромоксидаза *cbb3* экспрессируется *in vitro* и позволяет микроорганизму колонизировать аноксические ткани (максимальное действие при микроаэриозе). Цитохром-*b*-оксидаза синтезируется во время внутриклеточного размножения бруцеллы и позволяет приспособиться к репликативной нише [122] путем связывания образующихся свободных радикалов и детоксикации компартмента внутри клетки [72]. Помимо цитохромоксидаз, свободные радикалы кислорода и активные производные азота могут инактивироваться алкилгидропероксид редуктазами *AhpC* и *AhpD* [50]. Гены, кодирующие *AhpC* и *AhpD*, локализованы в опероне под контролем одного промотора. Мутантные штаммы бруцелл, дефектные по синтезу *AhpC*, более чувствительны к действию пероксида водорода и склонны к спонтанному мутагенезу [64, 181].

Ген *XthA* кодирует экзонуклеазу III, которая участвует в базовой эксцизионной репарации ДНК. В геномах бруцелл встречаются два типа последовательностей *xthA*: *xthA-1* и *xthA-2*. Мутанты с нокаутом *XthA-1* проявляют повышенную чувствительность к активным формам кислорода, на основе чего можно предположить, что этот ген играет важную роль в защите клетки в условиях окислительного стресса [181].

Бруцеллы продуцируют липополисахарид (LPS), имеющий существенные отличия от аналогичных соединений других грамотрицательных бактерий [52, 82]. Липополисахарид бруцелл менее токсичен и менее активен, по сравнению с классическим LPS *E. coli*, обладает низкой пирогенностью, являясь слабым индуктором фактора некроза опухоли [52]. Основным компонентом липида А в составе LPS бруцелл является диаминоглюкоза вместо глюкозамина, для него характерны более длинные ацильные группы. Кроме того, липид А связан с полисахаридным ядром исключительно за счет амидных связей [115].

Большинство видов бруцелл продуцирует гладкий липополисахарид (S-LPS), который состоит из:

- 1) липида А на основе двух типов аминоклюкозы и остатков жирной кислоты (кроме β-гидроксимиристиновой кислоты);
- 2) полисахаридного ядра из остатков маннозы, глюкозы, хиновозамина;
- 3) О-цепи, построенной из 4-формамидо-4,6-дидезоксиманозы.

При взаимодействии бруцелл с поверхностью макрофага роль О-цепей LPS заключается в соединении с липидными рафтами мембраны клетки. Более того, штаммы с S-LPS способны сдерживать апоптоз клеток-хозяев путем взаимодействия О-цепи с фактором некроза опухоли (TNF-α) [75]. Основная группа генов, отвечающих за биосинтез О-цепей, располагается в регионе 16 (*wbk*), который мог появиться в геноме бруцелл посредством горизонтального переноса [88].

Структура R-LPS у штаммов бруцелл с шероховатыми колониями аналогична S-LPS, за исключением структуры О-цепей, которые уменьшены или отсутствуют [56]. К примеру, штаммы *B. canis* и *B. ovis* образуют шероховатые колонии, вследствие специфических мутаций. В частности, в геноме *B. canis* последовательности генов *wbkD* и *wbkF* существенно сокращены [212, 216], в то время как штаммы *B. ovis* имеют делецию в регионе *wbo* [204, 212] и сокращенные локусы *wzt* [212], *per* и *wbkE* [213].

В целом гены биосинтеза LPS отличаются высокой консервативностью. Исследование структуры генов, кодирующих LPS, у атипичных штаммов с гладким фенотипом показало значительное количество вариаций. Уникальный состав генов группы LPS среди бруцелл характерен для штаммов *B. inopinata*, у которых гены, кодирующие ферменты биосинтеза LPS на основе рамнозы, сходны с генами представителей рода *Ochrobactrum*. Существует гипотеза о том, что потеря липополисахарида из генома предкового микроорганизма, в состав которого входит гомополимер на основе рамнозы, и приобретение перозаминового LPS явились важнейшими этапами эволюции бруцелл при переходе к стратегии внутриклеточного паразитизма [216, 213].

Множество уникальных локусов в геноме возбудителя бруцеллёза содержат гены, обеспечивающие транспорт или поглощение ионов металлов, в особенности железа, магния и никеля [213].

В ответ на недостаток железа бруцеллы продуцируют монокатехоловый сидерофор 2,3-дигидроксибензойную кислоту (2,3-DHBA). Гены, кодирующие 2,3-DHBA, входят в состав оперона BRA0013 - BRA0016 региона 5. Другой ген, участвующий в регуляции содержания железа, - *dhbR* (BRA1192). Этот ген региона 13 кодирует транскрипционный регулятор AgaC-типа, представляющий второй уровень регуляции генов

биосинтеза сидерофоров в ответ на изменения концентрации Fe^{3+} во внешней среде [27].

Штаммы возбудителя бруцеллёза имеют одну систему транспорта магния из окружающей среды - MgtBC. Белок MgtC является важнейшим фактором вирулентности, обеспечивающим выживание клетки в условиях низких концентраций ионов Mg^{2+} и внутри макрофагов [212, 216]. Ген *mgtC* (BRA0040) в геноме бруцелл локализован в регионе 6 [33].

Многие бактерии, в том числе охробактерии, содержат белок HupE/UreJ, который отвечает за усвоение никеля. В отличие от охробактерий геном возбудителя бруцеллёза включает два оперона системы транспорта никеля (*nikABCDE* и *nikKLMQO*). Кроме того, описаны два фермента, для функционирования которых необходим никель (углерод монооксид дегидрогеназа и уреазы) и два уреазных оперона. Транспортный белок, кодируемый *nikKLMQO* (регион 3), широко представлен в геномах многочисленных представителей архей и бактерий [215] и является основным транспортёром никеля штамма *B. abortus* 2308 [170]. Один из уреазных оперонов региона 3 локализован выше последовательности этого транспортёра. Другой оперон - *nikABCDE* - не универсален и относительно редко встречается в бактериальных геномах [215]. Гены указанного оперона одними из первых начинают интенсивно экспрессироваться при внутриклеточном развитии возбудителя бруцеллёза, что объясняется низким содержанием в клетке организма-хозяина ионов никеля, однако, роль локуса *nikABCDE* как фактора вирулентности остается неустановленной [109]. Интересно, что геномы отдельных вирулентных штаммов *B. abortus* содержат мутацию сдвига рамки считывания в гене *nikA* [170], что может ассоциироваться с низкой уреазной активностью подобных штаммов [59].

В коровой части генома бруцелл обнаружены кодирующие участки двух белков BR0735 (GI-13, регион 2) и BAB1_0279 (регион 12), имеющих домены эукариотических интерлейкиновых Toll-рецепторов (TIR), которые участвуют в модулировании иммунного ответа организма-хозяина при инфицировании. Несмотря на то, что влияние приобретенного TIR-домена на коровый геном *Brucella* spp. не изучено, известно, что способность модулировать иммунный ответ организма-хозяина - важное свойство, обеспечившее широкое распространение бруцеллёзной инфекции среди разных видов млекопитающих [213].

Поиск и исследование генетических детерминант патогенных свойств возбудителя бруцеллёза активно продолжаются. Так, в 2017 г. шведские ученые описали новый геномный остров в геноме *B. canis* - GI_{FeGSH}, включающий гены ферментов усвоения железа и биосинтеза глутатиона [206].

Генетические детерминанты аттенуации вирулентных штаммов возбудителя бруцеллёза

В настоящее время продолжают исследования, посвящённые установлению молекулярных механизмов аттенуации вирулентных штаммов бруцелл.

Сравнение генома вакцинного штамма *B. abortus* S19 с двумя вирулентными штаммами *B. abortus* 2308 и *B. abortus* 9-941 при высокой идентичности открытых рамок считывания исследуемых геномов (более 96 %) определил ряд геномных различий, которые, вероятно, ассоциированы с аттенуацией. Для генома *B. abortus* S19 было установлено наличие делеции размером 1695 п.н., приводящей к сокращению открытой рамки считывания BAB1_0069. Однако роль указанной мутации в аттенуации неясна, учитывая существование подобной делеции в геномах других штаммов бруцелл. Более того, делеции в генах *eryC* (BAB2_0370) и *eryD* (BAB2_0369), участвующих в биосинтезе эритритола, также практически не влияют на вирулентные свойства микроорганизма [147, 168]. Напротив, делеция в BAB2_0376, по мнению авторов, приводит к потере способности синтезировать эритритол.

Анализ нуклеотидных последовательностей полных геномов вирулентного штамма *B. melitensis* M28 и производного вакцинного *B. melitensis* M5/90 выявил различия в виде единичных нуклеотидных полиморфизмов и инделов [108]. Из 126 обнаруженных SNP 29 были расположены в межгенных областях, 97 - в 12 кодирующих локусах. Кроме того, были описаны 74 индел-мутации, 43 из которых локализованы в кодирующих участках генома.

M. Salmon-Divon с соавт. (2018) установили, что идентичность геномов штамма *B. melitensis* 16M и вакцинного *B. melitensis* Rev.1 составляет 99,9 % [166, 167]. При общей коллинеарности геномов во второй хромосоме вакцинного штамма была выявлена инвертированная область размером 46874 п.н. в локусах BMEI10183, BMEI10228, однонуклеотидные замены в генах, ответственных за вирулентность, вовлечённых в липидный обмен, синтез клеточной стенки, метаболизм аминокислот, а также ряд инсерций и делеций в обеих хромосомах.

Первая хромосома *B. melitensis* Rev.1 включает 4 инсерции, одна из которых относительно крупная (3951 п.н.). Функциональный анализ описанных инсерций позволяет предположить их существенную роль в аттенуации штамма. В частности, инсерция размером 174 п.н. локализована в кодирующей области BMEI1729, отвечающей за экспрессию MerR - белка, ассоциированного с устойчивостью бактерии к ртути. Появление инсерции приводит к ослаблению защитных функций белка за счет изменения пространственного положения аминокислот, обеспечивающих связывание металлов. Вторая инсерция (135

п.н.) располагается в локусе BMEI1570 (возможно связан с синтезом гидроксипируват киназы), изменение структуры которого может приводить к снижению вирулентных свойств штамма. Самая большая инсерция в геноме между локусами BMEI0200 и BMEI0199 кодирует регуляторы транскрипции Cgo/Ci, роль которых в аттенуации штамма остается неустановленной.

В геноме *B. melitensis* Rev.1 при сравнении с *B. melitensis* 16M были обнаружены 3 специфичные делеции. Одна из делеций размером 27 п.н. на первой хромосоме находится в кодирующей области BMEI1651 белка UgeE1, который может быть связан с защитой клеток при пероральном попадании в организм человека [169]. Две другие делеции (24 п.н. в локусе BMEI1888 и 40 п.н. в локусе BMEI10784) связывают с изменениями в процессе индукции пролиферации клеток и снижением внутриклеточной выживаемости бруцелл в целом [73].

Гипотезы эволюции генома бруцелл

Предком бруцелл, вероятно, была однохромосомная почвенная бактерия или симбионт растений. Адаптация альфапротеобактерий к выживанию в организме эукариот сопровождалась редукцией генома. Так, средний размер генома микроорганизмов рода *Brucella* (3,3 Mb) примерно на 30 % меньше по сравнению с геномом бактерий рода *Ochrobactrum* (4,8 Mb) [26]. Кроме того, важнейшим этапом эволюции патогенных свойств стало приобретение оперона VirB вместе с набором дополнительных факторов, обеспечивающих выживание патогена в клетках хозяина. Изменение липида А в структуре ЛПС сопровождалось значительным снижением его эндотоксических свойств. Следующим этапом эволюции вирулентных свойств стало развитие способности модифицировать иммунную систему хозяина с использованием белков, содержащих TIR-домен. В результате после снижения вирулентности для бруцелл стала характерна так называемая stealth-стратегия незаметного проникновения в клетки хозяина с развитием хронической инфекции без полномасштабной воспалительной реакции на начальных стадиях.

При сравнении метаболических функций установлено, что геном бруцелл практически во всех категориях генов уступает по представительности близкородственным охробактериям. Особенно заметно сокращение количества генов, кодирующих белки, участвующие в метаболизме, утилизации или биосинтезе углеводов и аминокислот. При этом следует отметить два исключения: геном бруцелл содержит семь генов, ассоциированных с деградацией ароматических аминокислот, а также дополнительные гены, отвечающие за мембранный транспорт, в том числе ионов никеля [26].

Несмотря на то, что для микроорганизмов рода *Brucella* не характерно наличие плазмид, малая хромосома штаммов *B. suis* содержит гены репликации, сходные по структуре с плазмидными, что косвенно подтверждает теорию о происхождении второй хромосомы бруцелл из мегаплазмиды, полученной от предкового микроорганизма [15]. Упомянутые гены репликации позволяют дифференцировать штаммы *B. suis* от штаммов *B. abortus* и *B. melitensis* [29].

Существует две основные гипотезы эволюции структуры генома бруцелл, в том числе объясняющих особенности геномной организации штаммов *B. suis*. Первая гипотеза строится на предположении, что геномная ДНК общего предка *Brucella* spp. была представлена двумя хромосомами. Штаммы с одной хромосомой появились в ходе эволюции за счёт слияния двух репликонов. Согласно другой гипотезе предковый микроорганизм был монохромосомным, а мультихромосомные штаммы бруцелл затем возникли при фрагментации уникального репликона.

Вторая гипотеза представляется более вероятной, принимая во внимание, что для большинства видов класса α -Proteobacteria характерно наличие одной хромосомы. Кроме того, наличие двух одинаково активных точек начала репликации в одном репликоне должно приводить к снижению его стабильности [29].

Рядом учёных отмечалось низкое влияние рекомбинации на диверсификацию рода *Brucella* и высокую вероятность вклада клональной вариабельности на видообразование бруцелл [26, 28]. Формирование основных генетических вариантов, главным образом, связано с точечными мутациями [150]. Чрезвычайная редкость рекомбинационных событий в геноме бруцелл подтверждается, в том числе, данными палеогенетических исследований [151].

Таким образом, наиболее вероятно, что геном предка бруцелл состоял из одной хромосомы, которая была по структуре сходна с хромосомой штаммов *B. suis* биовара 3. Разные генетические линии *B. suis* могли сформироваться из предкового однохромосомного штамма путем гомологичной рекомбинации в локусах *rrn*. Например, рекомбинация между локусами *rrnA* и *rrnC* привела к образованию *B. suis* биовара 1 и другим видам *Brucella*, а рекомбинация между *rrnA* и *rrnB* привела к образованию *B. suis* биоваров 2 и 4. Уникальные особенности генома штамма *B. suis* 686, в частности специфичные транслокации и инверсии 44 фрагментов размером до 420 kb, которые отсутствуют во всех других геномах штаммов бруцелл того же вида, позволяют предположить, что указанный штамм эволюционировал изолированно от других штаммов *Brucella*.

Заключение

Отнесение бруцелл к самостоятельному роду принимается всеми исследователями и не подвергается сомнению. Вопросы, связанные с внутриродовой классификацией представителей рода *Brucella*, активно обсуждаются с момента открытия Дэвидом Брюсом (1886) возбудителя бруцеллёза. В настоящее время по способности адаптации к основному хозяину, культуральным, антигенным, метаболическим и вирулентным свойствам род бруцелла подразделяется на 12 видов: *B. abortus*, *B. canis*, *B. ceti*, *B. inopinata*, *B. melitensis*, *B. microti*, *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. papionis*, *B. pinnipedialis*, *B. suis*, *B. vulpis*

Возбудитель бруцеллёза отнесён к микроорганизмам II группы патогенности. Естественным резервуаром и источником инфекции являются домашние и реже дикие животные. Бруцеллы характеризуются большой устойчивостью и значительной жизнеспособностью вне организма хозяина. Возбудителям свойственна высокая инвазивность и способность проникать в организм хозяина через неповрежденные слизистые оболочки. Бруцеллы обладают гемотоксическим свойством, относятся к внутриклеточным паразитам, преимущественно персистируют внутри клеток мононуклеарно-макрофагальной системы (моноциты, тканевые макрофаги, дендритные клетки), могут также находиться в других клетках (трофобласты, фибробласты, эритроциты) и внеклеточно.

Бруцеллы всех видов морфологически очень схожи - относятся к группе грамотрицательных, аэробных/микроаэрофильных, очень мелких ($0,5-0,7 \times 0,6-1,5$ мкм), не инкапсулированных, факультативно внутриклеточно паразитирующих коккобацилл. Бруцеллы не образуют спор, не имеют жгутиков, окрашиваются всеми анилиновыми красителями.

Определение видовой принадлежности бруцелл имеет важное эпидемиологическое и эпизоотологическое значение с позиций установления источников (резервуаров) инфекции, фактов миграции возбудителя бруцеллёза от одного вида животных на другой (особенно опасна миграция *B. melitensis* на КРС).

Дифференциация видов бруцелл достаточно затруднительна в силу выраженной гомогенности их морфо-культуральных и метаболических признаков. Для определения вида бруцелл предложен комплекс наиболее информативных бактериологических тестов, основанных на оценке потребности бруцелл в повышенном содержании углекислого газа (CO_2) в среде роста, способности к образованию сероводорода (H_2S), изучении редуцирующей активности в отношении красителей (тионин, основной фуксин), способности агглютинироваться моноспецифическими бруцеллезными сыворотками (*anti-abortus*, *anti-melitensis*), чувствительности к бруцеллёзным бактериофагам.

К дополнительным для дифференциации вида бруцелл критериям относят их биохимическую и метаболическую активность. У бруцелл установлено наличие фосфатазы, каталазы, цитохромоксидазы, гиалуронидазы, уреазы, липазы и амилазы. Наибольшая активность ферментов уреазы, липазы и амилазы наблюдается у бруцелл вида *B. suis*. Возбудители бруцеллеза некоторых видов (биоваров) обладают различной биохимической активностью в отношении аминокислот и углеводов.

К наиболее перспективным направлениям совершенствования лабораторной диагностики бруцеллёза относят разработку и внедрение молекулярно-генетических технологий, направленных на детекцию, в том числе, видоспецифичных фрагментов генома патогена.

Определенные сложности идентификации бруцелл с использованием молекулярно-генетических методов обусловлены высоким уровнем генетической гомологии. Все виды бруцелл показали сходство организации структуры геномов и высокий процент ДНК идентичности (более 94 %). Бруцеллы вида *B. melitensis* имеют наиболее близкое генетическое родство с *B. abortus*, а вид *B. suis* - с *B. canis*. Геномные различия между видами бруцелл связаны с уникальными видовыми инсерциями, делециями ДНК-фрагментов и распределением псевдогенов.

Расширение знаний об уникальных особенностях структуры генома изолятов, выделенных на территориях разных стран, и интеграция полученных сведений в базы данных позволит более качественно использовать технологии высокопроизводительного секвенирования нуклеиновых кислот для выявления уровня генетических связей между различными штаммами, определения географического региона происхождения инфекции, установления причин, условий возникновения случаев заболевания животных и людей бруцеллёзом и локализации очага инфекции.

Геномный анализ штаммов возбудителя бруцеллёза показал селективную потерю отдельных геномных островов у разных видов бруцелл по сравнению с *B. melitensis*. Наличие или отсутствие геномных островов, очевидно, связано с проявлением уникальных свойств каждого вида микроорганизма в отношении адаптации к условиям окружающей среды, вирулентности и предпочтения организма-хозяина. Комплексное исследование функций отдельных GI в геноме вирулентных штаммов *Brucella* spp. позволит охарактеризовать ключевые гены в составе геномных островов, а также выявить генетические детерминанты важных фенотипических свойств, в том числе специфичной локализации бруцелл в тканях макроорганизма при инфекционном процессе.

Использование современных технологий транскриптомного анализа открывает качественно новый уровень исследования биологии

возбудителя бруцеллёза и инфекционного процесса. Знание функций ключевых генов патогенности бруцелл может стать научной основой разработки эффективных подходов диагностики, профилактики и лечения бруцеллёза.

Список литературы

1. Базиков И.А. Получение и характеристика Л-форм бруцелл и их ревертантов: автореф. дис... канд. мед. наук / И.А. Базиков. - Саратов, 1990. - 16 с.
2. Драновская Е.А. Таксономия возбудителя бруцеллеза / Е.А. Драновская // Актуальные вопросы профилактики бруцеллеза и организации мед. помощи больным: тез. докл. Всесоюз. конф., Новосибирск, 24-25 октября 1989 г. - Москва, 1989. - С. 54.
3. Здорововский П.Ф. Бруцеллез / П.Ф. Здорововский - М.: Изд. АМН СССР, 1948. - 232 с.
4. Касьян Ж.А. Разработка тест-системы для дифференциации видов бруцелл методом ПЦР с учётом результатов в режиме реального времени // Ж.А. Касьян, Н.А. Осина, С.А. Щербакова // Проблемы особо опасных инфекций. - 2016. - № 3. - С. 47-51.
5. Клинические рекомендации «Бруцеллёз у взрослых», URL:http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_325158/.
6. Кузнецова И.В. Изучение генетического разнообразия штаммов бруцелл, выделенных в Северо-Кавказском федеральном округе / И.В. Кузнецова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. - 2017. - № 3. - С. 58-62.
7. Кулаков Ю.К. Молекулярные аспекты персистенции бруцелл / Ю.К. Кулаков // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. - 2016. - № 1. - С. 3-8.
8. Кулаков Ю.К. Молекулярно-генетическая характеристика изолятов бруцелл, выделенных от собак и оленей в различных регионах России / Ю.К. Кулаков, Л.Е. Цирельсон, М.М. Желудков // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. - 2012. - № 4. - С. 28-33.
9. Определение дезаминаз аденина и аденозина у бактерий рода *Brucella* / В.Г. Майский, Р.Е. Цыганкова, А.И. Калиновский, Л.П. Репина // Актуальные вопросы профилактики бруцеллеза и организации мед. помощи больным: тез. докл. Всесоюз. конфер., Новосибирск, 24-25 октября 1989 г. - Москва, 1989. - С. 85-86.
10. Майский В.Г. О возможной корреляции некоторых особенностей метаболизма бруцелл с их филогенезом / В.Г. Майский, Р.Е. Цыганкова, И.Ф. Таран // Современные аспекты профилактики зоонозных инфекций: тез. докл. - Ставрополь, 1991. - С. 65-67.
11. Маликов В.Е. Липополисахарид (ЛПС) S-форм бруцелл / В.Е. Маликов // Актуальные вопросы профилактики бруцеллеза и организации мед. помощи больным: тез. докл. Всесоюз. конфер., Новосибирск, 24-25 октября 1989 г. - Москва, 1989. - С. 67.
12. Михайлов Л.М. Культурально-морфологические свойства бруцелл на этапах L-трансформации / Л.М. Михайлов, А.И. Калиновский, Н.Л. Баранникова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2012. - № 2 (84), Часть 1. - С. 135-138.
13. МУК 3.1.7.3402-16 Эпидемиологический надзор и лабораторная диагностика бруцеллёза. - М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2017. - 60 с.

14. Определитель бактерий Берджи / под ред. Дж. Хоупта, Н. Крига, П. Снита и др. - М.: Мир, 1997. - С. 81-143.
15. Осина Н.А. Определение видовой принадлежности штаммов бруцелл из фонда Государственной коллекции патогенных бактерий «Микроб» с помощью амплификационных и рестрикционных технологий / Н.А. Осина [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. - 2016. - № 4. - С. 69-74.
16. Соколова И.А. Свойства бруцелл, выделенных в очагах бруцеллеза на территории Ставропольского края, и совершенствование микробиологической диагностики бруцеллеза: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.00.07 / И.А. Соколова. - Ставрополь, 2001. - 19 с.
17. Хаммадов Н.И. Маркерные локусы генома бруцелл для дифференциальной ПЦР индикации патогенных штаммов / Н.И. Хаммадов [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. - 2018. - № 3. - С. 88-93.
18. Цыганкова Р.Е. Использование экзогенных пуриновых оснований бруцеллами / Р.Е. Цыганкова, В.Г. Майский // ООИ на Кавказе: тез. докл. к 6-й краев. науч. конф., посвящ. 70-летию Великой Октябрьской Соц. Революц. Дек. 1987 г. - Ставрополь, 1987. - С. 253-254.
19. Усвоение экзогенных пиримидиновых оснований и их нуклеозидов бруцеллами / Р.Е. Цыганкова, В.Г. Майский, Ю.В. Солдатова, Л.Д. Захарченко // ООИ на Кавказе: тез. докл. к 6-й краев. науч. конф., посвящ. 70-летию Великой Октябрьской Соц. Революц., дек. 1987 г. - Ставрополь, 1987. - С. 254-255.
20. Цыганкова Р.Е. Усвоение экзогенных гуанина и гуанозина бруцеллами / Р.Е. Цыганкова, В.Г. Майский, И.Ф. Таран // Актуальные вопросы профилактики бруцеллеза и организации мед. помощи больным: тез. докл. Всесоюз. конфер., Новосибирск, 24-25 октября 1989 г. - Москва, 1989. - С. 86-88.
21. Яровой Л.В. Бруцеллез овечье-козьего типа у человека / Л.В. Яровой - Ставрополь, 1959. - 31 с.
22. Evaluation of *Brucella* MLVA typing for human brucellosis / S. Al Dahouk [et al.] // J. Microbiol Methods. - 2007. - Vol. 69. - P. 137-145.
23. Intraspecies biodiversity of the genetically homologous species *Brucella microti* / Al S. Dahouk, E. Hofer, H. Tomaso, G. Vergnaud, Le P. Flèche, A. Cloeckart [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. - 2012. - Vol. 78. - P. 1534-1543.
24. Aftab H. Imported brucellosis in Denmark: molecular identification and multiple-locus variable number tandem repeat analysis (MLVA) genotyping of the bacteria / H. Aftab [et al.] // Scand J. Infect. Dis. - 2011. - Vol. 43. - P. 536-538.
25. Allardet-Servent A. DNA polymorphism in strains of the genus *Brucella* / A. Allardet-Servent [et al.] // J. of bacteriology. - 1988. - Vol. 170 (10). - P. 4603-7.
26. Altenbern R.A. Chromosomal mapping of *Brucella abortus*, strain 19 / R.A. Altenbern // Can J. Microbiol. - 1973. - Vol. 19. - P. 109-112.
27. Anderson E.S. The AraC-like transcriptional regulator *DhbR* is required for maximum expression of the 2,3- dihydroxybenzoic acid biosynthesis genes in *Brucella abortus* 2308 in response to iron deprivation / E.S. Anderson, J.T Paulley, RM. Roop // J. Bacteriol. - 2008. - Vol. 190. - P. 1838-1842. doi: 10.1128/jb.01551-07.
28. Banai M., Corbel M. Taxonomy of *Brucella* / M. Banai, M. Corbel // The Open Veterinary Science Journal. - 2010. - № 4. - P. 85-101.
29. *Brucella suis* urease encoded by *ure1* but not *ure2* is necessary for intestinal infection of BALB/c mice / Bandara A.B. [et al.] // BMC Microbiol. - 2007. - Vol. 7. - P. 57-70.

30. Banerji S. Patatin-like proteins: a new family of lipolytic enzymes present in bacteria? / S. Banerji, A. Flieger // *J. Microbiology*. - 2004. - Vol. 150. - P. 522-525.
31. Comparative application of IS711-based polymerase chain reaction (PCR) and loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for canine brucellosis diagnosis / M.C.A. Batinga [et al.] // *J. Mol Cell Probes*. - 2018. - Vol. 39. - P. 1-6.
32. Phenotypic and genotypic characterization of *Brucella* strains isolated from autochthonous livestock reveals the dominance of *B. abortus* biovar 3a in Nigeria / W.J. Bertu, M.J. Ducrotoy, P.M. Muñoz, V. Mick, A. Zúñiga-Ripa, W. Bryssinckx, [et al.] // *J. Vet. Microbiol.* - 2015. - Vol. 180. - P. 103-108.
33. Blanc-Potard A.B. MgtC as a horizontally acquired virulence factor of intracellular bacterial pathogens: evidence from molecular phylogeny and comparative genomics. / A.B. Blanc-Potard, B. Lafay // *J. Mol. Evol.* - 2003. - Vol. 57. - P. 479-486.
34. Boschioli M.L. The *Brucella suis* virB operon is induced intracellularly in macrophages / M.L. Boschioli, S. Ouahrani-Bettache, V. Foulongne [et al.] // *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* - 2002. - Vol. 99. - P. 1544-1549.
35. Bricker B.J. Evaluation of the HOOF-Print assay for typing *Brucella abortus* strains isolated from cattle in the United States: results with four performance criteria / B.J. Bricker, D.R. Ewalt // *BMC Microbiol.* - 2005. - Vol. 5 (37). doi:10.1186/1471-2180-5-37.
36. Bricker B.J. Differentiation of *Brucella abortus* bv. 1, 2, and 4, *Brucella melitensis*, *Brucella ovis*, and *Brucella suis* bv. 1 by PCR / B.J. Bricker, S.M. Halling // *J. Clin. Microbiol.* - 1994. - Vol. 32 (11). - P. 2660-6.
37. Bricker B.J. Enhancement of the *Brucella* AMOS PCR assay for differentiation of *Brucella abortus* vaccine strains S19 and RB51 / B.J. Bricker, S.M. Halling // *J. Clin. Microbiol.* - 1995. - Vol. 33 (6). - P. 1640-1642.
38. Broughton E.S. The differentiation of *Brucella* species by substrate specific tetrasolin reduction / E.S. Broughton, K.L. Jahans // *Vet. Microbiology*. - 1997. - Vol. 57 (2-3). - P. 253-71.
39. Buddle M.B. Studies on *Brucella ovis* (n.sp.), a cause of genital disease of sheep in New Zealand and Australia / M.B. Buddle // *J. Hyg (Lond)*. - 1956. - Vol. 54. - P. 351-64.
40. Mechanisms of bacteria survival / O.V. Bukharin, A.P. Gunzburg, Yu.M. Romanova [et al.] - *M: Medicine*, 2005. - 365 p.
41. Bundle D.R. Structural elucidation of the *Brucella melitensis* M antigen by high-resolution NMR at 500 Mhz. / D.R. Bundle, J.W. Cherwonogrodzky, M.B. Perry // *Biochemistry*. - 1987. - Vol. 26, № 26. - P. 8717-8726.
42. Bundle D.R. Brucellosis: Improved Diagnostics and Vaccine Insights from Synthetic Glycans / D.R. Bundle, J. McGiven // *Acc. Chem. Res.* - 2017. - Vol. 50. - P. 2958-2967.
43. Busse H.J. Classification and identification of bacteria: current approaches to an old problem. Overview of methods used in bacterial systematic / H.J. Busse, E.B. Denner, W. Lubitz // *J. Biotechnol.* - 1996. - Vol. 47 (1). - P. 3-38.
44. Buttner D. Characterization of the nonconserved *hpaB-hrpF* region in the *hrp* pathogenicity island from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* / D. Buttner, L. Noel, J. Stuttmann, U. Bonas // *Mol. Plant Microbe Interact.* - Vol. 20. - P. 1063-1074.
45. *Brucella* spp noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system / P.G. Cardoso, G.C. Macedo, V. Azevedo, S.C. Oliveira // *Microb Cell Fact.* - 2006. - № 5. - P. 13.
46. Carmichael L.E. Characteristics of a newly recognized species of *Brucella* responsible for infectious canine abortions / L.E. Carmichael, D.W. Bruner // *Cornell Veterinarian*. - 1968. - Vol. 58. - P. 579-592.

47. Chawjiraphan W. Multilocus sequence typing of *Brucella* isolates from Thailand / W. Chawjiraphan [et al.] // Southeast Asian J. Trop Med Public Health. - 2016. - Vol. 47 (6). - P. 1270-1287.
48. Chen Y.J. Development of an extended multilocus sequence typing for genotyping of *Brucella* isolates / Y. J. Chen [et al.] // Microbiol. Methods. - 2011. - Vol. 86 (2). - P. 252-254. doi.org/10.1016/j.mimet.2011.05.013.
49. Chen Y. Changes of predominant species/biovars and sequence types of *Brucella* isolates, Inner Mongolia, China / Y. Chen [et al.] // BMC Infect. Dis. - 2013. - Vol. 13. - P. 1-9.
50. Chen L. Alkyl hydroperoxide reductase subunit C (AhpC) protects bacterial and human cells against reactive nitrogen intermediates / L. Chen, Q.W. Xie, C. Nathan // J. Mol. Cell. - 1998. - Vol. 1 (6). - P. 795-805.
51. Cherwonogrodzky J.W. Identification of the A and M antigens of *Brucella* as the O-polysaccharides of smooth lipopolysaccharides / J.W. Cherwonogrodzky, B. Perry Malcolm, D. R. Bundle // Can. J. Microbiol. - 1987. - Vol. 33, № 11. - P. 979-998.
52. Christopher S. Brucellosis: review on the recent trends in pathogenicity and laboratory diagnosis / S. Christopher, B.L. Umapathy, K.L. Ravikumar // J. Lab. Physicians. - 2010. - Vol. 2. - P. 55-60. doi: 10.4103/0974-2727.72149.
53. Restriction site polymorphism of the genes encoding the major 25 kDa and 36 kDa outer membrane proteins of *Brucella* / A. Cloeckaert [et al.] // J. Microbiology. - 1995. - Vol. 141. - P. 2111-2121.
54. Classification of *Brucella* spp. isolated from marine mammals by DNA polymorphism at the omp2 locus / A. Cloeckaert, J.M. Verger, M. Grayon, J.Y. Paquet, B. Garin-Bastuji, G. Foster and J. Godfroid // Microbes Infect. - 2001. - Vol. 3. - P. 729-738.
55. Identification of lptA, lpxE, and lpxO, Three Genes Involved in the Remodeling of *Brucella* Cell Envelope / R. Conde-Alvarez, L. Palacios-Chaves, Y. Gil-Ramirez [et al.] // Front Microbiol. - 2018. - Vol. 8. - P. 2657. doi:10.3389/fmicb.2017.02657.
56. Corbel M.J. Brucellosis: an overview / M.J. Corbel // Emerg Infect Dis. - 1997. - Vol. 3 (2). - P. 213-221.
57. Corbel M.J. International Committee on Systematic Bacteriology Subcommittee on the taxonomy of *Brucella*. Minutes of the meeting, 5 and 7 July 1994, Prague, Czech Republic. Int. J. Syst. / M.J. Corbel and I. Moriyón // Evol. Microbiol. - 2006. - Vol. 56. - P. 1169-1170.
58. Corbel M.J. DNA analysis of *Brucella*: present and future. In: Verger J.M., Plommet M., Eds. - The Hague: Martinus Nijhoff Pub., 1985. - P. 21-27.
59. Corbel M.J. Urease activity of *Brucella* species / M.J. Corbel, D.M. Hendry // Res. Vet. Sci. - 1985. - Vol. 38. - P. 252-253.
60. De Jong M.F. Brucellosis and type IV secretion / M.F. de Jong, R.M. Tsolis // J. Future Microbiol. - Vol. 7 (1). - P. 47-58.
61. Molecular strain typing of *Brucella abortus* isolates from Italy by two VNTR allele sizing technologies. / R. De Santis [et al.] // Mol. Biotechnol. - 2013. - Vol. 55. - P. 101-110.
62. Del Vecchio V.G. The genome sequence of the facultative intracellular pathogen *Brucella melitensis* / V.G. Del Vecchio, V. Kapatral, R.J. Redkar // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2002. - Vol. 99. - P. 443-448.
63. Identification of *Brucella* spp. genes involved in intracellular trafficking / R.M. Delrue [et al.] // Cell Microbiol. - 2001. - Vol. 3 (7). - P. 487-97.
64. The genome sequence of the facultative intracellular pathogen *Brucella*

melitensis / V.G. DelVecchio, V. Kapatral, R.J. Redkar [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. - 2002. - Vol. 99. - P. 443-448.

65. A systematic review of matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry compared to routine microbiological methods for the time taken to identify microbial organisms from positive blood cultures / P. Dixon [et al.] // European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. - 2015. - Vol. 34 (5). - P. 863-876.

66. Genomic islands in pathogenic and environmental microorganisms / U. Dobrindt, B. Hochhut, U. Hentschel, J. Hacker // J. Nat. Rev. Microbiol. - 2004. - Vol. 2. - P. 414-424.

67. Genetic stability of *Brucella abortus* isolates from an outbreak by multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA16) / E.M. Dorneles, J.A. Santana, T.M. Alves, R.B. Pauletti, J.P. Mol, B.M. Heinemann [et al.] // BMC Microbiol. - 2014. - Vol. 14. - P. 186. doi: 10.1186/1471-2180-14-186

68. Molecular cloning and characterization of *cgs*, the *Brucella abortus* cyclic (1-2) glucan synthetase gene: Genetic complementation of *Rhizobium meliloti* ndvB and *Agrobacterium tumefaciens* chvB mutants / A. Dricot [et al.] // J. Bacteriol. - 1998. - Vol. 180. - P. 4392-4400.

69. Generation of the *Brucella melitensis* ORFeome version 1 / A. Dricot [et al.] // Genome Research. - 2004. - Vol. 4. - P. 2201-2206.

70. Dubray G. Evidence of heterogeneity of lipopolysaccharides among *Brucella* biovars in relation to A and M specificities / G. Dubray, J. Limet // Ann. Inst. Pasteur. Microbiol. - 1987. - Vol. 138, № 1. - P. 27-37.

71. Effects of Thermoextracts of *Brucella* S and L Forms on Lipid Peroxidation and Antioxidant Defense in Organs of Laboratory Animals / V.I. Dubrovina, S.V. Balakhonov, O.V. Yurieva [et al.] // Bull Exp Biol Med. 2018. - 165. - P. 239-242. doi:10.1007/s10517-018-4138-2.

72. Endley S. Interruption of the *cydB* locus in *Brucella abortus* attenuates intracellular survival and virulence in the mouse model of infection / S. Endley, D. McMurray, T.A. Ficht // J. Bacteriol. - 2001. - Vol. 183 (8). - P. 2454-62.

73. *Brucella abortus* genes identified following constitutive growth and macrophage infection / L. Eskra [et al.] // Infect Immun. - 2001. - Vol. 69. - P. 7736-7742.

74. Feil E. Small change: keeping pace with microevolution / E. Feil // Nature Reviews Microbiology. - 2004. - Vol. 2 (6). - P. 483-495.

75. Interactions between *Brucella melitensis* and human phagocytes: bacterial surface O-Polysaccharide inhibits phagocytosis, bacterial killing, and subsequent host cell apoptosis / C.M. Fernandez-Prada [et al.] // Infect. Immun. - 2003. - Vol. 71. - P. 2110-2119.

76. Ficht T. *Brucella* taxonomy and evolution / T. Ficht // Future Microbiol. - 2010. - Vol. 5. - P. 859-866.

77. Identification of a two-partner secretion locus of enterotoxigenic *Escherichia coli* / J. Fleckenstein [et al.] // Infection and immunity. - 2006. - Vol. 74 (4). - P. 2245-2258.

78. *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts / G. Foster, B.S. Osterman, J. Godfroid, I. Jacques and A. Cloeckart // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2007. - Vol. 57. - P. 2688-2693.

79. The *clc* element of *Pseudomonas* sp. strain B13, a genomic island with various catabolic properties / M. Gaillard [et al.] // J. Bacteriol. - 2006. - Vol. 188. - P. 1999-2013.

80. Gal-Mor O. Pathogenicity islands: a molecular toolbox for bacterial virulence. / O. Gal-Mor, B.B. Finlay // Cell. Microbiol. - 2006. - Vol. 8. - P. 1707-1719.
81. Garcia-Yoldi D. Restriction site polymorphisms in the genes encoding new members of group 3 outer membrane protein family of *Brucella* spp. / D. García-Yoldi, C.M. Marín, I. López-Goñi // FEMS Microbiology Letters. - 2005. - Vol. 245 (1). - P. 79-84.
82. *Brucella* spp. noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system / P.G. Cardoso [et al.] // Microb. Cell. Fact. - 2006. - Vol. 23. - P. 5-13.
83. Gargani G. International Committee on Systematic Bacteriology Subcommittee on the taxonomy of *Brucella*. Correspondence Report (Interim Report), 1991-1993 / G. Gargani and A. López-Merino // J. Syst. Evol. Microbiol. - 2006. - Vol. 56. - P. 1167-1168.
84. Investigating genetic diversity of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* in Italy with MLVA-16 / G. Garofolo [et al.] // Infect. Genet. Evol. - 2013. - Vol. 19. - P. 59-70.
85. MLVA16 loci panel on *Brucella* spp. using multiplex PCR and multicolor capillary electrophoresis. / G. Garofolo [et al.] // J. Microbiol. Methods. - 2013. - Vol. 92. - P. 103-107.
86. Cases of human brucellosis in Sweden linked to Middle East and Africa / G. Garofolo [et al.] // BMC Res Notes. - 2016. - Vol. 9. - P. 227.
87. Molecular typing of *Brucella melitensis* endemic strains and differentiation from the vaccine strain Rev-1 / T. Georgios [et al.] // Vet. Res. Commun. - 2012. - Vol. 36 - P. 7-20.
88. Genetic organisation of the lipopolysaccharide O-antigen biosynthesis region of *Brucella melitensis* 16M (*wbk*) / F. Godfroid, A. Cloeckert, B. Taminiau [et al.] // Res. Microbiol. - 2000. - Vol. 151. - P. 655-668.
89. Lipopolysaccharide (LPS) from *Brucella abortus* is less toxic than that from *Escherichia coli*, suggesting the possible use of *B. abortus* or LPS from *B. abortus* as a carrier in vaccines. / J. Goldstein, T. Hoffman, C. Frasch [et al.] // Infect. Immun. - 1992. - Vol. 60. - P. 1385-1389.
90. GTPases of the Rho subfamily are required for *Brucella abortus* internalization in nonprofessional phagocytes: direct activation of Cdc42 / C. Guzman-Verri [et al.] // J. Biol. Chem. - 2001. - Vol. 276 (48). - P. 44435-44443.
91. Genotyping of *Brucella melitensis* strains from dromedary camels (*Camelus dromedarius*) from the United Arab Emirates with multiple-locus variable-number tandem repeat analysis / M. Gyuranecz [et al.] // J. Vet Microbiol. - 2016. - Vol. 186. - P. 8-12.
92. Pathogenicity islands and the evolution of microbes / J. Hacker, J.B. Kaper // Annu. Rev. Microbiol. - 2000. - Vol. 54. - P. 641-679.
93. Completion of the genome sequence of *Brucella abortus* and comparison to the highly similar genomes of *Brucella melitensis* and *Brucella suis* / S.M. Halling, B.D. Peterson-Burch, B.J. Bricker [et al.] // J. Bacteriol. - 2005. - Vol. 187. - P. 2715-2726.
94. Novel identification and differentiation of *Brucella melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, and *B. neotomae* suitable for both conventional and real-time PCR systems / V. Hinic [et al.] // J. Microbiol. Methods. - 2008. - Vol. 75. - P. 375-378. doi: 10.1016/j.mimet.2008.07.002.
95. The association of virulence factors with genomic islands / S.J. Ho Sui, A. Fedynak, W.W. Hsiao, M.G. Langille, F.S. Brinkman // PLoS One. - 2009. - Vol. 4. - P. 8094.
96. Hoyer B.H. Homologies of deoxyribonucleic acids from *Brucella ovis*, canine abortion organisms, and other *Brucella* species / B.H. Hoyer, N.B. McCullough // J. Bacteriol. - 1968. - Vol. 96. - P. 1783-90.

97. Hoyer B.H. Polynucleotide homologies of *Brucella* deoxyribonucleic acids / B.H. Hoyer, N.B. McCullough / B.H. Hoyer // J. Bacteriol. - 1968. - Vol. 95. - P. 444-448.
98. Huddleson I.F. The differentiation of the species of the genus *Brucella* / I.F. Huddleson // Michigan State College Agricultural Experimental Station Technical Bulletin. - 1929. - № 100. - P. 1-16.
99. Hughes M.L. The natural history of certain fevers occurring in the Mediterranean / M.L. Hughes // Mediterranean Nature. - 1893. - № 2. - P. 325-327.
100. Conventional and molecular biotyping of *Brucella* strains isolated from cattle, sheep and human in Kayseri, Turkey / T. Ica [et al.] // Ankara Üniv Vet Fak Derg. - 2012. - Vol. 59. - P. 259-264.
101. ICSB, Subcommittee on the taxonomy of *Brucella*: Report of the meeting, 5 September 1986, Manchester, England. Int. // J. Syst. Bacteriol. - 1988. - № 38. - P. 450-452.
102. Recovery of a medieval *Brucella melitensis* genome using shotgun metagenomics. / G.L. Kay [et al.] // MBio. - Vol. 5 (4). - 2014. - P.01337-14.
103. Complete genome sequence of *Brucella canis* strain HSK A52141, isolated from the blood of an infected dog / J.S. Kim [et al.] // J. Bacteriol. - 2012. - Vol. 194 (18). - P. 5134.
104. The *Salmonella enterica* pan-genome / A. Jacobsen [et al.] // Microb Ecol. - 2011. - Vol. 62. - P. 487-504.
105. Genotyping of *Brucella* species using clade specific SNPs / T.F. Jeffrey [et al.] // BMC Microbiology. - 2012. - Vol. 12. - P. 110. doi: 10.1186/1471-2180-12-110.
106. Joint FAO/ WHO Expert Committee on Brucellosis. - Geneva, 1986. - 132 p.
107. MLVA genotyping of Chinese human *Brucella melitensis* biovar 1, 2 and 3 isolates / H. Jiang [et al.] // BMC Microbiol. - 2011. - Vol. 11 (256). - P. 536-538.
108. Comparative genomic analysis of *Brucella melitensis* vaccine strain M5 provides insights into virulence attenuation / H. Jiang [et al.] // PLoS One. - 2013. - Vol. 8 (8). - P. e70852. doi: 10.1371/journal.pone.0070852.
109. Identification of the nik gene cluster of *Brucella suis*: regulation and contribution to urease activity / V. Jubier-Maurin, A. Rodrigue, S. Ouahrani-Bettache [et al.] // J. Bacteriol. - 2001. - Vol. 183. - P. 426-434.
110. Differences in chromosome number and genome rearrangements in the genus *Brucella* / E. Jumas-Bilak [et al.] // J. Mol. Microbiol. - 1998. - Vol. 27 (1). - P. 99-106.
111. Evaluation of Brucellosis in Patients and Diagnostic Tests / S. Kazemi [et al.] // Online J. Anim. Feed Res. - 2015. - Vol. 4 (3). - P. 60-66.
112. Kubler-Kielb J. Reinvestigation of the structure of *Brucella* O-antigens / J. Kubler-Kielb, E. Vinogradov // Carbohydr. Res. - 2013. - № 378. - P. 144-147.
113. Langille M.G. Evaluation of genomic island predictors using a comparative genomics approach. / M.G. Langille, W.W. Hsiao, F.S. Brinkman // BMC Bioinformatics. - 2008. - Vol. 9. - P. 329.
114. Langille M.G. Detecting genomic islands using bioinformatics approaches. / M.G. Langille, W.W. Hsiao, F.S. Brinkman // J. Nat. Rev. Microbiol. - 2010. - Vol. 8. - P. 373-382.
115. *Brucella* lipopolysaccharide acts as a virulence factor / N. Lapaque [et al.] // Curr. Opin. Microbiol. - 2005. - Vol. 8 (1). - P. 60-66. doi: 10.1016/j.mib.2004.12.003.
116. Lavigne J.P. Requirement of MgtC for *Brucella suis* intramacrophage growth: a potential mechanism shared by *Salmonella enterica* and *Mycobacterium tuberculosis* for adaptation to a low-Mg²⁺ environment. / J.P. Lavigne, D. O'Callaghan, A.B. Blanc-Potard // Infect. Immun. - 2005. - Vol. 73. - P. 3160-3163.
117. The *IncP* island in the genome of *Brucella suis* 1330 was acquired by site-specific

- integration / J.P. Lavigne [et al.] // Infect Immun. - 2005. - Vol. 73 (11). - P. 7779-7783.
118. Identification of a New Virulence Factor, BvfA, in *Brucella suis* / J.P. Lavigne [et al.] // Infection and Immunity. - 2005. - Vol. 73. - P. 5524-5529.
119. Evaluation and selection of tandem repeat loci for a *Brucella* MLVA typing assay / P. Le Fleche [et al.] // BMC Microbiol. - 2006. - Vol. 6 (9). doi:10.1186/1471-2180-6-9.
120. Genomic Characterization Provides New Insights for Detailed Phage- Resistant Mechanism for *Brucella abortus* / X.M. Li, Y.X. Kang, L. Lin [et al.] // Front Microbiol. - 2019. - Vol. 10. - P. 917.
121. Comparative genomics of *Mycoplasma*: analysis of conserved essential genes and diversity of the pan genome. / W. Liu [et al.] // PLoS One. - 2012. - Vol. 7. - P. 35698.
122. Differential use of the two high-oxygen-affinity terminal oxidases of *Brucella suis* for *in vitro* and intramacrophagic multiplication / S. Loisel-Meyer [et al.] // Infect. Immun. - 2005. - Vol. 73 (11). - P. 7768-71.
123. Regulation of *Brucella* virulence by the two-component system BvrR/BvrS / I. López-Goñi [et al.] // Vet Microbiol. - 2002. - Vol. 90 (1-4). - P. 329-339.
124. Evaluation of a multiplex PCR assay (Bruce-ladder) for molecular typing of all *Brucella* species including the vaccine strains / I. Lopez-Goni [et al.] // J. Clin. Microbiol. - 2008. - Vol. 46. - P. 3484-3487.
125. New Bruce-ladder multiplex PCR assay for the biovar typing of *Brucella suis* and the discrimination of *Brucella suis* and *Brucella canis* / I. Lopez-Goni [et al.] // Vet. Microbiol. - 2011. - Vol. 154. - P. 152-155.
126. Lopez-Goni I., *Brucella: Molecular Microbiology and Genomics* / I. Lopez-Goni I O'Callaghan, - Caister Academic Press, 2012. ISBN 978-1-904455-93-6.
127. Immune Response to Mucosal *Brucella* Infection / R. Lopez-Santiago, A.B Sanchez-Argaez, L.G. De Alba-Nunez, S.L. Baltierra-Uribe and M.C. Moreno-Lafont // Front. Immunol. - 2019. - Vol. 10. - P. 1759.
128. Marx A. Immunochemical studies on *Brucella abortus* lipopolysaccharides / A. Marx, J. Ionescu, A. Pop // Zbl. Bacteriol. - 1983. - Vol. 253, № 4. - P. 544-553.
129. Mancilla M. Smooth to Rough Dissociation in *Brucella*: The Missing Link to Virulence / M. Mancilla // Front Cell Infect Microbiol. - 2016. - Vol. 5. - P. 98.
130. Genomic island 2 is an unstable genetic element contributing to *Brucella* lipopolysaccharide spontaneous smooth-to-rough dissociation / M. Mancilla, I. Lopez-Goni, I. Moriyon, A.M. Zarraga // J. Bacteriol. - 2010. - Vol. 192. - P. 6346-6351.
131. Spontaneous excision of the O-polysaccharide wbkA glycosyltransferase gene is a cause of dissociation of smooth to rough *Brucella* colonies / M. Mancilla, C.M. Marin, J.M. Blasco, A.M. Zarraga, I. Lopez-Goni, I. Moriyon // J. Bacteriol. - 2012. - Vol. 194. - P. 1860-1867.
132. BvrR/BvrS-controlled outer membrane proteins Omp3a and Omp3b are not essential for *Brucella abortus* virulence / L. Manterola [et al.] // Infect Immun. - 2007. - Vol. 75 (10). - P. 4867-4874.
133. The two-component system BvrR/BvrS regulates the expression of the type IV secretion system VirB in *Brucella abortus* / C. Martinez-Nunez [et al.] // J. Bacteriol. - 2010 - Vol. 192 (21). - P. 5603-5608.
134. The microbial pan-genome / D. Medini [et al.] // Curr Opin Genet Dev. - 2005. - Vol. 15. - P. 589-594.
135. Fine structure of A and M antigens from *Brucella* biovars / J. Meikle Peter, B. Perry Malcolm, J.W. Cherwonogrodzky, D.R. Bundle // J. Infec. and Immun. - 1989. - Vol. 57, № 9. - P. 2820-2828.

136. Meyer K.F. A comparison of the morphologic, cultural and biochemical characteristics of *B. abortus* and *B. melitensis* from cattle. Studies on the genus *Brucella* nov. gen. / K.F. Meyer, E.B. Shaw // J. of Infectious Diseases. - 1920. - Vol. 27. - P. 173-184.
137. Meyer M.E. Metabolic characterisation of the genus *Brucella* / M.E. Meyer, H.S. Cameron // J. Bacteriol. - 1961. - № 82. - P. 396-400.
138. Genome structure and phylogeny in the genus *Brucella* / S. Michaux-Charachon [et al.] // J. Bacteriol. - 1997. - Vol. 179 (10). - P. 3244-3249.
139. The bacterial pan-genome: a new paradigm in microbiology / A. Mira [et al.] // Int. Microbiol. - 2010. - Vol. 13. - P. 45-57.
140. Miriagou V. Antimicrobial resistance islands: resistance gene clusters in *Salmonella* chromosome and plasmids. / V. Miriagou, A. Carattoli, S. Fanning // Microbes Infect. - 2006. - Vol. 8. - P. 1923-1930.
141. Mizuno T. Structure of the DNA-binding domain of the OmpR family of response regulators / T. Mizuno, I. Tanaka // Mol Microbiol. - 1997. - Vol. 24 (3). - P. 665-667.
142. Mobley H.L. Molecular biology of microbial ureases / H.L. Mobley, M.D. Island, R.P. Hausinger // Microbiol Rev. - 1995. - Vol. 59 (3). - P. 451-80.
143. Comparing Rapid and Specific Detection of *Brucella* in Clinical Samples by PCR-ELISA and Multiplex-PCR Method / S. Mohammad Hasani [et al.] // Iran. J. Pathol. - 2016. - Vol. 11 (2). - P. 144-50.
144. Muzzi A. The pan-genome: towards a knowledge-based discovery of novel targets for vaccines and antibacterials / A. Muzzi, V. Masignani, R. Rappuoli // Drug discovery today. - 2007. - Vol. 12 (11). - P. 429-439.
145. Molecular typing of *Brucella melitensis* endemic strains and differentiation from the vaccine strain Rev-1 / G.T. Noutsios [et al.] // Vet Res Commun. - 2012. - Vol. 36. - P. 7-20.
146. A homologue of the *Agrobacterium tumefaciens* VirB and *Bordetella pertussis* Ptl type IV secretion systems is essential for intracellular survival of *Brucella suis* / D. O'Callaghan, C. Cazevielle, A. Allardet-Servent [et al.] // Mol. Microbiol. - Vol. 33. - P. 1210-1220.
147. Ocampo-Sosa A.A. Development of a new PCR assay to identify *Brucella abortus* biovars 5, 6 and 9 and the new subgroup 3b of biovar 3 / A.A. Ocampo-Sosa, J. Agüero-Balbín, J.M. García-Lobo // Vet. Microbiol. - 2005. - Vol. 30, N 110 (1-2). - P. 41-51.
148. The glutamic acid decarboxylase system of the new species *Brucella microti* contributes to its acid resistance and to oral infection of mice / A. Occhialini, M.P. Jimenez de Bagues, B. Saadeh [et al.] // J. Infect. Dis. - 2012. - Vol. 206. - P. 1424-1432.
149. Roles of genomic island 3 (GI-3) BAB1_0267 and BAB1_0270 open reading frames (ORFs) in the virulence of *Brucella abortus* 2308 / L. Ortiz-Román [et al.] // Veterinary Microbiology. - 2014. - Vol. 172. - P. 279-284.
150. Osterman B. International Committee on Systematics of Prokaryotes Subcommittee on the taxonomy of *Brucella* / B. Osterman, I. Moriyón // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2006. - Vol. 56. - P. 1173-1175.
151. Identification and functional analysis of the cyclopropane fatty acid synthase of *Brucella abortus* / L. Palacios-Chaves [et al.] // Microbiology. - 2012. - Vol. 158. - P. 1037-1044.
152. Patel R. MALDI-TOF MS for the Diagnosis of Infectious Diseases / R. Patel // Clinical chemistry. - 2015. - Vol. 61 (1). - P. 100-111.
153. The *Brucella suis* genome reveals fundamental similarities between animal and

plant pathogens and symbionts / I.T. Paulsen, R. Seshadri, K.E. Nelson [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. - 2002. - Vol. 99. - P. 13148-1153.

154. Pei J. *Brucella* dissociation is essential for macrophage egress and bacterial dissemination. / J. Pei, M. Kahl-McDonagh, T.A. Ficht // Front. Cell. Infect. Microbiol. - 2014. - Vol. 4. - P. 23. doi:10.3389/fcimb.2014.00023.

155. Evaluation of the immunogenicity and safety of *Brucella melitensis* B15 vaccination in pregnant sheep / M. Perez-Sancho, R. Adone, T. García-Seco, M. Tarantino, A. Diez-Guerrier, R. Drumo [et al.] // Vaccine. - 2014. - Vol. 32. - P. 1877-1881.

156. Porte F. Early acidification of phagosomes containing *Brucella suis* is essential for intracellular survival in murine macrophages / F. Porte, J.P. Liautard, S. Kohler // Infect. Immun. - 1999. - Vol. 67. - P. 4041-4047.

157. Postgre SQL open source RDMS. 2003.

158. Comparative whole-genome hybridization reveals genomic islands in *Brucella* species / G. Rajashekara [et al.] // J. Bacteriol. - 2004. - Vol. 186 (15). - P. 5040-5051.

159. Excision and transfer of the *Mesorhizobium loti* R7A symbiosis island requires an integrase IntS, a novel recombination directionality factor RdfS, and a putative relaxase RlxS / J.P. Ramsay [et al.] // Mol. Microbiol. - 2006. - Vol. 62. - P. 723-734.

160. The two highly immunogenic antigens of *Brucella*: lipopolysaccharide (LPS) and outer membrane proteins (OMPs) / A.W. Reyes, H.L. Simborio, H.T. Hop [et al.] // J. of the Preventive Veterinary Medicine. - 2015. - Vol. 39 (4). - P. 198-206. doi: JPVM-39-198.

161. Rodriguez-Valera F, Ussery DW. Is the pan-genome also a pan-selectome?. F1000Res. 2012; 1:16.

162. Rovid A. Brucellosis - 2018. URL: <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseasesInfo/factsheets.php> (дата обращения: 23.08.2019).

163. Ryan, K.J. and Ray, C.G. (Eds). (2004) Sherris medical microbiology. 4th Edition, McGraw Hill, 551-552.

164. *Brucella suis* biovar 2 multi locus sequence type ST16 in wild boars (*Sus scrofa*) from Abruzzi region, Italy. Introduction from Central-Eastern Europe? / D. Sabatino [et al.] // Infection, Genetics and Evolution. - 2017. - Vol. 55. - P. 63-37.

165. *Brucella* control of dendritic cell maturation is dependent on the TIR containing protein Btp1. / S.P. Salcedo, M.I. Marchesini, H. Lelouard [et al.] // PLoS Pathog. - 2008. - Vol. 4. - P. 21.

166. Complete Genome Sequence of the Live Attenuated Vaccine Strain *Brucella melitensis* Rev.1 / M. Salmon-Divon [et al.] // Genome Announc. - 2018. - Vol. 6 (12). - P.00175-18.

167. Salmon-Divon M. Genomic analysis of the original Elberg *Brucella melitensis* Rev.1 vaccine strain reveals insights into virulence attenuation / M. Salmon-Divon, A. Yeheskel, D. Kornspan // Virulence. - 2018. - Vol. 9 (1). - P. 1436-1448. doi: 10.1080/21505594.2018.1511677.

168. The defect in the metabolism of erythritol of the *Brucella abortus* B19 vaccine strain is unrelated with its attenuated virulence in mice / F.J. Sangari [et al.] // Vaccine. - 1998. - Vol. 16 (17). - P. 1640-5.

169. Characterization of the urease operon of *Brucella abortus* and assessment of its role in virulence of the bacterium / F.J. Sangari [et al.] // J. Infect. Immun. - 2007. - Vol. 75 (2). - P. 774-780.

170. *Brucella abortus ure2* region contains an acid-activated urea transporter and a nickel transport system / F.J. Sangari, A.M. Cayon, A. Seoane, J.M. Garcia-Lobo // BMC Microbiol. - 2010. - Vol. 10. - P. 107.

171. Pan-Genome of *Brucella* Species. / J. Sankarasubramanian [et al.] // Indian J. Microbiol. - 2015. - Vol. 55 (1). - P. 88-101.
172. A genome-wide SNP-based phylogenetic analysis distinguishes different biovars of *Brucella suis* / J. Sankarasubramanian [et al.] // Infection, Genetics and Evolution. - 2016. - Vol. 41. - P. 213-217.
173. Identification of genetic variants of *Brucella* spp. through genome-wide association studies / J. Sankarasubramanian [et al.] // Infection, Genetics and Evolution. - 2017. - Vol. 56. - P. 92-98.
174. Schmidt J. Familie Bacteriaceae. In: J. Schmidt and F. Bakterienn. Naturhistorisk Grundlag for det Bakteriologiske Studium / J. Schmidt // Morten Porsild, København, 1901. - P. 248-296.
175. Schmidt H. Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis. / H. Schmidt, M. Hensel // Clin. Microbiol. Rev. - 2004. - Vol. 17. - P. 14-56.
176. *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis* / H.C. Scholz, Z. Hubalek, I. Sedláček [et al.] // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2008. - Vol. 58. - P. 375-382.
177. *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection / H.C. Scholz, K. Nöckler, C. Göllner [et al.] // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2010. - Vol. 60. - P. 801-808.
178. *Brucella vulpis* sp. nov., isolated from mandibular lymph nodes of red foxes (*Vulpes vulpes*) / H.C. Scholz, S. Revilla-Fernandez, S. Al Dahouk [et al.] // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2016. - Vol. 66. - P. 2090-2098.
179. Scholz H.C. Molecular characterisation of *Brucella* species. / H.C. Scholz, G. Vergnaud // Rev. Sci. Tech. - 2013. - Vol. 32. - P. 149-162.
180. Multiplex assay based on single-nucleotide polymorphisms for rapid identification of *Brucella* isolates at the species level / J.C. Scott [et al.] // Applied and Environmental Microbiology. - 2007. - Vol. 73 (22). - P. 7331-7337. doi:10.1128/AEM.00976-07.
181. Seleem M.N. *Brucella*: a pathogen without classic virulence genes / M.N. Seleem, N. Sriranganathan, S.M. Boyle // J. Vet. Microbiol. - 2008. - Vol. 129 (1-2). - P.1-14. doi: 10.1016/j.vetmic.2007.11.023.
182. Genetic diversity of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* in Kazakhstan using MLVA-16 / A. Shevtsov [et al.] // Infection, Genetic and Evolution. - 2015. - Vol. 34 - P. 173-180.
183. Skerman V.B.D. Approved Lists of Bacterial Names / V.B.D. Skerman, V. McGowan, P.H.A. Sneath // Int. J. Syst. Bacteriol. - 1980. - Vol. 30. - P. 225-420.
184. Smith J. A. *Brucella* Lipopolysaccharide and pathogenicity: The core of the matter. / J. A. Smith // J. Virulence. - 2018. - Vol. 9 (1). - P. 379-382.].
185. Smith L.D. Pathogenesis of *Brucella* / L.D. Smith, T.A. Ficht // Crit Rev Microbiol. - 1990. - Vol. 17. - P. 209-230.
186. A two-component regulatory system playing a critical role in plant pathogens and endosymbionts is present in *Brucella abortus* and controls cell invasion and virulence / A. Sola-Landa [et al.] // Mol. Microbiol. - 1998. - Vol. 29. - P. 125-148.
187. Somova L.M. Cell heteromorphism in the conditions of persistence of sapronoses causative agents in various environments. / L.M. Somova, B.G. Andryukov, I.N. Lyapun // AIMS Microbiol. - 2019. - Vol. 5 (2). - P. 147-157.
188. Stoenner H.G. A new species of *Brucella* isolated from the desert wood rat, *Neotoma lepida* Thomas / H.G. Stoenner, D.B. Lackman // American Journal of Veterinary Research. - 1957. - Vol. 18. - P. 947-951.

189. Stock A.M. Bacterial chemotaxis: a field in motion / A.M. Stock, S.L. Mowbray // *Curr Opin Struct Biol.* - 1995. - Vol. 5 (6). - P. 744-51.
190. Sturgill D.M. Comparative Genome Analysis of Three *Brucella* spp. and a Data Model for Automated Multiple Genome Comparison / D.M. Sturgill. - Blacksburg, Virginia, 2003. - 52 p.
191. Suarez C.E. Characterization of *Brucella ovis* surface antigens / C.E. Suarez, G.A. Pacheco, A.M. Vigliocco // *J. Vet. Microbiol.* - 1988. - Vol. 18, № 3-4. - P. 349-356.
192. *Brucella* Genetic Variability in Wildlife Marine Mammals Populations Relates to Host Preference and Ocean Distribution / M. Suárez-Esquivel [et al.] // *Genome Biol. Evol.* - 2017, Jul. - Vol. 1, N 9 (7). - P. 1901-1912.
193. Full genome SNP based phylogenetic analysis reveals the origin and global spread of *Brucella melitensis* / K.K. Tan [et al.] // *BMC Genomics.* - 2015. - Vol. 16. - P. 93-104. doi.org/10.1186/s12864-015-1294-x.
194. Differentiation of *Brucella* species by Random Amplified Polymorphic DNA analysis / E. Tcherneva, E N. Rijpens, B. Jersek, L. M. F. Herman / *J. of Applied Microbiology.* - 2000. - Vol. 88 (1) - P. 69-80.
195. Genome analysis of multiple pathogenic isolates of *Streptococcus agalactiae*: implications for the microbial pan-genome / H. Tettelin [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* - 2005. - Vol. 102. - P. 13950-13955.
196. Mechanism of Asp24 upregulation in *Brucella abortus* rough mutant with a disrupted O-antigen export system and effect of Asp24 in bacterial intracellular survival / M.T. Tian, J. Qu, X. Han [et al.] // *J. Infect Immun.* - 2014. - Vol. 82 (7). - P. 2840-2850
197. Genome Degradation in *Brucella ovis* Corresponds with Narrowing of Its Host Range and Tissue Tropism. / R.M. Tsolis [et al.] // *PLoS ONE.* - 2009. - Vol. 4 (5): P.5519. doi: 10.1371/journal.pone.0005519.
198. Turse J.E. Lipopolysaccharide-deficient *Brucella* variants arise spontaneously during infection / J.E. Turse, J. Pei, T. A. Ficht // *Front. Microbiol.* - 2011. - Vol. 2. - P. 54. doi:10.3389/fmicb.2011.00054.
199. *Brucella*, a monospecific genus as shown by deoxyribonucleic acid hybridization. / J.M. Verger, F. Grimont, P.A.D. Grimont, M. Grayon // *Int. J. Syst. Bacteriol.* - 1985. - Vol. 35. - P. 292-295.
200. Genotypic Expansion Within the Population Structure of Classical *Brucella* Species Revealed by MLVA16 Typing of 1404 *Brucella* Isolates from Different Animal Geographic Origins, 1974-2006 / G. Vergnaud [et al.] // *Frontiers in Microbiology.* - 2018. - Vol. 9. - P. 1545.
201. Construction and evaluation of an ORFeome-based *Brucella* whole-genome DNA microarray / C. Viadas [et al.] // *Microbial Pathogenesis.* - 2009. - Vol. 47. - P. 189-195
202. Transcriptome analysis of the *Brucella abortus* BvrR/BvrS two-component regulatory system / C. Viadas [et al.] // *PLoS One.* - 2010. - Vol. 21, № 5 (4). - P.10216.
203. Identification of recombination and positively selected genes in *Brucella*. / U.S. Vishnu [et al.] // *Indian J. Microbiol.* - 2015. - Vol. 55. - P. 384-391.
204. DNA polymorphism in the omp25/omp31 family of *Brucella* spp.: identification of a 1.7-kb inversion in *Brucella cetaceae* and of a 15.1-kb genomic island, absent from *Brucella ovis*, related to the synthesis of smooth lipopolysaccharide / N. Vizcaino, P. Caro-Hernandez, A. Cloeckert, L. Fernandez-Lago // *Microbes Infect.* - 2004. - Vol. 6. - P. 821-834.
205. Characterization of a *Brucella* species 25-kilobase DNA fragment deleted from *Brucella abortus* reveals a large gene cluster related to the synthesis of a polysaccharide

/ N. Vizcaino, A. Cloeckert, M.S. Zygmunt, L. Fernandez-Lago // J. Infect. Immun. - 2001. - Vol. 69. - P. 6738-6748.

206. GFeGSH: A New Genomic Island Might Explain the Differences in *Brucella* Virulence. / T. Wahab [et al.] // Open Journal of Animal Sciences. - 2017. - Vol. 7. - P. 141-148.

207. Wang Z. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics / Z. Wang, M. Gerstein, M. Snyder // Nat. Rev. Genet. - 2009. - Vol. 10 (1). - P. 57-63.

208. Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematic / L.G. Wayne, D.J. Brenner, R.R. Colwell [et al.] // Int. J. Syst. Bacteriol. - 1987. - Vol. 37. - P. 463-464.

209. Whatmore A.M. Current understanding of the genetic diversity of *Brucella*, an expanding genus of zoonotic pathogens / A.M. Whatmore // Infect Genet Evol. - 2009. - Vol. 9. - P. 1168-1184.

210. *Brucella papionis* sp. nov., isolated from baboons (*Papio* spp.) / A.M. Whatmore, N. Davison, A. Cloeckert [et al.] // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2014. - Vol. 64. - P. 4120-4128.

211. Whatmore A.M. Characterisation of the genetic diversity of *Brucella* by multilocus sequencing / A.M. Whatmore, L.L. Perrett, A.P. MacMillan // BMC Microbiol. - 2007. - Vol. 7. - P. 34. doi:10.1186/1471-2180-7-34.

212. Analysis of ten *Brucella* genomes reveals evidence for horizontal gene transfer despite a preferred intracellular lifestyle / A.R. Wattam [et al.] // J. Bacteriol. - 2009. - Vol. 191. - P. 3569-3579.

213. Comparative Phylogenomics and Evolution of the *Brucellae* Reveal a Path to Virulence / A.R. Wattam [et al.] // Journal of Bacteriology. - 2014. - Vol. 196 (5). - P. 920-930.

214. Winter A.J. Outer membrane proteins of *Brucella* / A.J. Winter // Ann. Inst. Pasteur. Microbiol. - 1987. - Vol. 138, № 1. - P. 87-89.

215. Comparative genomic analyses of nickel, cobalt and vitamin B12 utilization / Y. Zhang, D.A. Rodionov, M.S. Gelfand, V.N. Gladyshev // BMC Genomics. - 2009. - Vol. 10. - P. 78.

216. DNA polymorphism analysis of *Brucella* lipopolysaccharide genes reveals marked differences in O-polysaccharide biosynthetic genes between smooth and rough *Brucella* species and novel species-specific markers / M.S. Zygmunt, J.M. Blasco, J.J. Letesson [et al.] // BMC Microbiol. - 2009. - Vol. 9. - P. 92.

Распространение бруцеллёза в мире

Бруцеллёз - достаточно древнее заболевание: в останках умерших людей, живших более чем 5000 лет назад в Бахрейне (близ Персидского залива), обнаружены следы перенесенного заболевания [1]. По сообщению Американского общества микробиологов, ДНК *B. melitensis* была выделена из обызвествленных узелков скелета человека, жившего в XIV веке в итальянской деревне [2]. В настоящее время является наиболее распространённым среди зоонозных бактериальных заболеваний (по данным экспертов комитета ВОЗ по бруцеллёзу, болезнь распространена практически во всем мире (в 155 странах). В эндемичных странах уровень заболеваемости превышает 10 больных на 100 тыс. населения и наносит огромный экономический урон сельскому хозяйству в результате существенного снижения воспроизводства скота. Во многих развивающихся странах бруцеллёз часто остается не диагностированным [3-7, 8, 9] (рисунок 9).

Анализ уровня заболеваемости бруцеллёзом на 100 тыс. населения по отдельным странам показал, что в Турции, в зависимости от региона, заболеваемость варьирует от 11,9 до 49,5; в Египте - 0,28-70,0; в Иордании - 25,7-130,0; в Саудовской Аравии - 6,0-149,5, в то время как этот показатель в США находится в пределах 0,02-0,09; Германии - 0,03. В Канаде, Австралии, Японии и Северной Европе бруцеллёз регистрируется крайне редко, а бруцеллёз КРС, вызываемый *B. Abortus*, ликвидирован полностью [9]. Заболеваемость в Китае ежегодно увеличивается [11], в настоящее время составляет в среднем 4,3, а по отдельным регионам более 10,0 на 100 тыс. населения; число зарегистрированных случаев бруцеллёза в 2002 г. составляло 5000, а в 2015 г. увеличилось до 60000 [12].

Центральноазиатские страны, наряду с Ближним Востоком, Южной Америкой, Восточной Азией, Африкой, относятся к регионам, неблагополучным по бруцеллёзу (Региональное совещание по борьбе с бруцеллёзом в Центральной Америке и Восточной Европе (Измир, Турция, 2013). Так, в Казахстане уровень заболеваемости на 100 тыс. населения составляет 10,0 [13], Кыргызстане 20,5-25,0 (а по отдельным областям - 42,7-76,4) [14]. В Таджикистане за 2000 - 2014 гг. в отдельных неблагополучных районах страны зарегистрированы более тысячи случаев заболевания (район Гонче - 1588, район Турсунзаде - 2141) [15,16].

Одной из серьезных проблем, осложняющих эпидемиологическую ситуацию, является возможность вспышечной заболеваемости людей. За последние 25 лет в мире групповые случаи бруцеллёза, имевшие вспышечный характер, зарегистрированы в Израиле (1994, 2011, 2014 гг.) [17,18,19], Испании (1998-1999, 2002, 2005, 2006 гг.) [20,21,22,23], Сербии (2004 г.) [24], Италии (2005 г.) [25], Кении (2005 г.) [26], Перу

(2007-2008 гг.) [27], Греции (2008 г.) [28], Ливане (2009 г.) [29], Турции (2010 г.) [30], Малайзии (2011 г.) [31], Болгарии (2006, 2015 гг.) [32,33], Бразилии (2012 г.) [34], Южной Кореи (2003, 2012-2013 гг.) [35,36], Китае (2013, 2014 гг.) [37-39], Казахстане (2012, 2015 гг.) [40, 41], Катаре (2015 г.) [42].

Соединённые Штаты Америки (США)

До 60-х гг. XX века этиологическим агентом большинства случаев заболевания людей бруцеллёзом в США был вид бруцелл - *Brucella abortus*, достигнув максимума в 6321 случай в 1947 г. [43]. Массовая кампания по ликвидации бруцеллёза КРС привела к значительному снижению заболеваемости людей. В 1970-х гг. бруцеллёз в основном приписывался *Brucella suis*, распространённому среди работников скотобоев [44]. Согласно ежегодным докладам Центров по контролю и профилактике заболеваний (Атланта, Джорджия) [45], в период 1973-1982 гг. было зарегистрировано 2215 случаев, а в период 1983-1992 гг. - 1201 случай. За период 1993-2002 гг. было зарегистрировано 1056 случаев заболевания, более половины из которых приходились на штаты Техас и Калифорния

Большинство случаев, зарегистрированных в северных штатах, представляли собой заболевания, приобретенные в международных поездках или при заражении пищевыми продуктами, импортируемыми из эндемичных регионов. Из 815 пациентов, зарегистрированных в этих районах, большинство - 647 (79,4 %) имели «испанское происхождение». С 1993 по 2002 46 штатов сообщили, по крайней мере, об одном случае. В 2002 г. Иллинойс, Флорида, Техас, Аризона, Колорадо и Калифорния сообщали об одном случае ежегодно, в то время как в штатах Мэн, Вермонт, Род-Айленд, Северная Дакота, Западная Вирджиния и Невада бруцеллёз не регистрировался вообще. Самый высокий уровень заболеваемости выявлялся в Вайоминге.

Внедрение программ по борьбе с бруцеллёзом в США начато в 1934 г. в рамках мероприятий по сокращению поголовья КРС в условиях сильной засухи [46]. В 1954 г. Конгрессом США Службе санитарной инспекции (APHIS) Министерства сельского хозяйства США были выделены дополнительные средства для создания национальной программы искоренения бруцеллёза среди животных [46].

В 1998 г., по оценкам экспертов, на программы по искоренению бруцеллёза сельскохозяйственных и домашних животных было израсходовано 3,5 млрд. долларов федеральных, государственных и частных средств [47]. Начиная с 1934 г., программы по контролю бруцеллёза способствовали существенному снижению заболеваемости среди домашнего скота в США, сократив количество сероположительных осо-

бей, которое достигало 11,5 % от всего поголовья, с 124 тыс. гол. в 1956 г. до 700 в 1992 г. [46].

В 2008 г. все 50 штатов были одновременно классифицированы как свободные от бруцеллёза КРС. Однако с 2009 г. вновь регистрируются случаи заражения КРС *B. abortus*, источником которой являются дикие животные (в большей части зубры и лоси), что впоследствии привело к потере статуса как государства свободного от бруцеллёза. Чаще всего бруцеллёз регистрируется на территории Национального парка Йеллоустоун, включая штаты Айдахо, Монтана и Вайоминг.

В 2016 г. была внедрена новая Национальная программа искоренения бруцеллёза. Её стратегия заключалась в поголовном исследовании животных на бруцеллёз, убое положительно реагирующих, а также вакцинации телят (для повышения устойчивости) и взрослого серонегативного поголовья.

В настоящее время количество случаев бруцеллёза в Соединенных Штатах сократились с 3000 в год в 1950-х годах до 100-50. Большинство случаев встречаются среди лиц, путешествующих в эндемичных по бруцеллёзу странах. Случаи заболевания людей бруцеллёзом на территории США в основном связаны с контактом с дикими свиньями, лосями (охота) или, реже, с собаками. Регистрируются случаи заболевания бруцеллёзом среди сотрудников лабораторий, работающих с патогенными для человека культурами бруцелл, зараженными животными.

В последние годы регистрируются случаи заболевания людей бруцеллёзом, наиболее вероятно связанные с употреблением не пастеризованного молока от коров, иммунизированных живой вакциной на основе штамма *B. abortus* RB51.

Первый случай зарегистрирован у жительницы штата Техас (северо-запад от Форт-Уэрта), употреблявшей сырое молоко производства частной молочно-товарной организации. В результате обследования выделена культура и идентифицирована, как *B. abortus* RB51.

В результате эпидемиологического расследования было определено более чем 800 домовладений, которые приобретали сырое молоко производства «K-Bar». Среди 236 обследованных 83 % были инфицированы *B. abortus* RB51 после употребления молока. Из-за неполной информации о контактных лицах сотрудники CDC не смогли охватить обследованиями остальные домашние хозяйства, которые покупали молочную продукцию, хотя поступали сообщения о заболевших людях, имевших симптомы, характерные для бруцеллёза, в штатах Алабама, Арканзас, Калифорния, Огайо, Северная Дакота, Теннесси и Техас (по данным CDC на 15 сентября 2017 г.). При бактериологическом исследовании молока от коров молочного стада были выявлены две гол. КРС, инфицированные *B. abortus* RB51. CDC предполагает, что зараженное

молоко поступало в продажу в период с 1 июня по 7 августа 2017 г.

Второй случай заражения *B. abortus* RB51 зафиксирован в сентябре 2017 г. у жительницы Нью-Джерси, которой был поставлен клинический диагноз бруцеллёз. Беременная женщина употребляла сырое молоко производства частной молочно-товарной организации. Клинический диагноз был подтверждён после выделения гемокультуры - *B. abortus* RB51. Компания - изготовитель молока - не предоставила информацию о фермах, которые поставляют им молоко, и источник инфекции не был выявлен. По предположению специалистов Министерства сельского хозяйства США и Управления по контролю за продуктами и лекарствами США, фирма-производитель поставляла молоко в штаты Коннектикут, Нью-Джерси, Нью-Йорк и Род-Айленд.

По мнению специалистов CDC, вспышки бруцеллёза в штатах Техас и Нью-Джерси не связаны между собой [48-51].

Третий случай зарегистрирован у жителя Нью-Йорка, который пил сырое молоко, купленное на Биоферме в Куарривилле, штат Пенсильвания. В ноябре 2018 г. клинический диагноз был подтверждён выделением гемокультуры - *B. abortus* RB51.

По состоянию на 22 января 2019 г. при проведении эпидемиологического расследования было установлено, что продукция с указанной фермы реализована в 19 штатах: Алабама, Калифорния, Коннектикут, Флорида, Джорджия, Айова, Мэриленд, Массачусетс, Мичиган, Миннесота, Миссисипи, Нью-Джерси, Нью-Йорк, Северная Каролина, Огайо, Пенсильвания, Род-Айленд, Южная Каролина и Вирджиния. По сообщению ЦКЗ, не пастеризованное сырое молоко незаконно перевозилось и продавалось [52].

Три подтвержденных случая в Нью-Йорке и Техасе означают, что в данный эпидемический процесс вовлечены сотни других людей, которые потенциально подверглись воздействию *B. abortus* RB51, сообщает CDC.

Центральная Америка

В странах Центральной Америки (ЦА) распространены и периодически изолируются штаммы *B. abortus* биовар 1 (главным образом от КРС, людей и спорадически от собак и лошадей) и *B. suis* (от свиней и людей), *B. melitensis* - от овец и людей в Гватемале и Панаме, *B. canis* - от собак в Коста-Рике. Обследование 80 % поголовья овец в Сальвадоре и Коста-Рике не выявило антител к бруцеллёзу, что даёт возможность предполагать отсутствие *B. melitensis* в этих странах. Выборочные обследования не выявили антител против бруцеллёза и у диких млекопитающих [53].

На основании серологических исследований, проведенных за последние 10 лет, распространенность бруцеллёза в странах ЦА среди

КРС составляет от 4 до 8 %. По представленным данным, страной с наименьшим количеством КРС, зараженного бруцеллёзом (около 1 %), является Сальвадор, в то время как в Гватемале и Коста-Рике заболеваемость животных самая высокая (возможно, это результат более эффективной лабораторной диагностики). Отмечается, что большинство заболеваний животных бруцеллёзом регистрируется в предгорных и высокогорных районах Центральной Америки.

Латинская Америка

Мексика является эндемичной по бруцеллёзу страной. Ежегодно здесь регистрируется до 25,7 случаев на 100 тыс. населения [54]. Ранее ежегодно выявлялось в среднем 5900 случаев, и эта цифра в период с 1995 по 2004 г. сократилась до 3600. За этот период в лаборатории бруцеллёза Института эпидемиологической диагностики (InDRE) в Мексике выделено 762 штамма, из которых 87 % из клинического материала и 13 % от животных. Почти все случаи бруцеллёза у людей связаны с употреблением в пищу зараженных продуктов животноводства [55]. Проведённый анализ 67 982 сывороток здоровых людей (от 1 года до 98 лет), в рамках «Национального серологического обследования», в 3,42 % случаев показал наличие положительно реагирующих на бруцеллёз [56]. Исследования банков крови, проведенные в различных центрах медицинской помощи, также показали наличие положительных результатов в среднем от 2,1 до 3,6 % [57].

Заболевание встречается в двух зонах: северные районы, граничащие с США - Коауила, Нуэво-Леон, Сонора и Чиуауа (средний ежегодный уровень 186, 85, 57 и 54 случая на 1 млн соответственно), и северо-западные и западно-центральные районы - Синалоа, Сакатекас, Дуранго и Гуанахуато (несмотря на то, что в последнем наблюдается непрерывное снижение уровня заболеваемости).

Программы борьбы с бруцеллёзом в Мексике малобюджетны и включают только диагностику и вакцинацию, не предусматривая забой (уничтожение) положительно реагирующих животных и ротацию поголовья [58].

Бруцеллёз эндемичен для территории Аргентины, однако масштабы проблемы зачастую недооценены, и заболевания людей часто не регистрируются.

Распространенность бруцеллёза КРС в странах, граничащих с Аргентиной, весьма различна: 0,04 % в Уругвае, 10,20 % на севере и 0,06 % на юге Бразилии, 0,2 % в Чили, 3,15 % в Парагвае и 2,27 % в Боливии. В 1999 г. в стране была реализована Аргентинская национальная программа контроля и искоренения бруцеллёза. Её стратегия включает идентификацию вакцинированных животных, обязательную вакцина-

цию штаммом *B. abortus* S19 100 % поголовья телок в возрасте от 3 до 8 месяцев, обязательные серологические тесты перед перемещением животных, а также категоризацию ферм с точки зрения их статуса по бруцеллёзу. В настоящее время данная программа совершенствуется, расставляются приоритеты для выбора и оптимизации стратегии контроля [59].

Бруцеллёз в Перу продолжает ежегодно регистрироваться среди людей. В последние годы отмечается снижение заболеваемости людей бруцеллёзом, что связывают с проводимой в стране кампанией по вакцинации коз и 100 %-ной пастеризацией молока [60, 61]. От 10 до 25 % случаев заболевания людей регистрируется в Кальяо - автономном регионе на побережье Тихого океана и портовом городе, столице государства - г. Лима [62].

В Чили средняя многолетняя заболеваемость составляет 0,55 случаев на 100 тыс. населения [63]. Однако данная цифра считается недостоверной, и, вероятно, реальная заболеваемость в 10-25 раз выше официально регистрируемой [64].

В 1975 г. в Чили инициировали программу борьбы с бруцеллёзом КРС в Южной и Центральной частях страны, где бруцеллёз КРС составлял порядка 84 % от всей заболеваемости КРС бруцеллёзом в стране. Начальная стратегия состояла только в применении вакцины *B. abortus* S19 у тёлочек 3-8-месячного возраста. В 1976 г. первыми результатами было снижение распространённости до 7 %, это исследование было повторно проведено в 1982 г. (2,91 %) и 1991 г. (2,4 %). Уменьшению заболеваемости животных бруцеллёзом способствовал строгий контроль вакцинации, ежегодно иммунизировали в среднем около 165 000 телят. В 1992 г., при оценке результатов реализации программы за девять лет, было показано, что уровень распространённости практически не изменился, вероятно, потому что только вакцинации было недостаточно для достижения цели - полного искоренения бруцеллёза среди домашних животных. Это способствовало внедрению более усиленной стратегии по уничтожению болезни. Новая программа «Искоренение бруцеллёза в Чили» предусматривает активное вовлечение не только общественных хозяйств, но и частного сектора, а также компенсационные выплаты владельцам при забое больных животных и при закупке вакцинных препаратов. Программа включает три главные составные части:

1. Система мониторинга, цель которой - быстрое обнаружение больных животных и факторов передачи инфекции. Для достижения этого применяются следующие меры: а) проведение исследований (кольцевая реакция с молоком) на фермах производителей молока; б) серологический мониторинг животных на скотоперегонных площадках

и пунктах убоя; в) обследование стад, контактировавших с больными животными (по эпизоотическим показаниям).

2. Локализация очага (недопущение распространения) бруцеллёза внутри стада. Меры: а) формирование популяционного иммунитета - всеобщая вакцинация стада с использованием вакцины RB51; б) серологическое обследование животных; в) создание способов предотвращения распространения бруцеллёза внутри стада (строгая изоляция больного поголовья).

Важно заметить, что с 1997 г. в Чили заменили вакцину против бруцеллёза (вместо *B. abortus* S19 начали использовать RB51). Преимущество RB51 по сравнению с *B. abortus* S19 заключается в том, что она не влияет на результаты серологической диагностики и поэтому может использоваться для вакцинации всего стада, не маскируя болезнь, что позволяет проводить дифференциальную серодиагностику бруцеллёза среди вакцинированного поголовья.

3. Предупредительные меры и контроль распространения болезни; цель - предотвратить распространение болезни от зараженных стад. Это достигается путем: а) прививания телят в стадах, отрицательно реагирующих на бруцеллёз; б) полная изоляции заражённых стад и контроль перемещения животных (меры принимаются с 2006 г.).

В результате реализации данной программы регистрация составила 2-3 особи на 1000 и, как следствие, снижение заболеваемости населения.

Бруцеллёз является серьезной проблемой общественного здравоохранения Бразилии. Отмечается, что число случаев заболевания людей бруцеллёзом растет, в том числе, вероятно, связанных с применением живой вакцины для КРС и МРС, штамм которой и может вызывать заболевание у людей [65].

Еще одной значимой проблемой в стране является то, что бруцеллёз человека часто диагностируется как туберкулез. Поскольку симптомы этих двух заболеваний могут быть похожими, при подозрении на туберкулез без лабораторного подтверждения проводится схема терапии рифампицином. Этот препарат также используется для лечения бруцеллёза [66].

Бруцеллёз является самой распространенной инфекцией среди КРС в Бразилии. Потери в экономике этой страны от бруцеллёза КРС оцениваются в 32 млн долларов ежегодно [67]. Недавнее обследование 169 000 животных в 15 административных регионах страны показало, что бруцеллёз КРС широко распространен по всей стране, с преобладанием в Среднезападном регионе (штат Мату-Гросу - 10,2 % зараженных животных, 41,2 % неблагополучных хозяйств). Менее напряженная эпизоотологическая ситуация по бруцеллёзу КРС отмечается в южном

регионе (штат Санта-Катарина - 0,06 % зараженных животных, 0,32 % неблагополучных хозяйств) [68, 69]. В некоторых регионах, таких как Рио-Гранде и Минас-Жерайс, в результате успешной реализации программы по вакцинации животных в 1960-1970 гг. в настоящее время распространенность бруцеллёза значительно снизилась [70].

С начала 2001 г. в Бразилии стартовала Национальная Программа Министерства сельского хозяйства [71]. Стратегия, предложенная в ней, включает следующие мероприятия: обязательная вакцинация телок в возрасте 3-8 месяцев вакциной *B. abortus* S19; добровольная аккредитация свободных от бруцеллёза стад, в соответствии с международными стандартами; периодический добровольный серологический контроль стад КРС; регулярное исследование племенного скота, предшествующее межгосударственному перемещению (продажа, покупка, участие в выставках и т.д.); обязательный забой скота, положительно реагирующего на бруцеллёз, в специализированных (санитарных) скотобойнях.

В «Национальной Программе» Бразилии отводится большая роль обязательной вакцинации телок вакциной *B. abortus* S19, особенно при существующей неблагополучной эпидемиологической ситуации в стране. Дальнейшим этапом программы было испытание вакцины RB51. Эта вакцина была утверждена для стратегического использования у взрослого серонегативного поголовья, не привитого вакциной *B. abortus* S19 [72]. Результаты производственных опытов по применению RB51 у телок в Бразилии показали, что вакцина обеспечивает формирование протективного иммунитета в отношении *B. abortus*, не оказывает влияния на результаты серологических исследований, не вызывает аборты и клинические проявления бруцеллёза при использовании в полной дозе у телок на ранних сроках беременности [73].

Европейский союз

В 2016 г. в Европейском союзе (ЕС) было зарегистрировано 534 подтвержденных случая бруцеллёза. Заболеваемость составила 0,10 случаев на 100 тыс. населения. Девять государств сообщили об отсутствии случаев заболевания. Италия и Греция сообщили о самом высоком числе подтвержденных случаев (211 и 119 случаев, что соответствует 61,8 % всех случаев, зарегистрированных в ЕС).

Греция имела самый высокий показатель - 1,10 на 100 тыс. населения, за ней следовали Португалия и Италия - 0,48 и 0,35 на 100 тыс. населения соответственно (рисунок 10).

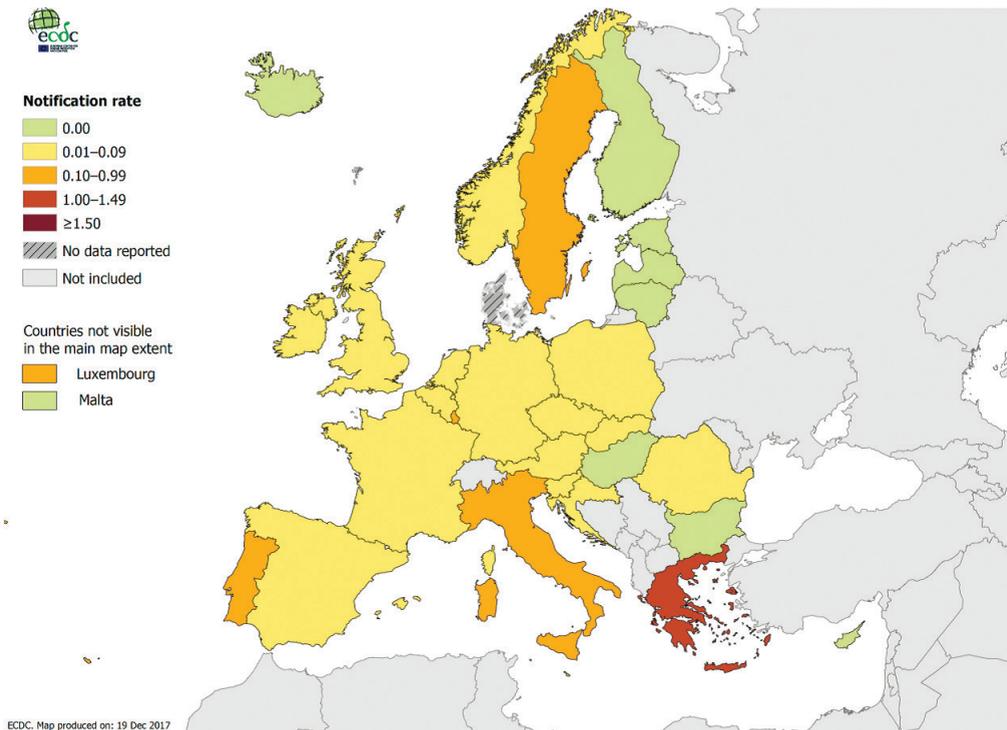


Рисунок 10. Распространение бруцеллёза в ЕС и ЕЭС
(<https://ecdc.europa.eu/en/brucellosis/surveillance/atlas>, 2019)

В 2016 г. число зарегистрированных случаев бруцеллёза увеличилось главным образом из-за увеличения числа случаев в Италии (более чем в 2 раза по сравнению с 2015 г.) [74], тогда как в Греции и Португалии заболеваемость оставалась на высоком, но стабильном уровне по сравнению с предыдущими годами. Одним из возможных факторов, способствующих увеличению числа случаев заболевания, зарегистрированных в Италии, является, по-видимому, повышение осведомленности врачей (после сообщения Национального координационного центра по Контролю заболеваемости). Значительная доля случаев заболевания приходится на мужчин трудоспособного возраста, что, возможно, свидетельствует о профессиональной незащищенности [75].

Бруцеллёз КРС, а также овец и коз в большинстве стран Европейского союза был искоренен. В результате он стал довольно редким явлением в Северной и Западной Европе, где большинство случаев связано с заражением людей бруцеллёзом при посещении эндемичных стран (употреблении термически не обработанного молока и молочных продуктов) [76]. «Импортируемые случаи» в основном относятся к недавно прибывшим мигрантам [76, 77]. С 2014 г. в Германии наблюдается значительный рост «импортированных случаев», вызванных

B. melitensis. Пациенты преимущественно прибывали из стран Ближнего Востока, включая Турцию и Сирию [77,78]. Также случаи заражения *B. melitensis* регистрировались у людей в Швеции в период 2008-2012 гг., при этом MLVA-16 генотипирование выявило различные генотипы линий Восточного Средиземноморья и Африки, что также указывает на заносные случаи при миграции в Швецию лиц из Ирака, Афганистана и Сомали [79].

Греция остается в списке 25 стран мира с самым высоким уровнем заболеваемости бруцеллёзом, что приводит к серьезным финансовым последствиям в сфере животноводства, а также наносит значительный ущерб национальной экономике.

В Греции доминирующим штаммом является *B. melitensis*. Средняя заболеваемость - 1,43 на 100 тыс. населения. Чаще всего бруцеллёз у мужчин связан с контактом с животными, в то время как у женщин - после употребления в пищу молочных продуктов.

В Греции самая многочисленная популяция овец и коз в Европейском союзе. Учитывая последствия заболевания, в 1975 г. вступила в силу программа борьбы с бруцеллёзом. Программа включала вакцинацию живой вакциной REV-1 молодых овец и коз в возрасте 3-6 месяцев, предназначенных для селекции и разведения.

В 1993 г. на островах Греции вакцинация коз и овец прекратилась, и программа перешла к следующему этапу, при котором осуществлялся серологический мониторинг и забой положительно реагирующих животных с целью искоренения болезни.

В последующие годы программа ликвидации распространилась на материковую часть Греции. В связи с широким распространением бруцеллёза в 1998 г. программа была пересмотрена, и на материке снова была введена массовая вакцинация молодых и взрослых самок животных, тогда как на большинстве островов режим ликвидации остался прежним (территория страны была разделена на зоны).

Зона А: вакцинация

На материковой части Греции и на островах Эвойя, Лесбос, Лерос и Тасос обязательная вакцинация распространяется на овец и коз старше 3 месяцев, которые содержатся для разведения. Вакцинация самок моложе 3 месяцев и самцов запрещена. Вакцинация предполагает интраокулярное введение аттенуированного штамма *B. melitensis* REV-1.

Зона Б: ликвидация

На греческих островах вакцинация животных против бруцеллёза запрещена. Выполняется только серологический мониторинг всех животных старше 6 месяцев с использованием Роз-Бенгал теста с реакцией связывания комплемента или любым другим лабораторным тестом, рекомендованным ЕС.

Перемещение животных из зоны А в зону В строго запрещено.

Бруцеллёз в *Италии* является наиболее распространенным бактериальным зоонозом. Ежегодный отчет о борьбе с бруцеллёзом животных, который представляется в Интегрированном национальном плане Министерства здравоохранения Италии, показывает, что регионом с самой высокой распространенностью бруцеллёза является Сицилия (3,3 %).

В период с 1998 по 2010 г. в Италии было зарегистрировано 8483 случая бруцеллёза людей, и 6260 (74 %) из них были госпитализированы. В общей сложности 89 % приходится на юг Италии, особенно в Кампании, Апулии, Калабрии и Сицилии. Тем не менее число зарегистрированных случаев за последние 13 лет снизилось. Это явление было отмечено на всей территории Италии, даже в южных регионах [80]. Несмотря на эту положительную тенденцию, бруцеллёз остается важной проблемой здравоохранения на Сицилии. Из общего числа (316 случаев) зарегистрированных в Италии в 2015 г. 92,4 % были зарегистрированы в Сицилии [81, 82].

В Италии приняты законы, направленные на ликвидацию бруцеллёза КРС, овец и коз, что привело к значительному снижению бруцеллёза и ликвидации этой болезни в северных регионах страны. В 2002 г. в Сицилии издали указ «Осуществление чрезвычайных планов борьбы с бруцеллёзом КРС, овец и коз». Кроме того, в ноябре 2006 г. Министерство здравоохранения издало «Чрезвычайные ветеринарные меры в отношении бруцеллёза КРС и МРС, лейкоза КРС в Калабрии, Кампании, Апулии и Сицилии», которые были пересмотрены в 2012 г. и 2015 г. [83,84,85]. Недостаточной эффективности программ ликвидации бруцеллёза на юге Италии, особенно на Сицилии, препятствуют неполный контроль за перемещением скота и идентификацией животных, отсутствие порядка уничтожения зараженных животных и традиционные особенности разведения животных.

В 2014 г. на Сицилии и Апулии было выявлено 1519 гол. КРС, зараженного бруцеллёзом, которые были уничтожены. В 2015 г. в Калабрии и на Сицилии было зафиксировано 13529 заболевших овец и коз [86].

В августе 2014 г. новым постановлением в программу по борьбе с бруцеллёзом добавлены следующие мероприятия:

- 1) определение ответственности за процедуру искоренения (т.е. ответственность за передержку и неубой больных животных);
- 2) организация идентификации животных методами чипирования;
- 3) введение карантина в неблагополучных хозяйствах;
- 4) контроль неблагополучных хозяйств (2 дня для уведомления, 15 дней для забоя, эпидемиологическое расследование);
- 5) контроль поставщиков продукции животноводства;

- 6) контроль за откормочными хозяйствами;
- 7) выплата компенсаций в течение 90 дней;
- 8) контроль использования пастбищ.

Кроме того, снижение объемов компенсации за вынужденный убой овец и коз старше 6 лет.

В *Португалии* бруцеллёз является заболеванием, подлежащим регистрации, и одним из трех наиболее распространенных зоонозов. Случаи заболевания людей регистрируются во всех регионах континентальной Португалии, как показано в отчете Главного управления здравоохранения (DGS) за 2011-2014 гг. [87].

Программа борьбы с бруцеллёзом КРС в Португалии начата ещё в 1938 г. В начале 1970-х годов она была дополнена обязательной вакцинацией (S19 или 45/20), серологическими исследованиями и убоем положительно реагирующих животных [88].

В настоящее время меры контроля включают серологическое обследование всего восприимчивого поголовья, убой серопозитивных животных, в том числе и при перемещении скота, регистрация каждого случая аборта и вакцинация.

Несмотря на значительный прогресс, достигнутый в борьбе с бруцеллёзом в *Испании*, в настоящее время страна все еще имеет один из самых высоких ежегодных показателей заболеваемости в Европе. Ежегодно высокий уровень заболеваемости регистрируется в Андалусии, Кастилия-Ла-Манча, Арагоне и Кэстилл-Леоне.

Внедрение политики Европейского сообщества по борьбе с болезнями жвачных животных [89] привело к разработке испанской национальной программы по борьбе с бруцеллёзом КРС и национальной программы по ликвидации бруцеллёза овец и коз [90]. Эта ежегодная программа финансируется Европейским союзом, отслеживает состояние заболеваемости на фермах, где есть КРС, овцы и козы. Программа также включает вакцинацию молодых животных (возраст 3-6 месяцев, вакциной REV-1), серологическое исследование образцов от животных старше 18 мес., обязательный убой и компенсацию владельцам овец и коз, положительно реагирующих на бруцеллёз [90]. В совокупности эти мероприятия привели к снижению распространения заболевания, а также уменьшению количества ферм, на которых регистрируются зараженные животные по всей Испании.

Франция является примером успешного искоренения бруцеллёза. О более чем 800 случаях бруцеллёза людей сообщалось в 1976 г. К 1983 г. - их количество уменьшилась до 405, в 1990 имели место 125 случаев, в 2000 - 44 [91]. Согласно данным OIE в последнее время, ежегодное количество случаев было низким - до 7 в год, большинство из которых приходилось на южные области и было связано с потре-

блением молочных продуктов, импортированных из Испании. Однако в январе 2012 г., впервые с 2003 года, у человека был диагностирован бруцеллёз (выделена культура из крови) в районе Французских Альп. Выделенный штамм идентифицирован как *B. melitensis* биовар 3. В апреле 2012 г. бруцеллёз был подтвержден у молочной коровы в стаде этого же района. Из молока, взятого у животного, выделен штамм *B. melitensis* биовар 3. Животное находилось в стаде с 21 дойной коровой, исследование других животных не дало положительных результатов [92]. В настоящее время в стране регистрируется до 30 случаев в год.

Балканский полуостров

Страны Балканского региона можно разделить на несколько категорий: а) с серьезными проблемами по бруцеллёзу животных и человека: Македония (заболевания овец, коз и людей); б) с менее значительными проблемами, хотя болезнь в той или иной мере присутствует у животных и людей: Сербия, Черногория, Косово, Босния и Герцеговина, Албания; в) свободные от бруцеллёза: Словения, Хорватия, Румыния и Болгария. В Словении, Румынии и Хорватии бруцеллёз, вызванный *B. melitensis* или *B. abortus*, не регистрировался последние 10 лет. В Болгарии изредка встречаются завозные случаи бруцеллёза человека (вспышка среди пастухов из района Сливен, работавших на греческой ферме, двое из них умерли). В бывшей югославской республике Македония бруцеллёз людей является почти эпидемией, несмотря на то, что ежегодный уровень постепенно уменьшается [93], уровень также высок в Албании [94].

В Македонии в период с 1980-2004 гг. было зарегистрировано в общей сложности 9720 случаев бруцеллёза человека. Число случаев коррелирует с интенсивностью эпизоотий бруцеллёза среди овец и коз. В 2004 г. при обследовании животных из общего количества 488656 овец - 13810 положительно реагировали на бруцеллёз, из 46985 коз - положительные 1603 и из 85857 КРС - положительные 215 [95].

В настоящее время действует программа по искоренению бруцеллёза, которая содержит ветеринарные и медицинские меры, в том числе: а) систематическое обследование всех домашних животных; б) контроль за торговлей животными; в) пропаганда здорового образа жизни.

С 1958 г. Болгария считается свободной от бруцеллёза овец и КРС, хотя все еще регистрируются отдельные случаи бруцеллёза свиней, но их количество значительно сокращается. В некоторых районах с высокой плотностью популяций диких свиней и бездомных собак выделяются штаммы *B. suis* биовар 2 и *B. canis*.

За последние 10 лет были зарегистрированы отдельные случаи

заболевания, вызванного *B. ovis* - инфекционный эпидидимит (порядка 1 % всех баранов, протестированных на бруцеллёз). Борьба с инфекционным эпидидимитом баранов ведется путем утилизации и уничтожения положительно реагирующих животных. Ежегодно 30 % от общего количества племенных животных проходят тестирование на бруцеллёз [96].

Хорватия была свободна от бруцеллёза с 1961 по 1990 г., а затем была зарегистрирована вспышка среди овец и коз в Истре (ежегодные доклады хорватского ветеринарного института, Загреб, 1990, 2000).

С 1993 г. *Хорватия* свободна от бруцеллёза. В период 1990-1993 гг. поступило несколько сообщений о вспышках заболеваний у людей, вызванных *B. melitensis* (1991/65 случаев, 1992/25, 1993/3). *B. suis* биовар 2 был изолирован от зараженных домашних и диких свиней, а также *B. ovis* у овец [97].

В *Сербии* насчитывается порядка 1 000 000 овец и 600 000 КРС, в *Черногории* 293 000 овец и 179 000 КРС. Серологическое исследование животных осуществляется один раз в год с сезонным кочевым перемещением, вакцинация не проводится. Исходя из имеющихся данных, предполагается, что в *Сербии* за последние 10 лет было зарегистрировано 1450 положительных случаев бруцеллёза овец и коз и около 160 у людей [98].

В 1996 г. была разработана программа ликвидации бруцеллёза и меры контроля. Эта программа включает в себя финансирование, ветеринарный и медицинский контроль и надзор. Вакцинация не проводилась и не была включена в программу.

До 1992 г. в *Косово* из 117 085 животных положительно реагировали на бруцеллёз 2 341. С 1996 по 1999 г. бруцеллёз был подтвержден у 488 овец и коз [98].

Согласно имеющимся данным за период 1985-1994 гг., на территории *Косово* было подтверждено и зарегистрировано в общей сложности 809 случаев бруцеллёза среди людей.

В марте 2001 г. в рамках проекта OSRO/KOS/908/USA было проведено обследование овец, коз и КРС. Было обнаружено преобладание положительно реагирующих среди овец и коз (5,9 %) и среди КРС (0,45 %). Сыворотки были проверены с помощью теста Роз Бенгал и подтверждены ИФА в сотрудничающем центре ФАО/ВОЗ, Вейбридж, Великобритания. По результатам исследования было принято решение вакцинировать овец и коз вакциной Rev 1 в муниципалитетах с наибольшей распространенностью. За мероприятиями по вакцинации следит отдел животноводства и здравоохранения ФАО.

Ситуация по бруцеллёзу в *Румынии* была проанализирована с использованием данных, предоставленных государственным Междуна-

родным бюро эпизоотий и ветеринарной службой. Как и многие другие развитые страны, с 1969 г. Румыния искоренила бруцеллёз у КРС, вызванный *B. abortus*. О бруцеллёзе, вызванном *B. melitensis*, никогда не сообщалось. Заболеваемость бруцеллёзом свиней и овец очень редка, но все же в некоторых регионах наблюдались небольшие вспышки. Вакцинация против бруцеллёза в Румынии запрещена [99].

В *Словении* бруцеллёз овец и коз не регистрируется.

Ближний Восток

Ближний Восток традиционно рассматривался как эндемичная по бруцеллёзу территория. Пять из 25 стран с самым высоким уровнем заболеваемости бруцеллёзом человека (Сирия, Саудовская Аравия, Ирак, Иран и Ливан) находятся в этом регионе.

Сирия занимает первое место по заболеваемости бруцеллёзом во всем мире, поскольку в 2007 г. было зарегистрировано максимальное количество - 39 838 случаев заболевания людей [100, 101]. Так как клиника заболевания может имитировать ряд других инфекций, таких как тиф, мононуклеоз, лейшманиоз и туберкулез, медицинский персонал часто совершает ошибки в диагностике, что приводит к серьёзным последствиям (инвалидизации) и ведёт за собой большие экономические потери [102].

Сирия имеет самый высокий ежегодный уровень заболеваемости во всем мире, достигая 1 603 случаев на миллион в год.

Ситуация в *Иране* улучшается, согласно данным Национальной Комиссии по Контролю Инфекционных болезней. В 1989 г. ежегодный уровень превышал 1 000 случаев на миллион [103], в настоящее время - упал до 238,6 случаев на миллион [104], однако бруцеллёз по-прежнему остается огромной проблемой для системы здравоохранения этой страны.

В *Ираке* также отмечается стойкая эндемичность данной болезни, несмотря на продолжающиеся попытки организации контроля за эпизоотолого-эпидемиологической ситуацией по бруцеллёзу в стране [105, 106, 107].

Бруцеллёз является эндемиком в южной области *Омана* с ежегодным уровнем, превышающим 1 000 случаев на миллион [107].

Саудовская Аравия также является страной с высокой заболеваемостью бруцеллёзом, которая связана с бесконтрольным импортом животных из соседних неблагополучных регионов [108], а также несостоятельностью эпидемиологического надзора [109].

Республики бывшего Советского Союза

Семь республик бывшего Советского Союза включены в перечень 25 стран с самой высокой заболеваемостью бруцеллёзом во всем мире.

В *Кыргызстане* в последние годы заболеваемость бруцеллёзом сократилась до 700 случаев в год.

Программа борьбы с бруцеллёзом осуществляется по всей республике с 2011 г. совместно с отделом реализации сельскохозяйственных проектов (ОРСП) Министерства сельского хозяйства и мелиорации Кыргызской Республики (КР), Государственной инспекцией по ветеринарной и фитосанитарной безопасности, а также другими партнерами в рамках проектов «Сельскохозяйственные инвестиции и услуги», «Развитие животноводства и рынка».

Согласно информации Министерства здравоохранения КР, общие экономические потери, связанные с заболеваемостью бруцеллёзом, с 2000 по 2013 гг. превысили 210 млн долларов, учитывая, что за этот период число заболевших острым бруцеллёзом составило 39801 человек. Если рассчитывать арифметически сумму потерь, приходящуюся на одного человека, то они составляют порядка 5275 долларов.

В настоящее время финансирование программы по борьбе с бруцеллёзом продолжается в рамках проекта «Развитие животноводства и рынка». Среди выполняемых мероприятий - закупка вакцины, проведение вакцинации овец и коз, всесторонняя поддержка системы ветеринарного надзора (подготовка молодых кадров, повышение квалификации ветеринарных специалистов, оснащение лабораторий диагностическим оборудованием) [110].

Уничтожение и профилактика бруцеллёза животных в *Украине* были результатом очень долгосрочной работы ветеринарных служб. Три периода ликвидации и профилактики: развитие и уничтожение эпизоотии (1950-1975), период постэпизоотии (1975-1985), период стабильной ситуации с эпизоотией (1986-2010)

В период 1950-1975 гг. бруцеллёз КРС регистрировался на всей территории Украины (25 регионов), овец - в 20 регионах, свиней - в 22. В этот период эпизоотии изолировано 60 штаммов - *B. abortus*, 3 - *B. melitensis*, 6 - *B. suis*. Животноводческие хозяйства Украины были официально признаны как свободные от бруцеллёза в 1975 г. Единичные вспышки болезней наблюдались в хозяйствах, прежде вакцинированных живыми вакцинами *B. abortus* 19. В популяции овец ликвидация бруцеллёза (по официальным данным) произошла в 1964, у свиней в 1972. Медленное снижение интенсивности эпизоотии бруцеллёза среди коров и свиней коррелировалось с плотностью популяции перечисленных видов сельскохозяйственных животных в отобранных регионах. С 1982 г. использование живых вакцин для профилактики и уничтожения в животноводческих хозяйствах бруцеллёза в Украине было полностью запрещено. Следующий период (1986-2010) характеризовался программным наблюдением на

государственном уровне за предотвращением завоза бруцеллёза из эндемичных регионов мира и поддержания стабильной ситуации в стране

Бруцеллёз людей - один из самых распространенных зоонозов в Грузии. Согласно национальной статистике, приблизительно 150 подтвержденных случаев бруцеллёза ежегодно регистрируется в стране. Болезнь у людей, главным образом, связана с контактом с животными и/или продуктами животного происхождения.

В Грузии бруцеллёз среди людей и животных ежегодно регистрируется преимущественно на востоке и юго-востоке страны, в регионах активного разведения скота. В последние годы наметилась тенденция к снижению заболеваемости людей бруцеллёзом. По данным Национального центра контроля заболеваний и общественного здравоохранения Грузии (NCDC), среднее многолетнее количество заболеваний людей бруцеллёзом составляет 130-160 случаев в год. По сведениям Департамента ветеринарии Национального агентства продовольствия Грузии, в неблагополучных по бруцеллёзу районах страны уровень серопозитивности среди КРС составляет около 2 %.

Бруцеллёз является достаточно эндемичной болезнью для Азербайджана. Эпидемиологическая ситуация по бруцеллёзу в Азербайджане остается напряженной вследствие сохраняющегося неблагополучия среди сельскохозяйственных животных.

Республика Казахстан - страна, где животноводство является неотъемлемой частью жизни в силу сложившихся исторических/культурных традиций и географических/природных условий. Бруцеллёз стал проблемой общественного здравоохранения, вызванной растущим поголовьем скота, обширной урбанизацией территорий, а также недостаточной эффективностью ветеринарно-санитарного и санитарно-эпидемиологического надзора.

Первый случай бруцеллёза человека был зафиксирован в 1932 г. в южных областях Казахстана. Два года спустя бруцеллёз был зарегистрирован в центральном Казахстане. Медицинская экспедиция в отдаленные районы с полукочевым скотоводством, имевшая место в 1937 г., выявила высокий уровень заболеваемости бруцеллёзом среди местного населения, что указывало на циркуляцию бруцелл в республике уже длительное время [111]. Тем не менее не удалось получить полную картину распространения бруцеллёза в течение этого периода из-за не систематического учета заболеваемости. В период с 1978 по 1990 г. заболеваемость бруцеллёзом в стране варьировала от 6,9 до 14,8 случаев на 100 000 человек населения, при этом самый резкий рост произошел в период с 1982 по 1988 г.

Первые случаи бруцеллёза животных были зарегистрированы в Ка-

захстане в 1930 г. [112], а плановое диагностическое тестирование на бруцеллёз было введено в 1932 г.

Колебания заболеваемости бруцеллёзом животных в советское время можно объяснить применением различных стратегий борьбы с бруцеллёзом. Обширные вакцинации КРС штаммом *B. abortus* S19 начались в 1955 г. и обеспечили 70 %-ный охват КРС до 1971 г. Согласно эпидемиологическим данным, уровень заболеваемости значительно снизился, что привело к сокращению числа абортос в этот период. Тем не менее уровень обнаружения серопозитивных животных оставался высоким из-за невозможности дифференциации вакцинированных и инфицированных животных и длительного сохранения титра антибруцеллярных антител у вакцинированных животных. По этой причине вакцинации штаммом *B. abortus* S19 были прекращены в 1971 г. во многих регионах страны. Это оказало неблагоприятное влияние на эпизоотическую ситуацию, что привело к увеличению серопозитивных животных, которое достигло пика в 4,2 % в 1974 г. Кроме того, ухудшение ситуации произошло в северных регионах, где была высокая концентрация животных и длительные периоды стойла [113, 114]. С середины 70-х годов был использован штамм *B. abortus* 82 для вакцинации всех групп КРС вместе с общенациональной программой тестирования и убоя, что привело к постепенному снижению заболеваемости в стадах [115, 116], достигнув своего минимума (1,4 %) в 1989 г.

Однако после распада Советского Союза и его экономики в 1991 г. сельскохозяйственные нормы устарели. Крупные колхозы были денационализированы, что привело к резкому сокращению поголовья скота и образованию множества мелких частных ферм [117]. Предыдущая система ветеринарного контроля, таким образом, стала неэффективной. Кроме того, сложная экономическая ситуация способствовала ухудшению контроля многих инфекционных заболеваний, в том числе бруцеллёза [118]. Официально программа вакцинации продолжалась до 2006 г., однако реально не принесла результатов из-за отсутствия финансирования с 1992 г. [119]. Это привело к увеличению количества серопозитивного скота до 1,9 % в 1995 г.

Официальные данные, связанные с этим периодом времени, лучше всего рассматривать как крайне противоречивые, с широко колеблющимися показателями заражения. Например, в 2007 году только 0,6 % из 440 000 протестированных животных были диагностированы как серопозитивные. С 2007 г. вакцинации были полностью отменены и заменены новой стратегией, которая включала общее диагностическое исследование животных с использованием иммуноферментного анализа (ИФА) и последующего убоя серопозитивных животных. Применение ИФА резко увеличило обнаружение серопозитивного скота. Например,

2,1 % из 5,5 млн образцов были серопозитивными в 2009 г. Несмотря на последующее снижение количества серопозитивных животных, добровольная вакцинация КРС была включена в программу ликвидации бруцеллёза в 2014 г. Выбор вакцины в настоящее время является прерогативой ветеринарного врача и владельца КРС, который должен уведомить Государственную ветеринарную службу о своей деятельности.

С 1991 г. заболеваемость бруцеллёзом у овец неуклонно снижалась и, по-видимому, стабилизировалась на уровне 0,1-0,3 % к 2011 г.

В отличие от сокращения поголовья овец заболеваемость людей постоянно возрастала с 11,3 на 100 тыс. населения в 1990 г. до 19,2 в 1992 г. и достигла пика (23,95 на 100 тыс. населения) в 2004 г. [119].

В настоящее время эпизоотологическая обстановка по бруцеллёзу остается весьма напряженной в Казахстане, особенно в северных и центральных регионах, где сосредоточено 75 % неблагополучных пунктов и выявляется 90 % больных животных от общего количества в республике. По некоторым регионам возрастает число случаев заболевания людей, что свидетельствует о недостаточном проведении комплекса противоэпизоотических мероприятий, направленных на разрыв эпизоотической цепи (источник возбудителя инфекции, механизм передачи и восприимчивые здоровые животные, человек) [120,121].

При изучении многолетней динамики (с 2009 по 2015 гг.) заболеваемости населения *Республики Узбекистан* бруцеллёзом был выявлен ряд закономерностей, связанных с территориальными особенностями, что в полной мере относится и к эпидемиологическому надзору за зоонозами. При изучении абсолютных показателей заболеваемости в Узбекистане за весь временной промежуток было выявлено, что пик заболеваемости приходился на 2015 г. - 874 случая, при этом самая низкая заболеваемость (322) была отмечена в 2009 г. Таким образом, было выявлено, что с 2009 г. был отмечен некоторый рост заболеваемости бруцеллёзом (в 2010 г. - 454), затем снижение значений показателей до 362 случаев (2012 г.) и после - значительный подъем до 874 случаев в 2015 г.

Высокая заболеваемость населения бруцеллёзом является подтверждением недостаточной эффективности проводившихся противобруцеллезных мероприятий [122].

В Республике Узбекистан в 2001-2017 гг. заболеваемость людей бруцеллёзом варьировала от 1,8 до 2,8 на 100 тыс. населения. Благополучными территориями по заболеваемости людей являются 6 областей республики. Показатели заболеваемости составили в 2017 г. в Сурхандарьинской области 9,6, в Джизакской области - 8,0, в Навоинской области - 7,9, в Бухарской области - 5,6, в Сырдарьинской области - 4,5 и в Кашкадарьинской области - 4,3.

Kumai

В Китае бруцеллёз был впервые зарегистрирован у 2 иностранцев в Шанхае в 1905 г., хотя в течение 10 лет до этого выявлялись больные со сходными клиническими симптомами [123]. После этого в Чунцине в 1906 г. было зарегистрировано 3 случая [124]. Первый заболевший с установленным диагнозом бруцеллёз, подтвержденным серологическими тестами, поступил из Фуцзянь в 1916 г. [125]. Впоследствии *Brucella spp.* был изолирован от иностранца и его коз, которые путешествовали из Пенджаба, Индия, в провинцию Хэнань, Китай, в 1925 г. [126], а в 1936 г. в Пекине было зарегистрировано заражение сотрудника лаборатории [127]. Бруцеллёз среди людей регистрировался в Китае до 1950 г., особенно часто в северных провинциях [128].

С 1950 г. в континентальном Китае начали проводить мероприятия (внедрять программы) по профилактике и борьбе с бруцеллёзом [129,130]. В 1950-1963 гг. заболевания бруцеллёзом среди людей регистрировались по всей стране. Вакцинация животных и людей была введена в качестве основной меры контроля в 1964-1976 гг. в провинциях, в которых отмечались эпидемии: Внутренняя Монголия, Синьцзян, Цинхай, Нинся и Хэнань [129]. В течение 1977-1988 гг. была запущена национальная программа борьбы с бруцеллёзом с введением диагностических критериев, протоколов лечения и мер контроля, а также в качестве основной меры контроля была использована вакцинация домашних животных. Национальный эпидемиологический надзор за бруцеллёзом, осуществлявший повсеместный мониторинг серопревалентности бруцеллёза у людей и животных, был установлен в 1990 г. [130].

В течение последнего десятилетия вспышки бруцеллёза у людей регистрируются все чаще и с явным географическим расширением от исторически неблагоприятного севера Китая [131, 132] до южных провинций [133-135]. Эпидемиология бруцеллёза является явной проблемой в Китае в течение последних 60 лет [136, 137].

В период с 1955 по 2014 гг. в национальной системе эпиднадзора за бруцеллёзом в материковом Китае было зарегистрировано в общей сложности 513 034 случая заболевания бруцеллёзом у человека (медиана 3504/год), в том числе 170 летальных случаев. Среди них 346 682 (67,6 %) случая были зарегистрированы в течение 2004-2014 гг.; доля лабораторно подтвержденных случаев варьировала от 76,9 % в 2004 г. до 93,2 % в 2014 г.

Годовой уровень заболеваемости колебался в течение 60 лет. До 1979 г. заболеваемость бруцеллёзом у человека была относительно стабильной (0,4-1,0 случая/100 тыс. жителей) и достигла пика в 1957-1963 гг. (0,9-1,8 /100 тыс. населения). Заболеваемость резко снизилась, начиная с 1979 г., и оставалась низкой до 1994 г. (0,05-0,10 / 100

000). Однако с 1995 по 2014 г. произошло увеличение заболеваемости (в среднем 0,2/100 000 в 1995-2003 гг. и 2,5/100 000 в течение 2004-2014 гг.); заболеваемость была самой высокой (4,2 случая/100 000 жителей) в 2014 г.

Южная Корея

Первый случай в Корее зарегистрирован в 2002 г. После вспышки в городе Джеонгап, провинция Чоллабук-до, в 2003 г. заболеваемость бруцеллёзом быстро возросла по всей стране [138]. С января 2002 по октябрь 2015 г. в «Системе веб-статистики заболеваний» Корейского центра по контролю и профилактике заболеваний было зарегистрировано в общей сложности 750 случаев бруцеллёза [139]. Количество случаев бруцеллёза увеличилось с одного пациента в 2002 г. до 215 пациентов в 2006 г. Наибольшая заболеваемость бруцеллёзом приходится на провинцию Кёнсан-Пукто, в которой находится большая доля сельскохозяйственных угодий. В 2006 г. из-за регистрации большого количества случаев бруцеллёз стал важной проблемой общественного здравоохранения [140].

В Корее бруцеллёз человека тесно связан с бруцеллёзом КРС, наибольшая заболеваемость которого также регистрируется в провинции Кёнсан-Пукто. Однако с 2006 г. заболеваемость бруцеллёзом в Корее начала снижаться. В 2002 г. в Корейской интегрированной системе охраны здоровья животных было зарегистрировано 940 гол. КРС, больных бруцеллёзом, в 2003 г. - 1088, 2004 - 5383, 2005 - 17690, 2006 - 25454, однако в 2013 г. - 979, 2014 г. - 727, 2015 г. - 304 гол. [141]. Жёсткая государственная политика по искоренению способствовала быстрому снижению случаев бруцеллёза среди КРС.

После того, как в 2006 г. эпидемия достигла своего пика, зарегистрированное число случаев бруцеллёза у людей резко сократилось. Тем не менее каждый год регистрируется около 20 случаев заболевания бруцеллёзом у людей.

Индия

Индия - страна, входящая в состав БРИКС. Является крупнейшей страной Южной Азии, занимает второе место в мире по численности населения. В стране развито сельское хозяйство, в том числе и животноводство. По размеру поголовья некоторых видов сельскохозяйственных животных Индия входит в тройку мировых лидеров.

Столь развитая животноводческая составляющая на фоне имеющихся в стране социальных и экономических проблем стала благоприятным условием для эпизоотического и эпидемического проявления бруцеллёза, который признан эндемичным для Индии с 1942 г.

Эпизоотологическая обстановка по бруцеллёзу в стране является сложной. Контроль за данной инфекцией на должном уровне осуществляется только на предприятиях по производству молока, и оценить всю полноту проблемы в частных хозяйствах не представляется возможным из-за отсутствия санитарного и ветеринарного контроля за сельскохозяйственными животными. Также в Индии не существует государственных программ, направленных на контроль и сокращение показателей заболеваемости животных бруцеллёзом.

Массовому серологическому исследованию на бруцеллёз подвергается только КРС - коровы и буйволы. На основании этих исследований составлены ориентировочные масштабы поражения скота бруцеллёзом на конкретной территории (таблица 7).

Судить о распространенности бруцеллёза среди мелкого рогатого скота, который является основным видом сельскохозяйственных животных в частных хозяйствах, не представляется возможным из-за отсутствия исследований на выявление бруцеллёза. Политика контролируемых ветеринарных организаций, направленная на информирование населения о необходимости таковых исследований и ежегодной вакцинации скота, не приносит должного эффекта. Основным фактором распространения инфекции выступает бесконтрольное перемещение скота по территории страны, отсутствие карантинных мероприятий по бруцеллёзу, наличие бартерных отношений среди населения и совместный выпас животных из разных хозяйств на общественных пастбищах. Негативно на обстановку влияет и тот факт, что больные животные подлежат убою и компенсаций за таких животных не предусмотрено.

Таблица 7. Эпизоотологическая обстановка по бруцеллёзу в Индии

Наименование штата	Доля больного поголовья (%)
Западные штаты	
Гуджарат	31,54
Махараштра	34,86
Раджастхан	12,82
Мадхья-Прадеш	20,57
Уттар-Прадеш	41,29
Восточные штаты	
Манипур	0,28
Ассам	0
Мизорам	5,62

Наименование штата	Доля больного поголовья (%)
Южные штаты	
Андхра-Прадеш	4,3
Керала	8,0
Карнатака	3,8
Северные штаты	
Средние показатели по штатам	8,76

В Индии для вакцинации КРС используют штамм *B. abortus* 19 VA, а для вакцинации МРС применяют штамм *B. melitensis* REV-I.

Бруцеллёз людей является для системы здравоохранения Индии важной проблемой. Достоверное количество больных бруцеллёзом людей неизвестно, так как среди населения, большое количество которого находится за чертой бедности и обращение за медицинской помощью происходит только в самых тяжелых случаях, что позволяет судить о целой прослойке населения с хроническим бруцеллёзом. Инфицированность среди ветеринарных работников в некоторых штатах достигает 16 %. Существует проблема с самим качеством медицинского обслуживания, которое выражается в отсутствии достаточного количества медицинского персонала и необходимых диагностических препаратов. Низкий уровень гигиены также способствует распространению болезни. Вакцинация людей в Индии не проводится.

Австралия

В период с 1991 по 2016 гг. в Австралии ежегодно регистрировалось в среднем 30 случаев заболевания людей (1,6 случая на 1 млн населения), 80 % из которых регистрируются в Квинсленде (6,7 случаев на 1 млн человек).

В Австралии охотники и собаки заражаются *B. suis* при прямом контакте с тканями и кровью диких свиней через поврежденные кожные покровы и слизистые оболочки во время процесса охоты и разделывания туш. Собаки, особенно в частном секторе, также могут заразиться, если их кормят сырым мясом диких свиней или субпродуктами. Передача *B. suis* от собак к человеку была задокументирована, однако основной риск для людей, по-видимому, связан со временем массовых оков и во время хирургических процедур (например, ветеринары, проводящие операции по кастрированию).

Бруцеллёз был когда-то распространенной инфекцией на скотобойнях в Австралии. Основными факторами риска развития бруцеллёза у людей в этой стране являются:

- охота на диких свиней (*B. suis*) - особенно когда туши разделяются в поле;

- поездки в страны, эндемичные по бруцеллёзу.

К менее распространенным группам риска относятся:

- фермеры, работники скотобоев и другие работники животноводства, осуществляющие деятельность за рубежом;

- люди, которые работают в микробиологических лабораториях с культурами бруцелл;

- люди, занимающиеся хранением, транспортировкой или обработкой туш диких свиней - эти люди могут подвергаться риску заражения *B. suis* от диких свиней в Австралии.

Африка

Бруцеллёз животных является серьезной проблемой для государств африканского континента, обусловленной дисбалансом проведения противоэпизоотических мероприятий, диагностических исследований, ограниченными экономическими возможностями и особенностями организационно-хозяйственной деятельности в животноводстве: кочевое и отгонное животноводство, беспривязное содержание скота [142].

Распространенность бруцеллёза КРС на африканском континенте составляет до 30 %, мелкого рогатого скота - 12,5 % [143]. Ветеринарные службы государств Африки в последние годы стали прилагать больше усилий по влиянию на эпизоотии, в том числе по причине интенсификации животноводства, необходимой для увеличения производства молока и молочных продуктов. Анализ данных показывает, что исследования бруцеллёза в странах Африки были сосредоточены на эпидемиологическом и микробиологическом аспектах этого заболевания [142, 144, 145]; экономический и социальный аспекты не получали должного внимания до последнего времени [146-148].

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, поголовья крупного и мелкого рогатого скота в подавляющем большинстве стран континента находятся под ветеринарным контролем (86 %), показатели распространенности бруцеллёза представлены в таблице 8.

В течение последних десятилетий в Бенине и соседних странах наблюдается повышение активности в решении проблемы бруцеллёза [149, 150], что отражено в данных Всемирного банка [151] и Организации по вопросам сельского хозяйства и продовольствия ООН [152].

Анализ данных показывает, что во многих странах имеет место контроль над распространением бруцеллёза, однако более чем половина из обследованных стран не подлежит эпизоотологическому надзору. Из таблицы 8 видно, что контроль осуществляется гораздо интенсивнее по отношению к КРС, чем к другим животным и даже к людям. Таким

образом, средний показатель распространенности бруцеллёза КРС колеблется от 0,03 % в Ботсване до 30 % в Нигере. Этот показатель выше в Мали - 22 % и в Сенегале - 20 % по сравнению с Намибией - <0,5 и Алжиром - 0,7 %.

Диагностика бруцеллёза в странах Африки основана на проведении анализа клинико-эпизоотологических данных и результатов лабораторных исследований. В большинстве стран имеются оснащённые лаборатории, способные проводить диагностику бруцеллёза, причем массовая диагностика болезни проводится путем серологического исследования животных. При этом только 7 % стран Сахары используют бактериологические, серологические и аллергические методы диагностики. Отсутствие финансирования в ряде стран очень часто не позволяет проводить систематическую диагностику заболевания, что отражается на эффективности противобруцеллёзных мероприятий.

Таблица 8. Распространенность бруцеллёза среди животных и людей в странах африканского континента [по С.И.Н. Анагону, О.Д. Склярору, Ю.А. Ватникову, 2013]

Страна	Распространенность бруцеллёза (%)			
	КРС	овцы/козы	свиньи	люди
Алжир	0,7	6	н/д	0,024
Бенин	10	2	н/д	н/д
Ботсвана	0,034	н/д	0,1	н/д
Конго	5	н/д	н/д	н/д
Эритрея	10	н/д	н/д	н/д
Гамбия	2	н/д	н/д	н/д
Гана	9	н/д	н/д	н/д
Гвинея	9	12,5	н/д	30
Кения	0,9	1	0,9	н/д
Мали	22	н/д	н/д	н/д
Марокко	7	0,1	н/д	1,5
Мавритания	1	н/д	н/д	н/д
Намибия	< 0,5	< 0,5	н/д	н/д
Нигер	30	2	н/д	н/д
Руанда	1,7	н/д	н/д	н/д

Страна	Распространенность бруцеллёза (%)			
	КРС	овцы/козы	свиньи	люди
Сенегал	20	н/д	н/д	н/д
Свазиленд	4	0,2	н/д	н/д
Танзания	5,8	н/д	н/д	н/д
Чад	7	н/д	н/д	4
Тунис	3,5	7,5	н/д	н/д
Замбия	2,5	4,7	н/д	н/д

н/д - нет данных.

Случаи заболевания людей зачастую обусловлены употреблением в пищу сырого молока и изготовленного из него сыра. По данным ООН, в группу риска по заболеванию бруцеллёзом входят в основном фермеры, работники скотобоен и ветеринары. После обнаружения инфекции люди проходят лечение в больницах или у народных целителей, а в большинстве случаев остаются без лечения, поскольку его стоимость для них чрезвычайно высока [152].

С точки зрения экономической оценки проблемы бруцеллёза потери от него связаны с абортами, мертворождениями, рождением нежизнеспособного приплода, снижением продуктивности молочных животных и использования животных как рабочей силы [143].

Животноводство в странах африканского континента имеет важнейшее экономическое и социальное значение. В этой связи бруцеллёз в свете прямых потерь, наносимых животноводству, и его социальной значимости представляет практически неразрешимую проблему для торговых взаимоотношений между странами, что приводит к еще более значительному экономическому ущербу.

Бруцеллёз в Российской Федерации

Эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация по бруцеллёзу в России на протяжении последних лет имеет тенденцию к стабилизации. При этом, по данным Россельхознадзора, риск распространения бруцеллёза среди животных в стране остается «высоким». Многолетний тренд неблагоприятия по бруцеллёзу КРС имеет возрастающий характер.

В период с 2009 по 2018 г. в России был зарегистрирован 4051 неблагополучный пункт (н.п.) по бруцеллёзу КРС, в которых выявлено 95676 голов больных животных и 418 н.п. по бруцеллёзу МРС, в которых зарегистрировано 16859 больных бруцеллёзом овец и коз.

Показатель средней многолетней очаговой инцидентности (среднее количество заболевших животных в одном н.п.) по бру-

целлёзу КРС составил 47,8, МРС - 47,7. Динамика показателя очаговой инцидентности указывает на наличие выраженной положительной тенденции к ежегодному снижению заболеваемости животных в эпизоотических очагах.

Заболевания КРС бруцеллёзом преимущественно регистрировались на территориях Северо-Кавказского (СКФО), Южного (ЮФО) и Приволжского (ПФО) федеральных округов. Основное количество неблагополучных по бруцеллёзу МРС пунктов и большого поголовья выявлено в двух федеральных округах - СКФО и ЮФО.

К территории, неблагополучной по бруцеллёзу северных оленей, относится субрегион Северной Азии России. Бруцеллёз северных оленей здесь в 2018 г. регистрировался в Республике Саха (Якутия) (35 пунктов, 164 гол.), Ямало-Ненецком (9 пунктов, 322 гол.) и Чукотском (1 пункт, 3 гол.) автономных округах, Красноярском крае (1 пункт, 1 гол.). Инфицирование северных оленей чаще всего происходит при абортах, в период гона и отела, бесконтрольном вводе в стада самцов-производителей, молодых маток (важенок), контактах на путях миграции с дикими животными. В эпизоотическую цепь включаются домашние, дикие северные олени и плотоядные животные (собаки).

Эпидемические проявления бруцеллёза на территории Российской Федерации связаны с активностью эпизоотического процесса среди основных эпидемиологически значимых видов сельскохозяйственных животных - МРС и, в большей степени, КРС, интенсивность и распространенность которого в Российской Федерации не имеет выраженной тенденции к снижению.

Эпидемиологическая обстановка по бруцеллёзу в Российской Федерации за последние 10 лет характеризовалась как неблагополучная с тенденцией к снижению и стабилизации уровня заболеваемости. Наибольшее количество случаев бруцеллёза у людей регистрировалось в СКФО, ЮФО, ПФО и Сибирском федеральном округе (СФО). В период 2009-2018 гг. зарегистрировано 3832 случая впервые выявленного бруцеллёза среди людей. Среднемноголетний интенсивный показатель заболеваемости на 100 тыс. населения составил 0,27, среди детей до 17 - 0,13 (рисунки 11, 12).

В 2018 г. в России отмечалось снижение заболеваемости людей бруцеллёзом. Было зарегистрировано 290 случаев бруцеллёза у людей в 22 субъектах семи федеральных округов, ИП составил 0,20, что ниже средней многолетней заболеваемости за последние 10 лет (383 случая, ИП - 0,27), на 24 % (92 случая). Среди детей до 17 лет зарегистрировано 22 случая (ИП - 0,08), в сравнении со средней многолетней (2009-2018 гг.) заболеваемостью детей до 17 лет (32 случая ИП - 0,12) отмечалось снижение абсолютного количества заболевших бруцеллёзом детей до 17 лет на 33,9 % (10 случаев).

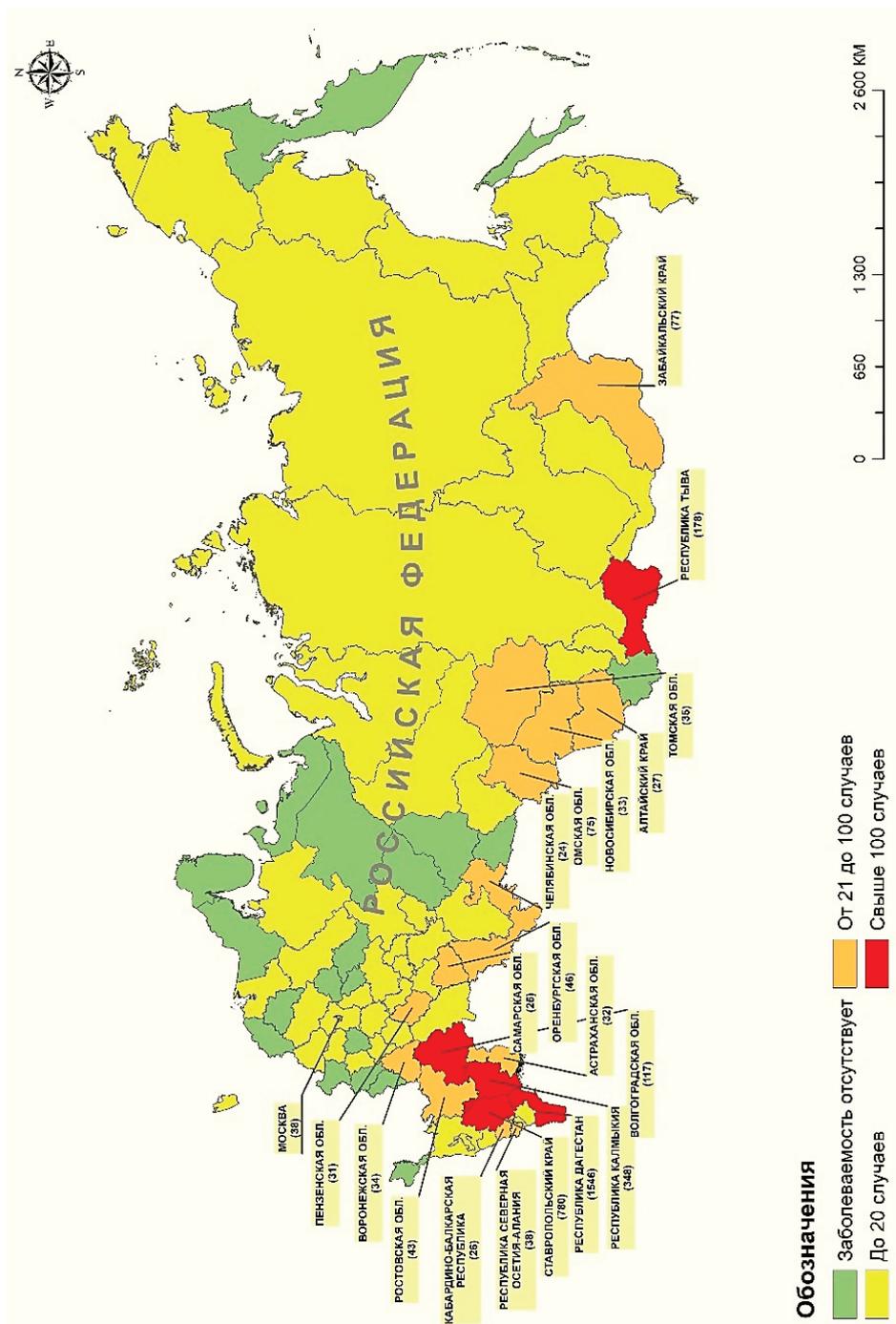


Рисунок 11. Регистрация случаев впервые выявленного бруцеллёза среди людей на территории Российской Федерации в период 2009-2018 гг.

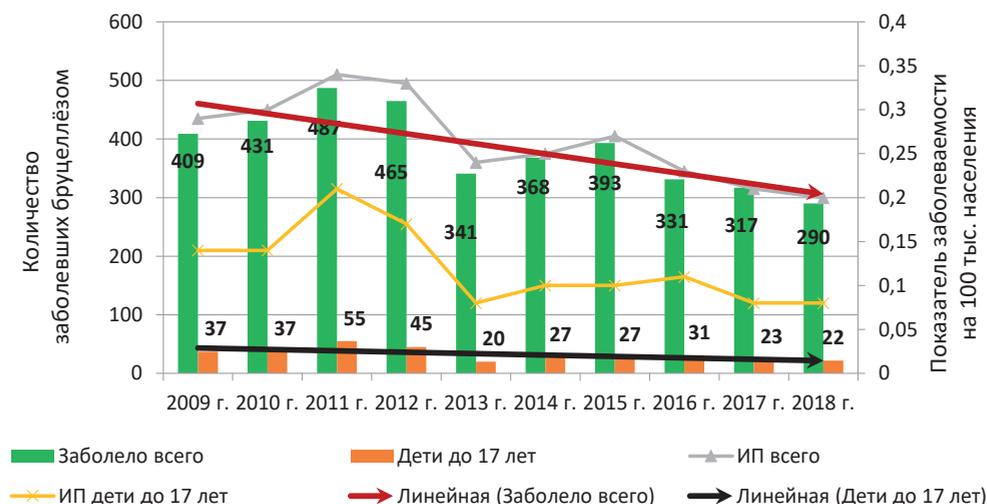


Рисунок 12. Динамика регистрации заболеваемости и количества заболевших бруцеллёзом людей в Российской Федерации в 2009-2018 гг.

СКФО - стабильно неблагополучный по бруцеллёзу регион Российской Федерации. За период с 2010-2018 гг. в округе был зарегистрирован 2171 случай впервые выявленного бруцеллёза среди людей, в том числе 180 среди детей до 17 лет. Прослеживается тенденция к ежегодному снижению в последние 3 года количества заболевших до уровня 200-220 случаев. Наибольшее количество заболевших выявлено на территориях Республики Дагестан и Ставропольского края (рисунки 13, 14).

Как и в предыдущие годы, в 2018 г. наибольшее количество людей, заболевших бруцеллёзом, регистрировалось в СКФО - 203 случая (ИП - 2,08), что составляет 69,7 % от общероссийской заболеваемости бруцеллёзом. Напряжённость эпидемиологической ситуации обуславливает стойкое эпизоотическое неблагополучие территории округа по бруцеллёзу КРС (71,5 % от общего числа неблагополучных пунктов в России) и МРС (45,0 %).

В сравнении со средней многолетней заболеваемостью людей бруцеллёзом в СКФО (248 случаев, ИП - 2,54) в 2018 г. наблюдается снижение количества заболевших бруцеллёзом на 18,1 % (45 случаев).

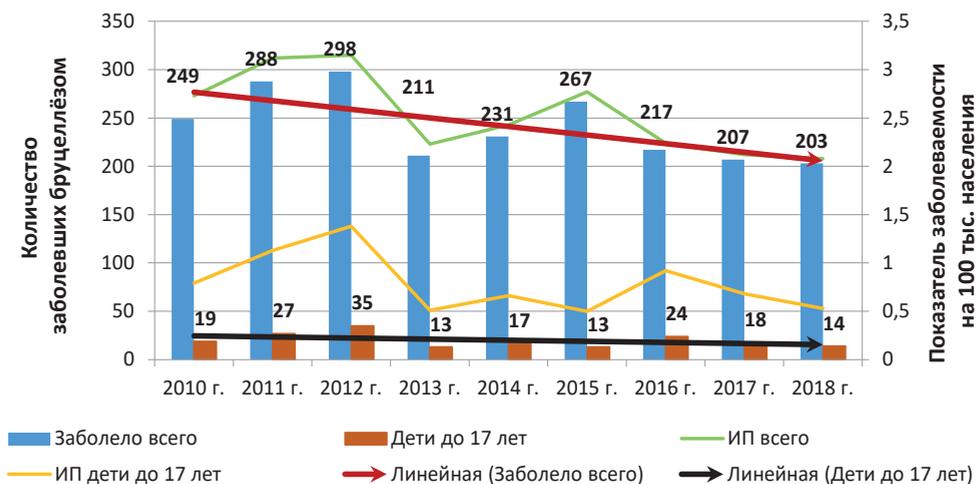


Рисунок 13. Динамика регистрации заболеваемости и количества заболевших бруцеллёзом людей в СКФО в 2010-2018 гг.

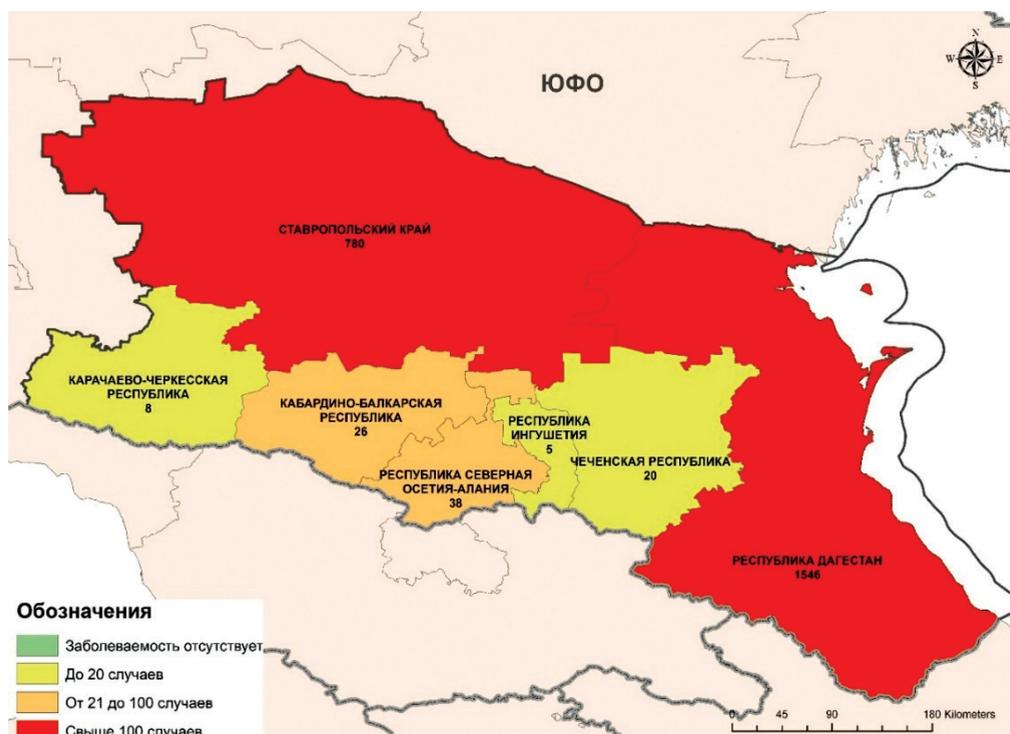


Рисунок 14. Регистрация случаев бруцеллёза среди людей на территории СКФО в 2009*, 2010-2018 гг. (*субъекты в составе ЮФО)

Наибольший вклад в общую заболеваемость бруцеллёзом в округе вносит Республика Дагестан (РД), где за последние 10 лет ежегодно регистрировалось до 200 случаев впервые выявленного бруцеллёза (рисунок 15).

В 2018 г. в республике установлено 134 (46 % от общероссийских показателей) случая бруцеллёза у людей (ИП - 4,42). Средний многолетний уровень заболевания в РД составляет 155 случаев, ИП - 5,38. В республике ежегодно регистрируется один из самых высоких в стране уровней заболеваемости детей бруцеллёзом, что связано с традиционно активным привлечением несовершеннолетних к уходу за животными. В 2018 г. выявлено 14 случаев (ИП - 1,58) (63,6 % от общероссийских показателей) заболевания бруцеллёзом лиц до 17 лет, что сопоставимо с показателями средней многолетней заболеваемости бруцеллёзом несовершеннолетних в республике (16 случаев, ИП - 1,93). Среди заболевших бруцеллёзом 56 человек (41,8 %) - индивидуальные владельцы животных. Бруцеллёз в республике регистрировался в течение всего календарного года, при этом наибольшее количество больных (109 случаев, 81,3 %) выявлено в период с апреля по ноябрь. Источником возбудителя инфекции в равной степени был КРС и МРС, больной бруцеллёзом. В 89 случаях заболевания людей бруцеллёзом определён контактный механизм передачи инфекции, в 42 - алиментарный. Основные факторы передачи возбудителя инфекции - естественные выделения больных животных (66,4 %) и продукты животноводства (молоко, молочные продукты, мясо, мясные продукты), инфицированные бруцеллами (31,3 %). Наибольшее количество заболевших выявляли на административных территориях Левашинского (15 случаев), Акушинского (13 случаев), Кизлярского (10 случаев), Тарумовского (9 случаев) районов и г. Махачкалы (8 случаев).

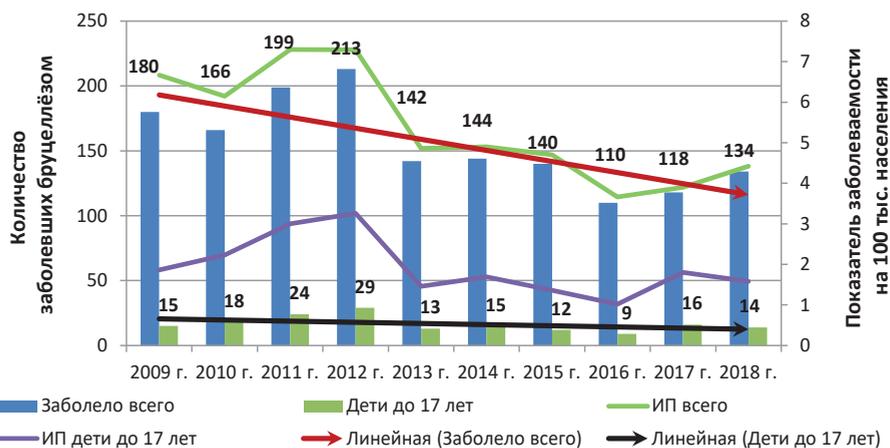


Рисунок 15. Динамика регистрации заболеваемости и количества заболевших бруцеллёзом людей в Республике Дагестан в 2009-2018 гг.

Ставропольский край (СК) - один из наиболее неблагоприятных по бруцеллёзу регионов России (18,5-30,5 % от общего числа заболевших в стране). Средние многолетние показатели заболеваемости в СК за последние 10 лет составляют 78 случаев (ИП - 2,83). В 2015-2017 гг. в СК регистрировались групповые вспышки бруцеллёза с реализацией пищевого пути заражения, факторами передачи возбудителя послужили молочные продукты, полученные от заражённого бруцеллами поголовья сельскохозяйственных животных. Возникновение случаев группового заболевания можно связать с наличием в крае так называемых «скрытых» (не выявленных) эпизоотических очагов в индивидуальном секторе животноводства (рисунок 16).

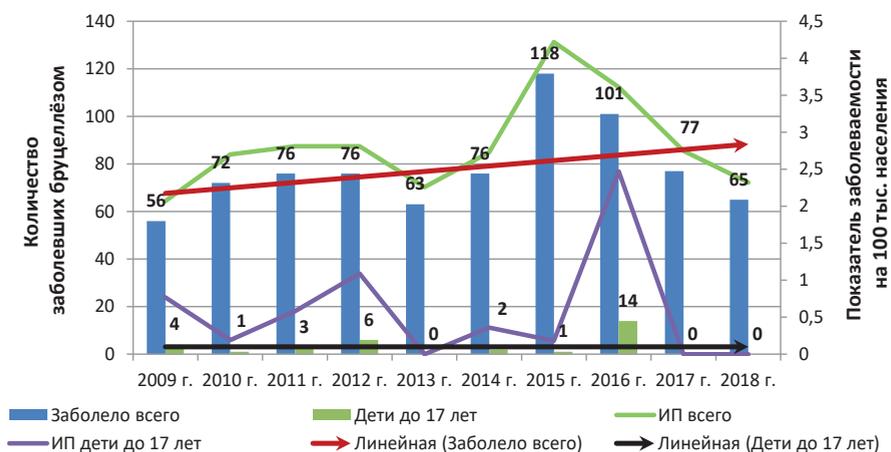


Рисунок 16. Динамика регистрации заболеваемости и количества заболевших бруцеллёзом людей в Ставропольском крае в 2009-2018 гг.

В 2018 г. в СК зарегистрировано 65 человек с впервые выявленным бруцеллёзом - 22,3 % от общероссийской заболеваемости (ИП - 2,32). Согласно данным эпидемиологических исследований, случаи заболевания людей бруцеллёзом регистрировались в течение всего календарного года, наибольшее количество случаев выявлено в периоды - апрель-июль (34 случая, 52,3 % от общего количества случаев в крае) и сентябрь-ноябрь (21 случай, 32,3 %). Среди заболевших преобладали жители сельской местности (83,1 %), доля профессионально связанных с животноводством (зооветеринарные специалисты, чабаны, работники МТФ) составила 27,7 %, индивидуальных владельцев животных - 13,8 %. Из установленных факторов передачи возбудителя инфекции 46,1 % - продукты животноводства (молоко, кисломолочные продукты, мясо, мясные продукты), 15,4 % - сырьё животного происхождения. Преобладал алиментарный механизм передачи возбудителя инфекции. Наибольшее количество заболевших бруцеллёзом в СК зарегистрировано в районах, граничащих с субъектами России, эпизоотологически неблагополучными по бруцеллёзу (республики Дагестан, Калмыкия) - Нефтекумском (7 случаев), Левокумском (6 случаев) и Ипатовском (6 случаев).

По данным результатов эпидемиологических исследований, из установленных источников инфекции в СКФО в 54,3 % был больной бруцеллёзом КРС, в 45,7 % - МРС, чаще был реализован прямой контактный путь передачи, реже алиментарный. Из факторов передачи инфекции преобладали естественные выделения больных животных (94 случая) и пищевые продукты животного происхождения (74 случая).

Вместе с тем случаи бруцеллёза в СКФО отмечены среди жителей Кабардино-Балкарской Республики (2 случая, ИП - 0,23), Карачаево-Черкесской Республики (1 случай, ИП - 0,21), Республики Северная Осетия-Алания (1 случай, ИП - 0,14).

ЮФО на протяжении последних десятилетий остается неблагополучным по бруцеллёзу. За период с 2009 -2018 гг. в округе было подтверждено 545 случаев впервые выявленного бруцеллёза среди людей, в том числе среди детей до 17 лет - 22. Средние многолетние значения составили 54 случая в год, ИП - 0,39, среди несовершеннолетних - 2 случая, ИП - 0,08. Тренд динамики регистрации случаев бруцеллёза и показателя заболеваемости - нисходящий. Наиболее неблагополучные по бруцеллёзу территории ЮФО - Республика Калмыкия (за период 2009-2018 гг. - 348 случаев, 63,8 %), Волгоградская (117 случаев, 21,4 %), Ростовская (43 случая, 9,5 %) и Астраханская (32 случая, 5,9 %) области (рисунки 17, 18).

В 2018 г. в округе выявлен 51 случай заболевания людей бруцеллёзом (ИП-0,31), что сопоставимо с данными средней многолетней заболеваемости людей бруцеллёзом в округе (54 случая, ИП - 0,38).

Наиболее напряжённая эпидемиологическая ситуация по бруцеллёзу в округе ежегодно отмечается в Республике Калмыкия (РК) - субъекте стабильно неблагополучном по бруцеллёзу КРС и МРС (рисунок 19).

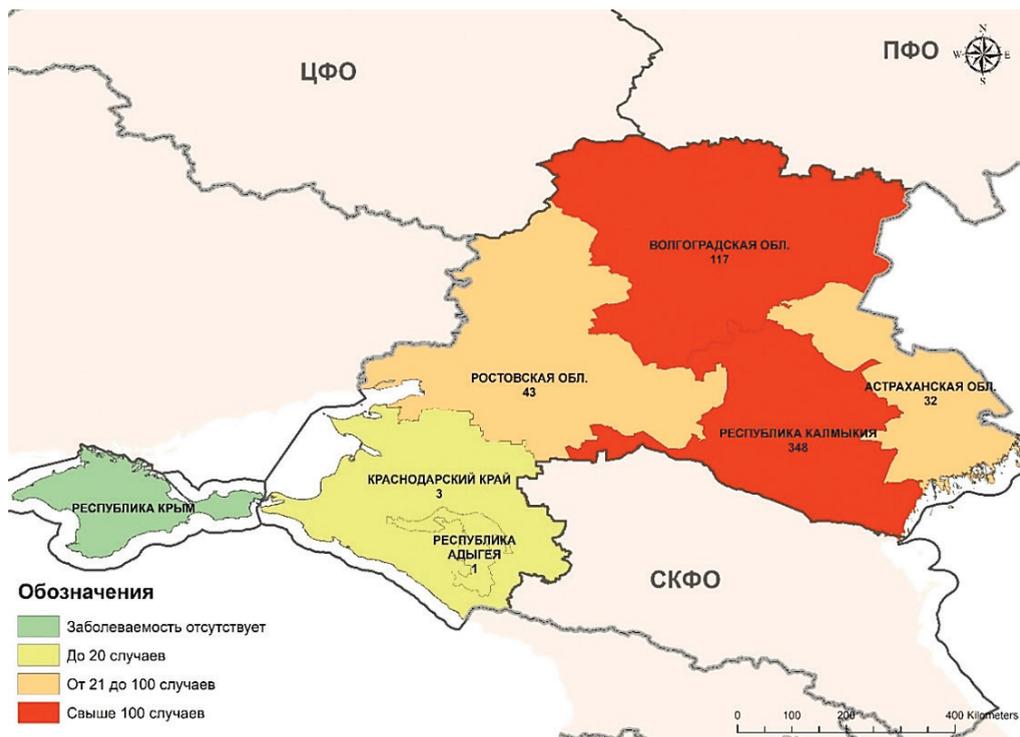


Рисунок 17. Регистрация случаев бруцеллёза среди людей на территории ЮФО в 2009-2018 гг. (*без учета субъектов ЮФО, вошедших в 2010 г. состав СКФО)

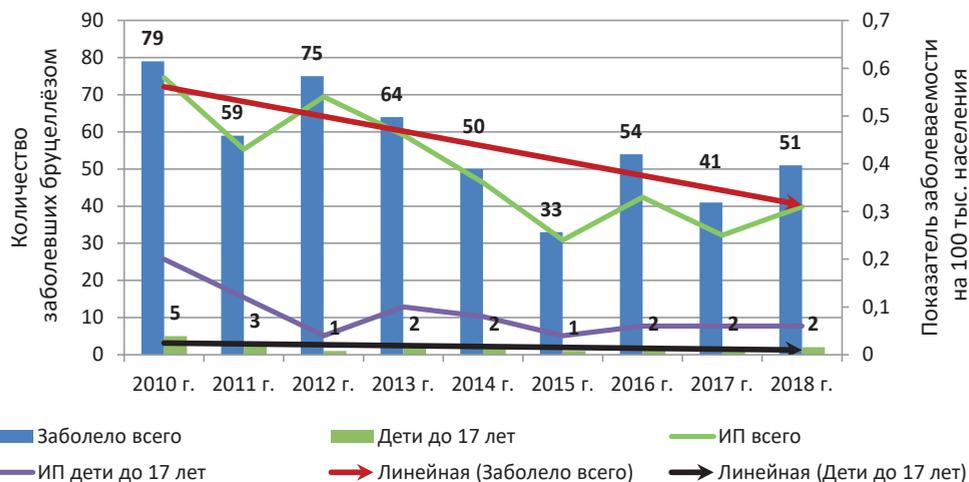


Рисунок 18. Динамика регистрации заболеваемости и количества заболевших бруцеллёзом людей в ЮФО в 2010-2018 гг.

В 2018 г. в РК зарегистрировано 35 случаев заболевания людей бруцеллёзом (ИП - 12,65), что сопоставимо со средними многолетними значениями заболеваемости за последние 10 лет (35 случаев, ИП - 12,23). Источником бруцеллёзной инфекции в республике чаще был МРС (61,5 % от всех установленных источников инфекции). В 42,8 % случаев установлен контактный механизм передачи патогена. Основное количество заболевших бруцеллёзом выявлено в Черноземельском (16 случаев), Лаганском (4 случая) и Кетченеровском (4 случая) районах.

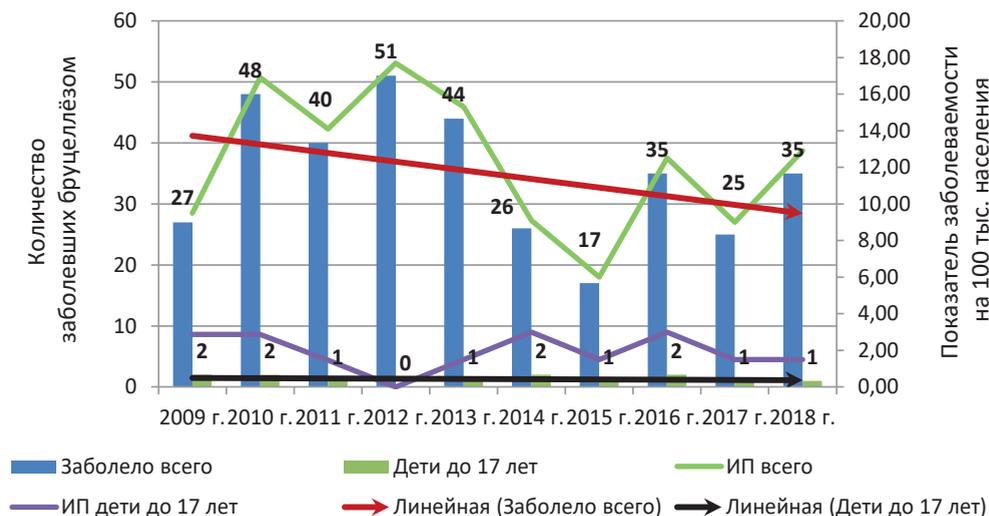


Рисунок 19. Динамика регистрации заболеваемости и количества заболевших бруцеллёзом людей в Республике Калмыкия в 2009-2018 гг.

Кроме того, случаи заболевания людей отмечены в Волгоградской (11 случаев, ИП - 0,44), Ростовской (4 случая, ИП - 0,09) и Астраханской (1 случай, ИП - 0,10) областях.

В 2018 г. в СФО зарегистрировано 19 случаев впервые выявленного бруцеллёза (ИП - 0,10), что существенно ниже средних показателей заболеваемости в округе за последние 10 лет (47 случаев, ИП - 0,24). Бруцеллёз у людей регистрировался в Республике Тыва (10 случаев, ИП - 3,12), Омской (10 случаев, ИП - 0,36), Томской (1 случай, ИП - 0,09) областях и в Алтайском крае (1 случай, ИП - 0,04) (рисунки 20, 21).

В ПФО в 2018 г. выявлено 8 случаев бруцеллёза (ИП - 0,03), что в два раза ниже показателей средней многолетней заболеваемости в округе (15 случаев, ИП - 0,06). Заболевания регистрировались в Пензенской (5 случаев, ИП - 0,37), Саратовской (2 случая, ИП - 0,08) и Самарской (1 случай, ИП - 0,03) областях (рисунки 22, 23).

В Пензенской области продолжает оставаться достаточно напряжённой эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация по бруцеллёзу, вероятно, связанная с завозом в область (2017 г.) больного скота и дальнейшим распространением инфекции. В 2018 г. выявлено 2 новых неблагополучных пункта по бруцеллёзу КРС (126 больных животных), установлено 5 случаев заболевания людей, в том числе один в Сосновоборском районе, где ранее была зарегистрирована групповая вспышка бруцеллёза.

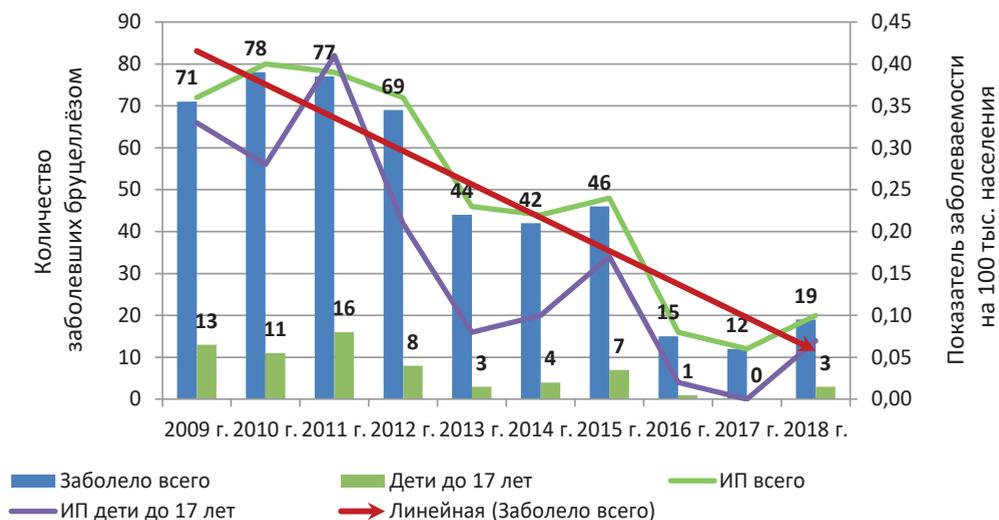


Рисунок 20. Динамика регистрации заболеваемости и количества заболевших бруцеллёзом людей в СФО в 2009-2018 гг.

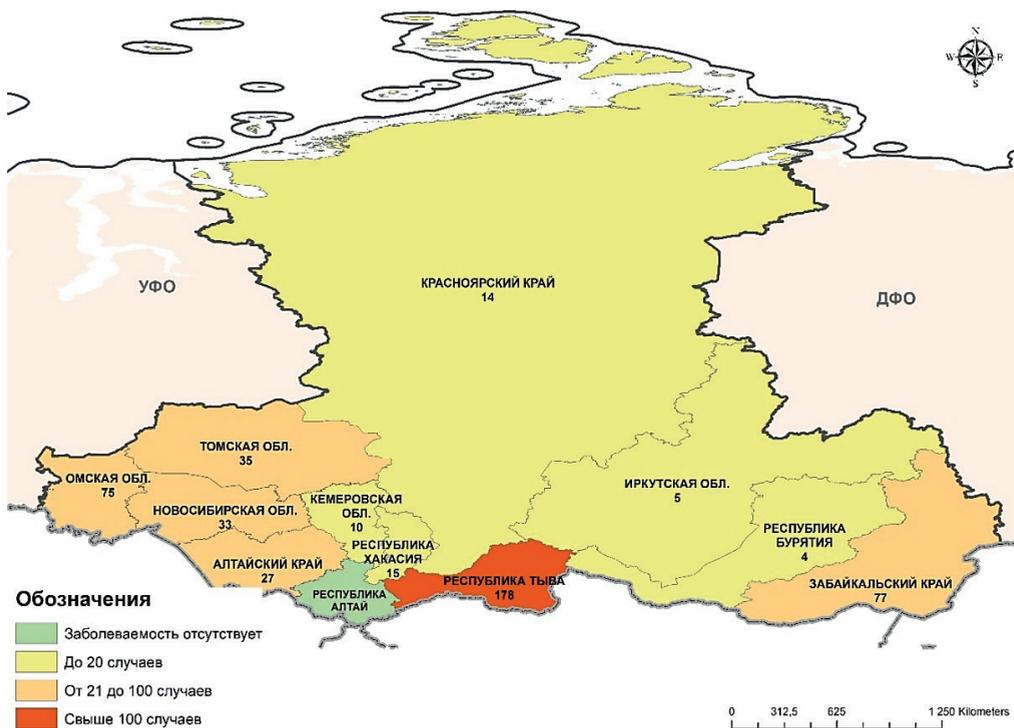


Рисунок 21. Эпидемиологическая обстановка по бруцеллёзу в СФО в 2009-2018 гг.

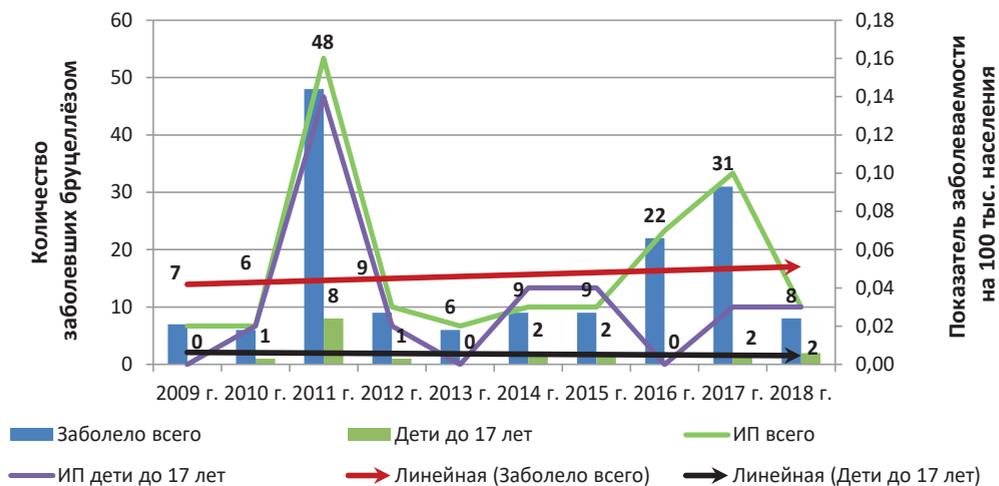


Рисунок 22. Динамика регистрации заболеваемости и количества заболевших бруцеллёзом людей в ПФО в 2009-2018 гг.

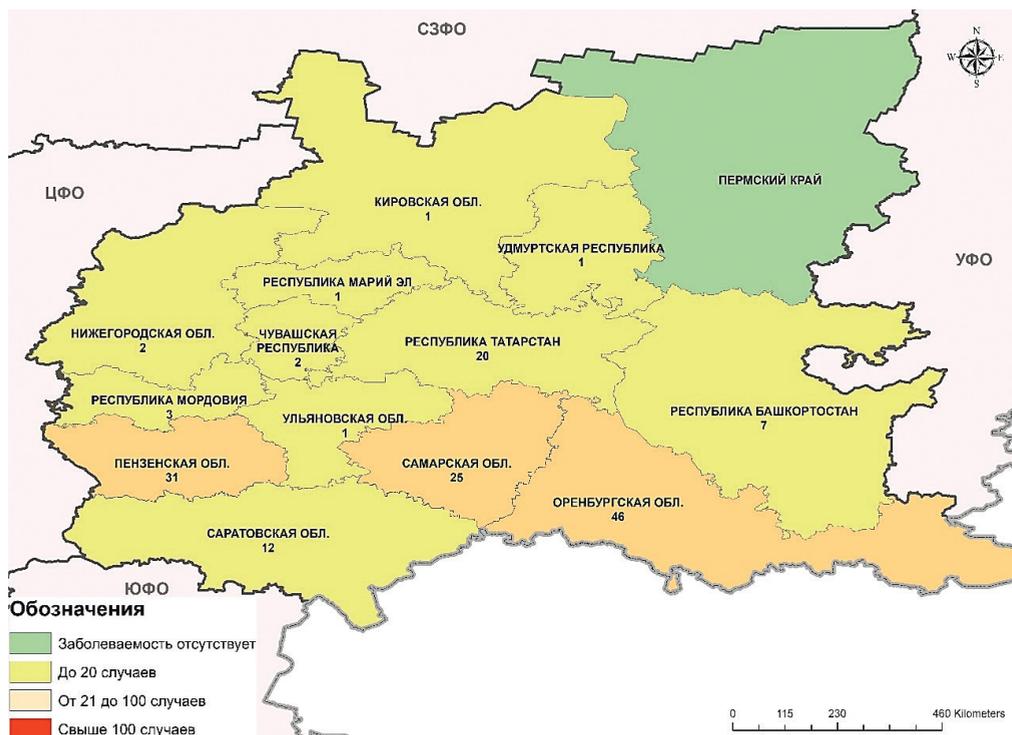


Рисунок 23. Эпидемиологическая обстановка по бруцеллёзу в ПФО в 2009-2018 гг.

В Центральном федеральном округе (ЦФО) средняя многолетняя заболеваемость людей бруцеллёзом составляет 0,04 на 100 тыс. населения (в среднем 14 случаев в год). В 2018 г. выявлено 4 случая (ИП - 0,01), по 2 случая в Тамбовской области (ИП - 0,19) и г. Москве (ИП - 0,02) (рисунок 24).

В Уральском федеральном округе (УФО) зарегистрировано 3 случая (ИП - 0,02) заболевания людей бруцеллёзом - в Ханты-Мансийском (2 случая, ИП - 0,12), Ямало-Ненецком (1 случай, ИП - 0,19) автономных округах (рисунок 25).

На территории Северо-Западного федерального округа (СЗФО) было выявлено 2 случая бруцеллёза (ИП-0,01) в Ленинградской области (1 случай, ИП - 0,06) и г. Санкт-Петербурге (1 случай, ИП - 0,02) (рисунок 26).



Рисунок 24. Эпидемиологическая обстановка по бруцеллёзу в Центральном федеральном округе в 2009-2018 гг.



Рисунок 25. Эпидемиологическая обстановка по бруцеллёзу в Уральском федеральном округе в 2009-2018 гг.



Рисунок 26. Эпидемиологическая обстановка по бруцеллёзу в Северо-Западном федеральном округе в 2009-2018 гг.

Заклучение

В мире за последние десятилетия эпидемиология бруцеллёза претерпела изменения. Отмечается увеличение количества стран, в которых встречается бруцеллёз, продолжает ухудшаться эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация по бруцеллёзу в странах Ближнего Востока, большей части Африки к югу от Сахары, Индии и соседних государствах. Не имеется выраженной тенденции к снижению заболеваемости бруцеллёзом в государствах Тихоокеанского региона, Азии, включая Китай и Таиланд, Центральной и Южной Америки, Средиземноморского региона и СНГ. В регионах, где бруцеллёз был официально ликвидирован, достаточно часто (практически ежегодно) регистрируются случаи заболевания бруцеллёзом среди взрослых и детей, путешествующих в эндемичные по бруцеллёзу регионы, мигрантов и персонала лабораторий.

На эволюцию «глобальной картины» распространения бруцеллёза оказывает влияние активное развитие международного туризма и интенсификация торговых отношений с развивающимися странами, неблагополучными по бруцеллёзу. На фоне этого появились новые эндемические очаги, ликвидация которых требует внедрения транснациональных (глобальных) программ эрадикации бруцеллёза. Для успешной реализации глобальных проектов необходима существенная

финансовая и научно-практическая поддержка со стороны международных организаций, а борьба с бруцеллёзом должна стать одним из основных приоритетов мирового здравоохранения.

Эпидемические проявления бруцеллёза на территории Российской Федерации связаны с активностью эпизоотического процесса среди основных эпидемиологически значимых видов сельскохозяйственных животных - МРС и в большей степени КРС, интенсивность и распространенность которого в Российской Федерации не имеет выраженной тенденции к снижению. Заболевания людей бруцеллёзом часто регистрировались в субъектах Российской Федерации, в которых, по данным Россельхознадзора, не выявлены больные бруцеллёзом сельскохозяйственные животные, что может свидетельствовать об активности «скрытых» эпизоотических очагов бруцеллёза (не выявленных больных бруцеллёзом животных), употреблении в пищу контаминированных бруцеллами продуктов животноводства «неизвестного» происхождения, или связано с регистрацией впервые выявленного бруцеллёза у людей, прибывших из неблагополучных по бруцеллёзу административных субъектов.

К основным причинам возникновения и распространения бруцеллёзной инфекции среди сельскохозяйственных животных можно отнести:

- несоблюдение ветеринарных требований при приобретении, реализации и содержании животных;
- несанкционированное перемещение больного скота;
- отсутствие должного контроля со стороны муниципальных органов за регистрацией поголовья, особенно в частном секторе;
- несвоевременная сдача больных животных на убой;
- наличие не выявленных (скрытых) эпизоотических очагов и бруцеллоносителей в индивидуальных хозяйствах (КФХ, ЛПХ), в которых содержится неучтённый скот, существенно усложняет проведение плановых профилактических и противоэпизоотических мероприятий.

По данным Россельхознадзора, в последние годы на территории России совокупная эпизоотическая обстановка по бруцеллёзу в популяции эпидемически значимых видов КРС и МРС остается неблагополучной. Бруцеллёз в структуре основных инфекционных болезней КРС и МРС занимает лидирующие позиции. Доля заболеваний бруцеллёзом среди основных инфекций КРС составляет около 30 %, МРС - 20 %

На фоне длительного эпизоотического неблагополучия уровень заболеваемости людей бруцеллёзом в последние три года стабилизировался на уровне 290-310 случаев (ИП - 0,20-0,23), что ниже средней многолетней заболеваемости в среднем на 14 %. Наибольшее количество заболеваний (94,1 % от общероссийской заболева-

емости) регистрируется в административных субъектах СКФО, ЮФО и СФО, которые имеют максимальный уровень заболеваемости КРС (88,9 %) и МРС (95 %) бруцеллёзом. В зоне повышенного риска по заболеваемости бруцеллёзом остаются индивидуальные владельцы животных (28,2 % - от заболевших), лица, профессионально связанные с животноводством, переработкой продукции и сырья от животных (17,5 %). Основным источником возбудителя инфекции является КРС, ведущими путями его передачи - контактный и алиментарный. Заражение людей происходит в результате тесных контактов с больными животными - при уходе за скотом, оказании ветеринарной помощи, а также употреблении в пищу контаминированной бруцеллами мясомолочной продукции.

Прогноз развития эпидемиологической ситуации по бруцеллёзу в России на ближайшие 10 лет в большей степени будет определяться сохраняющимся неблагополучием по бруцеллёзу среди КРС и МРС в эндемичных по бруцеллёзу административных территориях Северо-Кавказского, Южного, Сибирского и Приволжского федеральных округов. Наличие не выявленных («скрытых») очагов бруцеллёза, особенно в мелкотоварных индивидуальных хозяйствах, где часто умышленно изменяют технологии ведения животноводства (совместное содержание животных, в т.ч. КРС и МРС) может формировать благоприятные условия для миграции *Brucella melitensis* на крупный рогатый скот с последующей реализацией алиментарного пути передачи возбудителя инфекции через молоко коров и возникновением эпидемических очагов острого бруцеллёза, в том числе за пределами эпизоотического очага.

Список литературы

1. Moreno E. Retrospective and prospective perspectives on zoonotic brucellosis / E. Moreno // Front Micro Biol. - 2014. - Vol. 5. - P. 213.
2. ASFМ. (2014). URL: http://www.eurekalert.org/pub_releases/2014-07/asfmlt1071014.php. (дата обращения: 12.09.2019).
3. Corbel M.J. Brucellosis: an overview / M.J. Corbel // Emerg Infect Dis. - 1997. - Vol. 3. - P. 213-21.
4. Joint FAO/WHO expert committee on brucellosis // World Health Organ Tech Rep Ser. - 1986. - Vol. 740. - P. 1-132.
5. Brucellosis / G. Pappas, N. Akritidis, M. Bosilkovski, E. Tsianos // N. Engl. J. Med. - 2005. - Vol. 352. - P. 2325-36.
6. Solera J. Brucellar spondylitis: review of 35 cases and literature survey / J. Solera, E. Lozano, E. Martinez-Alfaro, A. Espinosa, M.L. Castillejos, L. Abad // Clin Infect Dis. - 1999. - Vol. 29. - P. 1440-49.
7. Memish Z.A. Brucellosis and international travel / Z.A Memish, H.H. Balkhy // J. Travel Med. - 2004. - Vol. 11. - P. 49-55.
8. Бруцеллёз у взрослых. Клинические рекомендации, 2014. - URL: <http://noi.ru/uploads/files/protokoly/Brucellez.pdf> (дата обращения: 12.09.2019).
9. Dean AS, Crump L, Greter H, Schelling E, Zinsstag J. Global burden of human

brucellosis: a systematic review of disease frequency. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(10):e1865. doi: 10.1371/journal.pntd.0001865/

10. Пономаренко Д.Г. Обзор эпизоотологической и эпидемиологической ситуации по бруцеллёзу в Российской Федерации в 2017 г. и прогноз на 2018 г. / Д.Г. Пономаренко, Д.В. Русанова, Т.В. Бердникова, А.А. Хачатурова, Е.А. Манин, А.Н. Куличенко // *Проблемы особо опасных инфекций*. - 2018. - № 2. - С. 23-29.

11. Lai S, Zhou H, Xiong W, et al. Changing Epidemiology of Human Brucellosis, China, 1955-2014. *Emerg Infect Dis*. 2017;23(2):184-194. doi:10.3201/eid2302.151710

12. Ran X. C. J. Brucellosis seroprevalence in dairy cattle in China during 2008-2018: A systematic review and meta-analysis / X. C. J. Ran // *Acta Tropica*. - 2018. - Vol. 189, Jan. - P. 117- 123.

13. Shevtsov A, Syzdykov M, Kuznetsov A, et al. Antimicrobial susceptibility of *Brucella melitensis* in Kazakhstan. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2017;6:130.

14. and antibiotic susceptibility of livestock *Brucella melitensis* isolates from Naryn Oblast, Kyrgyzstan / J. Kasymbekov, J. Imanseitov, J. Ballif // *PLoS Negl. Trop. Dis*. - 2013. -Vol. 7. - P. 2047.

15. Ахмадбекова С.Ш. Ситуация по бруцеллёзу в Таджикистане остается тревожной / С.Ш. Ахмадбекова, Х.Х. Махмадуллаев // *Материалы международного рабочего совещания «Бруцеллёз - пограничная инфекция животных и человека, требующая общих усилий разных стран», 2-3 июня 2008 г. - Серпухов, 2008. - С. 5.*

16. Расулов С.А. Динамика заболеваемости бруцеллёзом мелкого рогатого скота и людей в районах Республики Таджикистан с высокими показателями инфицированности / С.А. Расулов, Д.М. Мирзоев, Х.О. Давлатов, С. Ш. Ахматбекова // *Российский ветеринарный журнал*. - 2016. - № 1. - URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/dinamika-zabolevaemosti-brutsellezom-melkogo-rogatogo-skota-i-lyudey-v-rayonah-respubliki-tadzhikistan-s-vysokimi-pokazatelyami> (дата обращения: 12.03.2019).

17. Ryaplova I.V. Epidemiological characteristics of brucellosis outbreaks in the Orenburg Region. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya* / I.V. Ryaplova, M.V. Skachkov // *Public Health and Environment*. - 2007. - Vol. (11). - P. 37-9. (in Russian)

18. Human brucellosis outbreak acquired through camel milk ingestion in southern Israel / S.B. Shimol, L. Dukhan, I. Belmaker [et al.] // *Isr. Med. Assoc. J*. - 2012. - Vol. 14 (8). - P. 475-8.

19. Brucellosis outbreak in children and adults in two areas in Israel / O. Megged, B. Chazan, A. Ganem [et al.] // *Am. J. Trop. Med. Hyg*. - 2016. - Vol. 95 (1). - P. 31-4.

20. Brucellosis as occupational disease: study of an outbreak of air-born transmission at a slaughter house / M.E. Rodriguez Valin, A. Pousa Ortega, C. Pons Sanchez [et al.] // *Rev Esp Salud Publica*. - 2001. - Vol. 75 (2). - P. 159-69.

21. Brucellosis outbreak due to unpasteurized raw goat cheese in Andalusia (Spain), January-March 2002 / C. Mendez Martinez, A. Paez Jimenez, M. Cortes-Blanco [et al.] // *Euro Surveill*. - 2003 - Vol. 8 (7). - P. 164-8.

22. M.G. Alvarez-Ojeda. Comparison of the test's polymerase chain reaction, serology, and blood culture with respect to sensitivity and specificity for detection of *Brucella* spp in human samples / M.G. Alvarez-Ojeda, C. Saldana-Fuentes, M.R. Ballesteros-Elizondo, [et al.] // *Gac Med Mex*. - 2015. - Vol. 151 (5). - P. 620-7.

23. Castell Monsalve J. Three outbreaks of brucellosis in a one-year period investigated by the occupational health service in Ciudad Real (Spain) / J. Castell Monsalve, G. Gutierrez Avila, M.A. Ruiz Valdepenas // *Gac Sanit*. - 2009. - Vol. 23 (6). - P. 562-563.

24. Markovic-Denic L. First outbreak of brucellosis in the region of Sabac / L. Markovic-Denic, V.S. Trifunovic, V. Zugic // *Vojnosanit Pregl.* - 2010. - Vol. 67(8). - P. 634-7.
25. Brucellosis outbreak in Treviso province caused by infected cheese from an endemic area / F. Farina, R. Fuser, M. Rossi [et al.] // *Infez. Med.* - 2008. - Vol. 16 (3). - P. 154-157.
26. Challenges of establishing the correct diagnosis of outbreaks of acute febrile illnesses in Africa: the case of a likely *Brucella* outbreak among nomadic pastoralists, northeast Kenya, March-July 2005 / M.D. Ari, A. Guracha, M.A. Fadeel [et al.] // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* - 2011. - Vol. 85 (5). - P. 909-12.
27. A food borne outbreak of brucellosis at a police station cafeteria, Lima, Peru / M.D. Ari, A. Guracha, M.A. Fadeel [et al.] // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* - 2013. - Vol. 88 (3). - P. 552-8.
28. Outbreak investigation of brucellosis in Thassos, Greece, 2008 / I. Karagiannis, K. Mellou, K. Gkolfinopoulou [et al.] // *Euro Surveill.* - 2012. - Vol. 17 (11). P. 2016. URL: <https://doi.org/10.2807/ese.17.11.20116-en> (дата обращения: 30.08.2019).
29. Brucellosis outbreak in Chouf district of Lebanon in 2009: a case-control study / L. Al-Shaar, M. Chaaya, N. Ghosn [et al.] // *East Mediterr Health J.* - 2014. - Vol. 20 (4). - P. 250-6.
30. Аппак С. Epidemiological and clinical aspects of human brucellosis in eastern Anatolia / С. Аппак, А. Altunsoy, А. Kutta Selik // *J. Nippon. Med. Sch.* - 2012. - Vol. 79 (5). - P. 343-8.
31. Outbreak of human brucellosis from consumption of raw goats' milk in Penang, Malaysia / K.N. Leong, T.S. Chow, P.S. Wong [et al.] // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* - 2015. - 93 (3). - P. 539-41.
32. Investigation of the spread of brucellosis among human and animal populations in southeastern Bulgaria, 2007 / V. Tzaneva, S. Ivanova, M. Georgieva [et al.] // *Euro Surveill.* - 2009. - Vol. 14 (17). P. 19187. - URL: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19187>. (дата обращения: 30.08.2019).
33. A new outbreak of brucellosis in Bulgaria detected in July 2015 - preliminary report / R. Nenova, I. Tomova, R. Saparevska [et al.] // *Euro Surveill.* - 2015. - Vol. 20 (39). - URL: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2015.20.39.30031> (дата обращения: 30.08.2019).
34. Outbreak of laboratory-acquired *Brucella abortus* in Brazil: a case report / A.L. Rodrigues, S.K. Silva, B.L. Pinto [et al.] // *Rev Soc Bras Med Trop.* - 2013. - Vol. 46 (6). - P. 791-4.
35. A sporadic outbreak of human brucellosis in Korea / M.Y. Park, C.S. Lee, Y.S. Choi [et al.] // *J. Korean Med. Sci.* - 2005. - Vol. 20 (6). - P. 941-6.
36. Foodborne outbreak of human brucellosis caused by ingested raw materials of fetal calf on Jeju Island / J.R. Yoo, S.T. Heo, K.H. Lee, [et al.] // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* - 2015. - Vol. 92 (2). - P. 267-9.
37. A familial cluster of human brucellosis attributable to contact with imported infected goats in Shuyang, Jiangsu Province, China, 2013 / Z. Tan, Y. Huang, G. Liu [et al.] // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* - 2015. - Vol. 93 (4). - P. 757-60.
38. An outbreak of brucellosis in a village in Jiangsu province / L. Xiang, W. Zhou, F. Tang, [et al.] // *Chin J Epidemiol.* - 2014. - Vol. 35 (10). - P. 1135-7.
39. Outbreak of occupational brucellosis at a pharmaceutical factory in Southeast China / B.D. Zhan, S.Q. Wang, S.M. Lai [et al.] // *Zoonoses Public Health.* - 2017. - Vol. 64 (6). - P. 431-7.

40. Kim A.A. Brucellosis - regional pathology of Kazakhstan. *Mezhdunarodniy zhurnal prikladnikh i fundamental'nikh issledovaniy* / A.A. Kim, E.L. Kolmogorova, D.K. Rakhimbekova // *International Journal of Applied and Fundamental Researches*. - 2013. - Vol. 5. - P. 162-164.

41. Chistyakova T.V. Modern epizootic and epidemiological conditions for brucellosis in the Omsk Region / T.V. Chistyakova, L.V. Khoroshavina // *Natsionalnye priority Rossii [Russian National Priorities]*. - 2011. - Vol. 2 (5). - P. 112-13.

42. Garcell H.G. Outbreaks of brucellosis related to the consumption of unpasteurized camel milk / H.G. Garcell, E.G. Garcia, P.V. Pueyo // *J. Infect. Public Health*. - 2016. - Vol. 9 (4). - P. 523-7.

43. Wise R.I. Brucellosis in the United States. Past, present, and future / R.I. Wise - *JAMA*, 1980. - Vol. 244. - P. 2318-22.

44. Brucellosis in the United States, 1960-1972; An abattoir-associated disease. Part III. Epidemiology and evidence for acquired immunity / T.M. Buchanan, S.L. Hendricks, C.M. Patton, R.A. Feldman // *Medicine (Baltimore)*. - 1974. - Vol. 53. - P. 427-39.

45. Centers for Disease Control and Prevention // Summary of notifiable diseases, United States, 2003. - URL: <http://www.cdc.gov/mmwr/summary.html> (дата обращения: 3.09.2019).

46. Ragan V.E. The brucellosis eradication program in the United States. Brucellosis in elk and bison in the Greater Yellowstone Area / V.E. Ragan In: T.J. Kreeger // *Wyoming Game and Fish Dept.* - 2002. 171 pp.

47. https://webarchive.library.unt.edu/web/20130225130248/http://www.emergency.cdc.gov/coca/ppt/08_25_11_Brucellosis_FIN.pdf (дата обращения: 03.09.2019).

48. <https://www.cdc.gov/brucellosis/clinicians/rb51-raw-milk.html> (дата обращения: 03.09.2019).

49. <https://www.cdc.gov/media/releases/2017/p0915-raw-milk-brucella.html> (дата обращения: 03.09.2019).

50. <https://www.cdc.gov/media/releases/2017/p1121-contaminated-raw-milk.html> (дата обращения: 03.09.2019).

51. <https://www.cdc.gov/foodsafety/rawmilk/raw-milk-index.html> (дата обращения: 03.09.2019).

52. <https://www.foodsafetynews.com/2019/02/people-in-19-states-infected-with-brucellosis-after-drinking-raw-milk> (дата обращения: 03.09.2019).

53. Venezuelan field trials of vaccines against brucellosis in swine / V.J. Lord, J. Cherwonogrodzky, G. Schurig [et al.] // *Am. J. Vet. Res.* - 1998. - Vol. 59. - P. 546-51.

54. McDermott J. Economics of brucellosis impact and control in low-income countries / J. McDermott, D. Grace & J. Zinsstag // *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* - 2013. - Vol. 32 (1). - P. 249-261.

55. <http://cooperacionarg.gob.ar/en/mexico/brucellosis-control> (дата обращения: 03.09.2019).

56. Seroprevalencia de anticuerpos anti-Brucella en disponentes de sangre con fines terapéuticos en tres bancos de sangre del Instituto Mexicano del Seguro Social / Torres-Padilla J, López-Merino A, García-Escamilla R, Gutiérrez-García J. // *Gac. Med. Mex.* - 2004. - Vol. 140. - P. 391-398

57. Seroprevalencia de brucelosis en disponentes de sangre del Hospital General de México / A. Hernandez-Bastida, P. García-Ramírez, A. Cruz-Estrada, J. Rojo // *Rev. Med. Hosp Gen. Mex.* - 1999. - Vol. 62. - P. 107-112.

58. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19120232> (дата обращения: 03.09.2019).
59. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23046031> (дата обращения: 03.09.2019).
60. Thapar M.K. Urban outbreak of goat cheese brucellosis / Thapar M.K., Young E.J. // *Pediatr Infect Dis.* - 1986. - Vol. 5. - P. 640-43.
61. Taylor J.P., Perdue J.N. The changing epidemiology of human brucellosis in Texas, 1977-1986 / J.P. Taylor, J.N. Perdue // *Am. J. Epidemiol.* - 1989. - Vol. 130. - P. 160-65.
62. Lebanese Ministry of Public Health, Epidemiology Surveillance Unit. - URL: <http://www.public-health.gov.lb/esu/LEBANON.shtml> (дата обращения: 30.08.2019).
63. Martínez P. Brucellosis humana: situación epidemiológica en Chile, 2001-2010 / P. Martínez // *Rev Chilena Infectol.* - 2013. - Vol. 30. - P. 653-9.
64. Aranís C. Utilidad de la determinación de anticuerpos IgG e IgM por ELISA e inmunocaptura en una serie clínica de brucelosis humana / C. Aranís, J. Oporto, M. Espinoza, I. Riedel, C. Pérez, P. García // *Rev. Chilena Infectol.* - 2008. - Vol. 25. - P. 116-21.
65. Brucella abortus S19 and RB51 vaccine immunogenicity test: Evaluation of three mice (BALB/c, Swiss and CD-1®) and two challenge strains (544 and 2308) / K.L. Miranda. E.M.S. Dorneles, R.B. Pauletti, F.P. Poester, A.P. Lage // *Vaccine.* - 2015. - Vol. 33. - P. 507-511.
66. <http://www.sbmt.org.br/portal/brazil-records-increase-in-number-of-human-brucellosis-cases-due-to-vaccine-accident/?lang=en> (дата обращения: 30.08.2019).
67. Brasil. Ministério da Agricultura Boletim de Defesa Sanitária Animal, Ano Vol. - 1971. - № 1-4. - P. 17.
68. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Mato Grosso / R.L. Negreiros, R.A. Dias, F. Ferreira [et al.] // *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.* - 2009. - Vol. 61. - P. 56-65.
69. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de Santa Catarina / S. Sikusawa, M. Amaku, R.A. Dias [et al.] // *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.* - 2009. - Vol. 61. - P. 103-108.
70. Poester F.P. Brucellosis in Brazil. / F.P. Poester, V.P. Gonçalves, A.P. Lage // *Vet. Mic.* - 2002. - Vol. 90. - P. 55-62.
71. Brasil. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n.2, 10 Jan 2001 // *Diário Oficial.* - 2001(4 Jan). - Seção 1. - P. 26-31.
72. Manthei C.A. Application of research to bovine brucellosis control and eradication programs / C.A. Manthei // *J. Dairy Sci.* - 1968. - Vol. 51. - P. 1115-20.
73. Brasil. Secretaria de Defesa Agropecuária, 2007. Instrução Normativa n.33, 24 Ago 2007. // *Diário Oficial,* 28 Ago. - 2007. - Seção 1. - P. 6-7
74. Memish Z.A. Brucellosis and international travel / Z.A. Memish, H.H. Balkhy // *J Travel Med* 2004. - Vol. 11. - P. 49-55.
75. World Organisation for Animal Health. Handistatus II: zoonoses (human cases): global cases of brucellosis in 2000. - URL: http://www.oie.int/hs2/gi_zoon_mald.asp?c_cont=6&c_mald=172&annee=2000 (дата обращения: 30.08.2019).
76. World Organisation for Animal Health. Handistatus II: zoonoses (human cases): global cases of brucellosis in 2004. - URL: http://www.oie.int/hs2/gi_zoon_mald.asp?c_cont=6&c_mald=172&annee=2004 (дата обращения: 30.08.2019).
77. World Organisation for Animal Health. Handistatus II: zoonoses (human cases): global cases of brucellosis in 2003. - URL: http://www.oie.int/hs2/gi_zoon_mald.asp

c_cont=6&c_mald=172&annee=2003 (дата обращения: 12.09.2019).

78. Centre for Special Infections Control. Annual reported cases of notifiable diseases. - URL: <http://www.keel.org.gr/stanalysis> (дата обращения: 12.09.2019).

79. Ministry of Health, Italy. Results of epidemiological research. - URL: <http://www.ministerosalute.it/promozione/malattie/datidefcons.jsp> (дата обращения: 12.09.2019).

80. Ministry of Health and Population, Egypt. Enhanced surveillance for communicable diseases. - URL: <http://www.geis.fhp.osd.mil/GEIS/Training/EgyptSurv2000.htm> (дата обращения: 12.09.2019).

81. World Organisation for Animal Health. Handistatus II: zoonoses (human cases): global cases of brucellosis in 2002. - URL: http://www.oie.int/hs2/gi_zoon_mald.asp?c_cont=6&c_mald=172&annee=2002 (дата обращения: 12.09.2019).

82. Centers for Disease Control and Prevention. Summary of notifiable diseases, United States, 2003. - URL: <http://www.cdc.gov/mmwr/summary.html> (дата обращения: 26.07.2019).

83. Ministry of Health, Mexico. Epidemiological information. - URL: <http://www.dgepi.salud.gob.mx/infoepi/index.htm> (дата обращения: 26.07.2019).

84. Xinhua News Agency. Health ministry increases efforts to contain brucellosis. - URL: http://service.china.org.cn/link/wcm/Show_Text?info_id=115313&tp_qry=brucellosis (дата обращения: 26.07.2019).

85. Ministry of Health, Jordan. Annual statistical report: notifiable communicable diseases. - URL: http://db-server.moh.gov.jo:7777/servlets/svr_pack.Incidsrve (дата обращения: 26.07.2019).

86. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2018.07.007> Get (дата обращения: 26.07.2019).

87. Diseases of Compulsory Declaration 2009-2012. General Direction of Health

88. Directorate-General Pecuarios (DGSP), 1977: Veterinary Health Agreement Luso-Spanish. XX meeting of the veterinary authorities. Madrid, Spain, pp. 17-18.

89. 90/242/EEC: Council Decision of 21 May 1990 introducing a Community financial measure for the eradication of brucellosis in sheep and goats. // Official Journal of the European Union. - Vol. 1990. - L140. - 01/06/1990. - URL: <http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31990D0242:EN:HTML> (дата обращения: 26.07.2019).

90. Programa Nacional de Erradicación de la Brucelosis Ovina y Caprina. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Red de Alerta Sanitaria Veterinaria (RASVE) Ministerio de Agricultura. - URL: <http://rasve.mapa.es/>

91. Institut de Veille Sanitaire, France. Brucellose. <http://www.invs.sante.fr/surveillance/brucellose/default.htm> (дата обращения: 20.05.2019).

92. www.eurosurveillance.org (дата обращения: 20.05.2019).

93. World Organisation for Animal Health. Handistatus II: zoonoses (human cases): global cases of brucellosis in 2003. - URL: http://www.oie.int/hs2/gi_zoon_mald.asp?c_cont=6&c_mald=172&annee=2003 (дата обращения: 20.05.2019).

94. World Organisation for Animal Health. Handistatus II: zoonoses (human cases): global cases of brucellosis in 2000. - URL: http://www.oie.int/hs2/gi_zoon_mald.asp?c_cont=6&c_mald=172&annee=2000 (дата обращения: 20.05.2019).

95. Bosnjakovski J. Country report, International Atomic Energy Agency (IAEA) Regional Technical Co-operation Project RER/5/012 / J. Bosnjakovski // Regional Control of Brucellosis in Sheep and Goats"Regional Co-ordination Meeting, 4-18 April 2003, Skopje-Ohrid, Macedonia.

96. Atanasova S. Country report, International Atomic Energy Agency (IAEA) Regional Technical Co-operation Project RER/5/012 Regional Control of Brucellosis in Sheep and Goats / S. Atanasova // Regional Co-ordination Meeting, 4-18 April 2003, Skopje-Ohrid, Macedonia.
97. Cvetnic Z. Country report, International Atomic Energy Agency (IAEA) Regional Technical Co-operation Project RER/5/012 "Regional Control of Brucellosis in Sheep and Goats / Z. Cvetnic // Regional Co-ordination Meeting, 4-18 April 2003, Skopje-Ohrid, Macedonia.
98. Erski-Biljic M. Country report, International Atomic Energy Agency (IAEA) Regional Technical Co-operation Project RER/5/012 "Regional Control of Brucellosis in Sheep and Goats / M. Erski Biljic // Regional Co-ordination Meeting, 4-18 April 2003, Skopje-Ohrid, Macedonia.
99. Dobrean V. An epidemiological and surveillance overview of brucellosis in Romania / V. Dobrean, A. Opris, S. Daraban // Vet Microbiol. - 2002 (Dec 20). - Vol. 90 (1-4). - P. 157-63.
100. Corbel M.J. Brucellosis: an overview / M.J. Corbel // Emerg Infect Dis. - 1997. - Vol. 3. - P. 213-21.
101. Joint FAO/WHO expert committee on brucellosis // World Health Organ Tech Rep Ser 1986. - Vol. 740. - P. 1-132.
102. Brucellosis / G. Pappas, N. Akritidis, M. Bosilkovski, E. Tsianos // N. Engl. J. Med. - 2005. - Vol. 352. - P. 2325-36.
103. Regional Animal Disease Surveillance and Control Network, Food and Agriculture Organization of the United Nations. A perspective of brucellosis surveillance in North Africa and Middle East. - URL: <http://www.fao.org/WAICENT/Faoinfo/Agricult/AGA/AGAH/ID/Radiscon/brucactsurv.pdf> (дата обращения: 12.09.2019).
104. World Organisation for Animal Health. Handistatus II: zoonoses (human cases): global cases of brucellosis in 2003. - URL: http://www.oie.int/hs2/gi_zoon_mald.asp?c_cont=6&c_mald=172&annee=2003 (дата обращения: 12.09.2019).
105. World Organisation for Animal Health. Handistatus II: zoonoses (human cases): global cases of brucellosis in 2004. - URL: http://www.oie.int/hs2/gi_zoon_mald.asp?c_cont=6&c_mald=172&annee=2004 (дата обращения: 12.09.2019).
106. United States Agency for International Development. Iraq reconstruction and humanitarian relief weekly update number 34 (FY 2004). - URL: <http://www.reliefweb.int/rw/rwb.nsf/AllDocsByUNID/442ddae9e2c8c46a85256ea900679403> (дата обращения: 12.09.2019).
107. UN Office for the Coordination of Humanitarian Affairs. Iraq: new campaign to control brucellosis. - URL: http://www.irinnews.org/report.asp?ReportID=47021&SelectRegion=Middle_East&SelectCountry=IRAQ (дата обращения: 12.09.2019).
108. Memish Z. Brucellosis control in Saudi Arabia: prospects and challenges / Memish Z. // J. Chemother. - 2001. - Vol. 13 (suppl). - P. 11-17.
109. Bilal N.E. A study of the knowledge, attitude and practice (KAP) of a Saudi Arabian community towards the problem of brucellosis / N.E Bilal, G.A Jamjoom, R.A Bobo, O.F Aly, N.M. el-Nashar // J. Egypt Public Health Assoc. - 1991. - Vol. 66. - P. 227-38.
110. <https://www.vb.kg/329543> (дата обращения: 12.09.2019).
111. Mezenchuk E.A. Klinike i patologicheskoy anatomii brutselleza - [Clinical and pathological anatomy of brucellosis]. Izvestiya Kazakhstanskogo filiala akademii nauk SSSR- [Proceedings of the Kazakhstan branch of the Academy of Sciences of the USSR]. - 1941. - № 1. - P. 140.

112. Studentsov K.P. Brutsellez zhivotnykh [Brucellosis in animals] / K.P. Studentsov // Almaty: Kaynar. - 1975. - 236 p.
113. Amireyev S.A. Epidemiologiya i epizootologiya brutselleza [Epidemiology and epizootiology of brucellosis] / S.A. Amireyev, A.I. Sattrapov, N.P. Ivanov. - Alma-Ata: Nauka, 1986. - 176 p.
114. Kulakov Y.K. Variable-number tandem repeat markers for identification of *Brucella abortus* 82 and 75/79-AV vaccine strains / Y.K. Kulakov, M.M. Zheludkov, O.D. Sclyarov // *Vaccine*. - 2010. - Vol. 1 (28). - P. 31.
115. A live vaccine from *Brucella abortus* strain 82 for control of cattle brucellosis in the Russian Federation / A.V. Ivanov, K.M. Salmakov, S.C. Olsen, G.E. Plumb // *Anim Health Res Rev*. - 2011. - Vol. 12 (1). - P. 113-21.
116. Draft Genome Sequence of the Live Vaccine Strain *Brucella abortus* 82. / A. Shevtsov, P. Tarlykov, E. Zholdybayeva [et al.] // *Genome Announc*. - 2013. - Vol. 1 (6). - Epub 2013/12/29.
117. Robinson S. Political Change and Factors Limiting Numbers of Wild and Domestic Ungulates in Kazakhstan / S. Robinson, E.J. // *Milner-Gulland Human Ecology*. - 2003. - Vol. 31(1). - P. 87-110.
118. A serological survey of ruminant livestock in Kazakhstan during post-Soviet transitions in farming and disease control / M. Lundervold, E.J. Milner-Gulland, C.J. O'Callaghan, C. Hamblin, A. Corteyn, A.P. Macmillan // *Acta Vet Scand*. - 2004. - Vol. 45 (3-4). - P. 211-24.
119. Policies and Livestock Systems Driving Brucellosis Re-emergence in Kazakhstan / W. Beauvais, R. Coker, G. Nurtazina, J. Guitian // *Ecohealth*. - 2015. - Vol. 30. - P. 30.
120. Ергазина А.М. Общие и специфические методы профилактики бруцеллёза крупного рогатого скота / А.М. Ергазина // *Дис. ... д-ра философии*. - Костанай, 2014 г. - С. 10.
121. <http://www.istc.int/en/project/03DAF3F735121D88C3257141004F452F> (дата обращения: 26.06.2019).
122. Шарифов Б.З. Территориальные особенности динамики бруцеллёза в Узбекистане / Б. З. Шарифов // *Молодой ученый*. - 2017. - № 1-2. - С. 63-66. - URL <https://moluch.ru/archive/135/37850/> (дата обращения: 19.02.2019).
123. Boone H.W. Malta fever in China / H.W. Boone // *China Medical Missionary Journal*. - 1905. - Vol. 19. - P. 167-73.
124. Chungking Men's Hospital Report, 1905 // *China Medical Missionary Journal*. - 1906. - Vol. 20. - P. 187-8.
125. Maxwell J.R. Undulant and paratyphoid fevers in Fukien Province / J.R. Maxwell // *Chin Med J*. - 1916. - Vol. 30. - P. 100-103.
126. Lim C.E. Isolation of *M. melitensis* from patients in China / C.E. Lim // *Far Eastern Association of Tropical Medicine Transactions. Sixth Biennial Congress*. - Tokyo, 1925. - № 2. - P. 763-764.
127. Tung T. Brucellosis in north China; a clinical, etiological and epidemiological study/ T. Tung, S.H. Zia // *Am. J. Trop. Med. Hyg*. - 1949. - Vol. 29. - P. 925-936.
128. Deqiu S. Epidemiology and control of brucellosis in China / S. Deqiu, X. Donglou, Y. Jiming // *Vet Microbiol*. - 2002. - Vol. 90. - P. 165-82. - URL: [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00252-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00252-3). (дата обращения: 18.04.2019).
129. Shang D. Progress in the study of prevention and control of brucellosis in China in last 50 years [in Chinese] / D. Shang // *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. - 2000. - Vol. 21. - P. 55-57.

130. Gang S. Analysis of 1990 to 2001 surveillance effect of national major surveillance place for brucellosis [in Chinese] / S. Gang, Y. Zhao, S. Zhang // Chinese Journal of Control of Endemic Diseases. - 2002. - Vol. 17. - P. 285-288.
131. Jia P. Human brucellosis occurrences in Inner Mongolia, China: a spatio-temporal distribution and ecological niche modeling approach. / P. Jia, A. Joyner // BMC Infect Dis. - 2015. - Vol. 15. - P. 36.
132. Li Y. Characteristics of brucellosis related public health emergencies in China, 2006-2012 [in Chinese] / Y. Li, X. Yu, D. Wang, T. Li // Disease Surveillance. - 2013. - Vol. 28. - P. 723-725.
133. A familial cluster of human brucellosis attributable to contact with imported infected goats in Shuyang, Jiangsu Province, China, 2013 / Z. Tan, Y. Huang, G. Liu [et al.] // Am J Trop Med Hyg., 2013. - URL: 2015;93:757-60. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.15-0149> (дата обращения: 12.03.2019).
134. Increasing threat of brucellosis to low-risk persons in urban settings, China / S. Chen, H. Zhang, X. Liu [et al.] // Emerg Infect Dis. - URL: 2014;20:126-30. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2001.130324> (дата обращения: 12.03.2019).
135. High-risk regions of human brucellosis in China: implications for prevention and early diagnosis of travel-related infections / Z. Chen, W. Zhang, Y. Ke [et al.] // Clin. Infect. Dis. - URL: 2013;57:330-2. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/cit251> (дата обращения: 22.05.2019).
136. Spatial analysis on human brucellosis incidence in mainland China: 2004-2010 / J. Zhang, F. Yin, T. Zhang [et al.] // BMJ Open. - URL: 2014;4:e004470. <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2013-004470> (дата обращения: 22.05.2019).
137. Epidemiological features and risk factors associated with the spatial and temporal distribution of human brucellosis in China. / Y.J. Li, X.L. Li, S. Liang, Lee [et al.] // BMC Infect Dis. - URL: 2013;13:547. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-13-547> (дата обращения: 12.09.2019).
138. The first case of human brucellosis in Korea / M.S. Park, Y.S. Woo, M.J. Lee [et al.] // Infect. Chemother. - 2003. - Vol. 35. - P. 461-466.
139. Korean Centers for Disease Control and Prevention. Human brucellosis, Disease Web Statical system, Korea Centers for Disease Control and Prevention 2002-2015 (in Korean) [accessed on 2015 Oct 30]. Available at. - URL: <http://is.cdc.go.kr/dstat/index.jsp>. (дата обращения: 15.09.2019).
140. Epidemiological aspects of human brucellosis and leptospirosis outbreaks in Korea / Y. Jang, H. Kim, H.A. Bang Lee [et al.] // J. Clin. Med. Res. - 2011. - Vol. 3. - P. 199-202.
141. Animal and Plant Quarantine Agency. Human brucellosis. Korea Animal Health Integrated System. [accessed on 2015 Oct 30]. Available at. - URL: <http://www.kahis.go.kr>. (дата обращения: 05.07.2019).
142. Akapko A.J. Epidémiologie des brucelloses animales en Afrique tropicale: enquêtes cliniques, sérologique et bactériologique / A.J. Akapko, P. Bonarel // Revue Sci. Tech. Off. Int. Epiz. - 1987. - № 6. - P. 981-1027.
143. Akapko A.J. L'impact de la brucellose sur l'économie et la santé publique en Afrique / A.J. Akapko, A. Têko-Agbo, P. Koné // Conf. OIE. - 2009. - P. 71-84.
144. Risk of infection with *Brucella abortus* and *Escherichia coli* O157: H7 associated with marketing of unpasteurized milk in Kenya / S.M. Arimi, E. Koroti, E.K. Kang'ethe, A.O. Omoro, J.J. McDermott // Acta Tropica. - 2005. - Vol. 96(1). - P. 1-8.
145. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Base de données FAOSTAT. - Rome: FAO, 1999.

146. Sidibé S.A. Impact économique des maladies animales sur l'élevage en Afrique subsaharienne / S.A. Sidibé // Actes du séminaire sur l'utilisation des trypanocides en Afrique subsaharienne. - Dakar: EISMV, 2001. - P. 18-28.

147. Steinmann P. Les effets de la contamination du lait pour la santé publique dans les zones urbaines et périurbaines de Bamako et Mopti, Mali. Les toxi-infections alimentaires et la transmission de la brucellose et de la fièvre-Q / P. Steinmann, M. Hetzel // Rapport d'étude. - Institut tropical suisse. - Bâle, Suisse, 2003. - P. 66-98.

148. Human brucellosis in Mali: Results of a seroepidemiological study / J.P. Tasei, P. Ranque, H. Balique [et al.] // Acta Tropica. - 1982. - 39. - Vol. 3. - P. 253-264.

149. Phenotypic characterization of Brucella strains isolated from livestock in Nigeria / R.A. Ocholi, J.K.P. Kwaga, I. Ajogi, J.O.O. Bale // Veterinary Microbiology. - 2004. - Vol. 103. - P. 47-53.

150. Renard J.F. L'élevage et l'intégration régionale en Afrique de l'Ouest / J.F. Renard, Ly Cheikh, V. Knips // Livestock Sector Report, West Africa, FAO. - Ministère des Affaires étrangères de la République française, CIRAD, 2004.

151. Banque mondiale. Base de données. - WDI, 2002. Conférence OIE, 2009. - P. 71-84.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ БРУЦЕЛЛЁЗА

Основные резервуары и источники инфекции

Основное эпидемиологическое и эпизоотологическое неблагополучие по бруцеллёзу определяют носители трех видов возбудителя (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*) - сельскохозяйственные животные: овцы, козы, КРС и свиньи. Повсеместное распространение сельскохозяйственных животных определило глобальный занос перечисленных видов бруцелл на всех континентах в подавляющем большинстве стран мира. О дальнейшем расширении диапазона экологии возбудителя можно судить по выявлению в 90-х гг. новых видов бруцелл, носителями которых были морские млекопитающие (китообразные, ластоногие), а также некоторые виды грызунов. Они оказались патогенными как для людей, так и для наземных животных.

Бруцеллы не обладают строгой гостальной специфичностью и способны поражать виды животных, стоящих на различных уровнях эволюционного развития. Эта особенность имеет большое эпидемическое значение при переходе козье-овечьего вида бруцелл, как наиболее патогенного для человека, на КРС и другие виды животных [1].

Эпидемиологическое значение вида животных определяется, по существу, тем видом бруцелл, который преимущественно встречается у них при заражении в естественных условиях (таблица 9).

Таблица 9. Виды и естественные хозяева бруцелл

Вид	Источник инфекции (основной и дополнительный хозяин)
<i>B. melitensis</i>	Основной: овцы, козы Дополнительный: КРС, лошади, верблюды, яки, мулы
<i>B. abortus</i>	Основной: КРС Дополнительный: лошади, верблюды, яки, буйволы, зебу, мулы
<i>B. suis</i>	Основной: свиньи, кабаны Дополнительный: зайцы, северные олени, мышевидные грызуны
<i>B. ovis</i>	Основной: бараны (овцы)
<i>B. neotomae</i>	Основной: пустынные кустарниковые крысы
<i>B. canis</i>	Основной: собаки
<i>B. ceti</i>	Основной: китообразные (морские свиньи, дельфины)
<i>B. pinnipedialis</i>	Основной: ластоногие (тюлени)
<i>B. microti</i>	Основной: полевка серая
<i>B. inopinata</i>	Источник не установлен

Вид	Источник инфекции (основной и дополнительный хозяин)
<i>B. parvionis</i>	Бабуины <i>Papio spp</i>
<i>B. vulpis</i>	Обыкновенная рыжая лисица <i>Vulpes vulpes</i>

Очаги бруцеллёза козье-овечьего типа

Основным резервуаром бруцелл, имеющим ведущее эпидемиологическое значение, являются очаги бруцеллёза МРС (овцы и козы) [2, 3]. На заболеваемость людей бруцеллёзом козье-овечьего вида в мире приходится около 80 % всех зарегистрированных больных. Активность и распространённость этих очагов по различным регионам зависит от масштабов развития этой отрасли животноводства. Очаги бруцеллёза козье-овечьего типа преимущественно распространены в странах, граничащих со Средиземным морем, и на территории Среднего Востока, особенно в Иране, распространяясь к востоку (Монголия, Северный Китай), а также на Кавказе и в Закавказье, странах СНГ. Другая область, где распространено данное заболевание, это Латинская Америка, особенно Перу. В Европе инфекция, связанная с *B. melitensis*, не регистрируется к северу от параллели в 40 градусов. Эпизоотии, вызванные козье-овечим типом бруцелл, не регистрируются в Канаде, США, Австралии, Новой Зеландии и на островах Тихого океана. Подтверждаются эпизоотии бруцеллёза в северной части Африки и на Индийском субконтиненте [4, 5, 6].

Очаги бруцеллёза КРС

Очаги бруцеллёза КРС представляют собой второй по эпидемиологическому значению резервуар возбудителя в природе, и заболеваемость людей бруцеллёзом коровьего вида колеблется в пределах 10-15 % всей заболеваемости в мире [7,8]. Поэтому бруцеллёз КРС имеет как социальное, так и большое экономическое значение. Массовые аборт КРС, яловость животных, рождение нежизнеспособного приплода наносят огромный ущерб молочно-продуктивному животноводству.

В очагах коровьего бруцеллёза, в отличие от очагов овечьего типа, наблюдается более равномерное распределение возрастной заболеваемости. В то время как в очагах овечьего бруцеллёза дети инфицируются в исключительных случаях, в очагах коровьего бруцеллёза заражается довольно значительный процент несовершеннолетних. Приводятся данные, что из обследованных в очаге коровьего бруцеллёза 46 учащихся в возрасте от 8 до 14 лет - 28 детей имели положительную аллергическую реакцию, из них у 13 % были выявлены клинические проявления.

При эпидемиологической оценке очагов коровьего бруцеллёза следует всегда иметь в виду возможность миграции бруцелл козье-овечьего типа, когда заболевания могут получать групповое распространение. Эпидемический процесс в этих случаях приобретает тот же характер, что и в очаге козьего происхождения, когда преобладают тяжелые формы заболевания, а ведущее значение в распространении инфекции имеет алиментарный путь заражения. В отличие от очага козьего происхождения возможность заноса инфекции за пределы хозяйств (далеко за пределами очага) в данных случаях еще более значительна, так как в продажу городскому населению поступает обычно коровье молоко [5].

Очаги бруцеллёза свиней

Третьим резервуаром бруцелл в природе являются свиньи. В мировой заболеваемости людей на бруцеллёз свиного вида приходится 2-3 %. Отмечается, что энзоотии бруцеллёза свиней могут длиться 5-10 лет и более. Литературные данные свидетельствуют, что свиноводческие фермы, неблагополучные по бруцеллёзу, могут представлять серьезную угрозу как очаги заражения, опасные для людей и других видов животных [8]. Имеются данные, что бруцеллы вида *B. suis* обладают более высокой патогенностью для человека, чем *B. abortus*.

Распространение заболеваний людей в очагах бруцеллёза свиного типа более ограничено, чем в очагах бруцеллёза КРС. Для очагов свиного типа характерны спорадические случаи заболевания людей. Случаи заражения преимущественно встречаются среди обслуживающего персонала и среди рабочих предприятий, обрабатывающих свиные туши [10].

Очаги бруцеллёза смешанного типа

С эпидемиологической точки зрения важное значение имеет миграция *B. melitensis* от типового носителя (овец, коз) на нетипового (КРС), которая реализуется при совместном содержании в животноводческих хозяйствах мелкого и КРС.

Явления миграции описаны многими авторами. Впервые миграция *B. melitensis* на КРС установлена на острове Мальта [5].

Одним из примеров крупных эпидемических осложнений миграции бруцелл была вспышка бруцеллёза в г. Чадане СФО. Объектом инфицирования стала принадлежавшая жительнице этого города нетель, которая летом 1992 г. выпасалась на пастбище совместно со стадом мелкого рогатого скота, неблагополучного по бруцеллёзу. По окончании пастбищного сезона нетель была возвращена в Чадан, где содержалась вместе с другой коровой частного сектора. В 1993 г. нетель принесла

мертвого телёнка. Ни животное, ни плод на бруцеллёз исследованы не были. Только в июле уже у обоих животных при серологическом обследовании были обнаружены серопозитивные результаты в РА и РСК в диагностических титрах. Обе коровы были забиты, из надвыменных лимфоузлов взрослой коровы выделена культура *B. melitensis* первого биовара. В ходе эпидемиологического расследования установлено, что молоко больных животных употребляли в пищу 45 человек, 11 из которых заболели. Для данной вспышки бруцеллёза была характерна очаговость в виде семейных заболеваний (по 2-3 человека из одной семьи), причём наибольшее число заболевших пришлось на детей до 14 лет (6 из 11 человек) - основных потребителей молока. Таким образом, автор отмечает тот факт, что возбудитель, мигрировавший в организм нетипового хозяина, локализуясь в молочной железе и органах ретикуло-эндотелиальной системы, чаще, чем в других органах [12], предопределяет важное эпидемическое значение миграции бруцелл овечьего вида на коров в очагах бруцеллёза смешанного типа [11].

Также на выделение *B. melitensis* от коров в США указывают R.L. Magoffin (1949), W. Spink (1954).

Имеются данные о миграции *B. melitensis* на свиней. И.А. Тарасов (1934) выделил культуру *B. melitensis* от плода свиньи. В США этот тип бруцелл выделил W. Spink (1946), D.R. McCullough (1958) сообщает о том, что в 1949-1951 гг. им было проведено бактериологическое обследование 5000 свиней и при этом *B. melitensis* и *B. abortus* выделялись от свиней так же часто, как *B. suis*. Миграция *B. suis* на коров и МРС установлена рядом исследователей. *B. suis* была выделена от коров в США, причем отмечается, что некоторые эпидемии «молочного» происхождения были вызваны *B. suis*. Наряду с этим, как указывает Б.А. Замотин (1958), даже при интенсивной эпизоотии бруцеллеза у свиней не наблюдалось миграции *B. suis* на КРС [9].

Резервуары и источники инфекции в природе

Широкое географическое распространение бруцеллёзной инфекции среди домашних животных и высокая восприимчивость к ней человека, а также недостаточная эффективность противобруцеллёзных мероприятий привлекли внимание многих исследователей к изучению бруцеллёза диких животных и их эктопаразитов.

Вопрос о природной очаговости бруцеллёза впервые поставлен Е.Н. Павловским и И.Г. Галузо (1949) [13]. По их мнению, дикие животные, находясь в тесном контакте с больными сельскохозяйственными животными, могут включаться в общую эпизоотическую цепь и таким образом расширять границы антропургического очага. Большой вклад в изучение данной проблемы внесли казахстанские исследова-

тели [14,15]. М.М. Ременцовой (1984) установлено, что среди диких животных естественными бруцеллоносителями могут быть 24 вида. Восприимчивость в экспериментальных условиях доказана еще для 33 видов [16].

М.М. Ременцовой с соавт. в 1969 г. изолированы культуры бруцелл от малого (*Spermophilus pygmaeus*) и среднего (*Citellus erytrogenys*) сусликов, обыкновенной полевки (*Microtus arvalis*), зайца-песчаника (*Lepus tolai*), ондатры (*Ondatra zibethicus*) и марала (*Cervus elaphus sibiricus*). У суслика-песчаника (*Spermophilus fulvus*), рыжей лисицы (*Vulpes vulpes*), косули (*Capreolus capreolus*) обнаружены антитела к бруцеллам [15]. Бруцеллоносительство наиболее характерно для зайцев-песчаников, зайцев-русаков (*Lepus europeus*), сурков (*Marmota bobak*) и маралов. Егоров с соавторами (1997 г.) при бактериологическом исследовании 1 554 диких животных в районах Крайнего Севера в 54 (3,5 %) случаях выделили культуры *B. suis* 4-го биовара, которые характерны для северных оленей: от 254 волков (*Canis lupus*) - 30 культур (11,8 %), от 777 белых песцов (*Alopex lagopus*) - 18 (2,3 %), от 39 росомах (*Gulo gulo*) - 4 (10,2 %), от 484 горностаев (*Mustela erminea*) - 6 (1,2 %) культур [17].

По мнению Р.Г. Асланяна, П.А. Вершиловой (1979), многообразие домашних и диких животных, птиц и клещей, инфицированных бруцеллами в естественных условиях, можно условно разделить на две группы. Одна группа объединяет подавляющее большинство видов диких и домашних животных, птиц, насекомых и клещей, которым возбудитель передается от основных носителей бруцелл - сельскохозяйственных животных, и инфекция исчезает после ликвидации очагов бруцеллеза у сельскохозяйственных животных. Как правило, из внутренних органов и естественных выделений представителей этой группы (мезентериальные лимфоузлы, экскременты - у кошек; заглочные лимфоузлы и экскременты - у кур и уток) изолируют культуры бруцелл, идентичные тем, которые распространены в данной местности среди основных носителей. Определенное эпизоотическое и эпидемическое значение могут иметь синантропные, а также экзоантропные дикие животные, обитающие в животноводческих помещениях, на территории таких хозяйств или на пастбищах (собаки, буйволы, верблюды, крысы, песцы, горностаи, лемминги, различные виды клещей и др.) [18].

Другая группа объединяет животных сравнительно небольшого числа видов, у которых бруцеллы существуют независимо от наличия инфекции среди основных носителей. В данную группу можно отнести диких северных оленей, зайцев, бизонов (возможно, сайгаков), некоторые виды грызунов.

Бруцеллез у северных оленей и карибу (*Rangifer tarandus*) распространен в полярных районах на Аляске, в Канаде и Сибири. Его воз-

будитель - *B. suis* биовар 4 [12, 19]. По данным А.Ф. Пинигина (1971), бруцеллез у северных оленей протекает бессимптомно и только у 0,5-2,0 % животных он имеет клинически выраженные проявления болезни. Бруцеллез у домашних и диких северных оленей зарегистрирован на Ямале, Таймыре, Эвенкии, Чукотке, Камчатке, в Восточной Сибири и на Дальнем Востоке [20, 21].

По данным А.И. Калиновского (2006), в Якутии к началу 1999 г. из 200 оленьих стад 120 (60 %) были поражены бруцеллёзом. Для сравнения, инфицированность северных оленей на Аляске достигает 30 %, в Канаде - до 4,3 % [22]. Носителями бруцелл в зонах оленеводства могут быть дикие промысловые животные, некоторые грызуны, например, копытный лемминг (*Dicrostonyx torquatus*) и обыкновенная полевка (*Microtus arvalis*), а также промысловые животные песцы и лисицы [23].

Первые работы о естественном бруцеллоносительстве зайцев опубликованы Р.С. Михайловой (1957) [24]. По данным М.М. Ременцовой, зайцы, подобно кроликам, проявляют относительную устойчивость к заражению *B. melitensis*. Исходя из этого, можно предполагать, что в естественных условиях вряд ли происходит заражение зайцев от сельскохозяйственных животных, скорее, наоборот [14]. Так, заражение домашних животных от зайцев зарегистрировано в Латвии [25]. Автор сообщил об изоляции 2-х культур *B. abortus* от 10 трупов зайцев, патологоанатомические изменения которых свидетельствовали о бруцеллезной природе. Трупы зайцев, по-видимому, могут служить источником заражения диких и домашних животных, а также хищных птиц. Большая работа по изучению бруцеллёза у зайцев проведена в Дании. Во время пяти эпизоотий бруцеллёза среди свиней авторы исследовали около 4500 зайцев. Более 3 % из них оказались носителями культур *B. suis*. Места распространения бруцеллёза среди зайцев совпадали с местами эпизоотий бруцеллёза среди домашних свиней [26].

В США бруцеллёз распространен среди бизонов, буйволов и свиней, в Канаде - среди бизонов, карибу и лосей [27]. Предполагается, что лоси и бизоны вначале заразились бруцеллёзом от домашнего скота и только потом инфекция начала циркулировать среди диких животных [28].

Пораженность бруцеллами сайгаков (*Saiga tatarica*) в естественных условиях установлена в ряде стран - в Казахстане [29], России (Астраханской области и Ставропольском крае) [30, 31], Швейцарии [32]. Это подтверждено изоляцией культур *B. melitensis* [29, 33].

Природные очаги бруцеллезной инфекции существуют среди некоторых видов грызунов на территории России - Северного Кавказа [34] и Восточной Сибири [35], пустынной западной части США [36], Аргентины [37], а также Казахстана [16]. Так, в США получены по-

ложительные серологические реакции на бруцеллёз у 13 видов диких животных - пустынных кустарниковых крыс (*Neotoma lepida*), оленьих хомячков (*Peromyscus maniculatus*), кенгуровых прыгунов (*Dipodomis ordii*), сусликов (*Citellus townsendii*, *C. leucurus*), западных хомячков (*Reithrodontomys megalotis*), больших мешотчатых прыгунов (*Perognathus parvus*), кроликов (*Sylvilagus oudoboni* и *S. nuttallii*). При бактериологическом исследовании диких животных выделены 18 культур бруцелл, в том числе 14 - *B. neotomae* от пустынных кустарниковых крыс, одна - от блох (*Orchopeus sexdentatus*), снятых с этих зверьков, и две культуры *B. suis* и *B. melitensis* - от калифорнийского кролика (*S. bachmani*). При этом заражение бруцеллёзом диких животных, видимо, может происходить как в естественных условиях, так и при контакте с домашними животными и через эктопаразитов [36].

В Закавказье выделены культуры *B. suis* 5 биовара от мышевидных грызунов, которые имеют самостоятельное эпизоотическое значение [34].

В начале 90-х гг. появились сообщения об изоляции мелких грамотрицательных микробов, сходных с бруцеллой, от морских млекопитающих [38]. Выделенные штаммы отличались по своим характеристикам от известных шести видов бруцелл. На основе молекулярных методов типирования были дифференцированы два самостоятельных вида бруцелл, характерных для китообразных - *B. ceti* и для ластоногих - *B. pinnipedialis*. *B. ceti* изолирована от представителей многих видов китообразных - серого (*Tschirctius gibbosus*), горбатого (*Megaptera novaeangliae*), гренландского (*Balaena mysticetus*) и других китов. *B. pinnipedialis* изолирована от серого дельфина (*Grampus grislus*), касатки (*Orcinus orca*), кольчатой нерпы (*Pusa hispida*).

В Коста-Рике исследователи обратили внимание на необычное поведение китообразных, выбрасывающихся на берег. С августа 2004 по апрель 2007 г. были взяты для исследований представители 10 видов китообразных, находившихся на береговой линии. Еще до гибели животных у них были видны нарушения координации и плавательного рефлекса. Гистологический и бактериологический анализы мозга показали наличие у животных менингоэнцефалита и был выделен возбудитель бруцеллёза - *B. ceti* [39]. Имеются сообщения о заболевании нейробруцеллёзом человека от морских млекопитающих [40].

Б. Брик и др. сообщили о выделении штаммов бруцелл от афалин (*Tursiops truncatus*), о наличии у тюленей выкидышей плода, причиной которых был бруцеллёз, подтвержденный положительными результатами серологических реакций у тюленей [41]. Исследования 1 389 образцов сыворотки крови, молока, внутренних органов трех китов (2-х - серых, 1-го - горбатого) и четырех видов тюленей в Северной акватории Атлантического океана с использованием непрямо-

го метода ELISA и серологических реакций (агглютинации, Роз-Бенгал) выявили антитела к бруцеллёзу в крови у всех животных, в 8% образцов молока китов и 11-14% - тюленей. Один штамм возбудителя *B. ceti* был изолирован из печени и селезенки кита, у которого ранее в молоке обнаруживались специфические антитела. Все это свидетельствует о широком распространении бруцеллёзной инфекции среди морских обитателей Северной Атлантики. Речь идет о существовании собственной экологической ниши бруцелл у морских млекопитающих. Последние являются источником бруцеллёзной инфекции для наземных животных, например, полярного медведя, который обитает в районе Чукотского и Баренцева морей и питается тюленями. Обнаружено, что среди годовалых белых медведей инфицированные бруцеллами особи встречаются чаще (5,0%), чем среди взрослых особей и детенышей (1,0%). По мере продвижения с запада Баренцева моря на восток число серопозитивных животных увеличивалось с 3,6 до 15,9% [42,43].

Несмотря на то, что в США бруцеллёз ликвидирован среди домашних свиней, широкое распространение возбудитель бруцеллёза *B. suis* получил в популяции кабанов (*Sus scrofa*). Установлено также, что кабаны, по крайней мере, одной изолированной популяции являются носителями *B. abortus*, включая вакцинный штамм *B. abortus* 19. Это свидетельствует о прямом контакте диких и домашних свиней. Дикие и одомашненные карibu (*Rangifer tarandus*) в штате Аляска являются резервуарами *B. suis* биовар 4. Исследователи считают, что для реального искоренения бруцеллёза в США нужны новые механизмы уничтожения этой инфекции в резервуарах дикой природы [44].

На Африканском континенте хозяевами бруцеллёзной инфекции могут быть как домашние, так и дикие животные. Все виды домашних животных, а также 21 из 26 видов диких травоядных и 5 из 12 видов плотоядных оказались носителями бруцелл. Достоверно доказано существование природных очагов бруцеллёза, поддерживаемых независимо от домашних животных. Инфицированными зарегистрированы южноафриканская антилопа (*Antelope diving-buck*), африканский буйвол (*Syncerus caffer*), гиппопотам (*Hippopotamus amphibious*), зебра (*Equus (Hippotigris) quagga*). Высокие титры специфических антител найдены у водоплавающих птиц - уток и гусей. К этой группе охотничьих животных и птиц тесно примыкают плотоядные и питающиеся падалью хищники. Авторы работы считают, что поверхностные воды замыкают круг связи бруцеллёза диких и домашних животных [45].

В Казахстане М.М. Ременцова (1962) исследовала на бруцеллёз 3 000 сусликов и только в двух случаях была выделена культура *B. abortus* [14].

А.Ф. Пинигин (1954) при исследовании 348 сусликов выделил *B. melitensis* лишь от двух из них. Вероятно, источником инфекции для грызунов были сельскохозяйственные животные [35].

Связующим звеном между дикими и сельскохозяйственными животными могут быть собаки и кошки. По данным М.М. Ременцовой, инфицированность собак, кошек, диких животных и их эктопаразитов зависит от интенсивности эпизоотии бруцеллёза в хозяйстве и характера проводимых противозооотических мероприятий [16].

Собаки обычно поражаются всеми видами бруцелл, а приотарные собаки могут быть хорошим индикатором неблагополучия по бруцеллёзу животных [46]. Культура *B. canis* впервые выделена Л. Кармихалом [47] из плаценты, абортированных плодов и крови больных собак. *B. canis* исключительно быстро распространяется среди собак. В больших количествах этот возбудитель выделяется с мочой у кобелей [48]. Возбудитель присутствует также в плаценте и вагинальных выделениях от абортировавших сук [49]. Попадание возбудителя во внешнюю среду с вагинальными выделениями может продолжаться в течение 4-6 месяцев после аборта. *B. canis* - патогенен для человека - может вызвать поражение жизненно важных органов [50]. На территории России случай выделения от собак бруцелл *B. canis* впервые зарегистрирован в 1994 г. [51].

О роли *кошек* в эпидемиологии бруцеллёза имеются немногочисленные сообщения [52]. В Новосибирской области описана эпидемическая вспышка острого бруцеллёза в двух семьях (четырёх человек из одной семьи и двух человек - из другой), живущих в разных квартирах коттеджного типа и контактировавших с кошкой [53]. От одного из членов семьи и кошки был изолирован возбудитель *B. suis* 5 биовар. Судя по выделенному штамму, можно предполагать, что инфицирование кошки произошло от синантропных животных, заселявших жилище человека (крысы, домовые мыши и т.д.).

К дополнительным резервуарам бруцеллёзной инфекции относятся *лошади* [54, 55, 56]. Возбудителем бруцеллёзной инфекции у лошадей считается *B. abortus*, но признается этиологическая роль и других видов бруцелл - *B. melitensis* и *B. suis* [56]. По мнению П.А. Триленко, лошади друг от друга бруцеллёзом не заражаются и их можно было бы считать биологическим тупиком для бруцелл [55]. Однако имеются данные о том, что больные лошади могут служить источником инфекции [57], так как способны выделять бруцеллы с мочой, молоком и калом [58]. Человек может заразиться при употреблении кобыльего молока (кумыса) от больной бруцеллёзом лошади. Аборты у кобыл, инфицированных бруцеллами, считаются редким явлением, вместе с тем *B. abortus* биовар 1 был изолирован из абортированных плодов кобыл, а также из гнойных выделений, например, при бурситах затылка и свищах холки.

Яку (*Bos grunniens*), как и КРС, очень восприимчивы к инфекции *B. abortus*. Впервые возбудитель *B. abortus* из абортрованного плода самки яка выделил А.Ф. Пинигин [35]. Позднее бруцеллёз яков установлен также в Киргизии [59] и на других территориях, в том числе в Монголии. Заражение происходит при контакте яков с неблагополучным по бруцеллёзу КРС и при спаривании самок с больными быками. Половой путь заражения наиболее опасен. Бруцеллёз у яков протекает в виде острой формы с развитием массовых абортот (около 60 % самок в стаде) уже после первой беременности, после чего процесс переходит в хроническую форму; некоторые животные выздоравливают.

У буйволов (*Bubalus bubalis*) бруцеллёз имеет те же клинические проявления, что и у КРС [55]. От буйволов изолируют те биовары *B. abortus*, которые циркулируют в данном регионе. Например, *B. abortus* биовар 1 встречается в Индии, а биовар 3 - в Восточном районе Средиземноморья. Биовар 3 *B. abortus* был изолирован из увеличенного семенника (орхит) африканского буйвола (*Syncerus caffer*). В СССР исследования буйволов на бруцеллёз проводил Р.М. Пашаев, который выявил положительные серологические реакции у 0,3-4,4 % обследованных животных [60]. При бактериологическом обследовании 7 буйволов, положительно реагирующих по серологическим тестам, возбудитель *B. abortus* выделен у шести животных и *B. melitensis* - у одного [61]. Известно, что буйволы более восприимчивы к заражению бруцеллами вида *B. abortus*.

Бруцеллёз верблюдов впервые обнаружен в Туркменистане в 30-х гг. [62]. По данным Комитета экспертов ФАО/ВОЗ, бруцеллезная инфекция проявляется в значительной степени у двугорбых верблюдов (*Camel bactrianus*), в особенности в условиях контакта с крупным или мелким рогатым скотом, хотя регистрировался и среди одногорбых верблюдов (*C. dromedarius*). Имеются сообщения о заражении целых стад верблюдов в Азии и Северной Африке, а также о заражении от них людей. Из абортотрованных плодов, генитальных выделений, мочи и молока высевали возбудитель *B. abortus* [63].

При обследовании верблюдоводческих хозяйств в Талды-Курганской области Казахстана из материала от 3 верблюдиц, положительно реагиовавших на бруцеллёз, выделен возбудитель *B. melitensis* биовар 3 [64]. Установлено, что самки с новорожденными верблюжатами содержались в помещениях, где проводился окот овец, среди которых отмечались аборты бруцеллезной этиологии.

Таким образом, наличие носителей бруцелл среди диких животных не вызывает сомнений. Бруцеллезная инфекция имеет собственные экологические ниши. В природе происходит циркуляция бруцелл между различными видами животных, и не все случаи нахождения бруцелл

у диких животных есть результат заражения последних от домашних или сельскохозяйственных животных. Вместе с тем инфекция может передаваться от домашних животных диким и затем существовать независимо в течение длительного времени у диких хозяев (например, инфекция *B. suis* - у зайцев, *B. melitensis* - у сайгаков и *B. abortus* - у бизонов).

Эктопаразиты

Согласно литературным данным, зарегистрировано 18 видов кровососущих членистоногих - естественных носителей бруцелл в природе и 20 видов, способных воспринимать бруцеллёзную инфекцию в эксперименте. В организме некоторых из них возбудитель бруцеллёза переживает довольно значительный срок (150 дней - в организме иксодовых клещей и более года - в организме аргасовых клещей).

Комары. Первые упоминания о возможности переноса бруцеллёза жалящими насекомыми принадлежат Ф. Заммиту [65]. Он высказал предположение о возможности распространения мальтийской лихорадки кровососущими насекомыми. Ф. Заммит считал, что мальтийская лихорадка в средиземноморских странах может быть связана с комарами *Acartomua zammiti*, цикл которых проходит в морской воде. А. Pelligrino (1932) во время эпидемии бруцеллёза в Мессине (Сицилия) исследовал 10 комаров *Culex pipiens* и у двух из них обнаружил в кишечнике *B. melitensis*. В кишечнике одного комара бруцеллы оказались жизнеспособными через 24 часа [66].

Исследования М.М. Ременцовой, проводившиеся в экспедиционных условиях в хозяйствах, неблагополучных по бруцеллёзу, показали, что бруцеллы в кишечнике комаров могут сохранять жизнеспособность до 48 часов, и, следовательно, не исключается возможность заражения бруцеллёзом человека и животных путём раздавливания комаров и механического втирания содержимого их тела в повреждённую кожу [16]. Е. Карасек в своём опыте с комарами *C. pipiens*, которые поглощали бруцелл, содержащихся в крови животных, показал, что комары сохраняли бруцелл в своём организме до 72 часов. На этом основании он пришёл к выводу, что комары могут иметь значение в переносе бруцеллёза, в особенности в период массовых абортос сельскохозяйственных животных [67].

Слепни. Роль слепней в передаче бруцеллёзной инфекции хорошо представлена в работах Г. Вельмана (1950-1953). Свои наблюдения по экспериментальному воспроизведению бруцеллёзной инфекции он проводил с пятью видами слепней (*Chroszona pluviialis*, *Tabanus bovinus*, *T. Glaycopis*, *Cziladynus sp.*, *Solsitalis sp.*). Ему удалось заразить слепней всеми видами бруцелл путем кормления их на инфицированном молоке и остатках абортированного материала сельскохозяйственных жи-

вотных и затем перенести эту инфекцию через укус зараженных слепней на морских свинок, коз, свиней и коров. Для заражения морских свинок достаточно было единичных укусов, а для заражения крупных - несколько десятков (50-60) [68].

Мухи. Еще во время работы английской комиссии на острове Мальта Д. Эйре с соавторами находил в помещениях, где были больные животные, мух (*St. calcitrans*, *Musca domestica* и *V. stabulans*), зараженных возбудителем бруцеллёза. Бруцеллы в них сохранялись до пяти дней и выделялись с экскрементами [69]. Г. Вельман считает, что мухи способны переносить бруцелл до 24 часов, а по данным Г. Негро (1937), мухи, искусственно зараженные *B. melitensis*, могут содержать бруцелл до 2-7 дней [70].

Эпизоотологическое подтверждение роли мух при бруцеллёзной инфекции отражено в исследованиях К. Клинглера по инфекционному кератоконъюнктивиту у серн и связи последнего с бруцеллёзом овец и КРС [71]. Р. Гарнах и др. (1957), исследовав около 70 мух (*Caliphora*, *Sarcophaga*, *M. domestica*, *Lucilia*, *Stomoxys*, *Fannia*, *Caniculatus*), отловленных в коровниках, где находились больные животные и имели место аборт, обнаружили бруцелл на поверхности тела насекомых в 8,7 %, в кишечнике - в 3,7 % случаев. По истечении четырёх месяцев на теле мух бруцеллы уже не обнаруживались [72]. Этот эксперимент оказал влияние на составителей руководства по инфекционным болезням под редакцией W. Löffler, D.L. Moroni (1952), которые в разделе о бруцеллёзе пишут: «Возможность переноса бруцеллёза насекомыми можно считать доказанной, и способность эта может распространяться на довольно отдаленные стада КРС» [73].

Блохи. Исследования Р.И. Тимофеевой показали, что блохи *Neopsilla setosa* легко заражаются *B. melitensis* как в аппарате Пшеничного, так и на зараженном бруцеллёзом животном (морские свинки, суслики) в период бактериемии. В последующем от зараженных блох культуры бруцелл выделялись как при непосредственном посеве эмульсии из органов блох на питательные среды, так и путем заражения животных до 69 дня от начала кормления блох на инфицированном животном [74]. Р.М. Товар и Р.И. Тимофеева получили перенос инфекции блохами путем кормления 3-20 экземпляров на здоровых свинках или сусликах. Заражение наступало у 50 % животных, взятых в опыт. Более того, Р.М. Товар установил, что возбудитель бруцеллёза передаётся от зараженной самки блох через яйца потомству. На этом основании он делает вывод, что блохи, выделяя бруцелл в большом количестве во внешнюю среду, могут заражать человека, так как они обычно инфицируют место укуса, а человек может втирать их при расчёсах [75].

Вши. Вши в качестве переносчиков бруцелл в естественных усло-

виях могут играть роль в эпизоотологии бруцеллёза как возможные внутривидовые передатчики возбудителя от одной особи животных к другой. В природе вши могут передавать бруцелл внутри популяции вида и тем самым поддерживать инфекцию только среди особей одного вида животных.

Тараканы. Н.Н. Ruhland, J.F. Huddleson в лабораторных условиях провели опыт по исследованию тараканов на их способность переносить бруцелл. Их опыты дали положительные результаты, причём бруцеллы выживали в пищеварительном тракте тараканов до 24 часов [76].

Клещи.

Иксодовые клещи. Как переносчики бруцеллёза клещи *Dermacentor marginatus* были впервые проверены И.Г. Галузо, К.С. Балдициной, Е.И. Кайтмазовой [77]. Авторы установили естественную зараженность голодных половозрелых клещей этого вида, собранных на пастбищах юга Казахстана в хозяйстве, овцы которого были поражены бруцеллёзом. Им также удалось выделить культуру бруцелл от голодных половозрелых клещей, собранных в природе, путём заражения морских свинок эмульсией из растёртых тел клещей. Отсюда авторы делают вывод, что заражение клещей произошло или в личиночной и нимфальной стадиях на диких позвоночных животных, или имагинальной стадии - на больных овцах. В первом случае можно говорить о наличии бруцеллёзной инфекции среди диких позвоночных животных - возможного резервуара возбудителей в природе; во втором случае - о способности бруцелл сохранять свою жизнеспособность в организме клещей на длительный период времени.

Исследователями в эпизоотических очагах бруцеллёза на территории Центрального Казахстана было выделено пять культур *B. melitensis* от клещей *D. marginatus*, снятых с условно здоровых овец, и две культуры от партии клещей, снятых месяцем ранее с больных животных [78].

Спустя несколько лет И.Ф. Таран [79], а затем Е.И. Замахаева и др. выделили культуры *B. melitensis* от клещей *D. marginatus*, собранных в хозяйствах Ставропольского края [80], а Г.А. Аршакунин успешно заразил бруцеллёзом овец и морских свинок через клещей *D. marginatus*, собранных с больных бруцеллёзом животных [83].

Аргасовые клещи. На клещей *Ornithodors lahorensis* как на переносчиков бруцеллёза впервые указали М.М. Ременцова и В.Н. Кусов [84]. Они выделили культуру бруцеллёза из этих клещей и указали на их способность длительное время сохранять бруцелл в своём организме и передавать их трансвариально потомству. Позже В.Н. Зильфян, Е.Л. Ананян выявили *O. lahorensis*, естественно зараженных *B. melitensis*, и выявили возможность передачи инфекции

этими клещами в процессе присасывания [85], позже была доказана способность клещей *O. Lahorensis* передавать возбудителя в процессе присасывания [81]. М.М. Ременцовой из клещей *O. lahorensis*, собранных в глинобитных кошарах, где год назад находились больные бруцеллёзом овцы, выделена культура бруцелл, и в двух случаях имелись положительные иммунологические реакции у биопробных морских свинок [16].

Гамазовые клещи. На естественное бруцеллоносительство гамазовые клещи проверялись в Ставропольском крае Е.И. Замахаевой, И.М. Гроховским и др. путём постановки биопроб на белых мышах и морских свинках [80]. Проведённые опыты показали, что гамазовые клещи легко инфицируются бруцеллами, если последние содержатся в питательном субстрате, и значительно труднее они инфицируются при питании на зараженном небольшой дозой бруцелл животном. Только в отдельных случаях возможна передача инфекции здоровым животным в процессе присасывания гамазид.

Ведущая адаптивная черта бруцелл к жизни в природе и циркуляции среди диких животных - их способность сохраняться в организме одной особи животного неограниченно длительное время, не вызывая у него реакции с летальным исходом. Это дает возможность бруцеллам проникать в разнообразные биоценозы и переживать там любые колебания численности популяции и изменения видового состава сообщества. Не исключается роль паразитических членистоногих, особенно клещей, которые, будучи компонентами различных наземных экосистем, могут в экстремальных условиях сохранять бруцеллы в природе и передавать их от одной особи к другой внутри популяции - в пределах одного биоценоза или между различными биоценозами [84].

В настоящее время, в век развития туризма, освоения нетронутых ранее уголков природы, происходят как непосредственные, так и через сельскохозяйственных животных различные контакты с дикими животными, при этом возбудители бруцеллёза проникают от диких животных к домашним, а от них - к человеку. Так, С.Т. Starnes и др. сообщили о заражении бруцеллёзом двух членов охотничьего клуба в Южной Каролине (США), занимавшихся охотой на диких свиней [87]. Известно о заражении бруцеллезом людей при отлове и разделывании млекопитающих [86]. Однако в большинстве случаев инфекция от диких животных к человеку передается через домашних животных.

Механизмы заражения бруцеллёзом. Пути и факторы передачи возбудителя

Для бруцеллёза характерны несколько механизмов передачи возбудителя. Заражение человека происходит при реализации фекально-

орального, контактного (при попадании возбудителя на поврежденные кожные покровы и слизистые оболочки) и аспирационного механизмов.

Эпидемиологическое значение алиментарного (пищевого) пути передачи возбудителя инфекции, факторов передачи возбудителя - пищевых продуктов животного происхождения - определяются массивностью обсеменения, видом бруцелл, их вирулентностью, длительностью сохранения их жизнеспособности. Наибольшую опасность представляют естественные выделения больных бруцеллёзом животных, а также молоко и кисломолочные продукты (сметана, сливки, сливочное масло, брынза, сыр, кумыс и др.), мясо и сырьё от животных, больных бруцеллёзом. Мясо представляет эпидемическую опасность при его недостаточной термической обработке (национальные особенности приготовления пищи - строганина, шашлык с кровью, сырой фарш и др.) [87].

Заражение контактным путём происходит при уходе за больными бруцеллёзом животными, во время оказания помощи при родах, абортax, задержки последа, когда проводят ручное отделение плаценты, при работе с сырьём и продуктами животного происхождения (шерсть, смушки и кожа), кормлении.

Воздушно-пылевой путь заражения реализуется при ингаляции воздушно-пылевой смеси, содержащей контаминированные бруцеллами фрагменты шерсти, навоза, земли. Этот путь инфицирования возможен при стрижке, сортировке шерсти, вычёсывании пуха (разработка, вязание и др.), а также при уборке помещений и территорий (зарегистрированы случаи заражения человека при уборке навоза), где содержат животных или обрабатывают сырьё от них. При несоблюдении мер личной безопасности бруцеллы могут проникать через неповрежденную слизистую оболочку конъюнктивы глаз, носа, ротовой полости [88].

Регистрируются случаи лабораторного заражения людей при манипуляции с вирулентными культурами бруцелл (центрифугирование, пересевы культур, биологические аварии с образованием аэрозоля и др.) в результате несоблюдения требований санитарно-эпидемиологических правил работы с возбудителем бруцеллёза. Описаны случаи инфицирования людей возбудителем бруцеллёза внутриутробно (трансплацентарный путь) и во время родов, при кормлении грудным молоком, переливании крови, пересадке органов, половых контактах [87].

Восприимчивость и иммунитет

Человек обладает высокой восприимчивостью к возбудителям бруцеллёза основных и наиболее распространенных видов (*B. melitensis*, *B. abortus* и *B. suis*). По патогенности для человека указанные виды бруцелл неравноценны. Наиболее высокая патогенность для человека

характерна для бруцелл вида *B. melitensis*: до 80 % всех заболевших бруцеллезом людей. *B. suis* по патогенности для человека занимают промежуточное положение между *B. melitensis* и *B. abortus*. Однако заболеваемость людей, вызванная этим возбудителем, не превышает 1-1,5 %. Остальная доля случаев бруцеллеза обусловлена *B. abortus* (до 15 %); до 1 % случаев приходится на бруцеллёз северных оленей. В восприимчивости населения к бруцеллёзу не отмечено существенных различий в возрастном и половом аспектах.

В результате заражения развивается, как правило, хроническое рецидивирующее заболевание, приводящее к глубоким поражениям опорно-двигательного аппарата, многих органов и тканей, включая центральную нервную систему. При попадании возбудителя бруцеллёза в макроорганизм в сыворотке крови накапливаются специфические антитела, формируется инфекционный, нестерильный иммунитет, продолжительность которого сопряжена с длительностью острой фазы болезни. Постинфекционный иммунитет обладает слабой напряженностью, быстро угасает в течение первого года после заражения, оставляя глубокие аллергические сдвиги, состояние патергии. В результате организм остается восприимчивым к повторному заражению, причем повторное попадание возбудителя вызывает тяжелые аллергические процессы с необратимыми поражениями паренхиматозных органов, соединительной ткани и нервной системы. В этой связи наличие иммунной прослойки среди населения не играет существенной роли в эпидемиологии бруцеллёза.

В связи с трудностями дифференциации поствакцинальных и постинфекционных иммунологических реакций внимание разработчиков вакцин стали привлекать атипичные инагглютинабельные культуры бруцелл, которые не вызывают образования специфических агглютининов, выявляемых с помощью стандартных диагностикумов в реакции Райта и РСК.

Заключение

В настоящее время эпидемиология и эпизоотология бруцеллёза изучены в достаточной мере. Основным источником и резервуаром данного заболевания для человека являются сельскохозяйственные животные - овцы, козы, КРС и свиньи. Возбудитель может передаваться от домашних животных диким и затем персистировать независимо в течение длительного времени в популяции диких позвоночных. Доказано наличие носителей бруцелл в природе среди диких животных и обитающих на них эктопаразитах.

Для бруцеллёза характерны несколько механизмов передачи возбудителя. Заражение человека происходит при реализации контактного,

фекально-орального (пищевого) и аспирационного механизмов. Самую значительную роль в очагах бруцеллёза имеет контактный механизм передачи возбудителя инфекции. Доказан вертикальный механизм передачи. Пути передачи возбудителя также многообразны: контактный (бытовой), алиментарный и, реже, воздушно-капельный (воздушно-пылевой), трансплацентарный, возможны сочетанные пути передачи.

Восприимчивость человека к возбудителям бруцеллёза основных видов (*B. melitensis*, *B. abortus* и *B. suis*) высока. Наибольшая патогенность характерна для бруцелл вида *B. melitensis*, далее следуют *B. suis* и *B. abortus*. Постинфекционный иммунитет обладает слабой напряженностью, быстро угасает в течение первого года после заражения, оставляя глубокие аллергические сдвиги. В результате организм остается восприимчивым к повторному заражению.

Сезонность заболеваемости людей бруцеллёзом обусловлена хозяйственной деятельностью человека. Для заболевания людей бруцеллёзом, вызванным козье-овечьим видом, характерна весенне-летняя сезонность. При заражении бруцеллёзом от КРС сезонность выражена слабее, что объясняется длительным периодом лактации и заражением в основном через молоко и молочные продукты.

Различия в заболеваемости по полу зависят от занятости мужчин и женщин в животноводстве. В регионах, где основным источником заражения людей является мелкий рогатый скот, наибольший процент заболеваемости отмечается у мужчин. В очагах бруцеллёза КРС, где доля мужского труда имеет второстепенное значение, заболеваемость женщин несколько выше, чем мужчин.

В очагах бруцеллёза сельскохозяйственных животных часто отмечаются заболевания людей всех возрастных групп, от детей дошкольного возраста (в том числе грудных) до людей преклонного возраста. Однако большая часть людей, заболевших бруцеллёзом, приходится на средний работоспособный возраст, так как именно эта группа людей больше других принимает участие в обслуживании животных и обработке сырья животного происхождения.

Заболеваемость людей бруцеллёзом носит выраженный профессиональный характер. К группам профессионального риска относятся работники животноводческих (звероводческих) хозяйств (ферм), мясо- и молококомбинатов, других предприятий по переработке продуктов и сырья животного происхождения, убойных пунктов, пунктов стрижки овец, зооветработники, персонал лабораторий, работающих с вирусными культурами, и персонал других предприятий, учреждений, работа которых связана с риском заражения бруцеллёзом.

Список литературы

1. Вершилова П.А. Бруцеллез в СССР и пути его профилактики / П.А. Вершилова, А.А. Голубева. М: Медицина, 1970. - 189 с.
2. Авилов В.М. Состояние и перспектива специфической профилактики бруцеллёза овец / В.М. Авилов, И.А. Косилов, П.К. Аракелян // Ветеринария. - 1999. - № 3. - С. 8-12.
3. Яровой Л.В. Бруцеллёз овечье-козьего типа у человека (по матер. Ставроп. края) / Л.В. Яровой // Ставрополь: Ставропольская правда, 1959. - 161 с.
4. Таран И.Ф. Бруцеллёз (микробиология, иммунология, эпидемиология, профилактика) / И.Ф. Таран, Г.И. Лямкин. - Ставрополь, 1996. - 173 с.
5. Белозёров Е.С. Бруцеллёз / Е.С. Белозёров - Л: Медицина. - 184 с.
6. Триленко П.А. Бруцеллёз сельскохозяйственных животных / П.А. Триленко - Л: Колос. 1976. - 280 с.
7. Суворова А.Е. Эпидемиологические особенности бруцеллёза в очагах крупного рогатого скота и свиней: дис. ...канд. мед. наук / А.Е. Суворова - Ставрополь, 1986. - 149 с.
8. Бруцеллёз сельскохозяйственных животных / И.А. Косилов, П.К. Аракелян, С.К. Димов, А.Г. Хлыстунов. - Новосибирск, 1999. - 344 с.
9. Замотин Б.А. К эпидемиологии бруцеллеза типа *suis* / Б.А. Замотин // Иркутский гос. НИИ противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Тезисы докладов конференции. - Улан-Уде, 1958. - Вып. 3. - С. 60-61.
10. Дранкин Д.И. К эпидемиологии бруцеллеза типа *Suis* / Д.И. Дранкин, Б.А. Замотин, В.С. Коржева // Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии. - 1960. - № 2. - С. 95-100.
11. Калиновский А.И. Бруцеллез в Восточной Сибири и на Дальнем Востоке (теоретические и прикладные аспекты эпидемиологии, микробиологии и профилактики): автореф. дис. ... д-ра мед. наук / А.И. Калиновский. - Иркутск, 2006. - 48 с.
12. Meyer M.E. Species identity and epidemiology of brucella strains isolated from Alaskan Eskimos / M.E. Meyer // J. Infect. Dis. - 1964. - Vol. 114, № 2. - P. 169-173.
13. Павловский Е.Н. О природной очаговости бруцеллеза / Е.Н. Павловский, И.Г. Галузо // Вестник АМН СССР. - 1949, № 5. - С. 15-20.
14. Ременцова М.М. Анализ вспышки бруцеллёза в одном из районов Кокчетавской области // Здравоохранение Казахстана. - 1962. - № 6. - С. 52-53.
15. Ременцова М.М. Бруцеллез промысловых животных / М.М. Ременцова, О.В. Постричева, С.И. Рыбалко. - Алма-Ата: Наука, 1969. - 153 с.
16. Ременцова М.М. Бруцеллез диких животных / М.М. Ременцова. - Алма-Ата: Наука, 1984. - 260 с.
17. Экология возбудителя бруцеллеза // Acta microbiologica Bulgarica. - 1984. - № 15. P. 3-8.
18. Желудков М.М. Резервуары бруцелллезной инфекции в природе / М.М. Желудков, Л.Е. Цирельсон // Зоологический журнал. - 2010. - № 1. - С. 53-60.
19. Асланян Р.Г. Современные аспекты природной очаговости бруцеллеза / Р.Г. Асланян, П.А. Вершилова // Сборник науч. трудов НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи АМН СССР. - М., 1979. - С. 59-63.
20. Huntley B.E. Survey of brucellosis in Alaska / B.E. Huntley, R.N. Philip, J.E. Maynard // J. Infect. Dis. - 1963. - Vol. 112, № 1. - P. 100-106.
21. Калиновский А.И. Природная очаговость бруцеллеза в Заполярье / А.И. Калиновский, Л.П. Репина, Е.Ю. Карепин // Современные аспекты природной очагово-

сти, эпидемиол. и профил. Особо опасных инфекц. болезней: тез. докл. науч. конф. - Ставрополь, 1993. - С. 50-52.

22. Ewalt D.R. Brucellosis in wildlife / D.R. Ewalt // Brucellosis 2003 International Research Conference including the 56 Brucellosis Research Conference September 15-17 2003. University of Navarra, Pamplona (Spain), 2003. - P. 40.

23. Пинигин А.Ф. К изучению очагов бруцеллеза на Таймыре / А.Ф. Пинигин, А.И. Калиновский, В.А. Заярнюк // Труды Бурятского с/х. ин-та. Улан-Уде, 1971. - Вып. 24. - С. 28-32.

24. Горбань Л.В. Экспериментальное изучение биологических свойств бруцелл, циркулирующих среди животных Крайнего Севера. Автореф. дис. ... канд. биол. наук / Л.В. Горбань - М.: НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, 1978. - 19 с.

25. Михайлова Р.С. Обследование на зараженность бруцеллезом зайцев в Одесской области: автореф. науч. работ, выполненных в 1956-1957 гг. / Р.С. Михайлова. - Одесса, 1957. - С. 21-23.

26. Каушкайте М.К. К вопросу бруцеллеза зайцев в Литовской ССР / М.К. Каушкайте // Литовский науч.-исслед. вет. ин-т. Научно-техническая информация. - Вильнюс, 1963. - С. 31-32.

27. Bendtsen H. Brucella enzootics in swine herds in Denmark presumably with hare as source of infection / H. Bendtsen, M. Cheistiansen, A. Tomsen // Nord. Veter. - 1954. - Vol. 61. - P. 11-12.

28. Tessaro Stasy V. The existing and potencial importance of Brucellosis and tuberculosis in Canadian Wildlife e review / V. Tessaro Stasy // Can. Vet. J. - 1986. - Vol. 27, № 3. - P. 119-124.

29. Willer R.D. Eradication of bovine Brucellosis - the Arizona stori / R.D. Willer // International Workshop "Brucellosis as a trans-boundary Infection of animals and humans which needs to be managed by cooperative efforts of different countries". June 2-4. Serpukhov, Moscow region, 2008. - P. 75.

30. Ременцова М.М. Новые носители бруцеллезной инфекции среди мышевидных грызунов / М.М. Ременцова // Вестник АН КазССР. - 1956. - № 8. - С. 65-67.

31. Уралева В.С. О возможной роли сайгаков в поддержании очагов бруцеллеза в условиях Астраханской области / В.С. Уралева, Ю.А. Исаков // Науч. конф. по природной очаговости и эпидемиологии особо опасных инфекционных заболеваний. - Саратов, 1957. - С. 31-33.

32. Таран И.Ф., Доль С.К. К вопросу о роли диких животных в эпизоотологии бруцеллеза в условиях Ставропольского края / И.Ф. Таран, С.К. Доль // Труды науч. иссл. противочумн. ин-та Кавказа и Закавказья. - 1957. - Т. 2. - С. 70-83.

33. Bouvier G. Monographie les maladies des ruminants sauvages de la Suisse / G. Bouvier, H. Burgisser, P. Schneider // Service vetirinaire cantonal et Institut Galli-Valerio, Lausanne. - 1958. - № 1. - P. 68.

34. Таран И.Ф. Зараженность бруцеллезом сайгаков в естественных условиях и их восприимчивость к этому заболеванию в эксперименте / И.Ф. Таран // Журн. микробиологии, эпидемиологии, иммунологии. - 1960. - № 5. - С. 99-110.

35. Лямкин Г.И. Бруцеллез в регионе Северного Кавказа (эпидемиология, природная очаговость, лабораторная диагностика): автореф. дис. ... докт. мед. наук / Лямкин Г.И. - Саратов, 1995. - 57 с.

36. Пинигин Ф.А. Бруцеллезная инфекция у длиннохвостых сусликов. Известия Иркутского науч.-исслед. противочум. ин-та. - 1954, Т. 12. - С. 96-105.

37. Thorpe B.D. Brucellosis in wildlife and livestock of West Central Utha-Singh /

B.D. Thorpe, O. Sidwell // J. Amer. Veter. Med. Assoc. 1965. - Vol. 145, № 3. - P. 254.

38. Шифрес Б. Естественный бруцеллез у диких крыс в Аргентине / Б. Шифрес // Бюл. Всемирной Организации Здравоохранения. - 1966. - Т. 34, № 6. - С. 934.

39. Characteristics of a *Brucella* species from a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) / D.R. Ewalt, J.B. Payeur, B.M. Martin [et al.] // J. Vet. Diagn. Invest. - 1994. - Vol. 6. - P. 448-452.

40. Neurobrucellosis in Stranded Dolphins, Costa Rica / G. Hernandez-Mora, R. Gonzalez-Barrientos, G.-A. Morales [et al.] // Emerging Infections Diseases. - 2008. - V. 14, № 9. - P. 1430-1433.

41. Human neurobrucellosis with intracerebral granuloma caused by a marine mammal *Brucella* spp. / A.H. Sohn, W.S. Probert, C.A. Glaser [et al.] // Emerg Infect Dis. - 2003. - Vol. 9. - P. 485-488.

42. Molecular characterization of *Brucella* strains isolated from marine mammals / B.J. Bricker, D.R. Ewalt, A.P. MacMillan [et al.] // J. Clin. Microbiol. - 2000. - Vol. 38, № 3. - P. 1258-1262.

43. Serosurvey of selected zoonotic agents in polar bears (*Ursus maritimus*) / H.M. Rah, B.B. Chomel, E.H. Follmann, R.W. Kasten [et al.] // J. Vet. Rec, Jan. 1. - 2005. - Vol. 156, № 1. - P. 7-13.

44. Antibodies in polar bears from Svalbard and the Barents Sea / M. Tryland, A.E. Derocher, O. Wiig, J. Godfroid // J. of Wildlife Diseases. - 2001. - V. 37, № 3. - P. 523-531.

45. Olsen S.C. Current status of Brucellosis in the United States. International Workshop / S.C. Olsen // "Brucellosis as a transboundary infection of animals and humans which needs to be managed by cooperative efforts of different countries". June 2-4. - Serpukhov, Moscow region, 2008. - P. 57.

46. Thimm B. The epidemiological situation of brucellosis in Africa / B. Thimm, W. Wundt // Developments in biological standardization. International symposium on brucellosis. Basel. - 1976. - V. 31. - P. 201-207.

47. Коломакин Г.А. О роли собак в эпидемиологии бруцеллеза / Г.А. Коломакин // Труды КазНИВИ. Алма-Ата. - 1961. - Т. 10. - С. 43-49.

48. Собаки как источник проникновения бруцеллеза от зайцев к сельскохозяйственным животным // Природная очаговость болезней и вопросы паразитологии. - Алма-Ата, 1961. - Вып. 3. - С. 108-109.

49. Charmichael L.E. Abortion in 200 Beagles / L.E. Charmichael // J.A.V.M.A. - 1966. - V. 149. - P. 1126.

50. Serikawa T. Significance of urine in transmission of canine brucellosis / T. Serikawa, T. Mugaruchi // Jap. J. Vet. Sci. - 1979. - Vol. 41. - P. 607-616.

51. Charmichael L.E. Canine brucellosis: the clinical disease, pathogenesis and immune response / L.E. Charmichael R.M. Kenney // Theriogenology. - 1976. - Vol. 6. - № 2-3. - P. 105-117.

52. Ying W. *Brucella canis* endocarditis: case report / W. Ying, M. Nguen, J.A. Jahr // Clin. infect. Dis. - 1999. - Vol. 29. - P. 1593-1594.

53. Свойства штамма бруцелл, выделенного из абортированного плода собаки / К.В. Шумилов, В.В. Калмыков, В.В. Михайлов [и др.] // Сб. науч. трудов ВГНКИ. - 1995. - Т. 57. - С. 179-187.

54. Нечаева Н.М. К вопросу о роли кошек в эпидемиологии бруцеллеза / Н.М. Нечаева // Журн. микробиологии, эпидемиологии, иммунологии. - 1952. - № 6. - С. 23-24.

55. 1989. Случай заражения бруцеллезом людей от кошки / Л.П. Репина, А.И.

Никулина, А.И. Косилов [и др.] // Актуальные вопросы профилактики бруцеллеза и организации медицинской помощи больным: тез. докл. Всесоюз. конф., Новосибирск 24-25 октября г. - М., 1989. - С. 50-51.

56. Вышелесский С.Н. Бруцеллез лошадей и его диагностика / С.Н. Вышелесский, Е.А. Бобылева // Советская ветер. - 1935. - № 6. - С. 16-18.

57. Триленко П.А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных / П.А. Триленко - Л.: Колос, 1976. - 205 с.

58. Юров К.П. Инфекционные болезни лошадей. - М.: Росагропромиздат, 1991. - 134 с.

59. Вышелесский С.Н. Бруцеллез. Частная эпизоотология. - М.: Сельхозгиз, 1948. - 172 с.

60. Лукашев И.И. Частная эпизоотология / И.И. Лукашев. - М.: ГИСЛ, 1961. - С. 50-51.

61. Вожаев Н.С. Диагностика бруцеллеза яков / Н.С. Вожаев, Ю.К. Шергин, А.И. Беляков // Сельское хозяйство Киргизии. - 1967. - № 3. - С. 34-35.

62. Пашаев К.А. Сообщение о серологической диагностике бруцеллеза буйволов / К.А. Пашаев // Ветеринария. - 1959. - № 8. - С. 52-53.

63. Мамателашвили В.Г. Некоторые данные серологических и бактериологических исследований при бруцеллезе буйволов и характеристика выделенных штаммов / В.Г. Мамателашвили // Сб. трудов Грузинского зовет. учебно-исслед. ин-та. - Тбилиси, 1965. - Т. 35. - С. 97-106.

64. Здродовский П.Ф. Бруцеллез (Труды экспедиции ВИЭМ 1933-1936) / П.Ф. Здродовский. - М., 1937. - С. 257.

65. Островидов П.И. Бруцеллез верблюдов / П.И. Островидов // Материалы межвед. конф. по борьбе с бруцеллезом. Алма-Ата, 1963. - С. 190-192.

66. Использование реакций агглютинации и длительного связывания компонента с прогреванием для дифференциации больных бруцеллезом и вакцинированных верблюдов / С.Д. Сейдахметова, С.А. Турлыбеков, Н.Н. Зинина, В.Н. Грузинцева // Материалы междунар. науч.-практ. конф. «Современное состояние и актуальные проблемы развития ветеринарной науки и практики», посвящ. 100-летию Казахского НИВИ, 15-16 сентября 2005 г. - Алматы, 2005. - С. 242-247.

67. Zammit T., Kennedy J.C., Eyre J.W. 1906. Mittelmeerfieber, Kolle-Kraus-Uhlenhuth. Hundbach, 3, 1927.

68. Степанов Н.Н. Эпидемиология бруцеллеза: автореф. док. дис. ... д-ра / Н.Н. Степанов - Ашхабад, 1946.

69. Karasek J. Prenosnost brucel komary / J. Karasek // Veter. Med. - 1958. - Vol. 3, № 1. - С. 13-22.

70. Wellman G. Insekten als Brucellosenubertrager / G. Wellman // Neue experementelle Ergebnisse. 15-th Internal. Vet. Congress, Stockholm, 1953. - 79 p.

71. Report upon the bacteriological and experimental investigation during the summer of 1906. / J.W. Eyre, J.G. McNaught, J.C. Kennedy, T.I. Zammit // Rep. Medit. Fev. Comm., - 1906. - № 6. - P. 4-130.

72. Negro G. Signicato della Mosca domestica nella diffusione della febbre ondulante / G. Negro // Giornalle di Batteriologia Immun. - 1937. - Vol. 19. - P. 17-29.

73. Klingler K. Uber die Gernsblindheit und ihre Beziehungen zur Konjunktivo / K. Klingler // Schw. Arch. F. Thk. - 1953. - Vol. 95. - P. 201-228.

74. Harnach R. Notions sur les insectes volants comme vecteurs de Brucella dans les etables isolants de brucellose / R. Harnach, O. Mraz // Pokroky vo vyskume Brucellezy, Slovensk. Akad. Bratislava. - 1957. - Vol. 1, № 434. - P. 179-183.
75. Löffler W. Die Brucellose / W. Löffler, D. L. Moroni // Handbuch der inneren Medizin. Erste Band, zweiter Teil. Infektionskrankheiten. - 1952. - P. 100-189.
76. Тимофеева Р.И. Экспериментальное изучение роли блох малого суслика в переносе возбудителя бруцеллёза / Тимофеева Р.И. // Тр. Ростовского научно-исследовательского противочумного института. Т.9. Ростов: Книжное издательство, 1955. - С. 18-35.
77. Tovar R.M. Infection and transmission of Brucella by ectoparasites / R.M. Tovar // Am. J. Vet. Res. - 1947. - Vol. 8, №. 26. - 138-148.
78. Ruhland H.H. The role of one species of cockroach and several species of flies in the dissemination of Brucella / H.H. Ruhland, J.F. Huddleson // Am. J. Vet. Res. - 1941. - Vol. 2. - P. 371-372.
79. Галузо И.Г. Иксодовые клещи - возможные переносчики бруцеллёза. / И.Г. Галузо, К.С. Балдицина, Е.И. Кайтмазова // Известия КазФАНюб серия зоологическая. Сб. статей по паразитологии, серия паразитологическая. - 1944. - Вып. 3. - С. 56-59.
80. Попов Н.П. О носительстве клещом *Dermacentor silvarum* *Brucella melitensis* и некоторые другие наблюдения / Н.П. Попов // Уч. Зап. Казанского гос. ветеринарного института. 1947. - Т. 54. - С. 60-65.
81. Таран И.Ф. О роли дикой фауны в эпидемиологии и эпизоотологии бруцеллёза на территории Ставропольского края: автореф. канд. дис. ... / И.Ф. Таран. - М.: Институт эпидемиологии и микробиологии им. Гамалея АМН СССР, 1959.
82. Изучение зараженности бруцеллами клещей в очагах козье-овечьего типа. / Е.И. Замахаева, И.М. Гроховская, А.А. Гусева, И.Ф. Таран, Е.А. Губина, А.В. Чекомасова // Труды Научно-исследовательского противочумного института Кавказа и Закавказья. - Ставрополь: Книжное издательство, 1959. - Вып. 2. С. 83-93.
83. Аршакунин Г.А. Роль иксодовых клещей в переносе бруцеллёзной инфекции мелкого рогатого скота / Г.А. Аршакунин // Труды Армянского ветеринарного научно-исследовательского института. - Ереван, 1955. - Вып. 8. - С. 39-44.
84. Ременцова М.М. К вопросу о роли клещей *Ornotodoros lahorensis* в распространении бруцеллёза / М.М. Ременцова, В.Н. Кусов // Изв. АН КазССР, серия паразитол. - 1950. - Вып. 8. - С. 128-135.
85. Зильфян В.Н. Роль аргасовых клещей в передаче бруцелл / В.Н. Зильфян, Е.Л. Ананян // Зоологический журнал. - 1955. - Т. 34, вып. 1. - С. 98-100.
86. Галузо И.Г. Развитие учения о природной очаговости болезней / И.Г. Галузо // Вестник АН КазССР. - 1969. - № 10. - С. 30-35.
87. Brucellosis in two hunt club members in South Carolina / С.Т. Starnes, R. Talwani, J.A. Horvath [et al.] // J. S. C. Med. Assoc. - 2004. - Vol. 100, № 4. - P. 113-115.
88. Human neurobrucellosis with intracerebral granuloma caused by a marine mammal *Brucella* spp. / А.Н. Sohn, W.S. Probert, С.А. Glaser [et al.] // Emerg. Infect. Dis. - 2003. - Vol. 9. - P. 485-488.
89. Инфекционные болезни и эпидемиология: учебник / В.И. Покровский, С.Г. Пак, Н.И. Брико, Б.К. Данилкин. - 3-е издание, испр. и доп. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. - 1008 с.: ил.
90. Зуева Л.П. Эпидемиология: учебник / Л.П. Зуева, Р.Х. Яфаев. - СПб: ФОЛИ-АНТ, 2006. - 752 с.: ил.

Эпидемиологический надзор за бруцеллёзом.

Основные направления совершенствования эпиднадзора

Эпидемиологический надзор за бруцеллёзом в Российской Федерации осуществляется санитарно-эпидемиологической службой. В составе территориальных органов государственной санитарно-эпидемиологической службы имеются отделы эпиднадзора за особо опасными инфекциями, которые организуют комплекс противобруцеллёзных (профилактических) мероприятий. Последние, в свою очередь, опираются на медицинскую службу участковых больниц, врачебных и фельдшерских участков, специализированные клинические стационары и др.

При осуществлении эпидемиологического надзора за бруцеллёзом проводятся следующие мероприятия [5]:

- слежение за заболеваемостью людей бруцеллёзом, её территориальным распространением и заболеваемостью отдельных групп населения (сельского, городского, по возрастным и профессиональным группам и др.);

- активное выявление медицинскими организациями больных бруцеллёзом из числа больных, с диагнозами, не исключающими заболевание бруцеллёзом или сопоставимыми с этой инфекцией, лабораторное обследование на бруцеллёз, в т. ч. на гемокультуру (по показаниям), длительно лихорадящих больных (более 5 дней);

- анализ эпизоотологической ситуации по бруцеллёзу по материалам, представляемым государственной ветеринарной службой, включая анализ комплекса ветеринарно-санитарных мероприятий, направленных на ограничение распространения инфекции и предупреждение заражения здоровых животных;

- слежение за численностью контингентов, подвергающихся риску заражения на эндемичных по бруцеллёзу территориях, а также за контингентами, профессионально связанными с риском заражения бруцеллёзом;

- слежение за динамикой эпидемиологически значимых социальных явлений (миграция населения и сельскохозяйственных животных, характер хозяйственной деятельности, санитарно-гигиенические условия работы в сельскохозяйственном производстве и на предприятиях по переработке продуктов животноводства и сырья, уровень медицинского обслуживания и др.);

- разработка тактики специфической профилактики бруцеллёза;
- оценка качества своевременности и эффективности осуществляемых профилактических и противоэпидемических мероприятий с целью их оптимальной корректировки;

- разработка прогнозов развития эпидемиологической ситуации.

Эпидемиологический надзор за бруцеллёзом основан на результатах эпидемиологической, клинической и лабораторной диагностики.

Ретроспективный эпидемиологический анализ проводится специалистами территориальных органов Роспотребнадзора в субъектах Российской Федерации и включает изучение многолетней и помесечной динамики заболеваемости населения, анализ эпизоотологической ситуации на конкретной территории с определением факторов риска заболевания и причинно-следственных связей. Ретроспективный анализ ситуации предусматривает следующее:

- характеристику многолетней динамики заболеваемости с определением тенденций (рост, снижение, стабилизация) и темпов роста (прироста) или снижения;

- анализ годового и помесечного уровней заболеваемости бруцеллёзом;

- изучение заболеваемости по отдельным регионам, территориям, населенным пунктам;

- изучение заболеваемости по возрасту, полу, профессии, месту жительства, субъектам хозяйственной деятельности;

- распределение заболеваемости по характеру клинических проявлений и тяжести клинического течения;

- анализ многолетних данных о циркуляции возбудителя бруцеллёза по результатам лабораторных исследований материала от людей и животных (данные ветеринарной службы);

- изучение особенностей возбудителя (виды, биовары, генотипы);

- анализ факторов риска, включая сведения об эпизоотологической ситуации по бруцеллёзу на административной территории, в населенном пункте.

Оперативный эпидемиологический анализ проводится за определенный промежуток времени на конкретной территории с целью оценки эпидемиологической обстановки, постановки эпидемиологического диагноза, разработки плана адекватных противоэпидемических (профилактических) мероприятий и составления прогноза развития эпидемиологической ситуации. Оперативный анализ заболеваемости бруцеллёзом основывается на данных регистрации первичных диагнозов и позволяет своевременно установить изменения эпидемической ситуации и их причины. Основной задачей ретроспективного и оперативного анализов является своевременное выявление предпосылок и причин осложнения эпидемиологической ситуации.

В качестве предпосылок, способных обусловить возникновение заболевания бруцеллёзом, могут быть:

- возникновение новых неблагополучных пунктов по бруцеллёзу крупного и мелкого рогатого скота на административной территории;

- увеличение заболеваемости бруцеллёзом на соседних территориях;
- увеличение количества сельскохозяйственных животных эпидемиологически значимых видов, заболевших бруцеллёзом;
- завоз сельскохозяйственных животных эпидемиологически значимых видов из неблагополучных по бруцеллёзу хозяйств, других территорий.

К предвестникам активизации эпидемического процесса относят:

- регистрацию случаев заболевания людей бруцеллёзом, число которых превышает среднеголетний уровень для конкретной административной территории;
- регистрацию эпидемических очагов бруцеллёза с групповой заболеваемостью на территории с неблагополучными по бруцеллёзу крупного и мелкого рогатого скота пунктами;
- установление миграции возбудителя бруцеллёза мелкого рогатого скота (*B. melitensis*) на КРС.

При регистрации впервые выявленных заболеваний бруцеллёзом проводится эпидемиологическое расследование, осуществляемое в соответствии с действующими нормативными правовыми и методическими документами по профилактике бруцеллёза.

Основные направления совершенствования надзора за бруцеллёзом

Инструментом достижения успеха в борьбе с бруцеллёзом, как и с другими инфекционными заболеваниями, является эффективная система эпидемиологического надзора [6,10]. В свою очередь, эффективность надзора как информационно-аналитической системы зависит от качества каждого из его компонентов, а также ресурсного, научного, нормативно-правового обеспечения, уровней профессиональной подготовки специалистов и информирования населения [8,11].

Информационная основа надзора за бруцеллёзом представляет собой систему учета и регистрации случаев заболеваний среди животных и людей, которая благодаря чувствительным методам лабораторной диагностики должна улавливать инфекционную патологию вне зависимости от ее клинических форм и проявлений. В силу того, что бруцеллёз поражает различные системы и органы человека, на ранних стадиях болезни специфическая симптоматика отсутствует, и многие ее проявления аналогичны другим инфекционным заболеваниям, лабораторные методы исследования играют ключевую роль в постановке диагноза [2,3,17]. Современный подход к диагностике бруцеллёза должен основываться на комбинации иммунологических, бактериологического, молекулярно-генетических методов или на одновременном применении нескольких методов [12,21]. Между

тем, современная тенденция в совершенствовании лабораторной диагностики бруцеллёза связана с внедрением методов молекулярно-генетической диагностики, которые не уступают, а иногда и превосходят традиционные (классические) методы. Это связано с их высокой чувствительностью (до 80 %) и специфичностью (до 100 %), быстротой получения результатов, независимости от стадии болезни, возможности поточного применения и относительной безопасности для персонала лабораторий [13, 14, 16, 20]. Степень или частота их применения зависит от уровня и потенциала лабораторий, а также цели и задач исследования [19, 18].

Другим направлением совершенствования надзора является повышение качества эпидемиологической диагностики на основе изучения и оценки рисков [9]. При этом чрезвычайно важным в надзоре за бруцеллёзом представляется установление территорий, групп и факторов риска. Одним из современных подходов, направленных на совершенствование технологий эпидемиологического надзора, является применение ГИС-технологий, позволяющих проводить пространственно-временное ранжирование территорий по степени эпидемиологической опасности. В настоящее время ГИС широко используется в мировой противозидемической и противозидоотической практике. Так, в Российской Федерации разработаны и внедрены ГИС по многим актуальным нозологиям, включая бруцеллёз [4]. Меняющиеся социально-экономические, бытовые условия жизни населения обуславливают необходимость непрерывного изучения проявлений эпизоотического и эпидемического процесса бруцеллёза, выявления предпосылок и предвестников осложнения ситуации [64]. В качестве таких предвестников следует рассматривать увеличение миграции людей и животных, экспорт и импорт сельскохозяйственных товаров; изменения окружающей среды; пересечение видовых границ; перемены образа жизни и технологические изменения в животноводстве [1].

Установление факторов риска является определяющим этапом эпидемиологической диагностики. Как показывает практика, в настоящее время аналитические эпидемиологические исследования для доказательства гипотез о действии тех или иных факторов риска широко применяются в США, европейских странах, относительно реже - в России и государствах постсоветского пространства. Между тем, только аналитические исследования позволяют установить истинные причины развития той или иной эпизоотологической и/или эпидемиологической ситуации [7].

В многочисленных научных публикациях показано, что в настоящее время одним из факторов, способствующих осложнению как эпидемиологической, так и эпизоотологической ситуации, являет-

ся низкий уровень информированности населения об уже достаточно изученных рисках [15]. Кроме того, информированность целевых групп населения влияет на эффективность профилактических программ и рассматривается как неотъемлемый фактор успешной борьбы с инфекциями и массовыми неинфекционными болезнями. Не является исключением и бруцеллёз. Информирование по своей значимости ставится в один ряд с другими профилактическими и противоэпидемическими мероприятиями.

Таким образом, проблема бруцеллёза многогранна, а ее решение возможно только при системном рассмотрении. В этой связи совершенствование системы эпизоотолого-эпидемиологического надзора за бруцеллёзом позволит выявить первоочередные научные и практические задачи, возникающие как в глобальном масштабе, так и на уровне отдельных государств.

Список литературы

1. Дудникова Н.С. Краткий обзор эпизоотической ситуации в мире по особо опасным болезням животных / Н.С. Дудникова, О.Н. Петрова, В.П. Семакина и др. [Электронный ресурс] // Информационно-аналитический обзор. ФГУ «ВНИИЗЖ», Владимир, 2010 - URL: http://www.fsvps.ru/fsvpsdocs/ru/iac/publications/iac_public16.pdf (дата обращения: 15.06.2019).
2. Лучшев В.И. Бруцеллез [Текст] / В.И. Лучшев // Рос. мед. журн. - 2004. - № 1. - С. 42-46.
3. Ляпина Е.П. Хронический бруцеллез: системное воспаление и эндотоксикоз, совершенствование терапии и эпидемиологического надзора: дис. ... док. мед. наук: 14.00.01.; 14.00.03. / Е.П. Ляпина // ГУО ВПО Саратовский государственный медицинский университет. - М., 2008.
4. Манин Е.А. Совершенствование эпидемиологического надзора за бруцеллезом с использованием ГИС-технологии / Е.А.Манин, Г.И.Лямкин, Н.И.Тихенко и др. // Проблемы особо опасных инфекций. - 2012. - вып. 114. - С. 26-28.
5. Эпидемиологический надзор и лабораторная диагностика бруцеллёза: метод. указ. - М: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2017. - 60 с.
6. Нафеев А.А. Необходимость модернизации системы мониторинга за природно-очаговыми инфекциями / А.А.Нафеев // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2008. - №1. - С. 53-55.
7. Симонова Е.Г. Аналитические исследования в деятельности эпидемиолога / Е.Г. Симонова, А.А. Филиппова. - М.: Цифровичок, 2013. - 54 с.
8. Симонова Е.Г. Концепция управления эпидемическим процессом - от теории к практике / Е.Г.Симонова // Медицинский альманах. - 2012. - № 3 (22). - С.43-46.
9. Черкасский Б.Л. Риск в эпидемиологии / Б.Л.Черкасский. - М.: Практическая медицина, 2007. - 480 с.
10. Черкасский Б.Л. Руководство по общей эпидемиологии / Б.Л.Черкасский. - М.: Медицина, 2001. - С. 323-398.
11. Черкасский Б.Л. Современные представления о системе управления эпидемическим и эпизоотическим процессом / Б.Л. Черкасский, Е.Г.Симонова // Профи-

лактика, диагностика и лечение инфекционных болезней, общих для людей и животных: матер. международной конф. - Ульяновск, ГСХА, 2006. - С. 273-276.

12. Evaluation of genus-specific and species-specific real-time PCR assays for the identification of *Brucella* spp. / Al Dahouk S., Nockler K., Scholz H.C. [et al.] // *Clin. Chem. Lab. Med.* - 2007. - Vol. 45. - P. 1464-1470.

13. Al-Anazi K.A. Brucellosis: A Global Re-emerging Zoonosis Diagnosis, Treatment and Prevention / Al-Anazi KA., Al-Jasser // 2009. OMICS Group eBooks. - URL: <http://www.esciencecentral.org/ebooks>. (дата обращения 12.03.2019).

14. Gordis L. Epidemiology / Gordis L. // Elsevier: Philadelphia, 2004. - P. - 335.

15. Gul S.T. Epidemiology and epizootology of brucellosis / Gul S.T., Khan S.T. // *Pakistan Vet. J.* - 2010. - Vol. 27. - P. 141-151.

16. Maloney G.E. CBRNE - Brucellosis / Maloney G.E., Fraser W.R. - Omaha, Nebraska, eMedicine, 2004. - URL: <http://www.emedicine.com/emerg/topic883.htm>. (дата обращения 12.03.2019).

17. Brucellosis in a mother and her young infant: probable transmission by breast milk / A. Palanduz, S. Palanduz, K. Guler [et al.] // *Int. J. Infect. Dis.* - 2000. - Vol. 4. - P. 55-56.

18. A short history of brucellosis: special emphasis in Bangladesh. Bangl / M.S. Rahman, J.H. Uddin [et al.] // *J. Vet. Med.* - 2006. - Vol. 4. - P. 01-06.

19. Serra J. Laboratory diagnosis of brucellosis in a rural endemic area in northeastern Spain / J. Serra, M. Vicas // *International microbiology.* - 2004. - Vol. 7. - P. 53-58.

20. Application of polymerase chain reaction enzyme immunoassay in 133 peripheral whole blood and serum specimens for diagnosis of acute human brucellosis / G. Vroni, C. Gartzonika, A. Kostoula [et al.] // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* - 2004. - Vol. 23. - P. 194-199.

21. Brucellosis control in Tajikistan using Rev 1 vaccine: change in seroprevalence in small ruminants from 2004 to 2009. / D. Ward, R. Jackson, K. Kurbonov [et al.] // *Veterinary Record.* - 2012, - Vol. 170. - P. 100 -108.

Современные аспекты патогенеза бруцеллёзной инфекции, персистенции и взаимодействия бруцелл с макроорганизмом

Патогенез бруцеллёза

Отечественные ученые - П.Ф. Здродовский, П.А. Вершилова, Г.П. Руднев, И.Ф. Таран, М.И. Чернышева, И.Н. Кокорин, Ю.К. Кулаков и зарубежные исследователи - С. Baldwin, M.J. Corbel, J.J. Holland, Y. Ke, T.R Mackaness, M.J. Mosmann, J. Sauret и др. подготовили научно-обоснованный фундамент для дальнейшего изучения пато- и иммуногенеза бруцеллёза, исследования взаимоотношений бруцелл и иммунных факторов макроорганизма.

Бруцеллёз у человека и животных представляет собой общий генерализованный инфекционный процесс, характеризующийся бактериемией с последующим бактериальным обсеменением паренхиматозных органов, развитием местной и общей воспалительной реакции организма, сенсбилизацией организма бруцеллами.

Патогенез бруцеллёза в полной мере обуславливает клиническое проявление болезни. Наибольшее значение в формировании комплекса клинических признаков при бруцеллёзе имеют следующие факторы: ситуационный иммунный статус хозяина, физиологическое состояние макроорганизма и его инфекционная чувствительность к различным по степени вирулентности видам бруцелл; массивность инфекта, повторность заражения; механизм инфицирования, ворота инфекции; иммунологическая реактивность и степень специфической сенсбилизации [12, 13, 14, 15, 16, 26].

Условно в динамике развития бруцеллёзной инфекции можно выделить пять основных фаз (рисунок 27):

- фаза лимфогенного заноса (инициальная фаза);
- фаза гематогенного заноса (первичная генерализация);
- фаза полиочаговых локализаций;
- фаза экзоочаговых обсеменений (вторичная генерализация);
- фаза резидуального метаморфоза.

В инициальную фазу бруцеллы проникают в организм хозяина через поврежденную кожу или слизистые оболочки (в том числе неповрежденные), захватываются фагоцитами, размножаются в них и током лимфы (лимфогенно) заносятся в регионарные лимфатические узлы. В лимфоузлах накапливаются с образованием первичного бруцеллёзного комплекса. Эта фаза течения инфекции хронологически соответствует инкубационному периоду болезни. При длительном сохранении в лимфатических узлах бруцелл происходит иммунологическая перестройка организма, синтезируются антитела, выявляемые в серологических реакциях, но клинические признаки не развиваются (фаза первичной латенции).

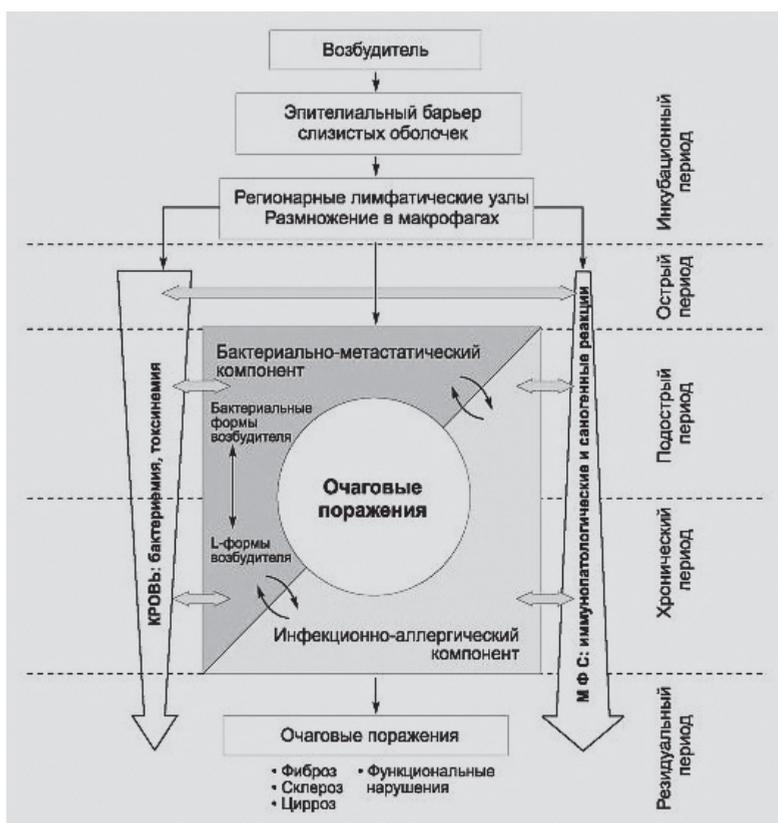


Рисунок 27. Схема патогенеза и клинического проявления бруцеллёзной инфекции [по В.И. Покровскому и др., 2003]

При массивном накоплении возбудителя в условиях формирования индуцированного бруцеллами незавершенного фагоцитоза лимфатические узлы становятся резервуарами (очагами) бактерий, откуда патоген может поступать в кровь и распространяться по всему организму, инициируя формирование второй фазы - гематогенного заноса (первичная генерализация). Во вторую фазу развиваются бактериемия и эндотоксинемия, появляется клиническая симптоматика острого бруцеллёза - проявляется лихорадкой, ознобами, обильными потами, микрополиаденитом и другими симптомами.

С током крови бактерии разносятся по органам, богатым ретикуло-эндотелием, и фиксируются в них (фаза полиочаговых локализаций). Далее происходит активация мононуклеарно-макрофагальной системы, в органах и тканях развиваются диффузные, иммуно-воспалительные изменения, формируются очаговые скопления макрофагов с внутриклеточно-паразитирующими в них бруцеллами. Это защитно-приспособительные процессы, направленные на уменьшение интенсивности бактериемии, локализацию и фиксацию бактерий фагоцитами.

Незавершенный фагоцитоз бактерий микро- и макрофагами провоцирует явление эндоцитобиоза и активное размножение бруцелл в цитоплазме фагоцитов. Большинство фагоцитов гибнет, и бактерии, высвобождаясь, гемато- и лимфогенно разносятся по организму (селезенка, печень, костный мозг, лимфатические узлы и др.). С началом генерализации патологического процесса и формирования метастатических вторичных полиорганных очагов инфекции в виде специфических гранулём происходит иммуноаллергическая перестройка организма. Возможность длительной персистенции возбудителя внутри макрофагов объясняется незавершённостью фагоцитоза, ингибированием апоптоза фагоцитов и медленным развитием реакций иммунного ответа.

Фаза резидуального метаморфоза соответствует исходам бруцеллёза, завершающегося либо полной резорбцией (рассасывание, деградация) воспалительных образований, либо формированием стойких необратимых органических (рубцовых) изменений в пораженных тканях [3, 10, 12, 13, 14, 16, 17, 26, 28, 32, 121].

Воспалительные реакции при бруцеллёзе слабоманифестны, имеют, преимущественно, пролиферативный характер и тесно ассоциированы с реакциями иммунитета. Однако воспаление достаточно продолжительное, что обусловлено длительной персистенцией бруцелл в инфицированных тканях, что в конечном итоге приводит к повреждению (пролиферация-альтерация). Бруцеллы могут реплицироваться в эндотелиальных клетках человека, вызывая эндоартериит и васкулиты. Длительно протекающая инфекция при бруцеллёзе часто способствует нарушению гемостаза, гемодинамики, развитию альтеративного и продуктивного васкулита (артериит, флебит). Пораженный бруцеллами эндотелий активно секретирует хемокины, цитокины, интерлейкин-6 и молекулы адгезии, которые оказывают системный повреждающий эффект, вызывая альтерацию тканей вследствие аутоиммунной реакции (повреждение суставов при ревматоидном артрите, костной ткани).

Имеются экспериментально доказанные сведения об активной инвазии бруцелл в эритроциты на ранних сроках после инфицирования [127].

Известно, что в отличие от многих патогенов бруцеллы не проявляют «прямой» агрессии в отношении клеток хозяина - не синтезируют экзотоксины, экзопроteaseы, цитолизины или другие агрессивные экзoferменты и субстанции [105]. Большинство факторов, определяющих патогенность бруцелл, по-видимому, локализуются на бактериальной поверхности [106]. У бруцелл выделено более 250 белковых детерминантов патогенности, опосредующих моноцитарно-макрофагальную кооперацию, интрацеллюлярную персистенцию (выживаемость) и размножение. Из факторов патогенности главная роль в патогенезе отводится следующим (таблица 10) [11, 58, 65, 72, 85, 86, 96, 125, 129].

Таблица 10. Основные факторы патогенности бруцелл

Фактор патогенности	Функция	Результат действия
Система секреции IV типа (T4SS)	Главный фактор патогенности. Обеспечивает направленный внутриклеточный трафик к репликативной нише	Выживание и персистенция микробных клеток внутри фагоцитов
Сенсорно-регуляторная система адаптации (BvrS/BvrR)	Контроль метаболизма бруцелл при внутриклеточной локализации	Адаптация и персистенция микробных клеток внутри фагоцитов
Периплазматический β-циклический глюкан	Образование <i>Brucella</i> -содержащих вакуолей (BCV)	Персистенция микробных клеток внутри фагоцитов
Периплазматические белки EipA, EipB	Обеспечение целостности клеточной оболочки бруцелл и регуляция клеточного деления	Выживание и размножение микробных клеток внутри фагоцитов
Белок А пролина-рацемазы (PrpA)	Иммуномодулятор. Поликлональный В-клеточный митоген. Индуктор секреции IL-10 – противовоспалительного цитокина.	Цитокин-индуцированная Т-клеточная анергия. Подавление естественного и приобретенного иммунного ответа хозяина
Btp1/TcpB,	Блокировка (экранирование) паттерн-распознающих рецепторов (PAMP) – TLR2, TLR4 фагоцитов и ингибирование интенсивности иммуно-воспалительных реакций. Ингибирование цитотоксичности лимфоцитов (CTL)	Незаметное проникновение в организм хозяина («stealthy» стратегия). Уклонение от адаптивного иммунитета
Модифицированный флагеллин	Слабый индуктор TLR5 фагоцитов	Незаметное проникновение в организм хозяина («stealthy» стратегия)
Липополисахарид (LPS)	Слабый индуктор провоспалительных цитокинов. Ингибирование слияния фагосомы с лизосомами. Защита от системы комплемента. Индуктор секреции IL-10. Ингибирование антигенпрезентации (MHC II). Интерференция рецепторного комплекса TLR4-MD-2 (подавление созревания дендритных клеток) Пироген (слабый пироген) Аллерген	Слабый иммунный ответ на LPS. Незавершенный фагоцитоз. Устойчивость к бактерицидным свойствам крови. Т-клеточная анергия. Снижение эффективности естественного и адаптивного иммунитета. Ингибирование естественного иммунитета, уклонение от адаптивного иммунитета Лихорадка. Формирование специфической сенсibilизации

Фактор патогенности	Функция	Результат действия
Cu-Zn-SOD (супероксиддисмутаза)	Адаптация бруцелл к окислительному стрессу при эндоцитобиозе	Адаптация и персистенция микробных клеток внутри фагоцитов
Каталаза	Адаптация бруцелл к окислительному стрессу при эндоцитобиозе	Адаптация и персистенция микробных клеток внутри фагоцитов
Уреаза	Защита в кислой среде	Выживание бактерий при их локализации в желудке (желудочном соке)
Алkil гипероксид редуктаза	Защита от воздействия активных форм кислорода при проникновении в фагоцит	Выживание и персистенция микробных клеток внутри фагоцитов
Оксидредуктаза азота	Адаптация к агрессивной среде внутри клетки	Размножение в условиях низкого содержания кислорода
Аденин и гуанин монофосфаты	Угнетение функции фагоцитов	Подавление естественного иммунитета
Omp 19	Ингибирование презентации антигена CD4 ⁺ T-лимфоцитам Индукция апоптоза T-клеток	Подавление формирования адаптивного иммунитета. Уклонение от адаптивного иммунитета
Omp 25	Подавление синтеза TNF α макрофагами и дендритными клетками	Снижение интенсивности иммуно-воспалительных реакций («stealthy» стратегия)

Анализ работ по проблеме патогенеза бруцеллёзной инфекции позволяет условно выделить иммунопатологическую концепцию для понимания развития болезни (угнетение факторов естественной резистентности и специфического иммунитета организма, приводящее к созданию условий для длительной персистенции бруцелл в макроорганизме; формирование сенсibilизации и развитие бактериальной аллергии - гиперчувствительности немедленного и замедленного типов).

Имунопатологическая концепция патогенеза бруцеллёза

Патогенные микроорганизмы владеют механизмами, которые позволяют им преодолевать защитные факторы естественного иммунитета. В большинстве случаев проникновение патогенов обнаруживается системой врожденного иммунитета, которая одновременно действует как «первая ступень» для формирования специфического адаптивного иммунного ответа. Факторы естественного иммунитета способны детектировать даже самые ничтожно малые количества микробных компонентов - патоген-связанные молекулярные структуры (PAMPs,

Pathogen Associated Molecular Patterns). Вместе с тем врожденный иммунитет опосредует формирование в организме иммунного воспаления как результат реакции на «продукты» повреждения собственных тканей при инфекции [88].

Взаимодействие патогена с клетками иммунной системы макроорганизма происходит в несколько этапов (адгезия, поглощение, бактерицидное воздействие фагоцита на микроорганизм), каждый из которых обусловлен проявлением факторов патогенности бруцелл. На начальных этапах после инфицирования бруцеллы используют стратегию, которая сводится к недопущению активации факторов врожденного иммунитета. Подобную скрытую тактику бруцеллы реализуют благодаря модификации и снижению активности PAMPs, которые обеспечивают «скрытую», незаметную для хозяина колонизацию клеток моноцитарно-макрофагальной системы. Для проникновения в клетку и эндоцитоза бруцеллы используют различные механизмы. Посредством T4SS обеспечивается взаимодействие микробных клеток с макрофагами, интрацеллюлярный транспорт веществ, синтез и метаболизм эритроцита. Помимо T4SS в реализации механизмов вирулентности бруцелл внутри клеток хозяина принимают участие несколько основных факторов: циклический глюкан, LPS и белок LuxR (регулятор VjbR) - положительный регулятор транскрипции lux-оперона, контролирует экспрессию факторов вирулентности на ранних стадиях внутриклеточной инфекции [92].

Система IV типа секреции грамотрицательных бактерий используется для различных биологических функций, включая обмен генетическим материалом с другими бактериями и транслокации ДНК онкогенных и эффекторных белков в эукариотических клетках-хозяевах. Система содержит высокомолекулярный комплекс, который охватывает внутреннюю и внешнюю мембрану бактерий, а также может охватывать мембрану эукариотических клеток-хозяев. Данная система включает 12 структурных генов *virB1-virB12*, которые кодируют белковые компоненты T4SS и формируют функциональный оперон, консервативно присутствующий у всех видов бруцелл (рисунок 28) [64, 90, 101, 104].

В настоящее время изучение роли различных эффекторных белков T4SS является одним из приоритетных направлений [27, 73].

Способность внутриклеточных паразитов избегать бактерицидного действия фагоцитов является основой их патогенных свойств, которые представляют серьезную проблему для медицины и ветеринарии.

Паразитарная система бруцелллёза основывается на многогранных механизмах взаимодействия и противостояния микроба-паразита и макроорганизма-хозяина [16, 19].

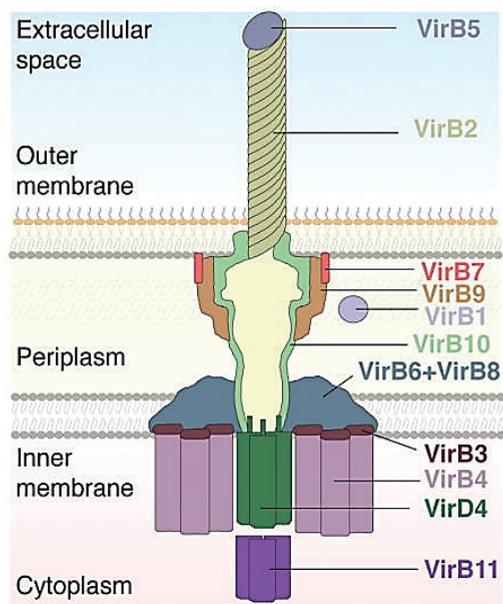


Рисунок 28. Схема строения системы IV типа секреции грамотрицательных бактерий (*virB* - структурные гены, *extracellular space* - внеклеточное пространство, *Outer membrane* - наружная мембрана, *periplasm* - периплазма, *Inner membrane* - внутренняя мембрана, *cytoplasm* - цитоплазма) [по E. Grohmann et al., 2017]

Внутриклеточное существование бактерий родов *Salmonella*, *Brucella*, *Coxiella* связано с эффекторными белками секреторных систем. *Salmonella* использует секреторную систему третьего типа (T3SS) как для проникновения в клетку-хозяина, так и создания внутриклеточной репликативной ниши. У бруцелл и коксиелл в создании репликативной ниши ведущую роль выполняют эффекторные белки четвертого типа секреторной системы (T4SS). Эффекторные белки T3SS и T4SS участвуют в модуляции врожденного иммунного ответа, что способствует внутриклеточному паразитизму и развитию хронической инфекции [6,7, 64, 76, 77, 113].

Бруцеллы проникают в макрофаги через липидный бислой, избегают его бактерицидных атак, фагосомо-лизосомального слияния, адаптируются к внутриклеточной среде за счет экспрессии набора вирулентных генов, ингибируют апоптоз для персистенции в организме хозяина [93].

Имеются различия во взаимодействии S- и R-форм бруцелл с клетками моноцитарно-макрофагальной системы. Бруцеллы в S-форме кооперируются с фагоцитами посредством так называемых липидных рафт (RAFT) - особые участки (микродомены) плазматической мембраны, обогащенные гликофинголипидами и холестерином. Наличие O-антигена ЛПС у S-бруцелл способствует их быстрому внедрению в фагоци-

ты. В латентный период инфекции у S-бруцелл активно экспрессируются гены, кодирующие синтез O-фрагмента цепи ЛПС (wboA, manB), обеспечивающие создание внутриклеточного репликативного компартамента для бруцелл в S-форме в латентном периоде [112].

ЛПС R-форм бруцелл лишён O-специфических боковых цепей, патоген прикрепляется к плазматической мембране фагоцита с помощью белка наружной мембраны OMP25, детектируется TLR-рецепторами и поглощается фагоцитами. Считается, что R-формы бруцелл имеют более выраженные адгезивные и инвазивные свойства.

Внутри фагоцитов бруцеллы находятся в специальной вакуоли (бруцеллосодержащая вакуоль, BCV). Микросреда внутри BCV имеет ограниченное количество питательных веществ, к которой приспособляются бруцеллы вскоре после вторжения [94].

Внутри вакуоли у бруцелл существенно замедляется метаболизм, снижается экспрессия генов, синтез регуляторных белков. Наивысшая активность T4SS происходит на фоне закисления фагосомы (фагобруцелласомы) при фагоцитозе бруцелл [66].

Доказана ведущая роль T4SS в активации особых белковых комплексов (инфламмасом) микро- и макрофагов, которая приводит к запуску воспалительной реакции при контакте клеток с микроорганизмами. T4SS обеспечивает селективную транслокацию белков и ДНК-белковых комплексов, способствует достижению S-формами бруцелл репликативных фагосом, у R-бруцелл внутри фагоцита система секреции обеспечивает реализацию механизмов цитотоксичности [54, 56, 58, 66, 83, 100, 110, 131].

Наиболее яркой особенностью иммунопатогенеза бруцеллёза является многообразие способов защиты возбудителя от иммунной системы хозяина, что лежит в основе персистенции возбудителя и возможности развития хронических форм заболевания.

Согласно научным данным, описаны и изучены следующие эффекторные белки IV-типа секреторной системы - VseA, VseB, VseC, функция которых - участие в молекулярных механизмах взаимодействия со структурами эндоплазматического ретикулума и ингибирование сигнальных путей системы врожденного иммунитета хозяина для обеспечения внутриклеточной адаптации и персистенции бруцелл [27, 74, 108].

Описаны также BspA, BspB и BspF - эффекторные белки T4SS, которые ингибируют секрецию белка хозяина, способствуя персистенции бруцелл [108].

Barquero-Calvo et al. (2007) [57] и Tekaya et al. (2013) [60] изучили и описали эффекторные белки T4SS BtpA (Btp1/TcpB) и BtpB, которые секретируются при проникновении бруцелл в клетки-хозяина. Данные

наружной мембраны Omp 3a (Omp25) и Omp 3b (Omp22) [77, 50, 97, 99, 101, 102].

На схеме (рисунок 29) показана координация двухкомпонентной системы BvrR/BvrS при проникновении *B. abortus* в фагоцит. После проникновения *B. abortus* в клетку компонент BvrS детектирует сигналы внутриклеточной среды (низкие значения pH, нехватка питательных веществ), которые запускают его аутофосфорилирование (1). Затем фосфатная группа переносится к компоненту BvrR, который, в свою очередь, будет связывать его регулируемые промоторы (2). Индуцируется транскрипция vjbR, VjbR, которые взаимодействуют с BvrR, иницируя экспрессию оперона *virB* (3). Реакция системы BvrR/BvrS позволяет *B. abortus* модифицировать свой внутриклеточный трафик, чтобы достичь эндоплазматической сети (ER) - репликативной ниши.

Штаммы *B. abortus* с измененными свойствами клеточной мембраны (bvrRS-мутанты) менее устойчивы к кислой среде фагосом и неспособны локализоваться в репликативной нише [119].

Мутация в генах BvrR/BvrS препятствует проникновению *B. abortus* в нефагоцитирующие клетки и ингибирует внутриклеточное взаимодействие. Дисфункция данной системы изменяет проницаемость внешней мембраны, экспрессию белков наружной мембраны 3-й группы (Omp 3a; Omp 3b) и структуру липида A. [97, 116].

Таким образом, система гомеостаза внешней мембраны бруцелл BvrR/BvrS участвует в инвазии клеток (это связано с ролью белков Omp 3 при взаимодействии с рецепторами на поверхности клеток) и внутриклеточной выживаемости.

Вирулентность бруцелл зависит от координированного взаимодействия многих генов, кодирующих белковые продукты, обеспечивающие репликацию бруцелл и их стратегию, направленную на обман иммунного ответа хозяина.

Наиболее важная в антигенном и функциональном отношении структура у всех грамотрицательных бактерий, в том числе и бруцелл - липополисахарид (LPS) [61, 101, 114, 124]. Помимо низкой активности S-LPS и его защитных факторов, бруцеллы синтезируют иммунорегуляторные белки, подавляющие/моделирующие активность факторов врожденного иммунитета. Показано, что белки домена TIR *Brucella* (TcrB/VtpA) проявляют гомологию с TLR, способствуя снижению активности созревания дендритных клеток, активному синтезу IL-10. Белковые молекулы подавляют сигнальные пути, опосредованные TLR2/4 и TLR5. Для бруцелл также характерна продукция модифицированного флагеллина, который является слабым индуктором TLR5 врожденной иммунной системы [49, 66, 71, 83, 84, 103, 129].

В научной литературе также освещена роль острофазового показателя воспалительного процесса - LPS-белка, который играет центральную роль в ответ на попадание липополисахарида грамотрицательных бактерий путем прочного их связывания. LPS-белок катализирует перенос LPS грамотрицательных бактерий на CD14-рецептор - белок, экспрессированный на поверхности макрофагов и распознающий LPS. В результате чего происходит запуск каскада реакций, приводящих в конечном итоге к активации основных клеточных функций, связанных с развитием фагоцитоза и синтезом провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-18 [47, 55, 82, 124].

Повреждение тканей при бруцеллёзе - это результат реализации иммуноопосредованных механизмов, действующих через иммунный ответ хозяина после распознавания консервативных антигенных структур бруцелл TLR рецепторами, их презентацией эффекторным клеткам, последующей активацией клеточного иммунного ответа, продукцией цитокинов, хемокинов и антимикробных пептидов. Доказано, что TLR2, TLR4, TLR9 участвуют в распознавании бруцелл микро- и макрофагами [111].

В геномах различных видов бруцелл различают несколько генов, кодирующих белки наружной мембраны (OMP), часть из которых представлена липопротеинами (OMP10, OMP16, OMP19). Липопротеины определены как основные антигены бруцелл, индуцирующие макрофаги к синтезу цитокинов. Установлено, что липопротеины бруцелл стимулируют систему врожденного иммунитета через распознавание TLR2 и могут индуцировать цитокин-опосредованное воспаление при бруцеллёзе [53].

Индукцированный эффект на белок наружной мембраны бруцелл (Omp 25) приводит к выработке ФНО-альфа, который способствует бактериальному уклонению от антимикробной защиты на разных уровнях. Во-первых, путем предотвращения аутокринной активации макрофагов, и тем самым ингибируя врожденный иммунитет, и, во-вторых, путем нарушения выработки ИЛ-12 и развития специфического иммунитета Th1-типа [79].

Herrou (2018) et al. [87] описали растворимый периплазматический белок EipA наружной мембраны, который является молекулярным детерминантом вирулентности бруцелл. EipA обеспечивает целостность клеточной оболочки бруцелл и влияет на клеточное деление.

По данным Mariana (2010) [101], изучен механизм, используемый бруцеллой во избежание слияния бактериосодержащей вакуоли с лизосомами, который обеспечивается циклическим β-1,2-глюканами. Циклический β-1,2-глюкан - фактор вирулентности бруцелл, который является частью внешней мембраны, способствующий внутриклеточной выживаемости [51, 59, 114].

Для элиминации бруцелл из организма хозяина необходимо формирование адаптивного клеточного иммунитета, опосредованного Т-хелперами 1 типа (Th1). Образование пула CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, специфичных к бруцеллам, в первую очередь, требует распознавания патогена системой врожденного иммунитета и дальнейшей эффективной презентации антигенов эффекторным клеткам. Доказано, что несостоятельность врожденных иммунных механизмов в борьбе с бруцеллами приводит к дефектным Th1-иммунным реакциям и Т-клеточной анергии, что является одной из основных причин хронизации инфекции [80, 81].

Анализ проведенных исследований по изучению иммунного статуса у людей, больных острым и хроническим бруцеллёзом, показал, что острый бруцеллёз сопровождается увеличением в крови количества Т-хелперов и Т-цитотоксических лимфоцитов и существенным снижением фагоцитарной активности нейтрофилов. При хронической форме заболевания, наряду со снижением уровня Т-хелперов и Т-цитотоксических лимфоцитов, выражена активация гуморального звена иммунитета, сопровождающаяся повышением содержания В-лимфоцитов и уровня иммуноглобулинов А и G. Выявленные изменения свидетельствуют о формировании вторичной иммуносупрессии как при острой (ослабление фагоцитоза), так и при хронической (снижение количества субпопуляций Т-лимфоцитов) форме заболевания [78].

Наиболее эффективные механизмы цитотоксичности в отношении бруцелл связаны с активностью Т-клеток CD4⁺ - продуцентами IFN γ и фагоцитами (преимущественно дендритными клетками), синтезирующими индуцибельную синтазу оксида азота (iNOS/NOS2). Эффекторная активация клеток опосредуется через TLR4 и TLR9 в компартменте с цитозольным адаптерным белком - MyD88 [67, 68, 70, 93, 107, 126, 130, 132].

Имеются данные о формировании у больных хроническим бруцеллёзом дисбаланса Th1/Th2 иммунных реакций в сторону увеличения цитокин-продуцирующей активности Th2⁺-клеток, обеспечивающих, в большей степени, гуморально-опосредованный иммунитет. Повышение количества и активности Th2-клеток способствует ингибированию клеточно-опосредованного иммунитета (Th1), что также может обеспечивать хронизацию бруцеллёза [69, 106, 133].

По данным Bahador et al. (2014), у больных бруцеллёзом отмечается повышение в периферической крови количества CD4⁺ Т-регуляторных клеток (Treg). При этом у больных хронической формой инфекции изменения были более выражены [52].

Treg подавляют пролиферацию и реактивность других субпопуляций Т-лимфоцитов, что способствует ограничению активации CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток. Важной функцией естественных Treg также является

контроль толерантности к собственным антигенам через подавление аутореактивных Т-лимфоцитов, избежавших селекции [21, 122].

На начальных этапах развития иммуно-воспалительной реакции при бруцеллёзе у заболевших резко увеличивается количество циркулирующих Т-лимфоцитов определенного типа - V γ 9V δ 2 (Т- γ 9 δ 2). Подобное явление характерно для большинства внутриклеточных инфекций. Исследования показали, что Т γ 9 δ 2 - клетки с биологическими функциями, способными ингибировать внутриклеточную репликацию и выполнять специфическую роль в контроле инвазии патогена. Данный пул Т-лимфоцитов реализует механизмы цитотоксичности - синтез перфоринов, гранзимов и гранулизинов и способен вызывать разрушение/лизис и индуцированный апоптоз инфицированных фагоцитов [62, 75, 91, 128].

Бруцеллы способны противодействовать килинговым механизмам Т γ 9 δ 2. При экспериментальном моделировании (*in vitro*) инфицирования макрофагов дикими штаммами *B. suis* было показано, что патоген способствовал снижению активности Т γ 9 δ 2, которое, вероятно, связано с ослаблением распознавания инфицированных макрофагов Т-лимфоцитами и устойчивостью их к цитотоксическому действию [95].

Значительную роль в формировании иммунного ответа играют цитокины. Показано, что IFN γ , синтезируемый Th1, - наиболее активный (индукторный) цитокин при формировании иммунитета. При индуцированном бруцеллами иммунном ответе Т-лимфоцитами продуцируются провоспалительные цитокины - TNF α и IL-12, последний оказывает индуцирующее действие на синтез IFN γ , который, в свою очередь, потенцирует выработку IL-12 макрофагами.

Кооперация TLR с компонентами микробной клетки бруцелл, липидом А и особой формой CpG-ДНК инициирует продукцию противовоспалительного цитокина - IL-10, который способствует подавлению синтеза провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-1), интерферонов, фактора некроза опухоли и снижению активности макрофагов. Важной особенностью IL-10 в иммуногенезе бруцеллёза является его способность стимулировать синтез IgE, участвовать в формировании реакин-опосредованной специфической сенсибилизации организма в начальный период заболевания [73].

Генерация провоспалительных цитокинов играет основополагающую роль для сохранения *Brucella* spp. в тканях хозяина. Типичный тканевый ответ на бруцеллезную инфекцию - это гранулематозное воспаление. Важное значение в развитии гранулёмы при бруцеллезной инфекции имеет белок флагеллин [27].

Гистологические исследования тканей указывают на формирование преимущественно эпителиоидно-клеточных гранулем в печени, селезенке, костном мозге и других тканях. Гранулёматозное воспаление

рассматривается как защитная реакция макроорганизма, т.е. попытка хозяина «отгородиться» от бактерий и локализовать патоген ввиду несостоятельности фагоцитарных механизмов в отношении бруцелл [73].

По аналогии с туберкулёзной гранулёмой в лимфоцитарно-макрофагальных ассоциатах узелка активно синтезируются IFN γ , IL-12/23p40 и TNF α , что обеспечивает поддержание функции гранулёмы [98, 120].

Определена роль ЕК-клеток (естественных киллеров, НК) в формировании антигенспецифического иммунного ответа. Гуморальный иммунный ответ при бруцеллёзе характеризуется образованием преимущественно антител подкласса IgG2c с поликлональной специфичностью. Исследователями было установлено, что интенсивность антителогенеза при введении убитых нагреванием клеток *B. abortus* (НКВА) в большей степени зависела от уровня и функциональной активности в организме ЕК-клеток и лишь частично - от концентрации IFN γ или IL-12. В экспериментах по селективному удалению ЕК установлено не менее чем двукратное снижение интенсивности выработки антител. Оценка интенсивности экспрессии маркеров активации (CD69) на В- и НК-клетках показали, что инъекция НКВА приводит к активации большого количества спленоцитов, однако наиболее раннюю индукцию детектировали на естественных киллерах [78, 109].

Важную роль в функционировании противoinфекционного клеточно-опосредованного иммунитета играют инвариантные НКТ-клетки (iNKТ, фенотип CD3⁺CD16⁺CD56⁺) - подгруппа Т-лимфоцитов (подварианты с экспрессией корцептора CD4⁺ и CD8⁺) детектирующих гликолипиды, представленные CD1d. Показана способность CD4⁺ iNKТ-клеток ингибировать внутримакрофагальный рост бруцелл. Реализация механизмов цитотоксичности в отношении инфицированных макрофагов опосредована сочетанием растворимых, контактно-зависимых механизмов (синтез IFN γ) и цитотоксической активностью (индукция пути Fas, высвобождение литических гранул) Нарушение роста бруцелл клетками CD4⁺ iNKТ требует взаимодействия с CD1d на поверхности макрофагов [63, 117, 118].

Анализ результатов исследований по сравнительному изучению количества НКТ-лимфоцитов у больных острым и хроническим бруцеллёзом показал, что у обследуемых с острой инфекцией наблюдается статистически значимое (двукратное) увеличение количества НКТ-клеток до $10,13 \pm 1,07$ % в периферической крови. При хроническом бруцеллёзе содержание клеток, экспрессирующих CD3⁺CD16⁺CD56⁺ рецепторы, практически не отличалось от данных относительно здоровых обследуемых. Факт значительного увеличения уровня НКТ-клеток свидетельствует об их участии в иммунологических и патологических процессах при острой бруцеллёзной инфекции. Можно предположить, что при

остром бруцеллёзе повышение количества НКТ-клеток наблюдается как компенсаторный (потенцирующий) механизм при недостаточном иммунном ответе со стороны НК-клеток и снижении числа Т-лимфоцитов в случае невозможности элиминации бруцелл иммунокомпетентными клетками [41].

Решающее значение для процесса сенсибилизации организма имеет состояние реактивности в период инфицирования и начала заболевания, соответственно аллергические перестройки начинают формироваться еще в инкубационный период и проявляются в конце первого месяца от начала заболевания. Степень интенсивности аллергической перестройки организма оказывает влияние на особенности клинического течения заболевания. Это проявляется в виде общих и местных реакций [25, 45].

Основу аллергических реакций составляют иммунологические процессы, направленные на защиту организма от воздействий факторов внешней среды. По сути, сенсибилизация и иммунизация - понятия во многом тождественные и заключаются в формировании в организме «иммунологической реактивности» к чужеродному агенту, как и воспаление, имеют защитную природу. Реакции гиперчувствительности часто сопровождаются выраженной альтерацией тканей, вплоть до некроза.

Здродовский (1969) [23, 24] указывал, что «... под аллергией мы подразумеваем специфическое изменение реактивности организма к данному веществу или возбудителю, возникающее в нём в условиях гомологической сенсибилизации и выражающееся в повышенной местной или общей чувствительности его к повторному воздействию того же вещества или возбудителя (или аллергена).

Возникновение и развитие инфекционного бруцеллёзного процесса, формирование его патогенетических фаз сопровождаются сочетанными и взаимосвязанными иммунологическими нарушениями, характер и степень выраженности которых тесно связаны с клинической формой и тяжестью течения этой инфекции [4, 5, 20, 35, 48].

В острой стадии бруцеллёза наряду с воспалительными инфекционно-токсическими процессами начинают проявляться иммуннопатологические инфекционно-аллергические реакции. Аллергическая перестройка организма в этот период является, по-видимому, обязательным условием острого течения болезни. По мере нарастания сенсибилизации болезнь переходит в подострую и хроническую стадии [36].

Ряд исследователей считают, что патофизиологическая и клиническая картина бруцеллёза обусловлена в основном двумя факторами: силой сенсибилизации и количеством антигенов в организме [36]. Большое значение имеет цикличность процессов, связанная с повторным проникновением бруцелл в кровь из очагов с развитием местной

воспалительной и общей реакцией, на формирование которых существенное влияние оказывает специфическая сенсибилизация. Низкая степень сенсибилизации при наличии в организме большого количества антигена может дать резко выраженную картину болезни. Проявления специфической сенсибилизации организма при хронических формах бруцеллёза носят характер реакций гиперчувствительности замедленного типа. Эти реакции имеют превалирующую роль при проявлении клеточной гиперчувствительности в формировании бруцеллёзных симптомокомплексов [2, 8, 9, 30, 31, 35, 45, 46].

Проблема изучения механизмов бактериальной аллергии является чрезвычайно многогранной. Бактериальная аллергия, обусловленная повышенной чувствительностью к инфекционным агентам, развивается обычно при наличии в организме очагов хронической инфекции, формируется длительно, в течение нескольких лет. Под воздействием аллергенов бактерий формируются инфекционно-аллергические заболевания с выраженной специфической сенсибилизацией (туберкулёз, бруцеллёз, хламидиоз и др.) [1, 34].

Особенности жизненного цикла бруцелл и иммунопатологический характер инфекции позволяют констатировать важнейшую составляющую иммуносупрессии в патогенезе этого заболевания. Имеющиеся сведения о взаимосвязи изменений количественных и функциональных показателей иммунитета с инфекционной аллергией имеют фрагментарный, а иногда и противоречивый характер [9, 14, 16, 22, 26, 28, 32, 33, 44, 89, 121, 123], что, вероятно, связано с отсутствием адресных исследований по изучению гиперчувствительности при бруцеллёзе, позволяющих оценить клинико-лабораторные параллели и связи выявленных нарушений иммунного статуса и специфической гиперреактивности.

Многими авторами доказано, что аллергическое состояние организма по времени значительно превосходит уровень угасания инфекции и соответствует периоду сохранения иммунологической перестройки. Генерализация процесса, длительное пребывание возбудителя (аллергена) в организме, эндогенные и экзогенные рецидивы обуславливают глубокую сенсибилизацию и проявление аллергии, влияющей на картину патофизиологических изменений. Рецидив инфекции сопровождается не только усилением патоморфологических процессов в органах, но и функциональными нарушениями в них [9, 18, 35, 45].

По данным Rafiei et al. [38], у больных хроническим бруцеллёзом, по сравнению с больными с острой формой, наблюдается выраженное снижение количества Т-лимфоцитов, секретирующих IFN γ , и увеличение числа Т-клеток, продуцирующих IL-13. Интерлейкин-13 относят к медиаторам аллергического воспаления, центральному регулятору синтеза IgE [37].

Известно, что у больных бруцеллёзом формируются реакции гиперчувствительности немедленного - IgE-зависимого и замедленного - лимфоцит-опосредованного типов. С использованием предложенных нами методических подходов для оценки степени сенсibilизации было показано, что степень интенсивности IgE-обусловленной алергизации у больных острым бруцеллёзом имеет прямую связь с формированием иммуносупрессивного состояния. Анализируя результаты иммунологического обследования больных с высокой степенью IgE-зависимой специфической сенсibilизации, было установлено снижение относительного содержания общего количества Т-лимфоцитов (CD3⁺) - $51,0 \pm 1,15$ %, субпопуляций CD3⁺CD4⁺ - $25,8 \pm 1,7$ %, ($p \leq 0,001$), ИРИ - $0,65 \pm 0,86$ у.е. Также у больных бруцеллёзом с высокой степенью сенсibilизации отмечали снижение фагоцитарной активности - $50,5 \pm 2,3$ % ($p \leq 0,001$). Уровень клеток с фенотипом CD16⁺56⁺ - $5,8 \pm 0,37$ % был достоверно снижен ($p \leq 0,001$) [96]. Также было установлено, что повышение уровня лимфоцит-опосредованной специфической сенсibilизации при остром бруцеллёзе обратно коррелирует с выраженностью патофизиологических изменений в иммунном статусе. У обследуемых с низкой степенью клеточно-опосредованной сенсibilизации установлено уменьшение до нижних границ референтных пределов общего количества Т- лимфоцитов - $60,87 \pm 1,25$ % ($p \leq 0,05$), Т-хелперов - $30,1 \pm 2,38$ % ($p \leq 0,001$), CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов - $19,18 \pm 2,2$ ($p \leq 0,05$) и концентрации общего иммуноглобулина G - $7,24 \pm 0,92$ ($p \leq 0,05$) мг/мл [29, 39,40, 42, 43, 115].

Заключение

Результаты исследований последних лет позволили достичь существенного прогресса в понимании молекулярно-клеточных механизмов иммунопатогенеза бруцеллёзной инфекции, лежащих в основе взаимодействия бруцелл с факторами естественного и адаптивного иммунитета. Патогенетической основой практически закономерной трансформации острой стадии инфекции в хроническую является индуцированная патогеном несостоятельность врождённого и адаптивного иммунитета в отношении бруцелл с созданием условий для незавершенного фагоцитоза и долгосрочного внутриклеточного паразитирования.

Биологический цикл бруцелл в организме хозяина в условиях воздействия на микроорганизм факторов индуцированного патогеном иммунного ответа (в естественных для патогена условиях) характеризуется длительностью течения. Продолжительный инкубационный период обусловлен ингибированием активности паттернраспознающих рецепторов (PRR) врожденного иммунитета, что отражается, в первую очередь, на фагоцитарных факторах, способствуя формированию «иммунологиче-

ского окна». После проникновения в организм хозяина бруцеллы защищают себя от факторов врождённого иммунитета - распознавания TLR и агрессивного действия системы комплемента. Ослабление способности иммунокомпетентных клеток хозяина обнаруживать антигенные детерминанты бруцелл через рецепторы TLR 2, TLR 4 и TLR 5 обусловлено высокой гидрофобностью клеточной оболочки бруцелл и особенностями строения липополисахарида, что оказывает влияние на снижение интенсивности воспалительной реакции организма и, в конечном счете, провоцирует ослабление цитотоксической активности CD8⁺ Т-лимфоцитов, снижает потенциал естественного (слабая презентация фагоцитами и дендритными клетками экзогенных белков) и адаптивного иммунитета против бруцелл и приводит к хронизации инфекции.

Макрофаги и дендритные клетки считаются ключевыми элементами врожденного иммунного ответа против внутриклеточных бактерий, таких как бруцелла. В течение первых нескольких часов после проникновения большинство патогенов (80-90%) погибают в макрофагах и дендритных клетках, однако часть из них выживают и достигают репликативной ниши. Для проникновения в моноциты и профессиональные макрофаги бруцеллы используют липидные рафты, для инвазии дендритных клеток - PI3-киназу и TLR4 рецепторы. На начальных стадиях после инфицирования организма хозяина стратегия дальнейшего действия бруцелл сводится к незаметной колонизации клеток-мишеней без манифестации иммуно-воспалительной реакции. Типичный антибактериальный иммунный ответ - приток макрофагов к очагу инфекции - не формируется. T4SS бруцелл инициирует активацию интерферон-регулируемых генов, генерируемый иммунный ответ не достаточен, чтобы элиминировать патоген.

Анализ представленных в разделе результатов исследований показал, что бруцеллы обладают способностью контролировать внутриклеточный трафик *Brucella*-содержащих вакуолей, чтобы избежать лизиса. Слияние BCV с мембранными элементами, такими как эндоплазматический ретикулум, в итоге обеспечивает формирование безопасной для бруцелл репликативной ниши. Взаимодействие BCV с эндосомами/лизосомами вызывает активацию (транскрипцию) различных факторов *Brucella* (в частности *vir B*), что приводит к ингибированию присоединения протеолитического фермента и катепсина D. Система секреции IV типа бруцелл, кодируемая опероном *virB*, поддерживает созревание BCV и, в конечном итоге, контролирует внутриклеточную и скрытую персистенцию патогена. Помимо T4SS внутриклеточную персистенцию бруцелл обеспечивают следующие компоненты: двухкомпонентная регуляторная система BvrS/BvrR, циклический глюкан, LuxR-подобный регулятор транскрипции VjbR, липополисахарид *Brucella*, транспортёроподобные белки VasA, CD98hc и фосфатидилхолин, необходимые

для внутриклеточного выживания и пролиферации в клетках-хозяевах.

Условно можно выделить четыре этапа в процессе, посредством которого внутриклеточная бактерия вызывает длительную инфекцию (хронизацию):

- первый этап - инвазия в организм хозяина, характеризующаяся периодами локализации и адаптации к условиям среды обитания;
- на втором этапе бруцеллы создают нишу для выживания и размножения внутри клеток-хозяев (эпителиальных или способных к фагоцитозу клетках);
- третий этап характеризуется противостоянием механизмам видовой резистентности;
- четвертый этап - преодоление бруцеллами адаптивного иммунитета.

Большинство факторов вирулентности бруцелл, выявленных путем систематического скрининга, участвуют в устойчивости к первым двум этапам (вторжение в клетки-мишени, адаптация и интрацеллюлярное размножение). Важным механизмом патогенных штаммов бруцелл, обеспечивающим длительную внутриклеточную локализацию бруцелл, является ингибирование апоптоза, что способствует сохранению «комфортной» среды для размножения и защиты от иммунной элиминации.

В случае адаптации бруцелл к среде внутри макрофагов патоген расширяет локализацию, мигрируя в ткани опорно-двигательного, мочеполового аппаратов, сердечно-сосудистой (эндотелий), нервной систем. Доказано, что белки Yip1A и IRE1 α , необходимые для репликации бруцелл и биогенеза BCV, способствуют накоплению дополнительных питательных веществ и распространению патогена в тканях организма.

Для бруцелл характерен выраженный тропизм к мононуклеарно-макрофагальной системе с внутриклеточной персистенцией. Проявление патогенных свойств бруцелл и их «судьба» в организме хозяина тесно ассоциированы с воздействием на патоген факторов врождённого иммунитета. На исход «борьбы» естественного иммунитета с бруцеллами оказывает влияние состояние баланса между продуктивными и контрпродуктивными эффектами противодействующих сил. При физиологически нормальном функционировании иммунной системы вектор иммунологических реакций при бруцеллёзе будет определяться свойствами патогена: способностью к блокировке завершённого фагоцитоза (преимущественно результат действия T4SS), ингибированию апоптоза инфицированных фагоцитов, индукции анергии при формировании иммуно-воспалительной реакции (ингибирование созревания антигенпрезентирующих клеток, премирования T-лимфоцитов).

Ввиду несостоятельности типичных клеток ММС формируется пролиферативное воспаление с образованием макрофагально-эпителио-

идной гранулемы. Способность бруцелл длительно персистировать и размножаться в фагоцитах обуславливает высокий потенциал инфекции к хронизации. Было показано, что MyD88, IL-12p35 и IFN γ - ведущие элементы клеточно-опосредованного Th1 иммунного ответа, обеспечивающие мониторинг бруцелл при гранулематозном воспалении.

Важнейшее патогенетическое значение при бруцеллёзе имеет формирование специфической гиперчувствительности. Повышение степени IgE-зависимой специфической сенсибилизации ассоциировано с формированием выраженной иммуносупрессии, что, в свою очередь, характеризуется изменением количества и дисфункцией иммунокомпетентных клеток, угнетением естественной реактивности организма, коррелирующим с тяжестью заболевания. Соответственно, чем выше уровень IgE-зависимой гиперчувствительности, тем более выражены изменения в иммунном статусе. При низкой клеточной гиперреактивности наблюдается снижение ключевых показателей иммунного статуса: уровня Т-лимфоцитов, субпопуляций Т-хелперов и Т-цитотоксических, общего IgG, фагоцитарной активности нейтрофилов крови. В отличие от реактин-обусловленной гиперреактивности, наиболее выраженные изменения, в т. ч. имеющие патологический характер, выявлены в группе больных с низкой степенью лимфоцит-зависимой сенсибилизации.

Известно, что первичная генерализация бруцеллёзной инфекции обычно протекает на фоне отрицательных кожно-аллергических проб, соответственно, отсутствие или низкая специфическая сенсибилизация лимфоцитов на фоне подавленного фагоцитоза обуславливает несостоятельность клеточного иммунитета. В свою очередь, нозогенная иммуносупрессия, инициированная возбудителем, является причиной массивной бактериемии с формированием вторичных очагов инфекции - «микробное депо» (лимфатические узлы, селезенка, костный мозг). Учитывая внутриклеточный паразитизм бруцелл, возбудитель длительно персистировает в организме хозяина, вызывая его специфическую сенсибилизацию за счет образования эндотоксина, продуктов жизнедеятельности, антигенемии - инициируя патофизиологическую стадию развития аллергической реакции.

Реакция гиперчувствительности замедленного типа, обусловленная клеточными факторами иммунитета, преимущественно лимфоцитами, по своей сути - специфический иммунный механизм защиты, который направлен на локализацию и дальнейшую элиминацию инфекта через специфическое гранулематозное воспаление. Соответственно, интенсивность специфической реактивности лимфоцитов является отражением интенсивности (силы) противобруцеллёзного клеточного иммунитета.

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что высокий уровень специфической клеточно-опосредованной сенсибилизации не ас-

социирован с формированием иммуносупрессии при бруцеллёзе. Вероятно, это обусловлено тем, что активность клеточных механизмов иммунитета, в частности лимфоцитов, является определяющей при бактериальных инфекциях с внутриклеточным паразитированием, соответственно высокая интенсивность лимфоцит-зависимой сенсibilизации в большей степени отражает устойчивость к патогену.

Можно предположить, что наиболее опасным при остром бруцеллёзе, с точки зрения генерализации этиологического агента (возбудителя бруцеллеза) с переходом в хронический бруцеллёз, а также большого риска активизации условно патогенной микрофлоры или вторичного наложения патогенных микроорганизмов, является течение болезни с высокой степенью реакин-зависимой и низкой интенсивностью клеточно-опосредованной специфической сенсibilизации. Соответственно, больным бруцеллёзом с выраженной IgE-обусловленной аллергизацией необходима более длительная антибактериальная терапия с включением в схему лечения десенсибилизирующих средств и иммуномодуляторов, а больным с низкой интенсивностью лимфоцит-зависимой сенсibilизации - назначение стимуляторов клеточного иммунитета и естественной резистентности, в частности - фагоцитарной активности.

Патогенетической основой практически закономерной трансформации острой стадии инфекции в хроническую является индуцированная патогеном несостоятельность иммунитета в отношении бруцелл с созданием условий для незавершённого фагоцитоза и долгосрочного внутриклеточного паразитирования. Исход при бруцеллёзе определяется, прежде всего, состоянием именно клеточного иммунитета, так как инфекция часто протекает на фоне достаточно высокого уровня циркулирующих антител, которые не обеспечивают защиту макроорганизма и не препятствуют формированию бактерионосительства.

Проблема бруцеллёзной инфекции на современном этапе вызывает настоятельную необходимость продолжения векторных клинико-лабораторных исследований для изучения особенностей специфической сенсibilизации как ведущего механизма в патогенезе бруцеллёза, а также совершенствования диагностики, прогнозирования течения заболевания и терапии. Углубленное изучение аллергии позволит выявить определенную роль аллергических реакций немедленного и замедленного типов в иммунопатогенезе бруцеллёза.

Исследование патофизиологических особенностей бруцеллёза с выявлением существующих взаимосвязей между многочисленными проявлениями заболевания и лежащими в их основе индивидуальными физиологическими и патологическими реакциями организма на данную инфекцию позволят объективизировать критерии активности инфекционного процесса.

Бруцеллы в процессе эволюции приобрели различные факторы патогенности, способы молекулярной мимикрии, способствующие выживанию и размножению этих бактерий в организме хозяина. Многие аспекты этого взаимодействия «паразит-хозяин» до сих пор остаются неясными и требуют дальнейшего изучения. При этом очевидно, что особенности биологического цикла бруцелл и инфекционно-аллергический характер бруцеллёза доказывают определяющую роль нарушенный иммунитета в патогенезе заболевания.

Список литературы

1. Адо А.Д. Общая аллергология / А.Д. Адо. - М.: Медицина, 1978. - 464 с.
2. Атаходжаева Д.Р. Подострый бруцеллёз и его клиничко-иммунологическая характеристика / Вестник «Здоровье и образование в XXI веке». - 2013. - Т. 15 (10). - С. 1-9.
3. Базанов Г.А. Аллергия и аллергические заболевания / Г.А. Базанов, А.А. Михайленко. - М.: МИА, 2009. - 304 с.
4. Баранова Н.И. Некоторые иммунологические аспекты патогенеза аллергических заболеваний дыхательных путей с бактериальной сенсибилизацией / Н.И. Баранова, Б.А. Молотилев // Иммунопатология, аллергология, инфектология. - 2009. - № 4. - С. 30-34.
5. Белозеров Е.С. Бруцеллёз / Е. С. Белозеров. - М.: Медицина, 1985. - 184 с.
6. Бойченко М.Н. Некоторые вопросы молекулярного патогенеза внутриклеточного паразитизма бактерий / М.Н. Бойченко, Е.О. Кравцова, Е.В. Волчкова, О.Ф. Белая // Инфекционные болезни. - 2017. - № 4. - С. 77-81.
7. Бойченко М.Н. Некоторые молекулярные механизмы паразитирования бактерий внутри цитозоля клетки хозяина / М.Н. Бойченко, Е.О. Кравцова, Е.В. Волчкова, О.Ф. Белая, Н.В. Колаева, Н.Н. Каншина // Инфекционные болезни. - 2018. - № 2. - С. 92-97.
8. Борисов А.Г. К вопросу о классификации нарушений функционального состояния иммунной системы / А.Г. Борисов, А.А. Савченко, С.В. Смирнова // Сибирский медицинский журнал. - 2008. - № 3. - С. 13-18.
9. Борисов Л. Б. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / Л. Б. Борисов. - МИА, 2005. - 423 с.
10. Бруцеллез: вопросы патогенеза и иммуногенеза / под ред. д-ра мед. наук, С.В. Балахонова. - Иркутск, 2017 - 48 с.
11. Бухарин О.В. Персистенция бактериальных патогенов как результат отношений в системе паразит-хозяин // Журн. микробиол. - 1997. № 4. - С. 3-9.
12. Вершилова П.А. Изучение клеточных систем, образующих антитела в процессе вакцинального иммуногенеза / П.А. Вершилова, М.И. Чернышева, Л.А. Певницкий // Современные проблемы иммунологии и иммунпатологии. - Л., 1970. - 44 с.
13. Вершилова П.А. Изучение напряженности перекрестного и типового иммунитета при бруцеллёзе / П.А. Вершилова, Д.С. Кудрина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 1963. - № 8. - С. 34-39.
14. Вершилова П.А. Патогенез и иммунология бруцеллеза / П.А. Вершилова, М.И. Чернышова, Э.Н. Князева. - М.: Медицина, 1974. - 272 с.
15. Вершилова П.А. Патогенез и иммунология бруцеллёза / П.А. Вершилова, М.И. Чернышова, Э.Н. Князева. - М.: Медицина, 1974. - 272 с.
16. Вершилова П.А. Течение бруцеллёзной инфекции в иммунном организме / П.А. Вершилова, И.Н. Кокорин // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 1954. - № 1. - С. 27-31.
17. Галактионов В.Г. Иммунология / В.Г. Галактионов. - М.: Академия, 2009. - 528 с.

18. Гладилина Е.Г. Хронический бруцеллёз: клинико-диагностическое и прогностическое значение параметров системы липопероксидации, цитокинового профиля и маркеров синдрома эндогенной интоксикации: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.10 / Гладилина Елена Геннадьевна. - Саратов, 2006. - 25 с.
19. Горчакова Н.Г. Особенности паразитарной системы бруцеллёза / Н.Г. Гончарова // Научно-исследовательские публикации. - 2017. - № 4. - С. 14-27.
20. Динамика показателей клеточного иммунитета на фоне введения чумной живой сухой вакцины / Н.В. Богачева [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. - 2009. - № 8. - С. 24-27.
21. Железникова Г.Ф. Регуляторные Т-лимфоциты в иммунном ответе на инфекцию / Г.Ф. Железникова // Журнал инфектологии. - 2011. - № 1. - С. 6-13.
22. Зайцева О.В. Профилактика аллергии у детей / О.В. Зайцева // Лекции для практикующих врачей. - 2008. - № 7 (31). - С. 3-8.
23. Здродовский П.Ф. Проблемы инфекции, иммунитета и аллергии / П.Ф. Здродовский. - М.: Медицина, 1969. - 209 с.
24. Здродовский П.Ф. Проблемы инфекции, иммунитета и аллергии / П.Ф. Здродовский. - М.: Медицина, 1963. - 213 с.
25. Иммунопатология и аллергология. Алгоритмы диагностики и лечения / под ред. Р. М. Хаитова. - М.: ГЭОТАР-МЕД, 2003. - 112 с.
26. Клинико-эпидемиологическое и иммунологическое исследование привитых и непривитых против бруцеллёза людей, подвергающихся опасности заражения / П. А. Вершилова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 1968. - № 1. - С. 35-40.
27. Кулаков Ю.К. Молекулярные аспекты персистенции бруцелл / Ю.К. Кулаков // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. - 2016. - № 1. - С. 3-8.
28. Лобзин Ю.В. Лечение инфекционных больных: учеб. - метод. пособие для студ. мед. вузов / Ю.В. Лобзин, Ю.П. Финогеев, С.Н. Новицкий; под общ. ред. Ю.В. Лобзина. - СПб.: Фолиант, 2003. - 124 с.
29. Логвиненко О.В. Особенности иммунологических показателей крови у больных различными формами бруцеллеза / О.В. Логвиненко, Е.Л. Ракитина, Д.Г. Пономаренко, М.В. Костюченко, Н.С. Саркисян, Т.В. Бердникова / Инфекция и иммунитет. - 2013. - Т. 3, № 3. - С. 275-278.
30. Ляпина Е.П. Хронический бруцеллёз: системное воспаление и эндотоксикоз, совершенствование терапии и эпидемиологического надзора: автореф. дис... д-ра тмед. наук: 14.00.10 / Ляпина Елена Павловна. - Саратов, 2008. - 41 с.
31. Ляпина Е.П. Хронический бруцеллёз: этиология, патогенез, клиника, лечение: монография / Е.П. Ляпина, А.А. Шульдякова, В.Ф. Спирина. - Саратов, 2011. - 160 с.
32. Малов В.А. Терапевтические маски бруцеллёза / В.А. Малов // Фарма-тека. - 2011. - № 4. - С. 22-28.
33. Маски инфекционных болезней / Ю.В. Лобзин, Ю.П. Финогеев, Ю.А. Винакмен [и др.]. - СПб.: Фолиант, 2003. - 200 с.
34. Новицкий В.В. Патолофизиология / В.В. Новицкий, Е.Д. Гольдберг, О.И. Ура-зова. - М.: ГЭОТАР - Медиа, 2010. - 488 с.
35. Нурпейсова А.Х. Клинико-лабораторные критерии диагностики и эффективности терапии хронического бруцеллёза: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.10 / Нурпейсова Алия Хаиргельдыновна. - СПб, 2009. - 22 с.
36. Оценка иммунного статуса и дифференцированная иммунокоррекция при бруцеллёзе: методические рекомендации / Г.М. Курманова, А.К. Дуйсенова, К.Б. Курманова, Н.Х. Спиричева. - Алматы, 2002. - 30 с.
37. Петухов В.А. Эндотелиальная дисфункция: современное состояние вопроса / В.А. Петухов, В.С. Савельев // Хирургия. - 2008. - № 1. - С. 3-11.
38. Полякова А.М. Роль тромбоцитарного звена гемостаза в генезе гемоагуляционных нарушений у больных бактериальными инфекциями: автор. дис. ... д-ра.

мед. наук / А.М. Полякова. - Москва, 2000. - 38 с.

39. Пономаренко Д.Г. Новый подход к аллергодиагностике бруцеллеза / Д.Г. Пономаренко, О.В. Логвиненко, Н.С. Саркисян, Е.Л. Ракитина, О.Г. Голубь, А.Н. Куличенко // Инфекция и иммунитет. - 2013. Т. 3, № 1. - С. 89-92.

40. Пономаренко Д.Г. Новый подход к комплексной оценке иммуно-биологической реактивности контингента, подлежащего вакцинации (ревакцинации) против бруцеллеза / Д.Г. Пономаренко // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. - 2015. - № 3. С. 28-31.

41. Ракитина Е.Л. Анализ содержания НКТ-лимфоцитов у больных острым и хроническим бруцеллезом / Е.Л. Ракитина, О.В. Логвиненко, Д.Г. Пономаренко, М.В. Костюченко, И.Ю. Борздова, О.Г. Голубь // Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных: матер. II Всеросс. науч.-практ. конф. - 2017. - С. 273-275.

42. Саркисян Н.С. Интенсивность специфической сенсибилизации и иммунный статус у больных бруцеллезом / Н.С. Саркисян, Д.Г. Пономаренко, О.В. Логвиненко, Е.Л. Ракитина, М.В. Костюченко, А.Н. Куличенко // Медицинская иммунология. - 2016. - Т. 18, № 4. - С. 365-372.

43. Саркисян Н.С. Степень аллергизации как фактор адаптивных и патологических изменений в иммунном статусе у больных бруцеллезом / Н.С. Саркисян, Д.Г. Пономаренко, Е.Л. Ракитина, О.В. Логвиненко, М.В. Костюченко // Мир науки, культуры, образования. - 2014. - № 4 (47). - С. 346-349.

44. Тавасиева Э.В. Клинико-лабораторная характеристика бруцеллеза в Республике Северная Осетия - Алания: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.10 / Тавасиева, Валерия Эльбросовна. - Санкт-Петербург, 2008. - 26 с.

45. Таран И.Ф. Бруцеллез (Микробиология, иммунология, эпидемиология, профилактика) / И. Ф. Таран, Г. И. Лямкин. - Ставрополь, 1996. - 95 с.

46. Тришкова Л. Инфекционные болезни / Л. Тришкова, С. Богатырева. - М.: Медицина, 2010. - 451 с.

47. Цирельсон Л.Е. Бруцеллез в России: профессиональные заболевания и трудовой прогноз / Л.Е. Цирельсон, М.М. Желудков // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2011. - № 5. - С. 18-22.

48. Южно Е.С. Значение дисфункции эндотелия и вариабельности генов-кандидатов для прогноза у больных острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.С. Южно. - Кемерово, 2015. - 31 с.

49. Altamirano-Silva P. Brucella abortus senses the intracellular environment through the two-component system BvrR/BvrS allowing the adaptation to its replicative niche / P. Altamirano-Silva [et al.] // J. Infect. Immun. - 2018. - P. 713-24.

50. The two-component system BvrR/BvrS regulates the expression of the type IV secretion system VirB in Brucella abortus / P. Altamirano-Silva [et al.] // J. Bacteriol. - 2010. - V. 192 (21).

51. Cyclic-1,2-glucan is a Brucella virulence factor required for intracellular survival / B. Arellano-Reynoso[et al.] // J. Nat. Immunol. - 2005. - V. 6 (6). - P. 618-625.

52. Frequencies of CD4+ T regulatory cells and their CD25high and FoxP3high subsets augment in peripheral blood of patients with acute and chronic brucellosis / A. Bahador [et al.] // Osong Public Health and Research Perspectives. - 2014. - Vol. 5(3). - P. 161-168.

53. Immunopathology of Brucella infection / P.C. Baldi [et al.] // Recent Pat. Antiinfect Drug Discov. - 2013. - Vol. 8(1). - P. 18-26.

54. Host cellular immune responses against Brucella spp Evaluated using the mouse model / C. Baldwin [et al.] // Brucella: Molecular and Cellular Biology Norfolk. UK: Horizon Bioscience. - 2004. - № 1. - P. 341-367.

55. Baldwin C. L. Host immune responses to the intracellular bacteria Brucella: does the bacteria instruct the host to facilitate chronic infection? / C. L. Baldwin, R. Goenka // J. Crit. Rev. Immunol. - 2006. - Vol. 26 (5). - P. 407-42.

56. Brucella abortus uses a stealthy strategy to avoid activation of the innate immune system during the onset of infection / E. Barquero-Calvo [et al.] // PLoS One. -

2007. - Vol. 2 (7). - P. 631.

57. Neutrophils exert a suppressive effect on Th1 responses to intracellular pathogen *Brucella abortus* / E Barquero-Calvo [et al.] // *PLoS One*. - 2013. - Vol. 9 (2). - P. 1003-157.

58. *Brucella abortus* Induces the Premature Death of Human Neutrophils through the Action of Its Lipopolysaccharide / E. Barquero-Calvo [et al.] // *PLoS One*. - 2015. - Vol. 11 (5). - P. 1004-853.

59. Cyclic b-1,2-glucan is a *brucella* virulence factor required for intracellular survival / Beatriz Arellano-Reynoso, Nicolas Lapaque1, Susana Salcedo [et al.] // *J. Nature immunology*. - 2005. - V.6, № 6. - P. 618-625.

60. Ben-Tekya H. Bartonella and *Brucella*-weapons and strategies for stealth attack / H. Ben-Tekya // *Cold Spr. Harb. Perspect. Med.* - 2013. - Vol. 3. - P. 8.

61. Relationship of biological activities to structure of *Brucella abortus* endotoxin and lipopolysaccharide / Berman D.T. [et al.] // *Ann Inst. Pasteur Microbiol.* - 1987. - Vol. 138. - P. 98-101.

62. Bertotto A. Lymphocytes bearing the gamma delta T cell receptor in acute *Brucella melitensis* infection / A. Bertotto // *J Immunol*. 1993. - Vol. 23(5). -P. 1177-80.

63. Human CD4+ invariant NKT cells are involved in antibacterial immunity against *Brucella suis* through CD1d-dependent but CD4-independent mechanisms / S. Bessoles [et al.] // *Eur. J. Immunol.* - 2009. - Vol. 39(4). - P. 1025-35.

64. How bacterial pathogens use type III and type IV secretion systems to facilitate their transmission / M. X. Byndloss [et al.] // *J. Curr. Open Microbiol.* - 2017. - Vol. 35. - P. 1-7.

65. *Brucella* spp. Virulence Factors and Immunity / M.X. [et al.] // *Byndloss Annu Rev Anim Biosci.* - 2016. - Vol. 4. - P. 111-27.

66. *Brucella* evades macrophage killing via VirB-dependent sustained interactions with the endoplasmic reticulum / J. Celli [et al.] // *J. Exp. Med.* - 2003. - Vol. 198. - P. 545-556.

67. My D88 dependent activation of B220(2) CD11b (+) LY-6C (+) dendritic cells during *Brucella melitensis* infection / R. Copin [et al.] // *Immunology*. - 2007. - Vol. 178. - P. 5182 - 5191.

68. Brucellosis: An overview / M.J. Corbel [et al.] // *Emerging Infectious Diseases*. - 1997. - Vol. 3. - P. 213 - 221.

69. *Brucella abortus* Omp19 recombinant protein subcutaneously co-delivered with an antigen enhances antigen-specific T helper 1 memory responses and induces protection against parasite challenge / L.M. Coria [et al.] // *Vaccine*. - 2016. - Vol. 34(4). - P. 430-437.

70. Identification of a *Brucella* spp. Secreted effector specifically interacting with human small GTPase Rab2. / M. De Barys, A. Jamet, D. Filopon [et al.] // *J. Cell Microbiol.* - 2011. - Vol. 13. - P. 1044-58.

71. *Brucella* evades macrophage killing via VirB-dependent sustained interactions with the endoplasmic reticulum / C. de Chastellier [et al.] // *J. Exp. Med.* - 2003. - Vol.198. - P. 545-556.

72. Identification of VceA and VceC, two members of the VjbR regulon that are translocated into macrophages by the *Brucella* type IV secretion system / M.F. De Jong [et al.] // *Mol. Microbiol.* - 2008. - Vol. 70. - P. 1378-96.

73. De Long M. F. Brucellosis and type IV secretion / M. F. De Long, R. M. Tsois // *J. Future Microbiol.* - 2012. - Vol. 7 (1). - P. 47-58.

74. De Long M. F. Innate immune encounters of the (Type) 4th kind: *Brucella* / M.F. De Long, H.G. Rolán, R.M. Tsois // *J. Cell Microbiol.* - 2010. - Vol. 12 (9). - P. 1195-202.

75. Structural determinants in a glucose-containing lipopolysaccharide from *Mycobacterium tuberculosis* critical for inducing a subset of protective T cells / P. De [et al.] // *J. Biol. Chem.* - 2018. - Vol. 293 (25). - P. 9706-9717.

76. Dehio C. Type IV Effector Secretion and Subversion of Host Functions by Bartonella

and *Brucella* Species / C. Dehio, R. M Tsois // *J. Curr. Top Microbiol. Immunol.* - 2017. - Vol. 413. - P. 269-295.

77. Identification of a type IV secretion substrate of *Brucella abortus* that participates in the early stages of intracellular survival / P. H. Döhmer [et al.] // *J. Cell Microbiol.* - 2014. Vol. 16 (3). - P. 396-410.

78. Impairment of intramacrophagic *Brucella suis* multiplication by human natural killer cells through a contact-dependent mechanism / J. Dornand [et al.] // *Infect Immun.* - 2004. - Vol. 72(4). - P. 2303-11.

79. The innate immune response against *Brucella* in humans. / J. Dornand, A. Gross, V. Lafont [et al.] // *J. Vet. Microbiol.* - 2002. - № 90 (1-4). - P. 383-94.

80. Interleukin-10 downregulates protective immunity to *Brucella abortus* / D.M. Fernandes [et al.] // *Infection and Immunity.* - 1995. - Vol. 63. - P. 1130-1133.

81. *Brucella abortus* lipopolysaccharide in murine peritoneal macrophages acts as a down-regulator of T cell activation / C. Forestier [et al.] // *Immunology.* - 2000. - Vol. 165 (9). - P. 5202 - 10.

82. Lipoproteins, not lipopolysaccharide, are the key mediators of the pro-inflammatory response elicited by heat-killed *Brucella abortus* / G.H. Giambartolomei [et al.] // *J. Immunol.* - 2004. - Vol. 173. - P. 4635-42.

83. The two-component system BvrR/BvrS essential for *Brucella abortus* virulence regulates the expression of membrane proteins with counterparts in members of the Rhizobiaceae / C. Guzmán-Verri [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci.* - 2008. - Vol. 99. - P. 12375-12380.

84. Regulation of *Brucella* virulence by the two-component system BvrR/BvrS / C. Guzmán-Verri [et al.] // *Vet. Microbiol.* - 2002. - Vol. 90 (1-4). - P. 329-39.

85. VirB3 to VirB6 and VirB8 to VirB11, but not VirB7, are essential for mediating persistence of *Brucella* in the reticuloendothelial system / A.B. Hartigh [et al.] // *J. Bacteriol.* - 2008. - Vol. 190. - P. 4427-36.

86. Analyses of *Brucella* pathogenesis, host immunity, and vaccine targets using systems biology and bioinformatics / Y. He [et al.] // *J. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.* - 2012. - Vol. 2(2). - P. 632-38.

87. Periplasmic protein EipA determines envelope stress resistance and virulence in *Brucella abortus* / J. Herrou [et al.] // *J. Mol. Microbiol.* - 2019. - Vol. 111(3). - P. 637-661.

88. Innate immune recognition / C.A. Janeway [et al.] // *Annu. Rev. Immunol.* - 2002. - Vol.20. - P. 197-216.

89. Kassiri H. Epidemiological, laboratory, diagnostic and public health aspects of human brucellosis in western Iran / H. Kassiri, H. Amani, M. Lotfi // *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* - 2013. - Vol. 3 (8). - P. 589-594.

90. Ke Y. Type IV secretion system of *Brucella* spp. and its effectors / Y. Ke, Y. Wang, W. Li, Z. Chen // *J. Front Cell Infect Microbiol.* - 2015. - Vol. 5 (72). - P. 114 -116.

91. Gamma/delta T cells in patients with acute brucellosis / S.S. Kilic [et al.] // *Clin. Exp. Med.* - 2009. - Vol. 9 (2). - P. 101-4.

92. ChIP-seq analysis of the LuxR-type regulator VjbR reveals novel insights into the *Brucella* virulence gene expression network / C.L. Kleinman [et al.] // *Nucleic Acids Res.* - 2017. - Vol. 45(10). - P. 5757-5769.

93. Susceptibility of IFN regulatory factor-1 and IFN consensus sequence binding protein-deficient mice to brucellosis / J. Ko [et al.] // *Immunology.* - 2002. - Vol. 168. - P. 2433 - 2440.

94. The analysis of the intramacrophagic virulome of *Brucella suis* deciphers the environment encountered by the pathogen inside the macrophage host cell / S. Kohler [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci.* - 2002. - Vol. 99. - P. 15711- 15716.

95. Identification and isolation of *Brucella suis* virulence genes involved in resistance to the human innate immune system / J. Liautard [et al.] // *Infect Immun.* - 2007. - Vol. 75(11). - P. 5167-74.

96. Ontology-based representation and analysis of host-Brucella interactions / Y. Lin [et al.] // *J. of Biomedical Semantics*. - 2015. - P. 6:37.
97. Regulation of Brucella virulence by the two-component system BvrR/BvrS / I. López-Goñi, C. Guzmán-Verri, L. Manterola [et al.] // *J. Vet. Microbiol.* - 2002. - Vol. (1-4). - P. 329-39.
98. Microdissection of the cytokine milieu of pulmonary granulomas from tuberculous guinea pigs / L.H. Ly [et al.] // *Cell Microbiol.* - 2007. - Vol. 9. - P. 1127-1136.
99. Manterola L. BvrR/BvrS-controlled outer membrane proteins Omp3a and Omp3b are not essential for Brucella abortus virulence / L. Manterola // *J. Infect Immun.* - 2007. - Vol. 75(10). - P. 4867-74.
100. The lipopolysaccharide of Brucella abortus BvrS/BvrR mutants contains lipid A modifications and has higher affinity for bactericidal cationic peptides / L. Manterola [et al.] // *J. Bacteriol.* - 2005. - Vol. 187. - P. 5631-5639.
101. Pathogenesis of Brucella spp. / Mariana N. Xavier [et al.] // *J. Open Veterinary Science*. - 2010. - Vol. 4. - P. 109-118.
102. The two-component system BvrR/BvrS regulates the expression of the type IV secretion system VirB in Brucella abortus / C. Martínez-Núñez [et al.] // *J. Bacteriol.* - 2010. - Vol. 192. - P. 5603-5608.
103. Quorum-sensing and BvrR/BvrS regulation, the type IV secretion system, cyclic glucans, and BacA in the virulence of Brucella ovis: similarities to and differences from smooth brucellae / A.I. Martin-Martin [et al.] // *Infect Immun.* - 2012. - Vol. 80 (5). - P. 1783-93.
104. Interaction via the N terminus of the type IV secretion system (T4SS) protein VirB6 with VirB10 is required for VirB2 and VirB5 incorporation into T-pili and for T4SS function / C. Mary, A. Fouillen, B. Bessette [et al.] // *J. Biol. Chem.* - 2018. - Vol. 293 (35). - P. 13415-13426.
105. Brucella melitensis: A nasty bug with hidden credentials for virulence / E. Moreno [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci.* - 2002. - Vol. 99. - P. 1-3.
106. Antigen-specific activation and proliferation of CD4+ and CD8+ T lymphocytes from brucellosis patients / M. C. Moreno-Lafont [et al.] // *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. - 2002. - Vol. 96(3). - P.340-347.
107. Interferon-gamma is crucial for surviving a Brucella abortus infection in both resistant C57BL/6 and susceptible BALB/c mice / E.A. Murphy [et al.] // *Immunology*. - 2001. - Vol. 103. - P. 511-518.
108. Brucella modulates secretory trafficking via multiple type IV secretion effector proteins / S. Myeni R. Child T. W. Ng [et al.] // *J. PLoS Pathog.* - 2013. Vol. 9. - P. 1003-56.
109. Regulatory role of natural killer (NK) cells on antibody responses to Brucella abortus / Gao Ning [et al.] // *Innate Immunity*. - 2011. - Vol. 17(2). - P. 152-163.
110. A homologue of the Agrobacterium tumefaciens VirB and Bordetella pertussis Ptl type IV secretion systems is essential for intracellular survival of Brucella suis / D.O'Callaghan [et al.] // *Molecular Microbiology*. - 1999. - Vol. 33 (6). - P. 1210 - 20.
111. The role of innate immune receptors in the control of Brucella abortus infection: toll-like receptors and beyond / S.C. Oliveira [et al.] // *Microbes Infect.* - 2008. - Vol. 10 (9). - P. 1005-1009.
112. Advancement of knowledge of Brucella over the past 50 years / S.C. Olsen [et al.] // *Veterinary Pathology*. - 2014. - Vol. 51 (6). - P. 1076 - 1089.
113. Activation of Host IRE1 α -Dependent Signaling Axis Contributes the Intracellular Parasitism of Brucella melitensis / A. Pandey [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol.* - 2018. - Vol. 20(8). - P. 103.
114. Poester F.P. Pathogenesis and pathobiology of brucellosis in livestock. / F.P. Poester, L.E. Samartino, R.L. Santos // *J. Rev. sci. tech. off int. Epiz.* - 2013. - Vol. 32 (1). - P. 105-115.
115. Applicazione della tecnologia di stimolazione antigenica delle cellule per la diagnosi di brucellosis / E.L. Rakitina, O.V. Logvinenko, M.V. Kostyuchenko, N.S. Sarkisyan,

- N.I. Kovalevich // Italian Science Review. - 2014. - № 1 (10). - P. 178-181.
116. Structural analysis of lipid A derived from the lipopolysaccharide of *Brucella abortus* / N. Qureshi [et al.] // J. Endotoxin Res. - 1994. - № 1. - P. 137-48.
117. Rael E.L. Interleukin-13 signaling and its role in asthma / E.L. Rael, R.F. Lockey // The World Allergy Organization Journal. - 2011. - Vol. 4 (3) - P. 54-64.
118. Dominant Th1 cytokine production in early onset of human brucellosis followed by switching towards Th2 along prolongation of disease A. Rafiei [et al.] // Journal of Infection. - 2006. Vol. - 53(5). - P. 315-324.
119. Survival of the fittest: how *Brucella* strains adapt to their intracellular niche in the host / R.M. Roop [et al.] // Medical Microbiology and Immunology. - 2009. - Vol. 198 (4). - P. 221 - 238.
120. Life and death in the granuloma: immunopathology of tuberculosis / B.M. Saunders [et al.] // Immunol. Cell Biol. - 2007. - Vol. 85. - P. 103-111).
121. Sauret J.M. Human brucellosis / J.M. Sauret, N. Vilissova // J. Am. Board. Fam. Pract. - 2002. - Vol. 15 (5). - P. 401-6.
122. Control of T cell activation by CD4+CD25+ suppressor T cells / E. Shevach [et al.] // Immunol. Rev. - 2001. - Vol. 182. - P. 58-67.
123. Shringi B.N. Comparative study of conventional serological test for the diagnosis of brucellosis / B.N. Shringi, S. Sharma, K.N. Sharma // Indian J. Anim. Sci. - 2002. - Vol. 72. - P. 553-4.
124. Smith J.A. *Brucella* Lipopolysaccharide and pathogenicity: The core of the matter. / J.A. Smith // J. Virulence. 2018. - Vol. 9 (1). - P. 379-382.
125. *Brucella* intracellular replication requires trafficking through the late endosomal/lysosomal compartment / T. Starr [et al.] // Traffic. - 2008. - Vol. 9. - P. 678-94.
126. Effects of Gamma-interferon and indomethacin in preventing *Brucella-abortus* infections in mice / M.G. Stevens [et al.] // Infection and Immunity. - 1992. - Vol. 60. - P. 4407 - 4409.
127. *Brucella melitensis* invades murine erythrocytes during infection / M.A. Vitry [et al.] // Infect. Immun. - 2014. - Vol. 82 (9). - P. 3927-38.
128. A Subset of Protective $\gamma\delta 2$ T Cells Is Activated by Novel Mycobacterial Glycolipid Components / M. A. Xia [et al.] // Infect. Immun. - 2016. - Vol. 84 (9). - P. 2449-62.
129. *Brucella* genome annotation with literature mining and curation / Z. Xiang [et al.] // BMC Bioinformatics. - 2006. - Vol. 7 (1). - P. 347.
130. Ontology-based representation and analysis of host-*Brucella* interactions / Xiang Z. [et al.] // J. Biomed Semantics. - 2015. - Vol. 5. - P. 6-37.
131. An Overview of Human Brucellosis / E.J. Young [et al.] // Clinical Infectious Diseases. - 1995. - Vol. 21. - P. 283 - 289.
132. Endogenous gamma-interferon mediates resistance to *Brucella-abortus* infection / Y.F. Zhan [et al.] // Infection and Immunity. - 1993. - Vol. 61. - P. 4899-4901.
133. Meta-Analysis of the Changes of Peripheral Blood T Cell Subsets in Patients with Brucellosis / R. Zheng [et al.] // J. Immunol. Res. - 2018. - № 1. - P. 231-52.

Механизмы персистенции возбудителя бруцеллёза и взаимодействия бруцелл с макроорганизмом

Персистенция - способность патогенных видов бруцелл к длительному сохранению жизнеспособного состояния в организме хозяина. При этом персистенция включает нахождение бруцелл в организме хозяина в периоды активного - острого и хронического - латентного течения заболевания.

Возбудитель бруцеллёза демонстрирует выраженный тканевой тропизм и способен размножаться и персистировать внутри макрофагов, дендритных клеток, плацентарных трофобластов, фибробластов и в разнообразных типах клеток млекопитающих: эпителия, эндотелия, микроглии [10, 16, 17, 21, 41, 73].

Внутри клеток *Brucella* ограничивает воздействие хозяйских врожденных и адаптивных иммунных ответов, укрывается от воздействия антибиотиков и вызывает фазовые особенности протекания. Выделяют острую фазу, в течение которой наблюдается бактериемия и патоген проникает и распространяется в тканях хозяина, и хроническую фазу инфекции, которая возникает из способности бруцелл сохраняться и персистировать в клетках ретикулоэндотелиальной системы и вызывать сердечно-сосудистую, печеночную, лимфоретикулярную, неврологическую и остеоартикулярную патологию [8, 10, 16, 17, 21, 73].

Для бруцеллёза характерна персистенция возбудителя в организме хозяина в латентной форме, без активного размножения возбудителя и без клинических симптомов у людей и животных [4].

Морфологическая картина при латентном бруцеллёзе овец характеризовалась наличием в лимфатических узлах явлений очаговой гиперплазии ретикуло-эндотелиальных клеток, которая способствовала формированию гранулематозных образований, построенных из макрофагов и многоядерных гигантских клеток Лангерганса. Небольшие узелки гранулемы соединялись протоплазматическими мостиками, в центре которых не отмечались явления некроза. В случаях аборта у овец - поражался весь организм животного с образованием гранулём с явлениями некроза. При латентном бруцеллёзе расположение гранулём в организме имело локальный характер в селезенке, печени и отграничивалось клеточным или фиброзным защитным слоем [1, 5].

Формирование гранулём позволяло организму хозяина изолировать макрофаги с жизнеспособными бруцеллами для предотвращения распространения инфекции [10, 16, 17, 21, 41, 73].

Вследствие этих факторов латентная форма бруцеллёза была ме-

нее доступна элиминирующему давлению лекарственного воздействия и иммунной системы организма хозяина. Кроме того, при этой форме бруцеллёз не проявлялся манифестными клиническими симптомами, снижалась иммуногенность хозяина (нет высоких титров антител) и вирулентность персистирующего возбудителя, что способствовало его длительному сохранению.

С другой стороны, персистенция - это следствие сложных эволюционных взаимоотношений (паразит-хозяин) и генетически детерминированных свойств патогенных видов бруцелл и организма хозяина, которые обеспечивают их длительное хроническое состояние при равновесии с иммунной системой хозяина [16, 17, 22].

Персистенция может быть обусловлена индивидуальными особенностями людей и популяций бруцелл и в большинстве случаев разрешается элиминацией возбудителя из организма в процессе активной или бессимптомной инфекции.

Персистенция бруцелл и современные представления о роли иммунной системы хозяина

Бруцеллёз давно используется в качестве модели для изучения перекрестных сигнальных взаимодействий между внутриклеточно паразитирующими микроорганизмами и формированием адаптивного иммунитета в организме хозяина.

Механизмы контроля и протективного иммунитета против бруцеллёзной инфекции были изучены с использованием разных моделей животных, которые включали белых мышей, морских свинок, мелкого и КРС, нечеловекообразных приматов и людей [51, 62, 72]. Персистенция возбудителя бруцеллёза зависела от видовой патогенности бруцелл, дозы заражения и чувствительности организма хозяина, в котором различались клеточный и гуморальный иммунные ответы [44].

Этот аспект иммунологии бруцеллёза ставит важные вопросы в идентификации надежных критериев (коррелятов) протективного иммунитета как при экспериментальном бруцеллёзе на моделях животных, так и при использовании существующих вакцин в профилактике сельскохозяйственных животных и людей [22, 32].

Было показано, что виды *Brucella* персистируют в мышинных макрофагах в «тихом режиме», без токсичных эффектов [35]. Клеточная адаптивная природа иммунитета при бруцеллёзе была раскрыта при взаимодействии между Т-лимфоцитами и макрофагами для защиты против внутриклеточного размножения бруцелл [15]. В 80-х гг. модель бруцеллёзной инфекции начали связывать с продукцией интерферонов (IFN) в представлении концепции дихотомии клеточных ответов Th1 / Th2 [17].

Ключевая роль адаптивного иммунитета по 1 типу Т-хелперного ответа (Th1) и цитокинов IFN- γ (интерферона гамма), TNF- α (фактор некроза опухоли альфа) в развитии и исходе бруцеллёзной инфекции была установлена при использовании разных моделей экспериментальных животных, естественных хозяев и у людей [32, 62, 72].

Значимость Т-хелперного ответа 1 (Th1) в защите от возбудителя бруцеллёза, связанного с активацией профессиональных антигенпрезентирующих клеток (АПК) - макрофагов и дендритных клеток, координированной ролью CD4⁺ и CD8⁺ Т-цитотоксических лимфоцитов (CTL), была доказана многими исследованиями [22, 40, 48, 62].

С другой стороны, *Brucella* использовала различные механизмы для преодоления врожденного и адаптивного иммунного ответа, направленные на создание устойчивой внутриклеточной ниши в организме хозяина для долгосрочной персистенции [2, 12, 44].

Узнавание и сигнализация по TLR имели решающее значение для активации антигенпрезентирующих клеток и развития последующего адаптивного иммунитета. TLR обнаруживают широкий спектр бактериальных PAMP, включая LPS, липопроотеины и ДНК, что приводило к активации в ядре клетки основных транскрипционных факторов NF- κ B, активаторного белка AP-1 и регуляторного фактора IFN (IRF) 3/IRF7.

Сигнализация через TLR опосредовала продукцию нескольких провоспалительных цитокинов (TNF α , ряда интерлейкинов I типа - IL-12, IL-6, IL-1 β , а) и экспрессию костимулирующих молекул (CD80, CD86), приводя к реализации врожденного и адаптивного иммунитета.

Различные экспериментальные модели TLR-дефектных мышей использовались для изучения вовлечения сигналов TLR в иммунный ответ хозяина против бруцеллёза [20].

В дополнение к TLR4, TLR2 и сигнальный путь через TLR9 участвовал в определении бруцеллёзной инфекции [14]. Исследования показали, что TLR9 в сочетании с адаптером MyD88 играл наиболее важную роль в иммунных реакциях хозяина для элиминации *B. abortus* и *B. melitensis* в инфицированных макрофагах и дендритных клетках.

TLR9 экспрессировался внутри эндосомы и обнаруживал бактериальную ДНК, богатую мотивом CpG, что приводило к индукции IL-12, который стимулировал иммунный ответ Th1 [37, 42].

Помимо TLR, роль других PRR, важных для защиты от внутриклеточных бактерий - NOD-подобных рецепторных семейств [NLR]), была задействована при бруцеллёзной инфекции и вызывала по сигнальному механизму активацию ядерного фактора NF- κ B и экспрессию провоспалительных цитокинов [39, 48]. Кроме того, было показано, что цитозольный рецептор NLCR4 обнаруживал флагеллин бруцелл и был важен для контролирования инфекции *in vivo* [70].

Среди различных PAMP, связанных с врожденным иммунным распознаванием *Brucella*, наиболее изучен LPS (липополисахарид). Это не канонический, не эндотоксический LPS, по сравнению с классическим LPS из *E. coli*. LPS бруцелл действует как иммуномодулирующий фактор, важный для сохранения и размножения видов *Brucella* в хозяине. Было показано, что LPS бруцелл обладал уникальной двойной ролью в течении бруцеллёза: на ранних стадиях инфекции за счет низкой иммуностимулирующей активности, защищая бруцеллы от врожденного иммунного распознавания, тогда как на поздних стадиях отрицательно модулировал врожденный иммунный ответ, способствующий персистенции возбудителя и развитию хронического заболевания [18, 20].

Эксперименты с пассивным переносом показали, что антитела к LPS (O-полисахарид) могут участвовать в протективном иммунитете [42], однако эффективность Т-хелперных клеток типа 2 (Th2) гуморального иммунного ответа не коррелировала с протективностью и остается неясной. При этом доказана иммунологическая и эпидемиологическая эффективность лицензированной в США R вакцины *B. abortus* RB-51 для профилактики бруцеллёза КРС, что противоречит защитной роли O-полисахарида и LPS производных антител в иммунитете [22].

Цитокинам отводится ключевая роль в контроле и защите от бруцеллёзной инфекции за счет участия как во врожденных, так и адаптивных иммунных реакциях иммунитета.

Интерлейкин IL-12, продуцируемый В-лимфоцитами и макрофагами, приводит к Th1 ответу и индукции INF гамма, который активирует макрофаги.

Активность интерферонов усиливается фактором некроза опухоли TNF альфа, продуцируемым макрофагами и натуральными киллерными клетками (NK) [15]. IL-1-зависимая индукция macrophage colony-stimulating factor 1 (колониестимулирующего фактора, КСФ) и IL-6, продуцируемого Т-клетками, увеличивает инфильтрацию нейтрофилов и макрофагов в селезенке экспериментальных животных [28].

В соответствии с Th1 ответом спленоциты инфицированных хозяев экспрессируют более высокие уровни мРНК цитокинов: для IL-2, интерферона-gamma, IL-10 на поздних стадиях и снижение уровня мРНК для IL-4 [48].

В поздних стадиях инфекции увеличение продукции IL-10 способствует супрессии защитного Th1 ответа [39] и поддерживает способность бруцелл к ускользанию от иммунного надзора.

Таким образом, бруцеллёзная инфекция контролируется иммунной системой хозяина (рисунок 30), но в противовес этому бруцеллы обладают способностью персистенции в организме хозяина.

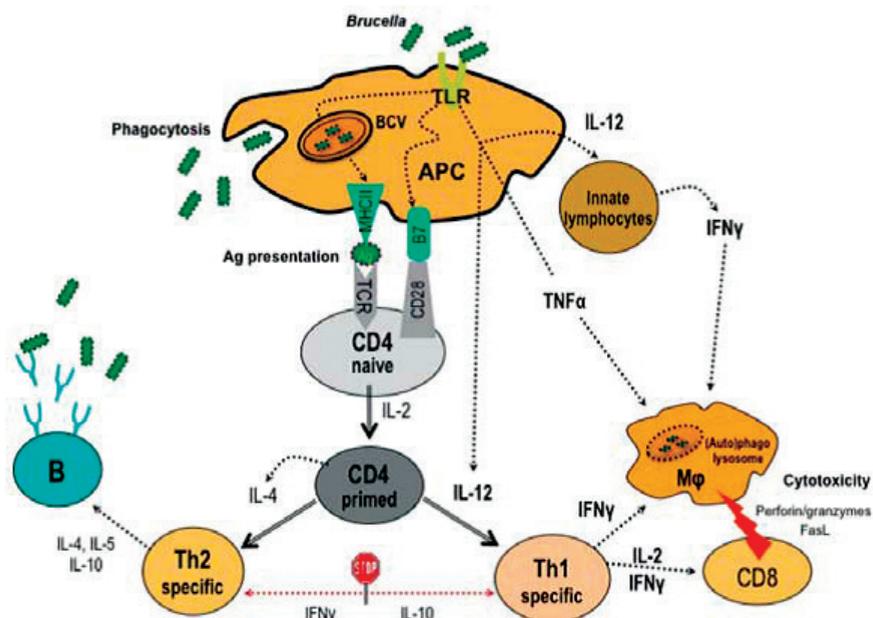


Рисунок 30. Модель иммунного ответа организма хозяина при проникновении бруцелл (Ag - антиген, APC - антигенпрезентирующая клетка, B7 - костимулирующие молекулы CD80 / CD86, BCV - бруцеллосодержащая вакуоль, CTL - цитотоксический лимфоцит, IFN γ - интерферон гамма, IL - интерлейкин, MHC II - главный комплекс гистосовместимости типа II, TCR - T-клеточный рецептор, TLR - Toll-подобный рецептор, TNF α - фактор некроза опухоли альфа [P. Skendros, P. Boura, 2013].

Внутриклеточная судьба бруцелл при фагоцитозе

При основных способах проникновения бруцелл в организм хозяина (контактный, алиментарный, аэрогенный) возбудитель преодолевает мукозный барьер слизистых оболочек хозяина и подвергается фагоцитозу макрофагами и дендритными клетками [73].

Это событие требует набора нитей актина активизированных при взаимодействии их с рецепторами на поверхности клеточной мембраны макрофагов. Опсонизированные бруцеллы интернализируются с помощью рецепторов комплемента, тогда как не опсонизированные бактерии взаимодействуют с лектиновыми и фибронектиновыми рецепторами [49, 73]. Не опсонизированные бруцеллы могут выживать и размножаться внутриклеточно, в отличие от этого опсонизация бактерий или IFN-гамма активация макрофагов способствует внутриклеточному киллингу бруцелл [73]. Липидные плоты содержат богатые холестерином микродомены в клеточной мембране макрофагов, участвуют в бактериальной интернализации и направляют внутриклеточное движение бруцелл [10, 73].

После интернализации бруцелл образуется содержащая бруцеллы вакуоль - BCV (*Brucella containing vacuole*). Около 90 % фагоцитированных бруцелл разрушается под бактерицидным воздействием свободных радикалов кислорода, оксида азота и ферментов внутри фагосомы [44].

Бруцеллы успешно преодолевают разные виды стрессов внутри клетки (кислая среда и недостаток питательных веществ), которые являются стимулами для индукции генов, необходимых для изменения внутриклеточной среды. Выживаемость внутриклеточной бруцеллы сохраняется после временного слияния BCV с лизосомой и затем ассоциирования с ЭР (эндоплазматический ретикулум), в котором происходит их внутриклеточное размножение [9], и где *Brucella* становится практически незаметной для иммунной системы [13, 17, 73] при незначительной продукции цитокинов и антител [44, 50, 55].

Таким образом, бруцеллы преодолевают бактерицидные факторы хозяйской клетки, взаимодействуют с ранней и поздней эндосомой и после временного короткого процесса слияния с лизосомой активно исключают лизосомальные белки и перенаправляют BCV в ЭР, где происходит размножение бруцелл [9, 54]. Подкисление BCV не приводит к гибели бруцелл, но индуцирует экспрессию бактериальных генов, которые необходимы для внутриклеточного выживания на ранних стадиях инфекции [10, 13, 44].

С использованием современных клеточных технологий было показано, что для продолжения внутриклеточного размножения и персистенции бруцелл осуществляется ряд превращений вакуоли. Начальная эндоцитарная вакуоль eBCV формируется в репликативную вакуоль rBCV, которая становится специализированной структурой - аутофагической вакуолью aBCV. При этом связанные с аутофагией белки хозяина BECLIN1, VtpB, PI3K, ULK1 и Atg14L играют ключевую роль в биогенезе этой вакуоли и способствуют завершению внутриклеточного жизненного цикла бруцелл с их выходом из клеток для последующей диссеминации в организме хозяина [59, 65, 66].

Таким образом, первоначальный врожденный иммунный ответ хозяина не является ключевым фактором для контроля внутриклеточного развития бруцелл и не ограничивает их последующую персистенцию.

Защита возбудителя бруцеллёза от врожденной иммунной системы

Бруцелла использует пассивные и активные молекулярные механизмы для ускользания от обнаружения врожденной иммунной системой с участием TLR и NLR.

Для бруцеллёзной инфекции характерно ингибирование нейтрофильной функции хозяина - нейтропения, что связано с установленными

ми механизмами уклонения бруцелл от врожденного иммунитета. На начальном этапе инфекции бруцеллы фагоцитируются нейтрофилами и в сформировавшейся вакуоли происходит высвобождение ЛПС, липида А, который вызывает форму невоспалительной гибели нейтрофилов. При этом погибшие нейтрофилы выполняют роль «троянского коня», сигнализируя фагоцитирующим клеткам командой «захвати меня», и служат вектором для переноса бруцелл в различные органы макроорганизма для поддержания инфекции [35].

Возбудитель бруцеллёза в структуре ЛПС имеет особенности строения липида А, который содержит бóльший остаток жирных кислот (С28) по сравнению с ЛПС энтеробактерий (С12-С16), и эта модификация значительно снижает активность его взаимодействия с рецептором TLR4 и позволяет уклоняться от распознавания сигнальными путями через рецептор TLR4 [13, 25]. Кроме того, было показано, что активность агониста TLR4 дополнительно уменьшается путем гликозилирования ядра ЛПС, что снижает его сродство к рецептору TLR4 MD-2 [20, 75].

Пути активации комплемента и бактериальных TLRs действуют совместно и помогают макроорганизму формировать иммунный ответ, соответствующий угрозе, что обеспечивает приток нейтрофилов и др. [68, 77].

Система комплемента активируется при контакте с поверхностными бактериальными ЛПС из грамотрицательных бактерий. Но ЛПС бруцелл содержит О-полисахарид из гомополимерных остатков, которые не обеспечивают полного связывания С3 системы комплемента, и блокируют выработку противовоспалительных компонентов системы комплемента С3а и С5а [13, 24, 34].

Таким образом, бруцеллы ингибируют нейтрофильную функцию хозяина и уклоняются от распознавания через TLR, что предупреждает индукцию соответствующего антибактериального иммунного ответа, значительно ослабляет контроль инфекции и способствует последующей персистенции возбудителя.

Активная роль секреторной системы бруцелл в персистенции

Основная роль T4SS в персистенции возбудителя бруцеллёза была доказана при моделировании инфекции на мышах и козах на основе изучения неспособности *virB* мутантов к внутриклеточному размножению и персистенции *in vivo* [13, 36, 78].

Кроме того, T4SS участвует в создании ассоциированной с ЭР специализированной репликативной ниши для бруцелл, при этом *virB* мутанты деградируют внутри лизосом макрофагов. Структурные VirB1-VirB12 белки T4SS формируют трансмембранную белковую «пушку», которая реализует транслокацию в цитоплазму клеток макроорганизма белко-

вых эффекторных молекул, за счет которых обеспечивается развитие и поддержание внутриклеточной персистенции бруцелл [27].

Начиная с 2008 г., с помощью сложных клеточных технологий начали определять функции эффекторных белков T4SS бруцелл при транслокации их в цитоплазму хозяина [23, 24, 31, 46, 47, 59].

До настоящего времени функция большинства эффекторных белков была неизвестна, но доказана прямая и опосредованная роль ряда секретлируемых белков для сохранения бруцеллезной инфекции и персистенции [10, 16, 17, 23, 24, 38, 41, 46].

Молекулярным механизмом для активного вмешательства в иммунное распознавание бруцелл является их способность к секреции эффекторных белков, которые содержат TIR домен - Btp1 / BtpA у *B. abortus* и TsrB у *B. melitensis* [60, 61]. Эти белки принадлежат к классу бактериальных белков с долей гомологии с эукариотическим Toll / интерлейкин-1 рецептором - TIR доменом [42, 60] и секретрируются при проникновении бруцелл в клетки микроорганизма [26, 38].

Консервативный домен TIR присутствует в эукариотических белках TLR и в цитозольном адаптерном белке MAL (MyD88), который связан с иммунной сигнализацией.

Btp1 / BtpA вызывает деградацию сигнального проводящего адаптерного белка MAL, в результате которой ингибируются TLR2 и TLR4 сигнализация и активация транскрипционного фактора NF- κ B. В результате снижается выработка провоспалительных цитокинов - TNF alpha и IL-12 с задержкой созревания и активации дендритных клеток, что обеспечивает дальнейшее развитие инфекции и персистенции бруцелл [2, 31].

Описан второй эффекторный белок с доменом TIR - BtpB [60], который также модулирует сигнализацию TLR зависимым MyD88 образом. Определена его роль в развитии воспалительных реакций в тканях легких на мышинной модели инфекции и повышении сохранности возбудителя и персистенции в нетипичных для бруцеллеза органах [33].

Эффекторный белок VseC обуславливает индукцию воспаления, влияя на выработку цитокина IL-6 в макрофагах *in vitro* путем воздействия на активацию IRE-1 α - зависимого сигнального пути при ответе на неправильную сборку белков (*the unfolded protein response*), происходящую в ЭР [23].

Другие T4SS секретлируемые идентифицируемые белки бруцелл - BSPA, BSPB и BSPF необходимы для развития инфекции *in vivo* и влияют на синтез белков в инфицированных клетках [46].

Важно отметить биполярную двойственную роль T4SS при инфекции, которая обусловлена синтезом множества бактериальных эффекторных молекул, транспортирующихся в клетку-хозяина, не только для

обеспечения длительной персистенции, но и для индукции иммунного ответа по типу Th1 [56]. Функционирование T4SS необходимо для созревания В-клеток, активации CD4⁺ Т-клеток и для начальной секреции цитокинов IL-12 и IFN-gamma [57, 58].

Показано, что от эффекторных молекул T4SS зависит обнаружение Nod-подобных рецепторов [31], что приводит к опосредованной активации каспазы 1 с образованием инфламмосомы и формированием защитного иммунного ответа.

Таким образом, за счет активного участия эффекторных белков T4SS возбудитель бруцеллёза манипулирует системами врожденного и приобретенного иммунитета для достижения внутриклеточной персистенции.

Роль цитокинов при персистенции Brucella spp.

Между иммунной системой хозяина и структурами бруцелл происходят сигнальные взаимодействия, которые могут приводить к элиминации возбудителя или к развитию внутриклеточной персистенции.

В защите хозяина от инфекции патогенными видами бруцелл определяющую роль играет клеточно-опосредованный иммунитет профессиональных антигенпрезентирующих фагоцитов с Th1 поляризацией иммунного ответа и активацией CD8⁺ Т-цитотоксических лимфоцитов (CTL) [22, 29, 55, 57].

Цитокины являются ключевыми эффекторными молекулами, которые организуют иммунный ответ хозяина. Протективный иммунитет против *B. abortus* напрямую связан с индукцией провоспалительных цитокинов и активацией иммунного ответа по Th1 типу [15, 16, 17, 63]. При этом высокие уровни противовоспалительных цитокинов - TGFβ1 (трансформирующий ростовой фактор бета 1) и IL-10 способствуют персистенции и хронизации инфекции [29, 64, 67].

Для персистенции и хронизации инфекции бруцелла стремится избежать защитного ответа типа Th1 [55, 63, 64]. Было показано, что пропил-рацемеза *B. abortus* PrpA стимулирует митогенную активность В-клеток и стимулирует секрецию IL-10 во время инфекции [64, 74], при этом PrpA ассоциируется с пониженной регуляцией INF-gamma, TNF-alpha и повышенной - TGFβ1 *in vivo*.

Мутанты PrpA имеют существенно сниженную способность к приживаемости в макроорганизме [64, 66].

IL-10 относится к противовоспалительным иммунорегуляторным цитокинам (супрессорный фактор) [16, 30], который при бруцеллёзной инфекции играет решающую роль в качестве регулятора реакций Th1 и Th2 [73]. Во время инфекции, вызванной *B. abortus*, в макроорганизме индуцируется синтез противовоспалительного цитокина IL-10 [16, 17,

67, 73], который ослабляет специфическую активность активированных IFN-гамма макрофагов и провоспалительных цитокинов, способствуя персистенции бруцелл.

Эксперименты *in vivo* показали, что синтез IL-10 активированными CD4⁺ лимфоцитами является ключевым фактором изменения функций макрофагов во время бруцеллёзной инфекции. Мыши, лишенные способности к синтезу IL-10 Т-клетками или не обладающие рецептором к этому цитокину, показывали снижение выживаемости бруцелл в селезенке и печени, а также увеличение выработки провоспалительных цитокинов [70, 71, 73].

Таким образом, эти данные указывают на важную роль цитокина IL-10 в модуляции первичного иммунного ответа при бруцеллёзной инфекции посредством регуляции функции макрофагов, что приводит к увеличению долговременной внутриклеточной выживаемости и персистенции бруцелл.

Эволюция бруцелл в качестве внутриклеточного и персистентного патогена

Наиболее филогенетически близкие к бруцеллам виды *Ochrobactrum anthropi* и *O. intermedium* являются почвенными бактериями, которые могут вызывать оппортунистические инфекции у иммунокомпромиSSIONных лиц и не способны к внутриклеточному размножению. Эволюция *Ochrobactrum* способствовала изменению его генома за счет редукции и приобретения способностей к внутриклеточной персистенции.

Эволюция новых видов класса альфа-протеобактерий связана с уменьшением их генома. Типичный геном *Brucella* (3,3 Мб) на 30 % меньше, чем у *Ochrobactrum* (4,77 Мб), что было доказано при анализе белковых семейств геномов [69].

Эволюция бруцелл на пути адаптации к внутриклеточной жизни в эукариотических клетках также потребовала приобретения новых генов, которые не обнаружены в *Ochrobactrum*. Геном видов *Brucella* имеет 170 генов, которые не найдены ни в одном из двух геномов *Ochrobactrum*, и еще 249 генов, которые являются уникальными для классических штаммов бруцелл [69].

На геномных островах обнаружены многие из этих генов, которые участвуют во внутриклеточном размножении и персистенции и позволяют бактерии получать от макроорганизма ионы металлов (железо, никель и магний), которые являются важными ко-факторами для многих ферментов патогена [16, 69].

Анализ геномов разных видов бруцелл позволил выявить важные этапы в формировании патогенного потенциала, необходимого для персистенции. Основным этапом было приобретение посредством го-

ризонального переноса ключевого фактора вирулентности T4SS, что позволило видам *Brucella* spp. адаптироваться к формированию патогенной ниши в клеточной структуре ЭР хозяина. Адаптация сопровождается вовлечением генов, кодирующих важные системы для использования ионов металлов, которые необходимы бруцеллам для выживания в клетках хозяина.

Второй и третий этапы способствуют развитию способностей бруцелл к ускользанию и модулированию иммунной системы хозяина. Эти свойства предусматриваются изменением в структуре основного компонента LPS в структуре O-антигена, который связан с внутриклеточным размножением бруцелл, а также использование белков с доменами TIR, которые модулируют сигнальные пути иммунитета при формировании активных молекулярных механизмов, обеспечивающих персистенцию патогена.

Таким образом, возбудитель бруцеллёза как представитель семейства *Alpha proteobacteria* эволюционировал с приобретением способности к адаптации внутри клеток и длительной персистенции в организме хозяина.

Заключение

При бруцеллёзной инфекции огромное значение имеет персистенция в форме внутриклеточного паразитирования бруцелл, при которой формируется относительный и непродолжительный иммунитет, определяется неэффективность лечения антибиотиками и усложняется диагностика возбудителя.

Продолжительность и напряженность приобретенного протективного иммунитета, сформировавшегося в результате введения вакцинных штаммов экспериментальным животным, находились в прямой зависимости со сроками их персистенции в органах животных при использовании бактериологических и морфологических методов регистрации. Сложные каскадные молекулярные механизмы их взаимодействия с хозяином стали определять в 90-х годах. В настоящее время установлено, что развитие клеточного протективного иммунитета против патогенного вида *B. melitensis* способствует стимуляция PAMP, что достигается персистенцией в зависимости от дозы и вида возбудителя в течение не менее 1-6 мес. в организме хозяина. При этом бруцеллы в составе специализированной вакуоли (BCV - фагосомы) интернализируются и передвигаются для размножения в репликативной нише ЭР макрофагов и дендритных клеток, что имеет решающее значение, которое обеспечивает стимуляцию PAMP и механизм презентации антигенов Т-клеткам разных подтипов.

Инактивированные или субъединичные вакцины не позволяют полностью стимулировать PAMP и тем более имитировать внутриклеточное

движение (траффик) *Brucella* в составе фагосомы, что на современной научной основе объясняет их неспособность индуцировать и полноценный протективный иммунитет, который обеспечивается использованием живых вакцин. Живые вакцины наиболее близко соответствуют инфекционному процессу, который вовлекает все механизмы иммунитета с последующим приобретением высокого уровня протекции. До настоящего времени по этим причинам непревзойденным по эффективности средством в защите от бруцеллёзной инфекции остаются живые вакцины [6, 7, 8, 51].

Способность патогенных видов *Brucella* сохраняться и персистировать в иммунных клетках хозяина является ключевым условием в патогенезе бруцеллёза. Бруцеллы используют различные механизмы для создания и поддержания внутриклеточной персистенции в клетках хозяина. Подобные стратегии используют родственные бруцеллам протеобактерии для создания и поддержания хронических инфекций в их растительных и животных хозяевах. Сравнительные исследования с близкородственными бактериями *O. anthropi* открывают понимание эволюционного пути, который прошли бруцеллы, приобретая адаптацию к длительному пребыванию в клетках млекопитающих [16, 52, 69].

Внутриклеточное развитие бруцелл сопровождается обширным и комплексным взаимодействием структур бактерии и сигнальных путей клеток хозяина, что является необходимым условием для внутриклеточного выживания, размножения с последующими явлениями диссеминации в органы и устойчивой продолжительной персистенцией в сформированных гранулематозных структурах [16, 17, 22, 51].

Бруцеллы используют скрытую стратегию незаметного проникновения в клетки хозяина без полномасштабной воспалительной реакции на начальных стадиях инфекции, с супрессией системы врождённого иммунитета хозяина.

Хроническое течение бруцеллёзной инфекции связано со способностью бруцелл как уклоняться, так и напрямую воздействовать на системы врожденного и приобретенного иммунитета хозяина с созданием оптимальных условий взаимодействия с макроорганизмом для внутриклеточного размножения и персистенции [13, 16, 17, 24, 25, 36].

Бруцеллы обладают пассивной устойчивостью к внутриклеточным механизмам уничтожения и компонентам врожденной иммунной системы (комплемент, опсоины, фагоцитарные клетки, врождённые лимфоциты, цитокины), что соответствует их известным характеристикам.

Важность T4SS для развития персистенции бруцелл и поддержания хронической инфекции была показана 20 лет назад, и бруцеллы, по аналогии с другими внутриклеточными патогенами, изменяют врождённый иммунный ответ с непосредственной целью создания репликативной ниши и сохранения хронической инфекции.

Для обеспечения сохранения и персистенции в организме хозяина бруцеллы сначала избегают врожденного иммунного ответа путем скрытого проникновения в клетки хозяина, внутри клеток бруцелла индуцирует секрецию T4SS белковых эффекторных молекул, которые обеспечивают внутриклеточное движение, размножение и персистенцию бруцелл [23, 46], и изменяют системы врожденного и адаптивного иммунного ответа хозяина [73]. При этом отсутствие адекватной и долгосрочной защиты макроорганизма от бруцеллезной инфекции является результатом ослабленного адаптивного иммунного ответа, который контролируется и связан с ослабленным врожденным иммунным ответом [13, 16, 17, 24].

При этом инактивация этих эффекторных белков в полученных изогенных мутантах может потенциально способствовать восстановлению полноценного иммунного ответа и использованию для разработки более эффективных и безопасных живых вакцин.

До настоящего времени отсутствуют эффективные лекарственные препараты, включая антибиотики, против хронической бруцеллезной инфекции. Это связано с эволюционной адаптацией бруцелл, направленной на длительное выживание в клетках макроорганизма с механизмами ускользания от иммунной системы и последующим развитием хронической инфекции. При этом снижается чувствительность бруцелл к антибактериальным препаратам, эффективным при острой форме инфекционного процесса.

Современное направление исследований - это адресное воздействие активных соединений на систему секреции IV типа, которая играет определяющую роль в развитии хронической бруцеллезной инфекции. Такой подход открывает новый уровень специфического, ингибирующего воздействия на инфекционный процесс при бруцеллезе.

Для поиска и валидации новых химических соединений, эффективно блокирующих развитие хронической бруцеллезной инфекции и способных заменить антибиотики в процессе лечения, было предложено использовать структурные VirB белки этой системы с известной кристаллографической структурой, например, ключевой белок VirB8. Этот белок является перспективной мишенью для химических соединений, отбор которых базировался на их способности блокировать его функцию по димеризационному взаимодействию в формировании системы секреции IV типа [53]. Использование такого подхода, направленного на поиск ингибиторов функции белка VirB8, позволило использовать замещенные гидразоны 5-арилфурфуролы в качестве внутриклеточного ингибитора бруцеллезной инфекции. Представленные соединения обладают ингибирующей активностью в отношении внутриклеточной бруцеллезной инфекции, не проявляют выраженной цитотоксической активности и

потенциально могут быть использованы для создания альтернативных антибиотикам комбинированных лекарственных и профилактических средств защиты против возбудителя бруцеллёза человека [3].

Таким образом, инновационное и приоритетное решение проблемы лечения и профилактики хронического бруцеллёза, которое может изменить существующие способы борьбы с этой инфекцией, заключается в использовании перспективных мишеней для разработки нового поколения препаратов - специфических, безопасных и эффективных ингибиторов возбудителя бруцеллёза человека.

В настоящее время существующие профилактические и терапевтические средства при бруцеллёзе у людей являются дорогостоящими и малоэффективными, в этой ситуации правильное понимание молекулярных механизмов, ответственных за персистенцию бактериального патогена, будет иметь решающее значение для разработки инновационных средств контроля, профилактики и лечения этой инфекции.

Список литературы

1. Ариель М. Б. К патологической морфологии латентного бруцеллеза овец. Бруцеллез. Труды Экспедиции ВИЭМ по изучению овечьего бруцеллеза (1933-1936) Москва под ред. П.Ф. Здродовского. Изд-во ВИЭМ, 1937. С. 157-176.
2. Использование иммуноферментного анализа и полимеразной цепной реакции для оценки персистенции возбудителя бруцеллеза / М.М. Желудков, Ю.К. Кулаков, Н.В. Алексеева, Т.А. Толмачева // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. - 2003. - № 4. - С. 67-71.
3. Патент № 2663137 Российская Федерация, МПК А61К 31/341(2018.08) Замещенные гидразоны 5-арилфурфуролов - внутриклеточные ингибиторы бруцелл: № 2017129593, 2017.08.21: заявл. 21.08.2017; опубл. 01.08.2018 / Зигангирова Н.А., Заякин Е. С., Луйксаар С. И., Кулаков Ю. К., Новикова М.Д.; заявитель ФГБУ НИЦ эпидемиол. и микробиол. им. Н.Ф. Гамалеи.
4. Таран И.Ф., Лямкин Г.И. Бруцеллез (микробиология, иммунология, эпидемиология, профилактика) / И.Ф. Таран. - Ставрополь, 1996. - 174 с.
5. Тарасов И.А. Экспериментальное заражение овец бруцеллезом через кожные и слизистые покровы / И.А. Тарасов // Тр. экспед ВИЭМ. - 1937. - С. 45-68.
6. Цирельсон Л.Е., Желудков М.М. Бруцеллез в России: профессиональные заболевания и трудовой прогноз / Л.Е. Цирельсон, М.М. Желудков // Эпид. инф. бол. - 2011. - № 5. - С. 43-47.
7. Цирельсон Л. Е. Обзор проблем вакцинопрофилактики бруцеллеза. / Л. Е. Цирельсон, М.М. Желудков, Ю.К. Кулаков // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. - 2013. - № 3 (70). - С. 78-82.
8. Цирельсон Л.Е. Состояние специфической иммунопрофилактики бруцеллеза в Российской Федерации / Л.Е. Цирельсон, М.М. Желудков, О.Д. Складов, В.Н. Боровой // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. - 2011. - № 1 (56). - С. 59-64.
9. Ultrastructural morphometric analysis of Brucella abortus infected trophoblasts in experimental placentitis. Bacterial replication occurs in rough endoplasmic reticulum / Anderson T.D. [et al.] // Am. J. Pathol. - 1986. - Vol. 124. - P. 226-237.
10. Interactions of the human Pathogenic Brucella Species with Their Hosts / V.L. Atluri [et al.] // Ann. Rev. Microb. - 2011. - Vol. 65. - P. 523-541.
11. Macrophage control of Brucella abortus: influence of cytokines and iron / C.L. Baldwin [et al.] // Trends Microbiol. - 1993. - Vol. 1. - P. 99-104.

12. Host immune responses to the intracellular bacteria *Brucella*: does the bacteria instruct the host to facilitate chronic infection? / C.L. Baldwin [et al.] // *Crit. Rev Immunol.* - 2006. - Vol. 26. - P. 407-442.
13. *Brucella abortus* uses a stealthy strategy to avoid activation of the innate immune system during the onset of infection / Barquero-Calvo E. [et al.] // *PLoS ONE.* - 2007. - Vol. 2. - P. 631.
14. *Brucella abortus* induces the premature death of human neutrophils through the action of its lipopolysaccharide / Barquero-Calvo E. [et al.] // *PLoS Pathog.* - 2015. - Vol. 11. - P. 1004-853.
15. Human CD4+ invariant NKT cells are involved in antibacterial immunity against *Brucella suis* through CD1d-dependent but CD4-independent mechanisms / S. Bessoles [et al.] // *Eur. J. Immunol.* - 2009. - Vol. 39. - P. 1025-35.
16. *Brucella* spp. Virulence Factors and Immunity / M.X. Byndloss [et al.] // *Ann. Rev. Anim. Biosci.* - 2016. Vol. 4. - P. 111-127.
17. Chronic Bacterial Pathogens: Mechanisms of Persistence / M.X. Byndloss [et al.] // *Microbiol Spectr.* - 2016. - Vol. 4 (2). Review.
18. *Brucella* spp. noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system / P.G. Cardoso [et al.] // *Cardoso Microb. Cell Fact.* - 2006 - Vol. 5. - P. 13.
19. *Brucella* evades macrophage killing via VirB-dependent sustained interactions with the endoplasmic reticulum / J. Celli [et al.] // *J. Exp. Med.* - 2003. - Vol. 198. - P. 545-556.
20. The lipopolysaccharide core of *Brucella abortus* acts as a shield against innate immunity recognition / R. Conde-Alvarez [et al.] // *PLoS Pathog.* - 2012. Vol. 8. - P. 1002- 675.
21. Brucellosis: an overview / M.J. Corbel [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* - 1997. - Vol. 3. - P. 213-221.
22. Pathogenesis and immunobiology of brucellosis review of *Brucellae* host interactions / P. de Figueiredo [et al.] // *Am. J. Pathol.* - 2015. - Vol. 185 (6). - P. 1505-1517.
23. Sensing of bacterial type IV secretion via the unfolded protein response / M.F. De Jong [et al.] // *mBio.* - 2013. - Vol. 4 (1). - P.00418-12. doi: 10.1128/mBio.00418-12.
24. Brucellosis and type IV secretion / M.F. De Jong [et al.] // *Future Microbiol.* - 2012. - Vol. 7 (1). - P. 47-58.
25. Innate immune encounters of the (Type) 4th kind: *Brucella* / M.F. De Jong [et al.] // *Cell Microbiol.* - 2010. - Vol. 12 (9). - P. 1195-1202.
26. Identification of *Brucella* spp. genes involved in intracellular trafficking / R.M. Delrue [et al.] // *Cell Microbiol.* - 2001. - Vol. 3. - P. 487-497.
27. VirB3-VirB6 and VirB8-VirB11, but not VirB7, are essential for mediating persistence of *Brucella* in the reticuloendothelial system / A.B. den Hartigh [et al.] // *J. Bacteriol.* - 2008. - Vol. 190. - P. 4427-4436
28. Effect of recombinant human macrophage colony-stimulating factor 1 on immunopathology of experimental brucellosis in mice / A.G. Doyle [et al.] // *Infect Immun.* - 1992. - Vol. 60. - P. 1465-1472
29. Lack of a role for natural killer cells in early control of *Brucella abortus* infections in mice / D.M. Fernandes [et al.] // *Infect Immun.* - 1995. - Vol. 63 (10). - P. 4029-4033.
30. Interleukin-10 downregulates protective immunity to *Brucella abortus* / D.M. Fernandes [et al.] // *Infection and Immunity.* - 1995. - Vol. 63. - P. 1130-1133.
31. Critical role of ASC inflammasomes and bacterial type IV secretion system in caspase-1 activation and host innate resistance to *Brucella abortus* infection / M.T. Gomes [et al.] // *J. Immunol.* - 2013. - Vol. 190. - P. 3629- 3638.
32. What have we learned from brucellosis in the mouse model? / M.J. Grillo [et al.] // *Vet. Res.* - 2012. - Vol. 43. - P. 29.
33. Btp Proteins from *Brucella abortus* Modulate the Lung Innate Immune Response to Infection by the Respiratory Route / M.S. Hielpos [et al.] // *Front. Immunol.* - 2017.
34. Failure of *Brucella abortus* lipopolysaccharide (LPS) to activate the alternative to activate the alternative pathway of complement / E.M. Hoffmann [et al.] // *Vet.*

Immunol. Immunopathol. - 1983. - Vol. 5. - P. 65-76.

35. A cellular basis of immunity in experimental Brucella infection / J.J. [et al.] // *Holland J. Exp. Med.* - 2005. - Vol. 108. - P. 343-360.

36. Identification of genes required for chronic persistence of Brucella abortus in mice / P.C. Hong [et al.] // *Infect Immun.* - 2000. - Vol. 68. - P. 4102-4107.

37. Th1-like cytokine induction by heat-killed Brucella abortus is dependent on triggering of TLR9 / L.Y. Huang [et al.] // *J. Immunol.* - 2005. - Vol. 175. - P. 3964-3970.

38. Type IV secretion system of Brucella spp. and its effectors / Y. Ke [et al.] // *Front Cell Infect. Microbiol.* - 2015. - Vol. 13. - P. 72.

39. NOD1 and NOD2 signalling links ER stress with inflammation / A.M. Keestra-Gounder [et al.] // *Nature.* - 2016. - Vol. 532 (7599). - P. 394-7.

40. Molecular host-pathogen interaction in brucellosis: current understanding and future approaches to vaccine development for mice and humans / J. Ko [et al.] // *Clin. Microbiol. Rev.* - 2003. - Vol. 16. - P. 65-78.

41. Kulakov Y. K. Molecular aspects of Brucella persistence / Y. K. Kulakov // *Mol. Gen. Mikrobiol. Virusol.* - 2016. - Vol. 31(1). - P. 1-8.

42. Central role of MyD88-dependent dendritic cell maturation and proinflammatory cytokine production to control Brucella abortus infection / G.C. Macedo [et al.] // *J. Immunol.* - 2008. - Vol. 180. - P. 1080-1087.

43. Mackaness G.B. The immunological basis of acquired cellular resistance / G.B. Mackaness // *J. exp. Med.* - 1964. - Vol. 120. - P. 105-120.

44. An evolutionary strategy for a stealthy intracellular Brucella pathogen / A. Martirosyan [et al.] // *Immunological Reviews.* - 2011. - Vol. 240. - P. 211-234.

45. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins / T.R. Mosmann [et al.] // *J. Immunol.* - 1986. - Vol. 136. - P. 2348-2357.

46. Myeni S. Brucella modulates secretory trafficking via multiple type IV secretion effector proteins / S. Myeni // *PLOS Pathog.* - 2013. - Vol. 9 (8). - P. 1003556.

47. A homologue of the Agrobacterium tumefaciens VirB and Bordetella pertussis Ptl type IV secretion systems are essential for intracellular survival of Brucella suis / D.A. O'Callaghan [et al.] // *Mol. Microbiol.* 1999. - Vol. 33. - P. 1210-1220.

48. Update on the role of innate immune receptors during Brucella abortus infection / S.C. Oliveira [et al.] // *Vet. Immunol. Immunopathol.* - 2011. - Vol. 148 (1-2). - P. 129-135.

49. Molecular and cellular interactions between Brucella abortus antigens and host immune responses / S.C. Oliveira [et al.] // *Vet. Microbiol.* - 2002. - Vol. 90. - P. 417-424

50. Pappas G. The new global map of human brucellosis / G. Pappas [et al.] // *Lancet Infect. Dis.* - 2006. - Vol. 6. - P. 91-99.

51. The case for live attenuated vaccines against the neglected Zoonotic Diseases Brucellosis and Bovine Tuberculosis / A. Pandey [et al.] // *PLoS Negl. Trop. Dis.* - 2016. - Vol. 10 (8). - P. 0004572.

52. Activation of Host IRE1 α -Dependent Signaling Axis Contributes the Intracellular Parasitism of Brucella melitensis / A. Pandey [et al.] // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* - 2018.

53. An in vivo high-throughput screening approach targeting the type IV secretion system component VirB8 identified inhibitors of Brucella abortus 2308 proliferation / A. Paschos [et al.] // *Infect Immun.* - 2011. - Vol. 79 (3). - P. 1033-1043.

54. Brucella abortus transits through the autophagic pathway and replicates in the endoplasmic reticulum of nonprofessional phagocytes / J. Pizarro-Cerda [et al.] // *Infect Immun.* - 1998. - Vol. 66. - P. 5711-5724.

55. Human brucellosis is characterized by an intense Th1 profile associated with a defective monocyte function / M. Rodriguez-Zapata [et al.] // *Infect. Immun.* - 2010. - Vol. 78. - P. 3272-3279.

56. Inactivation of the type IV secretion system reduces the Th1 polarization of the immune response to Brucella abortus infection / H.G. Rolan [et al.] // *Infect. Immun.* - 2008. - Vol. 76. - P. 3207- 3213.

57. Mice lacking components of adaptive immunity show increased *Brucella abortus* virB mutant colonization / H.G. Rolan [et al.] // *Infect. Immun.* 2007. - Vol. 75. - P. 2965-2973.
58. *Brucella* requires a functional type IV secretion system to elicit innate immune responses in mice / C.M. Roux [et al.] // *Cell Microbiol.* - 2007. - Vol. 9. - P. 1851-1869.
59. BtpB, a novel *Brucella* TIR-containing effector protein with immune modulatory functions / S.P. Salcedo [et al.] // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* - 2013. - Vol. 3. - P. 28.
60. *Brucella* control of dendritic cell maturation is dependent on the TIR-containing protein Btp1 / S.P. Salcedo [et al.] // *PLoS Pathog.* - 2008. - Vol. 4. - P. 21.
61. Subversion of innate immune responses by *Brucella* through the targeted degradation of the TLR signaling adapter, MAL / D. Sengupta [et al.] // *J. Immunol.* - 2010. - Vol. 184. - P. 956-964.
62. Cell-mediated immunity in human brucellosis / P. Skendros [et al.] // *Microbes Infect.* - 2011. - Vol. 13. P. 134-142.
63. *Brucella* alters the immune response in a prpA-dependent manner / J.M. Spera [et al.] // *Microb. Pathog.* - 2014. - P. 8-13.
64. Spera J.M. Lymphocyte mitogen is a *Brucella abortus* virulence factor required for persistent infection / J.M. Spera [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci.* - 2006. - Vol. 103. - P. 16514-16519.
65. Selective subversion of autophagy complexes facilitates completion of the *Brucella* intracellular cycle / T. Starr [et al.] // *Cell Host Microbe.* -2012. - Vol. 11. - P. 33-45.
66. *Brucella* intracellular replication requires trafficking through the late endosomal/lysosomal compartment / T. Starr [et al.] // *Traffic.* - 2008. - Vol. 9. - P. 678-694.
67. *Brucella abortus* induces a novel cytokine gene expression pattern characterized by elevated IL-10 and IFN- γ in CD4⁺ T cells / A. Svetic [et al.] // *Int. Immunol.* - 1993. - Vol. 5. - P. 877-883.
68. Innate immune recognition of flagellin limits systemic persistence of *Brucella* / M. Terwagne [et al.] // *Cell Microbiol.* - 2013. - Vol. 15. - P. 942-960.
69. Comparative phylogenomics and evolution of the *Brucellae* reveal a path to virulence / A.R. Wattam [et al.] // *J. Bacteriol.* - 2014. - Vol. 196 (5). - P. 920-930.
70. Capacity of passively administered antibody to prevent establishment of *Brucella abortus* infection in mice / A.J. Winter [et al.] // *Infect Immun.* - 1989. - Vol. 57. - P. 3438-3444.
71. Epidemiology chapter / J.H. Wolfram [et al.] // *Vaccine.* - 2010. - Vol. 5. - P. 77-84.
72. Killing of *Brucella* antigen-sensitized macrophages by T lymphocytes in bovine brucellosis / J.H. Wyckoff [et al.] // *Vet. Immunol. Immunopathol.* - 2010. - Vol. 120. - P. 148-159.
73. Pathogenesis of *Brucella* spp. / M.N. Xavier [et al.] // *The Open Vet. Sci. J.* - 2010. - Vol. 4. - P. 109-118.
74. CD4⁺ T cell-derived IL-10 promotes *Brucella abortus* persistence via modulation of macrophage function / M.N. Xavier [et al.] // *PLoS Pathog.* - 2013. - Vol. 9. - P.1003-454.
75. Non-canonical activation of inflammatory caspases by cytosolic LPS in innate immunity / J. Yang [et al.] // *Curr. Opin. Immunol.* - 2015. - Vol. 32. - P. 78-83.
76. Human peripheral blood CD4⁺ and CD8⁺ T cells express Th1-like cytokine mRNA and proteins following in vitro stimulation with heat-inactivated *Brucella abortus* / M.B. Zaitseva [et al.] // *Infect. Immun.* - 1995. - Vol. 63. - P. 2720-2728.
77. Regulation of Toll-like receptor-mediated inflammatory response by complement in vivo / X. Zhang [et al.] // *Blood.* - 2007. - Vol. 110. - P. 228-236.
78. Identification of *Brucella melitensis* 16M genes required for bacterial survival in the caprine host / M.S. Zygmunt [et al.] // *Microbes Infect.* - 2006. - Vol. 8. - P. 2849-2854.

Клиника и лечение бруцеллёза

Клиника бруцеллёза

В соответствии с Международной статистической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем (Десятый пересмотр. - Женева, 2003 г. МКБ-10), бруцеллёз входит в блок «бактериальные зоонозы», под кодом А23:

А23.0. Бруцеллёз, вызванный *Brucella melitensis*.

А23.1. Бруцеллёз, вызванный *Brucella abortus*.

А23.2. Бруцеллёз, вызванный *Brucella suis*.

А23.3. Бруцеллёз, вызванный *Brucella canis*.

А23.8. Другие формы бруцеллёза.

А23.9. Бруцеллёз неуточнённый.

В последние годы произошли значительные изменения в клинической картине бруцеллеза [6, 103]. По данным Е.С. Белозерова (1985), отличительными особенностями бруцеллеза в последние 20-30 лет являются снижение тяжести течения острого бруцеллёза и преобладание хронических форм инфекции [2, 3, 14]. Наличие стертых, атипичных проявлений болезни значительно затрудняет клиническую диагностику бруцеллёза. Причем, несвоевременно диагностируется как острый, так и хронический бруцеллёз. Неменьший вклад в гиподиагностику вносит отсутствие настороженности врачей относительно этой инфекции, особенно в регионах, где наблюдается снижение уровня заболеваемости и относительное «благополучие» по бруцеллёзу. Клиническая картина бруцеллёза в детском возрасте достаточно неспецифична и сходна с таковой, наблюдаемой при многих других заболеваниях, поэтому часто плохо диагностируется [101]. Детальное изучение клинических проявлений болезни, уточнение генеза выявляемых синдромов, их возможные сочетания позволяют не только повысить качество диагностики при бруцеллёзе, но и оптимизировать терапию.

Классификация клинических форм бруцеллёза. Единой классификации в настоящее время не существует. Наиболее обоснована классификация, построенная на клинко-патогенетическом принципе [106]. Выделены 5 клинических форм бруцеллёза:

- первично-латентная;
- остросептическая;
- первично-хроническая метастатическая;
- вторично-хроническая метастатическая;
- вторично-латентная.

В качестве отдельного варианта выделена септико-метастатическая форма, которая характеризуется обнаружением отдельных очагов (метастазов) на фоне остросептической формы [106].

Первично-латентная форма характеризуется состоянием практического здоровья. У таких пациентов можно обнаружить субфебрилитет и микролимфаденопатию. Для остросептической формы характерно наличие повторных приступов озноба и пота, неправильный (септический) характер температурной кривой, самочувствие пациента может быть удовлетворительным. Для первично-латентной формы характерна лимфаденопатия, к концу 1 недели увеличиваются печень и селезенка. Важное отличие этой формы - отсутствие метастазов. Хронические формы бруцеллеза характеризуются синдромом интоксикации, генерализованной лимфаденопатией, часто обнаруживается гепатоспленомегалия, органные нарушения. Главное отличие первично-хронических и вторично-хронических метастатических форм бруцеллеза - наличие или отсутствие остросептической формы в анамнезе [106].

В 2004 г. В.И. Покровским предложена клиническая классификация, основанная на общепринятой классификации Г.П. Руднева (1955), при этом различают острую (длительностью до 1,5 месяцев), подострую (до 4 месяцев), хроническую (более 4 месяцев) и резидуальную (клиника последствий) формы [107].

Острый бруцеллёз. Инкубационный период при данной форме составляет 1-6 недель, но может удлиняться до 2-3 месяцев при развитии латентной инфекции. Заболевание в большинстве случаев имеет постепенное начало, при котором на протяжении различного времени (от нескольких суток до нескольких недель) больные жалуются на недомогание, головную боль, разбитость, нарушения сна, снижение работоспособности, боли в суставах, различных группах мышц и пояснице. При осмотре пациентов с острым бруцеллезом отмечают субфебрильную температуру тела, иногда увеличение периферических лимфатических узлов по типу микрополиаденопатии. В последующем нарастают признаки интоксикации, температура тела становится высокой, регистрируются озноб и проливные поты, гепатоспленомегалия. Лихорадочная реакция обычно продолжается несколько дней, но может удлиняться до 3-4 нед., принимая волнообразный характер. В большинстве случаев самочувствие больных, вследствие умеренной интоксикации, остаётся относительно удовлетворительным. Эта клиническая особенность, свойственная бруцеллёзу, часто становится причиной затруднений при проведении дифференциальной диагностики с другими болезнями, имеющими сходную клиническую картину начала заболевания.

При осмотре на высоте лихорадки отмечают гиперемиию лица и шеи, бледность кожных покровов. Периферические лимфатические узлы, особенно шейные и подмышечные, незначительно увеличиваются в размерах, несколько болезненные при пальпации. Ранний клинический признак бруцеллёза - микрополиаденопатию - в настоящее время

встречают не более чем в 20-25 % случаев. При физикальном исследовании в подкожной клетчатке, а также в области мышц и сухожилий можно пальпировать болезненные плотные узелки размером от горошины до мелкого куриного яйца - фиброзиты и целлюлиты, хотя их появление более характерно для подострой формы бруцеллёза. В 10-15 % случаев в остром периоде заболевания возможно развитие поражения опорно-двигательного аппарата, половой сферы, периферической нервной системы с соответствующей очаговой симптоматикой [107].

Критерии оценки степени тяжести [107]

Лёгкое течение острого бруцеллёза:

- лихорадка до 38° С, озноб, умеренная потливость;
- головная боль, эйфория, бессонница, общая мышечная слабость;
- снижение артериального давления, учащение пульса;
- ускорение скорости оседания эритроцитов, лейкопения, лимфоцитоз.

Среднетяжелое течение острого бруцеллёза:

- лихорадка до 40° С, выраженная потливость, озноб;
- головная боль, общая слабость;
- артериальная гипотензия (< 100/60 мм рт.ст.), тахикардия (> 100 в минуту);
- ускорение скорости оседания эритроцитов, лейкопения, лимфоцитоз;
- атриовентрикулярная блокада I степени, отрицательный зубец Т;
- умеренное повышение уровня АСТ, ЛДГ, КФК МВ и сТnI;
- умеренное снижение функционального состояния ТДЗ АОС;
- угнетение иммунной системы: уменьшение содержания Т- и В-лимфоцитов, изменение параметров моноцитарно-макрофагальной системы;
- изменение содержания провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1В, ИЛ6).

Тяжелое течение острого бруцеллёза:

- температура 40° С и более, выраженный озноб, потливость;
- выраженная головная боль, депрессия, делирий, менингизм, серозный менингит;
- артериальное давление ниже 90/50 мм рт.ст., тахикардия;
- гепатоспленомегалия;
- значительное повышение уровня АСТ, ЛДГ, КФК МВ и сТnI;
- снижение функционального состояния ТДЗ АОС и иммунной системы;
- миокардит, эндокардит, перикардит;
- орхит, эпидидимит;

- на ЭКГ атриовентрикулярная блокада I - II степени, смещение сегмента ST, аритмии сердца;
- на ЭхоКГ расширение полостей сердца, вегетации на клапанах, нарушение систолической и диастолической функций левого желудочка;
- выраженное снижение функционального состояния ТДЗ АОС;
- значительное угнетение иммунной системы: уменьшение содержания Т- и В-лимфоцитов, изменения параметров МФС;
- значимое изменение содержания провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-1В, ИЛ6.

Подострый бруцеллёз. Для данной формы характерно рецидивирующее течение. Периоды лихорадки длительностью в несколько дней с температурной реакцией разной степени выраженности чередуются с безлихорадочными периодами. Температурная кривая чаще имеет неправильный характер, уровень ее подвержен значительным колебаниям в течение суток.

Больные предъявляют разнообразные жалобы: на диффузные боли в мышцах, костях и суставах, парестезии, эмоциональное угнетение. Изменяются сон и аппетит, появляется мышечная слабость, сухость во рту, жажда, запоры. При осмотре больных довольно часто выявляют фиброзиты и целлюлиты.

Со стороны сердечно-сосудистой системы регистрируют относительную брадикардию на высоте лихорадки и небольшую тахикардию в периоды нормальной температуры тела, приглушённость тонов сердца. В тяжёлых случаях могут быть обнаружены признаки инфекционно-аллергического миокардита, эндокардита и перикардита. Патологию органов дыхания выявляют редко [107].

Хронический бруцеллёз. У большинства больных (90-95%) как с активными (ХАБ), так и неактивными формами (ХНБ) начало заболевания постепенное, без указания в анамнезе на перенесенную острую форму заболевания, низкий уровень регистрации которой, возможно, связан с поздней диагностикой, обусловленной рядом причин объективного (особенности течения бруцеллёза, вызванного *B. abortus*) и субъективного характера (недостатки клинической диагностики) [2, 3, 14, 23].

При поступлении в стационар больные ХБ предъявляют жалобы на: периодическое повышение температуры тела, нередко сопровождающееся ознобами, слабость, потливость, повышенную утомляемость, боли различной локализации (наиболее часто в суставах, позвоночнике, мышцах, головные боли), скованность в суставах с нарушением их функции, парестезии, ощущение холода в конечностях, диспепсические явления, снижение памяти, метеозависимость, эмоциональные нарушения (плаксивость, обидчивость, раздражительность и т.д.) [23].

ХАБ сопровождается повышением температуры тела выше 38 °С, слабостью, повышенной утомляемостью, наличием скованности во всем теле и в суставах в утренние часы более 30 минут, болями в мышцах и костях.

Для больных ХНБ характерно наличие жалоб на повышенную потливость, метеозависимость, ощущение холода в конечностях, снижение памяти. Необходимо отметить многообразие, частую сочетаемость и эмоциональную окрашенность жалоб у пациентов при ХБ [23].

Изменения со стороны органов и систем у больных ХБ, выявляемые при клиническом осмотре и верифицированные результатами лабораторных и инструментальных исследований, свидетельствуют о полиочаговом характере поражений при хронической бруцеллезной инфекции.

Объективно со стороны кожных покровов и подкожно-жировой клетчатки у больных ХБ регистрируются проявления в виде единичных и множественных фиброзитов, которые чаще встречаются при активных формах заболевания - в 40-50 % случаев.

Увеличение нескольких групп периферических лимфатических узлов встречается при активных формах ХБ в 20-30 %, при неактивных - в 15-20 % случаев. Уменьшение частоты выявления генерализованного микрополиаденита в последние годы отмечается многими исследователями и считается одной из особенностей течения бруцеллеза [3].

Поражение опорно-двигательного аппарата. Для клинической картины ХБ наиболее характерно наличие очаговых поражений опорно-двигательного аппарата (ОДА). Изменения в костно-суставной системе встречаются в среднем в 80 % случаев [23]. По данным зарубежных исследователей [101], распространенность поражения ОДА не зависит от эндемичности бруцеллеза в конкретном регионе. В соответствии с действующей рабочей классификацией и номенклатурой ревматических болезней поражение суставов при бруцеллезе относится к разделу VII - артриты, связанные с инфекцией [16].

Вместе с тем при ХБ поражения ОДА отличаются многообразием локализации (различные суставы, околосуставные ткани) и характера (от абсцессов крупных суставов, артрита, остеомиелита [52, 55, 100] и других процессов воспалительного характера до дегенеративно-дистрофических [3, 14, 60, 61] и даже аутоиммунных) [15]. Поражения костно-суставного аппарата характерны также для бруцеллеза в детском возрасте (до 25 %) [101]. Помимо традиционных клинико-рентгенологических методов [14] для диагностики нарушений костно-суставной системы при бруцеллезе все чаще используются ядерно-магнитный резонанс, сцинтиграфия, в том числе с меченым Tc-99m человеческим иммуноглобулином, компьютерная томография [76, 86].

Поражение суставов при ХАБ и ХНБ часто сопровождается вовлечением в процесс околосуставных тканей в виде развития бурситов, тендовагинитов, фиброзитов. При этом частота выявления бурситов и болезненных фиброзитов достоверно выше при ХАБ [23].

У одного и того же пациента на протяжении болезни могут выявляться разные варианты поражения суставов: 1) развитие артрита с интенсивным болевым синдромом, выраженными признаками воспаления суставов и ограничением подвижности, отсутствием изменений при рентгенологическом исследовании, быстрым купированием, в том числе на фоне приема салицилатов; 2) рецидивирующее течение артрита (хроническое) с умеренной выраженностью синовита, длительным сохранением болевого синдрома, развитием в последующем дегенеративных изменений в суставах по типу остеоартроза с медленно прогрессирующим течением, периодическими обострениями в виде реактивного синовита; 3) быстрое прогрессирование поражений суставов с постоянно выраженными клинико-лабораторными признаками воспаления, развития девиации и атрофии мышц, появлением рентгенологических изменений в виде остеопороза, узурации суставных поверхностей, развитию анкилозов, слабым эффектом от применения салицилатов. Таким образом, патология суставов может на протяжении болезни иметь различный характер с преобладанием того или иного типа поражения ОДА, определяющего тяжесть состояния, качество жизни и трудоспособность пациента [23].

В первую очередь наиболее часто и тяжело при бруцеллёзе поражаются суставы, имеющие большую функциональную нагрузку (крупные суставы, позвоночник), что свидетельствует о сложном, многокомпонентном механизме формирования патологического процесса в опорно-двигательном аппарате.

Необходимо учитывать, что к специфическому поражению суставов у больных ХБ в отдаленном анамнезе могут присоединяться возрастные изменения (метаболические, гормональные нарушения), также не исключен и иммунно-патологический генез артритов, уже не связанный с бруцеллезным агентом, и, таким образом, со временем патологический процесс в костно-суставном аппарате становится полиэтиологичным и сложнодифференцируемым [23].

Поражение сердечно-сосудистой системы. Сердечно-сосудистая система (ССС) часто страдает у больных бруцеллёзом. В основе этого лежат разнообразные процессы (иммуновоспалительные, токсико-инфекционные, дистрофические), что обуславливает разноплановый, многокомпонентный и трудно классифицируемый характер поражения сердечно-сосудистой системы при бруцеллёзе [3].

Наиболее часто осмотр больных бруцеллёзом выявляет: приглу-

шенность сердечных тонов, систолический шум на верхушке, тахикардию. Возможны умеренное расширение границ сердца влево, артериальная гипотония, гипокинетический тип кровообращения. Появляются признаки гипертрофии левого желудочка, на ЭКГ - снижение вольтажа зубцов, экстрасистолия [3, 37]. В патологический процесс может вовлекаться сердечная мышца с проявлениями миокардита [3, 14], эндокарда - с поражением аортального, митрального клапанов [57, 58, 59], реже наблюдают развитие панкардита [3, 14, 91, 93]. Описаны случаи экстракардиального осложнения в виде расслаивающей аневризмы верхней брыжеечной артерии [56]. Как указывает Е.П. Шувалова (2001), частыми проявлениями бруцеллёза являются также эндо-, пери- и панваскулиты [14, 47].

Для уточнения состояния ССС в настоящее время рекомендуется наряду с традиционными инструментальными (электрокардиография, механокардиография, реография и т.д.) и лабораторными методами [14, 47] использовать доплер-ЭхоКГ [56, 57, 58, 59].

Углублённое исследование состояния церебрального и периферического кровотока и функционального состояния ССС у больных ХБ показало, что формирование патологического процесса при ХБ характеризуется значительными изменениями церебральной гемодинамики [21]. Отмечается снижение пульсового кровотока относительно показателей здоровых лиц в бассейнах позвоночных (в 2,3 раза) и сонных артерий (в 2,1 раза) на фоне асимметрии кровоснабжения, проявляющейся в большей степени в системе вертебробазиллярного кровотока. Данные нарушения сопровождаются повышением периферического сосудистого сопротивления с увеличением тонуса крупных и мелких сосудов преимущественно в системе позвоночных артерий.

По данным Ю.Н. Линьковой (2009), при ХНБ, в отличие от ХАБ, на фоне прогрессирования вышеперечисленных изменений появляются признаки затруднения венозного оттока из полушарий, также более выраженные в вертебробазиллярном бассейне [21].

Кроме того, у больных ХБ наблюдается значительное снижение пульсового кровенаполнения в области предплечий (в 2,2 раза) и голени (в 2,8 раза) по сравнению с показателями здоровых лиц с выраженной асимметрией кровоснабжения, повышением тонуса сосудов крупного калибра, венозным застоем. Нарушения регионарного кровотока достигают максимума у больных неактивным ХБ, при котором, в отличие от ХАБ, признаки затруднения венозного оттока усугубляются падением тонуса мелких сосудов.

Основные параметры центральной гемодинамики (ударный объем/индекс, минутный объем и сердечный индекс и др.) у больных хроническим бруцеллёзом сохраняются в пределах возрастных норм. Сниже-

ние сократительной способности миокарда встречается в 7% случаев, выражено незначительно и отмечается чаще при активных (10%) и реже - при неактивных (5,7%) формах заболевания на фоне релаксационного типа нарушений диастолической функции левого желудочка сердца.

По данным Е.В. Зубаревой, изолированная диастолическая дисфункция сердца встречается при ХБ значительно чаще (27%), чем систолическая, у больных с неактивными формами заболевания - в 30% случаев, с активными формами - в 20%. Ведущим типом нарушения диастолы левого желудочка сердца при этом является релаксационный [13].

Поражение органов дыхания. Бруцеллёзная инфекция может протекать с поражением органов дыхания в виде пневмонии, бронхопневмонии, кровоизлияний в полость плевры, выявляемых при рентгенографии органов грудной клетки и компьютерной томографии [69, 84]. А.А. Мусамбеков с соавт. [8] отмечают, что даже при отсутствии изменений со стороны органов дыхания при клинико-рентгенологическом обследовании у всех больных ХБ спирография позволяет обнаружить нарушение функции бронхолегочного аппарата смешанного и обструктивного характера. Наличие того или иного варианта поражения дыхательных путей (пневмония, бронхит, плеврит) зависит от региона и чаще встречается при остром бруцеллёзе [103].

Поражение органов желудочно-кишечного тракта, печени, селезёнки. Закономерно, отражая системный характер поражения при бруцеллёзной инфекции, в патологический процесс вовлекаются печень и селезенка. Возможно не только увеличение размеров, но и нарушение функций данных органов [71]. В исследовании М.А. Selimoglu (2003) высказываются предположения об аутоиммунной природе развивающегося при ХБ гепатита и определенной роли гепатотоксичных веществ (доксациклин) в формировании поражения печени [87]. Описаны случаи спонтанного бактериального перитонита при бруцеллёзе [68, 72]. Необходимо отметить, что в генезе поражений органов желудочно-кишечного тракта, в частности гастропатий, значительную роль играет длительный прием больными ХБ нестероидных противовоспалительных препаратов [14, 25].

Поражение мочеполовой системы. Одной из часто страдающих при бруцеллёзе систем является урогенитальная. У мужчин и женщин выявляют воспалительные процессы в половых органах - орхиты, орхоэпидидимиты, простатиты, сальпингиты, эндометриты, сопровождающиеся снижением половой функции, аменореей, бесплодием, частыми абортами [14, 55, 62].

У мужчин поражение половых органов встречается в 2-20 % случаев [75, 99]. Как указывает А.Г. Papatsoris (2002), наиболее часто диагностируется орхоэпидидимит [83]. В основном страдают молодые мужчи-

ны (25-45 лет), что отличает этот процесс от неспецифического орхоэпидидимита, поражающего людей более старшего возраста [67]. Как правило, очаговое поражение репродуктивных органов развивается в течение года от начала клинических проявлений бруцеллёза. Может быть как одностороннее, так и двухстороннее поражение яичек и(или) придатков, однако некоторые авторы указывают на наличие клинических признаков преимущественно одностороннего процесса [67]. Однако и односторонняя инфекция яичка может приводить к аспермии и олигоспермии и, соответственно, к бесплодию [67, 99], что может быть связано с субклиническим течением поражения другого яичка, выявляемого только по данным биопсии. При бруцеллёзе за счет гематогенного распространения возбудителя развивается гранулёматозное воспаление в ткани яичек, вплоть до некроза, с последующим снижением их функции [90, 99]. Причиной бесплодия может быть также образование антиспермальных антител [67].

Как правило, бруцеллёзный орхоэпидидимит развивается остро. Наиболее характерны - боль в мошонке, отечность мошонки и лихорадка [67, 90, 99]. А.А. Eragül [67] отмечает значимое повышение уровня СРБ у больных бруцеллёзом при развитии у них орхоэпидидимита. При УЗИ обнаруживаются: неоднородность структуры с наличием гипоехогенных участков, гидроцеле с перегородками [67]. Допплерография выявляет гипертрофикацию яичка и придатка затронутой стороны [67]. Таким образом, специфических клинических проявлений, характерных для бруцеллёзного орхоэпидидимита, практически нет, что затрудняет своевременное выявление больных. Данный диагноз может быть поставлен на основании учёта других проявлений бруцеллёзной инфекции (длительной лихорадки, потливости, наличия артралгии или артрита), эпидемиологических данных, результатах бактериологических и серологических исследований [79, 99].

Адекватная (по выбору препаратов и продолжительности) антибактериальная терапия при лечении неосложненного орхоэпидидимита, как правило, эффективна. В 10-25 % случаев могут развиваться рецидивы. При некротическом процессе показана орхиэктомия [67, 90, 99].

Ряд исследователей [18] отмечает возможность развития у больных бруцеллёзом нефропатии с изменениями в общем анализе мочи (протеинурия, микрогематурия, лейкоцитурия). А.З. Кутманова с соавт. [18] на большом клиническом материале (2 174 больных бруцеллёзом) показали, что поражение почек протекает чаще субклинически. Патоморфологически преобладают явления мезангиально-пролиферативного гломерулонефрита. При этом в механизме поражения почек большую роль играют иммунопатологические реакции, что подтверждается выявлением высоких титров аутоантител к почечной ткани и циркули-

рующих иммунных комплексов (ЦИК) при ХБ, их корреляцией с изолированным мочевым синдромом [18].

Поражение нервной системы. Для бруцеллёза (в подострой или хронической форме) характерно вовлечение в патологический процесс всех отделов нервной системы.

Поражения ЦНС характеризуются возникновением церебральных, реже спинальных лептоменингитов, а также менингоэнцефалитов, энцефаломиелитов, миелитов, расстройств мозгового и спинального кровообращения, интрамедуллярных абсцессов, субарахноидальных кровоизлияний, внутричерепной гипертензии [2, 23, 97].

Бруцеллёзные менингиты и менингоэнцефалиты встречаются редко (1-5 % больных бруцеллёзом) и могут развиваться при остром рецидивирующем (подостром) бруцеллёзе и хроническом бруцеллёзе. Для бруцеллёзного менингита характерны вялое, длительное течение и слабая выраженность симптомов поражения оболочек и вещества мозга. Поражение II и VIII пар черепных нервов может привести к значительному снижению зрения и слуха. Вовлечение в процесс подкорковых образований мозга проявляется дизэнцефальным синдромом. В ликворе регистрируются лимфоцитарный плеоцитоз, снижение уровня глюкозы, повышение уровня белка и γ -глобулина. Необходимо отметить, что у некоторых больных церебральный лептоменингит может являться единственным проявлением открыто протекающей бруцеллёзной инфекции. У лиц, длительно страдающих хроническим бруцеллёзом и при частом его обострении, обнаруживаются грубые неврологические нарушения в виде выраженных расстройств со стороны черепно-мозговых нервов, спастических параличей, проводниковых расстройств чувствительности, появления патологических рефлексов, нарушения функции тазовых органов. Могут отмечаться симптомы раздражения коры головного мозга в виде общих судорожных припадков, Джексоновских приступов.

По данным Г.Г. Брыжахина (1992), наиболее частой формой поражения ЦНС при бруцеллёзе в настоящее время является арахноидит [5]. Значительно реже регистрируются клинические проявления в виде возвратного поперечного миелита, интрамедуллярных абсцессов, субарахноидальных кровоизлияний, внутричерепной гипертензии, паралича черепных нервов.

Течение болезни у больных бруцеллёзом с патологией нервной системы тяжелое, пациенты длительно находятся в клинике, трудно поддаются проводимой терапии. Для такой категории больных введение термина «нейробруцеллёз» можно считать вполне обоснованным.

Поражение периферической нервной системы (ПНС) при бруцеллёзе, по данным литературы, встречается чаще, чем центральной, состав-

ля 30-60 % случаев [2, 5, 23], и отличается многообразием клинических форм и генеза. Основными проявлениями патологии ПНС являются радикулиты, невриты, полиневриты. Как показала Ю.Н. Линькова (2009), у больных активной формой хронического бруцеллёза основным проявлением нейропатии является болевой синдром; мышечные атрофии, гипотония, расстройства чувствительности при данной форме заболевания выражены минимально [21]. Неактивная форма хронического бруцеллёза сопровождается развитием симметричной полинейропатии, которая клинически характеризуется зябкостью, парестезиями в конечностях, судорожными подергиваниями в ногах, выраженными чувствительными нарушениями.

Бруцеллёз является одним из провоцирующих факторов развития радикулитов, из которых чаще наблюдается пояснично-крестцовый, реже шейный и грудной. Наряду с поражением спинальных корешков и нервов у больных обнаруживается патология краниальных нервов, проявляющаяся в виде невралгии тройничного и неврита лицевого нервов [23].

Необходимо отметить, что использование инструментальных методов, в частности электронейромиографии, и клинико-электрофизиологический анализ функционального состояния периферических нервов позволяют повысить уровень верификации поражений ПНС у больных хроническим бруцеллёзом. Так, углубленное неврологическое исследование [21] позволило выявить патологию ПНС у 86 % больных хроническим бруцеллёзом, при этом отмечено, что развивающиеся у них полинейропатии или полирадикулонейропатии обусловлены смешанным аксонально-демиелинизирующим поражением моторных и сенсорных ветвей периферических нервов с преимущественным вовлечением в патологический процесс осевого цилиндра нервов. Это сопровождается падением амплитуды моторного ответа и вызванных потенциалов, возникновением аксональных блоков в области крупных суставов, протекающих на фоне умеренно выраженного процесса демиелинизации, который проявляется замедлением проведения импульсов, в том числе и на уровне корешков спинного мозга. Ю.Н. Линьковой (2009) было показано, что хронический бруцеллёз в своем развитии от активных до неактивных форм характеризуется нарастанием глубины патологических изменений со стороны периферических нервов; наличием практически в 100 % случаев аксональных блоков в области локтевых и коленных суставов; снижением скорости проведения импульсов, более выраженным на уровне пояснично-крестцового отдела позвоночника; а также критическим уменьшением амплитуды вызванных потенциалов сенсорных ветвей нервов вплоть до неопределяемого уровня. Отмечено, что выраженность патологии ПНС коррелирует с нарушениями регионального кровообращения [21].

Таким образом, поражение ПНС при бруцеллёзе имеет сложный генез и связано как собственно с бруцеллёзной инфекцией и развитием синдрома Гиена-Барре (преимущественно на ранних стадиях инфекционного процесса), так и с изменениями в позвоночнике и других отделах опорно-двигательного аппарата и опосредованным вовлечением нервных стволов и окончаний в патологический процесс, а также нарушениями региональной гемодинамики. При длительном течении инфекционного процесса эти изменения носят взаимосвязанный и, возможно, взаимоотноотягивающий характер.

Наиболее постоянными при ХБ являются признаки дисфункции вегетативной нервной системы (ВНС), которые клинически проявляются практически у каждого больного, независимо от формы заболевания [5, 14]. Для острого бруцеллёза характерно преимущественное поражение надсегментарного, а для подострого и хронического - сегментарного уровня ВНС [5].

По данным А.Н. Смагиной (2007), у пациентов с бруцеллезом в ряде случаев отмечается значительное поражение психической сферы, что дает возможность говорить о «психобруцеллёзе» [23, 36]. Так, описано развитие реактивных состояний, острых психозов, ипохондрии, неврозов, нарушение психоэмоционального состояния с высоким уровнем тревожности, депрессии, астенизации и снижением познавательных процессов - мышления, внимания, памяти [23, 36].

Органы чувств также нередко страдают при бруцеллёзе. При этом выявляют поражение глаз в виде иридоциклитов, увеитов, кератитов, неврита и атрофии зрительного нерва [14, 27, 35, 47, 95], повреждение слухового аппарата, что сопровождается снижением слуха и изменением порога слышимости на высоких частотах (по данным аудиометрии), невритом слухового нерва [14, 47].

Таким образом, практически любой орган и система могут поражаться при бруцеллёзе, что может быть как отражением генерализованного процесса, так и свидетельством системности, характерной для заболеваний с выраженными иммунопатологическими реакциями, протекающими на фоне системного воспаления и эндотоксикоза. Необходимо отметить, что данные особенности патогенеза бруцеллёза могут оказывать влияние и на течение других заболеваний, формирующихся и протекающих на фоне этой инфекции. С этой точки зрения интересны исследования, посвященные изучению состояния пародонта у больных хроническим бруцеллёзом, которые показали, что отличительными особенностями течения пародонтита легкой и средней степени тяжести у больных хроническим бруцеллёзом являются более частые и длительные обострения с меньшим периодом ремиссии в сравнении с группой больных пародонтитом без фонового бруцеллёза. При этом

одним из важнейших факторов частых и пролонгированных рецидивов пародонтита у больных с ХБ является развитие патологического процесса на фоне эндотоксикоза и нарушений процессов липопероксидации, о чем свидетельствует значительное увеличение активности провоспалительных цитокинов в жидкости пародонтальных карманов. Формирование воспалительного процесса в пародонте у больных с ХБ протекает на фоне увеличения инфекционной нагрузки в пародонтальных карманах вирусно-микробными инфектами, которая возрастает по мере утяжеления патологии пародонта [38].

Среди редких клинических проявлений бруцеллёза описаны случаи тромбоцитарной микроангиопатии [88], тромбоцитопенической пурпуры [73, 92, 98], узловой эритемы [78].

S. Yujing и соавт. (2019) выделены пять независимых факторов, которые указывают на вероятность плохого прогноза при бруцеллёзе: возраст ≥ 45 лет, боль в спине, болезненность суставов, длительность заболевания и гематологические нарушения. Бруцеллёз у пожилых пациентов увеличивает риск плохого прогноза, потому что у этих пациентов достаточно часто наблюдается некоторая дисфункция иммунной системы [103].

В общем анализе крови при бруцеллёзе характерны легкая гипохромная анемия, лейкопения, относительный лимфоцитоз, анемозинофилия, увеличение СОЭ. Возможно развитие панцитопении [82] или тромбоцитопении [63].

Особенности у детей. У детей бруцеллёз, как правило, протекает более доброкачественно. В большинстве случаев в острой фазе болезни наблюдаются функциональные нарушения со стороны ЦНС, при этом дети жалуются на головную боль, плохой сон. Родители отмечают их быструю утомляемость, плохое настроение, беспричинную раздражительность и плаксивость. Со стороны ВНС в острой фазе выявляются лабильность сердечного ритма, склонность к снижению артериального давления, акроцианоз и пигментация кожных покровов. Вегетативная дистония может проявляться потливостью. Серозные менингиты и менингоэнцефалиты у детей, болеющих бруцеллёзом, встречаются в редких случаях. Течение бруцеллёзной инфекции у различных возрастных групп среди детей носит неодинаковый характер. Так, у детей раннего возраста начало заболевания острое, температура тела повышается до высоких цифр, общее состояние нарушено, имеются признаки интоксикации. Слабо выражены при этом изменения со стороны кожных покровов, лимфатических узлов и ОДА. Со стороны дыхательной системы можно наблюдать воспаление верхних дыхательных путей, диффузный бронхит, мелкоочаговую пневмонию. Также характерными являются и частые нарушения со стороны органов пищеварения, в том числе по-

нижение аппетита, колит, диспепсия. Печень и селезенка значительно увеличены в размерах и в период ремиссии медленно возвращаются к своим нормальным размерам. В картине крови наблюдается значительное увеличение СОЭ и лейкоцитоз. У детей дошкольного возраста начало болезни носит постепенный характер, при этом выявляется увеличение периферических лимфоузлов, печени и селезенки. Ведущее место занимают функциональные нарушения со стороны нервной и сердечно-сосудистой систем, а со стороны ОДА изменения носят незначительный характер. У детей школьного возраста в патологический процесс вовлекается лимфатическая система, а изменения со стороны ОДА, периферической нервной и мочеполовой систем не столь обширны и глубоки.

Лечение больных бруцеллёзом

Высокий уровень потери трудоспособности и инвалидизации пациентов обуславливает актуальность проблемы лечения больных бруцеллёзом [14, 35]. Решение этой задачи требует комплексного подхода: с одной стороны - совершенствование диагностики и своевременное выявление больных, разработка современных методов первичной и вторичной профилактики заболевания и предотвращение реинфицирования, с другой - поиск и клиничко-патогенетическое обоснование эффективных методов этиотропной и патогенетической терапии и социальной адаптации пациентов.

Длительность госпитализации, рассчитанной для больных острым бруцеллёзом, составляет 26 дней, а при хроническом течении - 30 дней [106].

К основным направлениям в лечении больных бруцеллёзом, выделяемым в отечественных и зарубежных руководствах и рекомендациях, относятся: антибактериальная, противовоспалительная, гипосенсибилизирующая терапия, физиотерапия, а также симптоматические средства [106].

Составление плана терапевтических мероприятий осуществляется с учетом формы заболевания. Так, при наличии активного инфекционного процесса (острый, острый рецидивирующий, ХАБ в стадии обострения), сопровождающегося свободной циркуляцией возбудителя в кровеносном русле, требуется назначение антибактериальных средств [77]. При ХБ чаще всего на первое место выступают патологические иммунологические реакции, в связи с чем место этиотропной терапии занимает патогенетическая [2, 37]. Необходимо отметить, что наличие многочисленных очаговых проявлений и сопутствующей патологии при ХБ часто приводят к полипрагмазии и, соответственно, увеличению риска побочных реакций.

Антибактериальная (этиотропная) терапия составляет основу лече-

ния больных с острой и острой рецидивирующей формой бруцеллёза. При выборе антибактериального средства необходимо, прежде всего, учитывать чувствительность к нему бруцелл, а также преимущественно внутриклеточную локализацию возбудителя и механизм транспорта лекарственного препарата внутрь клетки. Имеет значение спектр побочных эффектов антибиотика и совокупность органопатологии у больного, наличие индивидуальной непереносимости медикаментов [42].

Многочисленные экспериментальные и клинические исследования позволяют выделить группы антибактериальных средств, эффективных при лечении бруцеллёза. К ним относятся препараты тетрациклинового ряда, аминогликозиды, рифампицин, триметоприм с сульфаметоксазолом, цефалоспорины III поколения, фторхинолоны.

Среди антибиотиков тетрациклинового ряда наиболее перспективно использование *доксциклина (вибрамицина)* и *метациклина (рондомицина)* [51, 65]. Ряд авторов предлагает применять для лечения бруцеллёза рифампицин в сочетании с *доксциклином* или в виде монотерапии [2], однако имеются также сообщения о неэффективности комбинации данных препаратов [105]. Возможна комбинация *доксциклина* или триметоприма с сульфаметоксазолом и препаратов группы аминогликозидов - *стрептомицина* или *гентамицина* [2, 22]. Данные мета-анализа показывают, что монотерапия и длительность лечения антибиотиками менее 30 дней дают более высокий процент рецидива, чем сочетание двух и более антибиотиков и длительный (не менее 6 недель) курс терапии. Продолжительность лечения должна определяться клиническими проявлениями, наличием осложнений. Ряд авторов рекомендуют применение нескольких курсов антибиотикотерапии со сменой комбинаций препаратов (*уровень доказательности А*) [107].

В последнее время в практике этиотропной терапии все чаще используется комбинация триметоприма с сульфаметоксазолом (*бисептол, Ко-тримоксазол*). Терапевтический эффект связывают с возможным воздействием триметоприма на внутриклеточно расположенные бруцеллы [86]. Имеются данные об эффективности комбинации *бисептола с рифампицином*, особенно высокой при эндолимфатическом пути введения *бисептола* [50].

В настоящее время все чаще в качестве средств этиотропной терапии стали применяться антибиотики группы цефалоспоринов (*цефтриаксон* [54]) и фторхинолоны (*офлоксацин, цiproфлоксацин, пефлоксацин, левофлоксацин* [66, 70, 100]), которые, обладая широким спектром действия, бактерицидной активностью и относительно низкой токсичностью, могут рассматриваться как альтернативные препараты для лечения бруцеллёза.

В качестве рекомендуемой используют одну из схем лечения (длительность лечения до 1,5 мес.):

- доксициклин внутрь по 100 мг 2 р.в.д.+стрептомицин в/м по 1 г/сут. (первые 15 дней);

- доксициклин внутрь по 100 мг 2 р.в.д.+рифампицин внутрь по 600-900 мг/сут. в 1-2 приема;

- ко-тримакозол внутрь по 960 мг 2 р.в.д.+рифампицин внутрь по 600 мг 1-2 р.в.д. или стрептомицин в/м по 1 г 1 р.в.д. [106].

Существуют рекомендации по антибактериальной терапии отдельных очаговых поражений при бруцеллёзе. Так, в лечении нейробруцеллёза (менингиты, менингоэнцефалиты) наиболее эффективной оказалась комбинация *рифампицина* и *тримоксазола*, а также *доксициклин*, *стрептомицин*, *цефтриаксон* и *ципрофлоксацин* [80, 81].

В лечении спондилитов наилучшие результаты были достигнуты при использовании комбинации препаратов: *стрептомицин* + *доксициклин* + *рифампицин* [64]. В лечении артритов, остеомиелита результативными являются следующие антибиотики: *гентамицин*, *рифампицин*, *триметоприм* + *сульфаметоксазол*, *ципрофлоксацин* [100].

При пневмониях, бронхитах, вызванных бруцеллами, оказались эффективны комбинации: *доксициклина* и *стрептомицина* [55]; *доксициклина* и *рифампицина* [89]; *офлоксацина* и *рифампицина* [70]. В лечении бруцеллёзных эндокардитов показана целесообразность применения комбинации *доксициклина*, *рифампицина* и *ципрофлоксацина* [53].

Необходимо отметить, что при наличии широкого круга антибактериальных средств и различных схем терапии общей рекомендацией остается достаточная длительность назначения этиотропной терапии. Непрерывный курс (его преимущество над прерывистой схемой доказано рядом исследований) продолжается в среднем 30 дней, доходя до 3-6 месяцев [14, 47]. Следует помнить о наличии побочных эффектов при лечении антибиотиками, например, при лечении рифампицином могут возникать гематологические нарушения [104].

Однако применение антибиотиков в лечении бруцеллёза полностью не решило проблемы терапии. В первую очередь это связано с тем, что даже при полном курсе лечения рецидивы наступают, по усредненным статистическим данным, у 7 % больных в первые 1,5 месяца после клинического выздоровления, у 44-48 % заболевание переходит в хроническую форму [2, 14].

Кроме того, повторные и длительные курсы антибиотикотерапии ведут к резкому возрастанию сенсбилизации организма, особенно на фоне иммунопатологии, вызванной бруцеллёзным процессом. Актуализируется проблема побочного действия лекарственных средств. Так, по дан-

ным Г.В. Возженниковой [7], частота побочных реакций увеличивается с 16,8 % при остром бруцеллёзе до 31,5 % при хроническом. В структуре последствий лекарственной терапии при ХБ преобладает поражение желудочно-кишечного тракта (обострение язвенной болезни желудка и хронического гастрита и т.д.) - 62,7 %. Побочные реакции немедленного типа (анафилактический шок, отек Квинке, крапивница и т.д.) встречаются в 8,5 % случаев, отмечаются также токсические реакции, развитие дисбактериоза [7].

Необходимо помнить, что антибиотики могут инициировать образование L-форм бруцелл и, соответственно, способствовать длительному сохранению возбудителей в организме [4].

К перспективам антимикробной терапии при бруцеллезе можно отнести создание новых лекарственных форм. Так, Н.Г. Тихоновым с соавт. [40] были предложены липосомальные формы препаратов с высоким содержанием *гентамицина* и *доксциклина*, что позволило значительно повысить проникающую способность антибиотиков через биологические мембраны. И.Ф. Таран с соавт. [33] разработаны схемы оптимального этиотропного лечения бруцеллезной инфекции липосомальными формами антибиотиков. В эксперименте на мышах доказана эффективность сочетанного применения антибиотиков и иммуномодуляторов [24]. Продолжаются также работы по исследованию новых лекарственных средств для лечения бруцеллёза, в частности фусидиновой кислоты [74].

Накопление сведений о важнейшей роли иммунной системы в хронизации бруцеллезной инфекции явилось основанием для использования иммуномодулирующих средств [28, 37]. В лечении бруцеллёза использовались иммунокорректоры самых различных групп: иммуномодуляторы эндогенного (иммунорегуляторные пептиды, цитокины, интерфероны) и экзогенного происхождения (пирогенал, зимозан, продиогизан, ликопид, бактериальные лизаты *K. pneumoniae*), синтетические иммуномодуляторы (левамизол, пентоксил, метилурацил, иммунофан, производные 4-изопропилтолуена) [1, 19].

Одними из первых для лечения больных бруцеллёзом стали использоваться неспецифические модуляторы иммунитета, такие как *пирогенал* и *зимозан*, *продигиозан* [43]. Это препараты, относящиеся к группе бактериальных полисахаридов, оказывающие пирогенное и неспецифическое стимулирующее действие: активация системы гипофиз-кора надпочечников, стимуляция фагоцитарной активности ретикулоэндотелиальной системы, повышение γ -глобулинов в сыворотке крови, понижение экссудативного компонента воспалительной реакции, а также способствующие регенеративным процессам, активации рассасывания патологических рубцов и спаек. Кроме того, на фоне *пирогенала* улуч-

шается проникновение химиотерапевтических веществ в очаг поражения.

В качестве иммуномодулирующего средства показано назначение *витамина А*. Это вещество участвует в физиологических процессах, стимулирует митоз, синтез ДНК, иммунные механизмы, действует как антагонист кортизона. Экспериментальные и клинические исследования показали возможность коррекции нарушений иммунитета витамином А при бруцеллёзе. Установлено, что *витамин А* повышает клеточный иммунитет и ускоряет санацию организма морских свинок, сенсibilизированных бруцеллами вакцинного штамма *B. abortus-19 BA* [28, 31].

В комплексной терапии бруцеллёза определенные успехи достигнуты при применении препаратов тимуса (*тималина, тимогена, Т-активина*) [37]. В основе механизма действия тимических факторов лежит их регулирующее действие на внутриклеточные биохимические процессы и экспрессию дифференцировочных антигенов на поверхности лимфоцитов, а также ингибирующее действие на глюкокортикоидную функцию надпочечников. Кроме того, они обладают способностью нивелировать действие микробных токсинов, повышают эффективность химиопрепаратов, улучшают костно-мозговое кроветворение.

При бруцеллёзе существуют показания для использования в качестве иммуномодулирующей терапии препаратов интерферона [31]. Несомненное преимущество имеют рекомбинантные препараты, отличающиеся очень высокой степенью очистки. Имеются данные об эффективности применения в комплексном лечении больных бруцеллёзом рекомбинантного α -2a-интерферона (*Реаферона*) [28]. Включение α -интерферона в комплексную терапию больных бруцеллезом способствует более быстрому и выраженному исчезновению симптомов интоксикации, нормализации температуры тела, регрессии инфекционно-аллергических воспалительных очаговых процессов в органах и тканях, сокращению до нормы размеров печени и селезёнки, ликвидации или уменьшению размеров периферических лимфоузлов, восстановлению физической и умственной работоспособности, нормализации иммунологических показателей.

Вместе с тем многолетние исследования эффективности применения препаратов интерферона выявили значительные побочные эффекты и недостатки, ограничивающие и лимитирующие использование этих препаратов в клинике (цит. по [44]): гриппоподобный синдром, сахарный диабет, заболевания щитовидной железы, синдром депрессии, аутоиммунный синдром, угнетение костно-мозгового кроветворения, гемолитическая анемия, лейкопения, тромбоцитопения, ишемический колит, мелена, сепсис, отслоение сетчатки, ухудшение слуха, импотенция (встречаемость синдромов до 1,5 %, большинство носят обрати-

мый характер). Кроме того, на сегодняшний день лечение препаратами интерферона остается достаточно дорогим [9].

Сущность альтернативного пути, лишённого недостатков, о которых говорилось выше, сводится к включению в организм собственной системы эндогенного интерферона, который осуществим при помощи препаратов - интерфероногенов.

Одним из препаратов, обладающих способностью стимулировать выработку эндогенного интерферона и хорошо зарекомендовавших себя в лечении ревматических заболеваний [44], вирусно-бактериальных инфекций [45], является циклоферон (метилглюкамина акридон-цитат, производитель - НТФФ «Полисан», Санкт-Петербург, Россия). Предпосылкой для использования циклоферона в составе комплексной терапии больных бруцеллёзом явилось доказанное многочисленными экспериментальными и клиническими исследованиями наличие у него ряда положительных фармакологических свойств: сочетание высокой биологической активности с низкой токсичностью, отсутствие аллергенного, мутагенного и эмбриотоксического действия на организм человека, метаболического расщепления в печени и кумулирования в организме, хорошая сочетаемость с традиционными терапевтическими средствами лечения (антибиотики, витамины, иммуностропные препараты и т.д.) [34, 44], а также способность оказывать разноплановое корригирующее действие на иммунную систему и воспалительную реакцию, подавлять факторы персистенции внутриклеточных бактерий [10, 44]. Использование циклоферона при ХБ, кроме того, обосновано патогенетически, поскольку при формировании хронических форм инфекции важную роль играет развитие иммунопатологических реакций, в первую очередь - реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) [2]. Особенно интенсивно идет формирование ГЗТ - гранулем в активную фазу заболевания, о чем свидетельствуют, в частности, полученные данные о высоком уровне провоспалительных цитокинов [48, 49], подтверждающие патологический характер функциональной кооперации между Т-, В-клетками и макрофагами в очаге воспаления и формирование «самостимуляции» макрофагов под действием секретов этих клеток [46]. В этих условиях лечение больных с ХБ должно быть направлено, с одной стороны, на разрыв патологической кооперативной связи и снижения флогогенной активности макрофагов, с другой - на создание оптимальных условий для реализации их микробицидного потенциала. Для решения этой сложной задачи требуется использование препаратов, обладающих иммуномодулирующим и противовоспалительным действием, что характерно, в частности, для циклоферона.

В последние годы интенсивно изучается клиническая эффективность препаратов класса цитокинов. В частности, рекомбинантно-

го интерлейкина-2 человека - *ронколейкина*, обладающего широким спектром иммуномодулирующих эффектов. При бруцеллёзе изучено назначение *ронколейкина* на фоне этиотропной терапии спустя 5-7 дней после начала приема ципрофлоксацина [11]. Отмечено, что улучшаются не только клиническое состояние пациентов (после стадии обострения, наблюдающейся на 1-2 инъекции), но и иммунологические показатели.

Особое место в лечении различных форм бруцеллёзной инфекции занимает вакциноterapia [2, 3, 47]. Это связано с тем, что, несмотря на длительное использование лечебной вакцины, пока еще отсутствует единое мнение о механизме ее терапевтического эффекта. Е.С. Белозеров [2] считает, что внутривенное введение вакцины может вызывать иммунологическую толерантность путем блокады иммунного ответа. Известно, что при иммунологической толерантности подавляется выработка иммуноглобулина Е, с которым связано развитие реакций гиперчувствительности I немедленного (реагинового) типа. Предполагается, что в этом заключается механизм гипосенсибилизирующего действия вакцины.

Результаты клинических исследований, проведенных в разные годы, дают противоречивое представление об эффективности вакцинотерапии [12, 17]. Успех во многом определяется выбором способа, дозы и курса терапии, зависящим от учета исходного состояния пациента, фазы инфекционного процесса, сопутствующей терапии, фоновой патологии т.д. Вакциноterapia, как и любой лечебный метод, имеет свои показания и противопоказания и при нерациональном применении (неадекватный реактивности организма и уровню сенсибилизации выбор дозы и способа введения) может привести к обострению заболевания, вызвать очаговые реакции. У отдельных больных вместо гипосенсибилизации развивается гиперсенсибилизация. Кроме того, вакциноterapia также не предотвращает переход болезни в хроническое течение. К настоящему времени большинство отечественных и зарубежных исследователей подвергают сомнению эффективность ее применения, что привело к исчезновению данной методики из широкой практики [106]. Существует необходимость в разработке лечебных вакцин, не обладающих сенсибилизирующим и иммунодепрессивным действием.

Патогенетическая терапия показана при всех формах бруцеллёза. При выраженном интоксикационном синдроме (что встречается редко при современном течении бруцеллёза) рекомендовано парентеральное введение дезинтоксикационных средств: *поливидон*, растворы *глюкозы* и т.д. При развитии поперечного миелита и случаях тромбоцитарной микроангиопатии при бруцеллёзе с успехом использовались сеансы плазмафереза [85, 88].

В комплексном лечении больных бруцеллёзом применяют препараты, улучшающие гемореологические свойства крови, регулирующие окислительно-восстановительные процессы в клетках и тканях организма, благоприятно влияющие на трофику тканей и процессы регенерации сосудистой стенки (*олифен, альфа-токоферол ацетат, кокарбоксилаза, мексидол* и др.) и относящиеся к средствам метаболической терапии [1, 39].

С учетом роли эндогенной интоксикации в развитии патологического процесса при ХБ, включая нарушения функциональной активности миокарда, перспективным представляется использование в лечении больных данной формой бруцеллёза комбинированных метаболических средств, к которым относится цитофлавин. Препарат «Цитофлавин» производства НТФФ «Полисан» представляет собой сбалансированный комплекс из двух метаболитов (янтарная кислота, рибоксин) и двух коферментов-витаминов - рибофлавина-мононуклеотида (витамин В2) и никотиамида (витамин РР).

Учитывая важную роль в формировании органопатологии при бруцеллёзе реакции гиперчувствительности показано назначение десенсибилизирующих средств (преимущественно группы стабилизаторов мембран тучных клеток - *кетотифен, азеластин, лодоксамид, цетиризин, недокромил* и др.) [14].

При тяжелом течении острого рецидивирующего и ХБ с преимущественным поражением центральной и периферической нервной системы (менингиты и менингоэнцефалиты, невриты и плекситы), сердечной мышцы (миокардит) и в некоторых случаях выраженных изменений со стороны ОДА (сacroилеит, полиартрит) показано назначение кортикостероидных гормонов [14]. При стойких поражениях ОДА кортикостероидные гормоны (*дипроспан, гидрокортизон, дексаметазон, метилпреднизолон, триамцинолон*) вводятся в полость сустава или в околосуставную сумку [16].

Лечение при наличии очаговых поражений (ХАБ, реже - острый рецидивирующий бруцеллёз), в целом, проводится в соответствии с общепринятыми подходами к терапии при той или иной нозологии. Однако учет особенностей бруцеллёзной инфекции делает решение этой задачи более эффективным.

Наиболее часто при ХБ встречается патология ОДА, отличающаяся многообразием механизмов костно-суставных поражений и клинических форм, что необходимо учитывать при выборе тактики лечения. Так, И.А. Касаткина, Н.Д. Беклемешев [15] выделяют четыре вида поражений ОДА при бруцеллёзе: артралгии нервно-вегетативного происхождения; метастатические (собственно микробные) поражения костей, суставов; инфекционно-аллергические артриты, бурситы,

пери- параартриты; системные полиартриты аутоиммунного генеза. Многие исследователи обращали внимание на быстрое развитие пролиферативно-репаративных и дегенеративных явлений со стороны костных тканей и связочного аппарата на фоне деструкции костной ткани при бруцеллёзе [3, 94]. Длительно текущий рецидивирующий воспалительный процесс, сопровождаясь выработкой провоспалительных цитокинов, которые в свою очередь реализуют высвобождение повреждающих коллаген и протеогликаны ферментов - коллагеназ, стромелизина, а также простагландинов и активаторов плазминогена, приводит к деградации хряща [16]. Таким образом, длительное течение заболевания при бруцеллёзе способствует развитию остеоартроза, частота которого возрастает с увеличением давности процесса.

Исходя из вышесказанного, при лечении поражений ОДА у больных бруцеллёзом выбор метода осуществляется с учетом вида и генеза имеющихся нарушений по принципам, предложенным для терапии подобных нарушений иной этиологии. Например, наличие гнойного метастатического очага требует назначения антибактериальных средств, к которым чувствительны бруцеллы. Для уменьшения боли и признаков синовита используют нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) [3, 14]. При упорных рецидивирующих синовитах, а также наличии проявлений аутоиммунного характера показано длительное назначение хинолиновых препаратов (*хлорохин, гидрохлорохин, колхицин*), которые обладают противовоспалительным, легким иммуносупрессивным действием, а также улучшают метаболизм в хрящевой ткани [16].

Необходимо помнить, что болевой синдром при бруцеллёзе может иметь различный генез, без выяснения которого нельзя рассчитывать на успешность терапии. Так, при хроническом бруцеллёзе описаны разнообразные нарушения региональной гемодинамики, которые в совокупности с вегетативно-трофическими расстройствами приводят к формированию синдрома капилляротрофической недостаточности [5]. При выявлении клинических признаков нарушения внутрикостного кровообращения и затруднения венозного оттока (упорные ночные боли тупого характера, исчезающие или уменьшающиеся утром при ходьбе, от растирания и массажа болезненной области) требуется назначение блокаторов кальциевых каналов, *теоникола, венорутола, троксевазина, никошпана*, а также препаратов, улучшающих микроциркуляцию - *курантила, трентала* [16].

Часто встречающиеся при бруцеллёзе боли в мышцах также полиэтиологичны. Если при остром бруцеллёзе чаще этот синдром связан с интоксикацией, то при хроническом - болевой синдром носит преимущественно характер миофасциальных болей. Роль триггерных пунктов в этих случаях играют миофасциальный гипертонус или целлюлиты, расположенные

в алгических зонах [5]. При болевом синдроме, связанном со спазмом мышц, используют миорелаксанты - *баклофен, мидакалм, скутамил С, сирдалуд* [16].

Учитывая частое развитие остеоартроза при ХБ, необходимо предусмотреть при разработке терапевтического плана назначение хондропротективных препаратов (*артепарон, румалон, мукартрин, муко-сат, структум и дона*) [16] и методов, улучшающих функцию суставов (физиотерапия, массаж, лечебная физкультура) [20].

В лечении хронического бруцеллёза, а именно при наличии очаговых поражений особое место занимает физиотерапия, без которой невозможно получить стойкое улучшение при поражении ОДА и ПНС [2, 26]. Привлекательность этих методов при хроническом бруцеллёзе обусловлена как возможностью уменьшить токсическую нагрузку, количество побочных реакций, связанных с длительной лекарственной терапией, так и полифакторным действием на организм [26]. Так, ток д'Арсонваля оказывает тепловой и обезболивающий эффект, улучшая этим трофику тканей. Электрическое поле тока УВЧ улучшает кровообращение, питание тканей, стимулирует обмен веществ, усиливает рост соединительной ткани, оказывает противовоспалительное и болеутоляющее действие. Противовоспалительным, рассасывающим и болеутоляющим эффектом обладает диатермия. Поле тока СВЧ повышает обмен веществ, улучшает кровообращение и лимфообращение, снижает боль. Ультрафиолетовое облучение активизирует обмен веществ, стимулирует защитные силы организма, снижает повышенную чувствительность организма к различным раздражителям, улучшает кровообращение в тканях. Известно широкое использование для коррекции состояния больного бруцеллёзом воздействий различными физическими факторами, например, постоянным и переменным магнитным полем, низкоинтенсивным электромагнитным излучением (ЭМИ) сверхвысокочастотного диапазона.

В реабилитации больных бруцеллёзом известно использование постоянного электрического тока малой силы и низкого напряжения в сочетании с введением при помощи тока лекарственных веществ; ультразвук; электронейростимуляции; лазеротерапии.

Отмечено, что бóльшей эффективностью при лечении бруцеллёза по сравнению с общепринятыми методами физиотерапевтического воздействия обладают различные методы рефлексотерапии (классическая акупунктура, электропунктура, аурикулотерапия).

Однако, как отмечают многие клиницисты, физиотерапевтические процедуры могут спровоцировать обострение хронического бруцеллёза, они противопоказаны при хронических заболеваниях с выраженной патологией ССС, печени, почек и т.д., онкологических заболеваниях.

Таким образом, наличие широкого спектра сопутствующей патологии у больных ХБ значительно ограничивает возможности физиотерапии.

Эффективным методом лечения поражений ОДА при бруцеллезе является массаж, который благоприятно влияет на нервно-мышечный аппарат, активизирует периферическое кровообращение, улучшает трофику тканей сустава, способствует укреплению мышц. Однако он противопоказан при обострении хронического активного бруцеллёза, наличии вторичного синовита на фоне выраженного остеоартроза (II - III ст. заболевания).

Особое внимание (в первую очередь при лечении хронических форм заболевания) следует уделять поражению вегетативной нервной системы в связи с высокой распространенностью данной патологии при бруцеллёзе (по данным разных авторов, в 70-90 % случаев), важной роли нарушений ее функционирования в генезе многообразной органопатологии при этой инфекции, значимого влияния на качество жизни больного. При проведении патогенетической терапии вегетососудистых расстройств необходимо учитывать их характер (симпатический или парасимпатический), выявлять факторы, провоцирующие пароксизмальные нарушения, для коррекции образа жизни пациента.

Лечение больных хроническим бруцеллёзом невозможно без выведения пациента из состояния дизадаптации и восстановления способности организма адекватно отвечать на внешние и внутренние воздействия. Перспективно для этих целей в качестве метода лечения использовать низкоинтенсивное воздействие электромагнитным излучением крайневисокочастотного (ЭМИ КВЧ) диапазона.

Обнаруженные при проведении ряда экспериментальных и клинических исследований такие свойства низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ диапазона, как: иммуномодулирующее, обезболивающее действие, способность улучшать микроциркуляцию, устранять различные нейродистрофические процессы, гармонизировать эмоциональную сферу и приводить к нормализации психофизиологические показатели [41] - являются основанием для применения данного вида воздействия для лечения заболевания с таким сложным патогенезом и органопатологией как бруцеллёз.

Эффективность лечения бруцеллёза зависит от преемственности стационарно-поликлинического и санаторно-курортного этапов лечения. При этом последний, использующий чаще всего грязебальнеотерапию, оказывается чрезвычайно важным в курации больных ХБ [2, 14].

Взгляды на показания и противопоказания к санаторно-курортному лечению постоянно пересматриваются, что связано с накоплением клинического опыта и совершенствованием методик. Анализ литературных данных об эффективности и возможных неблагоприятных по-

следствиях позволяет выделить основные моменты, касающиеся санаторно-курортного лечения:

- в связи с возможностью обострений болезни под влиянием грязебальнеотерапии необходимо строгое разграничение показаний и противопоказаний к терапии на курортах;

- курортное лечение *противопоказано* больным с острой и острой рецидивирующей формой бруцеллёза;

- *показанием* к санаторно-курортному лечению является наличие у больного хронического активного бруцеллеза (не ранее чем через 3 месяца после перенесенного обострения), хронического неактивного и резидуального бруцеллёза;

- при очаговых поражениях больных следует направлять на грязевые курорты, а при преобладании функциональных нарушений в основном нервно-вегетативного генеза показаны бальнеологические курорты;

- учитывая то, что в большинстве курортов страны возможно применение обоих методов, а для бруцеллёза характерны многообразие и комбинация различных вариантов поражений, необходимо использовать современные методики, разработанные с учетом особенностей патогенеза органопатологии бруцеллёза;

- грязебальнеотерапия проводится больным до 65-летнего возраста; пациентам более старшей возрастной группы показано только климатическое лечение;

- учитывая возможность бальнеореакций, представляющих опасность активации бруцеллёза, грязебальнеотерапию рационально сочетать с медикаментозной терапией, в частности с включением седативных средств, повышающих эффект курортной терапии и уменьшающих угрозу выраженных бальнеореакций.

Заключение

Клиническая картина бруцеллёза на современном этапе характеризуется снижением тяжести течения острого бруцеллеза и преобладанием хронических форм инфекции. Единой классификации в настоящее время не существует. Выделены 5 клинических форм бруцеллеза: первично-латентная; остросептическая; первично-хроническая метастатическая; вторично-хроническая метастатическая; вторично-латентная. Предложена клиническая классификация, основанная на общепринятой классификации Г.П. Руднева (1955), при этом различают острую (длительностью до 1,5 месяцев), подострую (до 4 месяцев), хроническую (более 4 месяцев) и резидуальную (клиника последствий) формы.

Острый бруцеллёз может развиваться постепенно (чаще у пожилых лиц) или быстро. При постепенном начале заболевания на протяжении

различного времени (от нескольких суток до нескольких недель) больные жалуются на недомогание, разбитость, нарушения сна, снижение работоспособности, артралгии, миалгии. При обследовании отмечают субфебрилитет, иногда - увеличение периферических лимфатических узлов. В дальнейшем постепенно нарастают признаки интоксикации, температура тела становится высокой, появляются ознобы и проливные поты, появляется гепатоспленомегалия. Самочувствие больных вследствие умеренной интоксикации остается относительно удовлетворительным даже на фоне высокой температуры тела. Эта особенность часто является причиной затруднений при проведении дифференциальной диагностики заболевания.

Для подострого бруцеллёза характерно рецидивирующее течение. Лихорадочные периоды с температурной реакцией разной степени выраженности и продолжительности чередуются с периодами нормальной температуры тела. Уровень температуры подвержен значительным колебаниям даже в течение суток. Больных беспокоят диффузные боли в мышцах, костях и суставах, парестезии, эмоциональное угнетение, нарушаются сон и аппетит, развивается мышечная слабость, появляются сухость во рту, жажда, запоры.

Гораздо чаще, чем при остром бруцеллёзе, развиваются полиорганные поражения и аллергические реакции (экзантемы, дерматиты, и др.). В первую очередь наблюдают поражения опорно-двигательного аппарата: артриты и полиартриты, синовиты и т.д. Возможны поражения половой сферы - у мужчин орхиты и эпидидимиты, у женщин - расстройства менструального цикла, эндометриты, самопроизвольные аборты. Поражения нервной системы могут проявиться в виде плекситов, ишиорадикулитов.

Вариабельность клинических проявлений и рецидивирующее течение характерны для хронического бруцеллёза. Температурная реакция и другие проявления интоксикации слабые или умеренно выражены. Периоды обострений сменяют ремиссии, длительность которых может достигать 1-2 месяцев. Ухудшение состояния наблюдают при возникновении свежих очаговых процессов. В клинической картине хронического бруцеллёза преобладают очаговые поражения со стороны различных органов и систем.

Хронический активный бруцеллёз может длиться до 2-3 лет, а при повторном инфицировании - и значительно дольше.

Резидуальный бруцеллёз характеризуется остаточными нарушениями, в основном функционального характера вследствие иммуноаллергической перестройки и расстройств вегетативной нервной системы. Вместе с тем более тяжёлые последствия бруцеллёза могут быть связаны с развитием необратимых фиброзно-рубцовых изменений с

вовлечением нервных стволов, сплетений, корешков, что провоцирует появление разнообразных неврологических симптомов. Органические изменения ОДА, иногда развивающиеся у перенёсших бруцеллёз (деформации суставов, спондилёз, анкилозы, контрактуры, атрофия мышц), в ряде случаев.

При бруцеллёзе прогноз для жизни благоприятный. При адекватном лечении обычно наступает полное выздоровление. При остром неосложнённом бруцеллёзе клинические симптомы исчезают через 2-3 нед. однако лечение следует продолжать в течение 6 нед. и более. Рецидивы заболевания возникают в 5% случаев. Летальные исходы редки. Возможна инвалидизация в результате тяжёлых поражений опорно-двигательного аппарата и ЦНС.

Лечение пациентов с бруцеллёзом представляет собой серьёзную проблему. В ее основе лежит многообразие клинических форм болезни и определяющих их механизмов, что требует индивидуального подхода к терапии.

Антибактериальная терапия составляет основу лечения больных с острой и острой рецидивирующей формой бруцеллёза. При выборе антибактериального средства необходимо, прежде всего, учитывать чувствительность к нему бруцелл, а также преимущественно внутриклеточную локализацию возбудителя и механизм транспорта лекарственного препарата внутрь клетки. Оптимальным считают назначение двух антибиотиков, один из которых должен проникать через клеточную мембрану.

Согласно данным мета-анализа, монотерапия и длительность лечения антибиотиками менее 30 дней дают более высокий процент рецидива, чем сочетание 2 и более антибиотиков и длительный (не менее 6 недель) курс терапии. Продолжительность лечения должна определяться клиническими проявлениями, наличием осложнений. Ряд авторов рекомендуют применение нескольких курсов антибиотикотерапии со сменой комбинаций препаратов.

В терапии больных бруцеллёзом используются иммуномодуляторы: тимогексин, левамизол, препараты тимуса (тималин, тимоген, Т-активин), ликопад, тамерит и др. В настоящее время имеется положительный опыт применения цитокинов (ронколейкин, интерлейкина-1В). С меньшим уровнем доказательности рекомендуются способы лечения больных ХБ с использованием препаратов интерферона, его индукторов, а также их комбинаций. В период стойкой ремиссии при хронической форме и резидуальном бруцеллёзе назначают лечебную физкультуру, физиотерапевтическое и санаторно-курортное лечение (УВЧ, кварц, парафиновые аппликации, радоновые ванны).

Накопленный опыт позволяет выделить основные принципы реабилитации:

- реабилитационные мероприятия должны начинаться уже в периоде разгара или в периоде ранней реконвалесценции;
- необходимо соблюдать последовательность и преемственность проводимых мероприятий, обеспечивающих непрерывность на различных этапах реабилитации и диспансеризации;
- комплексный характер восстановительных мероприятий с участием различных специалистов и с применением разнообразных методов воздействия;
- адекватность реабилитационных и восстановительных мероприятий и воздействий адаптационным и резервным возможностям реконвалесцента, при этом важны постепенность возрастания дозированных физических нагрузок, а также дифференцированное применение различных методов воздействия;
- постоянный контроль эффективности проводимых мероприятий. При этом учитываются скорость и степень восстановления функционального состояния и профессионально значимых функций у переболевших [107].

Список литературы

1. Абусуева А.Г. Клинико-патогенетическая оценка различных методов лечения больных бруцеллезом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. / А.Г. Абусуева. - Нальчик, 1998. - 22с.
2. Белозеров Е.С. Органопатология при бруцеллезе / Е.С. Белозеров, Е.И. Змушко // Зоонозы: актуальные проблемы в клинике и эксперименте: сб. науч. труд. VI Республиканской науч.-практ. конф. - Махачкала, 2000. - С. 131-137.
3. Белозеров Е.С. Бруцеллез / Е.С. Белозеров. - Л.: Медицина, 1985. -184 с.
4. Бруцеллы и бруцеллез. Микробиология, иммунология, биотехнология / под ред. В.В. Сочнева. - Н.Новгород: Нижегородская гос. сельскохозяйственная академия. - 1998. - 246 с.
5. Брыжахин Г.Г. Клинико-физиологическая характеристика поражения нервной системы при бруцеллезе: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Г.Г. Брыжахин. - Семипалатинск, 1992. - 41с.
6. Верховский О.А. Перспективы использования ИФА в диагностике бруцеллеза животных и человека в России / О.А. Верховский, С.Л. Кальнов, О.Д. Скляр // Бруцеллез - пограничная инфекция животных и человека, требующая общих усилий разных стран: матер. Международного Рабочего Совещания, Серпухов, Московская обл., 2008. - Серпухов, 2008. - С. 9.
7. Возженникова Г.В. Клинико-иммунологическая характеристика побочных реакций медикаментозной терапии при бруцеллезе: автореф. дисс. ... канд. мед. наук / Г.В. Возженникова. - Ленинград, 1988. - 23 с.
8. Динамика функции внешнего дыхания у больных локомоторной формой хронического бруцеллеза под влиянием ЛФК/А.А. Мусамбеков, А.М. Дмитриевский, Н.Н. Макенов [и др.] // Мат. VI Росс. съезда врачей-инфекционистов. - СПб.: ВМедА, 2003. - С. 263.
9. Ершов Ф.И. Интерфероны / Ф.И. Ершов // Вопросы вирусологии. - 1998. - №6. - С. 247-252.

10. Ершов Ф.И. Циклоферон: от эксперимента - в клинику / Ф.И. Ершов, М.Г. Романцов. - М.: Медицина, 1997. - 92 с.
11. Жанкин А.А. Эффективность комплексной терапии хронического бруцеллеза с применением ронколейкина/А.А. Жанкин, Г.М. Курманова, К.Б. Курманова // Мат. VI Российского съезда врачей-инфекционистов. - СПб.: ВМедА, 2003. - С.129.
12. Жукова Л.И. Динамика некоторых иммунологических показателей при бруцеллезе на фоне проводимой терапии / Л.И. Жукова, Е.Н. Колос // Здравоохранение Казахстана. - 1989. - № 8. - С. 34-36.
13. Зубарева Е.В. Функциональное состояние сердечно-сосудистой системы, эндотоксикоз и системное воспаление у больных хроническим бруцеллезом: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.В. Зубарева. - Саратов, 2009. - 25 с.
14. Инфекционные болезни и эпидемиология: учебник / В.И. Покровский, С.Г. Пак, Н.И. Брико, Б.К. Данилкин. - 2-е изд., испр. - М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. - 816 с.
15. Касаткина И.А. Патогенез поражений суставов при бруцеллезе / И.А. Касаткина, Н.Д. Беклемешев. - Алма-Ата: Наука, 1976. - 232 с.
16. Клиническая ревматология: руководство для практических врачей / под ред. В.И. Мазурова. - СПб.: Издательство Фолиант, 2001. - 416 с.
17. Курманова К.Б. Аллерген бруцеллезный жидкий в комплексном лечении больных бруцеллезом / К.Б. Курманова, Ж.А. Сатыбалдиева, Е.В. Журина // Тер. Архив. - 1991. - № 11. - С. 80-81.
18. Клинико-иммунологическая и морфологическая характеристика патологии почек при бруцеллезе / А.З. Кутманова, В.Е. Те, Р.Р. Калиев, Г.А. Мурзалиева // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. - Т. VII, №1. - 2000. - С. 63-65.
19. Лебедев В.В. Иммунофан - синтетический пептидный препарат нового поколения: иммунологические и патогенетические аспекты клинического применения / В.В. Лебедев // Иммунология. - 1999. - № 1. -С. 25-30.
20. Лечение больных бруцеллезом: метод. рекомендации / Сост. Д.Р. Ахмедов, К.А. Шапов [и др.]. - М., 1995. - 25 с.
21. Линькова Ю.Н. Хронический бруцеллез: функциональные особенности периферической нервной системы и регионарной гемодинамики, оптимизация терапии: автореф. дис. ...канд. мед. наук / Ю.Н. Линьковой. - Саратов, 2009. - 26 с.
22. Лучшев В.И. Бруцеллез / В.И. Лучшев // РМЖ. - 2004. - С. 42-46.
23. Ляпина Е.П. Хронический бруцеллез: системное воспаление и эндотоксикоз, совершенствование терапии и эпидемиологического надзора: дис. ... д-ра мед. наук / Е.П. Ляпина. - Москва, 2008. - 310 с.
24. Малецкая О.В. Влияние иммуномоделирующих препаратов на эффективность этиотропной терапии при экспериментальном хроническом бруцеллезе / О.В. Малецкая // Иммунология. - 2003. - 24, №3. - С. 182-184.
25. Насонова В.А. Рациональная фармакотерапия ревматологических заболеваний / В.А. Насонова, Е.Л. Насонова. - М.: Иттера, 2003. - 507 с.
26. Улащик В.С. Общая физиотерапия: учебник / В.С. Улащик, И.В. Лукомский. -Мн.: Интерпрессервис: Книжный Дом, 2003. - 512 с.
27. Островский Н.Н. Бруцеллез / Н.Н. Островский, Ю.Ф. Щербак // Руководство по инфекционным болезням / под ред. В.И. Покровского, К.М. Лобана. - 2-е изд., перераб. и доп. - М.: Медицина, 1986. - С.135-148.
28. Оценка иммунного статуса и дифференцированная иммунокоррекция при бруцеллезе: метод. рек. / Г.М. Курманова, А.К. Дусейнова, К.Б. Курманова, Н.Х. Спиричева. - Алматы, 2002. - 30 с.

29. Пат. 2159808 Российская Федерация, МПК7 C12N 1/20, A61K 39/10 Штамм бактерий *Brucella abortus*, используемый при получении моноспецифической сыворотки для идентификации бруцелл в R-форме: №99103256/13; Заявл. 16.02.99; Опубл. 27.11.00 / В.Г. Дальвадянц, Г.И. Лямкин, И.Ф. Таран, Л.В. Ляпустина, И.А. Соколова, В.Л. Панченко (РФ; Ставроп. науч.-исследовательский противочум. ин-т. - Бюл. № 33. RU).

30. Пат. 2242765 Россия, МПК7 G01N 33/531 Способ получения диагностической агглютинирующей сыворотки против бруцелл в L-форме: №2003112084/15; Заявл. 24.04.03; Опубл. 20.12.04 / Л.М. Михайлов, А.И. Калиновский, Н.М. Андреевская, В.А. Михайлов, Л.П. Репина (РФ; Иркут. н.-и. противочум. ин-т Сибири и Дальнего Востока. - Бюл. №35. RU).

31. Повышение эффективности антибиотикотерапии больных бруцеллезом путем коррекции нарушений иммунитета витамином А / К.Б. Курманова, Р.Ж. Инзанова, С.Ш. Сахишева [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. - 1990. - № 7. - С. 35-38.

32. Профилактика и лабораторная диагностика бруцеллеза людей. ГГСВ РФ: методические указания от 30.01.2003 N МУ 3.1.7.1189-03.

33. Разработка схем лечения экспериментальных инфекций (бруцеллез, туляремия, сибирская язва) липосомальными антибиотиками / Т.В. Таран, В.И. Ефременко, О.В. Малецкая [и др.] // Пробл. особо опас. инф-й. - 2002. - № 1. - С. 134-141.

34. Иммунодефицитные состояния: коррекция циклофероном: Руководство для врачей / М.Г. Романцов, Ф.И. Ершов, А.Л. Коваленко, С.Ю. Голубев. - СПб, 1998. - 80 с.

35. Руководство по инфекционным болезням / под рук. Ю.В. Лобзина. - СПб, 2000. - 936 с.

36. Смагина А.Н. Клинико-диагностическое значение показателей качества жизни и параметров психофункционального статуса при хроническом бруцеллезе, оптимизация комплексной терапии: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.Н. Смагина. - Саратов, 2007. - 25 с.

37. Сулейманов А.К. Клинико-иммунологические аспекты патогенеза, лечения, иммунореабилитации больных бруцеллезом: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / А.К. Сулейманов. - М., 1992. - 48 с.

38. Сякин Р.Р. Клинико-патогенетические подходы к совершенствованию терапии пародонтита у больных хроническим бруцеллезом: автореф. дис. ... канд. мед. наук. / Р.Р. Сякин. - Саратов, 2010. -24 с.

39. Титов В.В. Роль патофизиологических аспектов в совершенствовании дифференцированной терапии бруцеллеза / Титов В.В. // Зоонозы: актуальные проблемы в клинике и эксперименте: сб. науч. тр. VI республ. науч.-практ. конф. - Махачкала, 2000. - С. 98-104.

40. Тихонов Н.Г. Экспериментальное изучение эффективности липосомальных форм антибиотиков при лечении бруцеллеза / Н.Г. Тихонов, К.А. Ротов, А.И. Перепелкин // Проблемы особо опасных инфекций. - 1999. - С. 114-118.

41. Физиологические механизмы биологических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ / Е.Н. Чуюн, Н.А. Темурьянц, О.Б. Московчук [и др.]. - Симферополь: Эльньо, 2003. - 448 с.

42. Хоменко А.И. Антибиотики: химиотерапия инфекционных заболеваний. / А.И. Хоменко, С.К. Шадурская. - Ростов н/Д: Феникс, 2002. - 192 с.

43. Царфис П.Г. Иммунокоррекция у больных хроническим бруцеллезом на санаторно-курортном этапе лечения / П.Г. Царфис, Г.Г. Решетова // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. - 1990. - № 1. - С. 32-35.

44. Циклоферон в клинической практике: Методические рекомендации для врачей / под ред. В.А. Исакова. - СПб: Интермедика, 2002. - 48 с.
45. Циклоферон: итоги и перспективы клинического применения: аннотированный сборник / под. ред. Ф.И. Ершова. - СПб.: Медицина, 2000. -187 с.
46. Чеснокова Н.П. Воспаление / Н.П. Чеснокова, А.В. Михайлов. - Саратов: Изд-во Сарат. гос. мед. ун-та, 1999. - 165 с.
47. Шувалова Е.П. Бруцеллез / Е.П. Шувалова // Инфекционные болезни: учебник. - 5-е изд., перераб. и доп. - М: Медицина, 2001. - С. 185-199.
48. Хронический бруцеллез: диагностическое значение параметров системы липопероксидации, цитокинового профиля и маркеров синдрома эндогенной интоксикации / А.А. Шульдяков, Е.Г. Гладилина, Е.П. Ляпина, И.А. Бережнова - Инфекционные болезни. - 2006. - № 4 (2). - С. 48-50.
49. Клинико-лабораторные параллели при хроническом бруцеллезе и их значение в прогнозировании рецидива болезни / А.А. Шульдяков, О.Н. Молоткина, Е.П. Ляпина [и др.]. // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. - 2006. - № 1. - С. 153-155.
50. Эшонов О.Ш. Новый подход к лечению острого бруцеллеза / О.Ш. Эшонов, Н.Д. Давронов // Съезд врачей инфекционистов в г. Суздале М. - Киров, 1992. - Т. 2. - С. 208-211.
51. Ющук Н.Д. Бруцеллез / Н.Д. Ющук, Ю.Я. Венгеров // Лекции по инфекционным болезням. - Т. 1. - М: ВУНМЦ, 1999. - С. 322-338.
52. A case of brucella spondylodiscitis with extended, multiple-level involvement/ M. Ozden, K. Demirdag, A. Kalkan [et al.] // South Med J. - 2005. - Vol. 98, № 2. - P. 229-231.
53. A case of mitral stenosis complicated with seronegative Brucella endocarditis / T. Yavuz, M. Ozaydin, V. Ulsan [et al.] // Jpn. Heart J. - 2004. - Vol. 45, № 2. - P. 353-358.
54. Bacteremia by Brucella canis. Isolation with the Bact-Alert system/ R. Soloaga, A. Salinas, M. Poterallo [et al.] // Rev Argent Microbiol. - 2004. - Vol. 36, № 2. - P. 81-84.
55. Bilateral brucellosis psoas abscess: one case is related and literature review / J. Romero Otero, V. Martinez Silva [et al.] // Actas Urol Esp. - 2005. - Vol. 29, № 7. - P. 704-707.
56. Brucella endocarditis complicated with a mycotic aneurysm of the superior mesenteric artery: a case report / A.R. Erbay, H. Turhan, M. Dogan [et al.] // Int J Cardiol. - 2004. - Vol. 93, № 2-3. - P. 317-319.
57. Brucella endocarditis with repeated mitral valve replacement / S. Kalaycioglu, Y. Imren, D. Erer [et al.] // J. Card Surg. - 2005 (Mar-Apr). - Vol. 20, № 2. - P. 189-192.
58. Brucella endocarditis: clinical, diagnostic, and therapeutic approach/ J.M. Reguera, A. Alarcon, F. Miralles [et al.] // Eur. J. Clin Microbiol Infect Dis. - 2003 (Nov). - Vol. 22, № 11. - P. 647-650.
59. Brucella endocarditis: the importance of surgical timing after medical treatment (five cases) / I. Ozsoyler, L. Yilik, S. Bozok [et al.] // Prog Cardiovasc Dis. - 2005 (Jan-Feb). - Vol. 47, № 4. - P. 226-229.
60. Brucella spondylitis and sacroiliitis in the general population in Mumbai / Y.A. Gokhale, A.G. Ambardekar, A. Bhasin [et al.] // J. Assoc Physicians India. - 2003 (Jul). - Vol. 51. - P. 659-666.
61. Brucellar arthritis of knee in a child / A. Palanduz, L. Telhan, Y. Yildirmak [et al.] // Paediatr Child Health. - 2005 (Jan-Feb). - Vol. 41, № 1-2. - P. 76-77.
62. Brucellar orchiepididymitis/ J.M. Alapont Alacreu, L. Gomez Lopez, F. Delgado [et

- al.] // *Actas Urol Esp.* - 2004 (Nov-Dec). - Vol. 28, № 10. - P. 774-776.
63. A case of epididymo-orchitis and paravertebral abscess due to brucellosis / S. Cesur, A. Ciftci, T.H. Sozen, E. Tekeli // *J. Infect.* - 2003 (May). - Vol. 46, № 4. - P. 251-253.
64. Comparison of five antimicrobial regimens for the treatment of brucellar spondylitis: a prospective, randomized study / Y. Bayindir, E. Sonmez [et al.] // *Chemother.* - 2003 (Oct). - Vol. 15, № 5. - P. 466-471.
65. Kaye D. Бруцеллез / D. Kaye, G. Robert Petersdorf // *Внутренние болезни. кн. 3.* - М.: Медицина. - 1993. - С. 359-363.
66. Efficacy of oral levofloxacin and dirithromycin alone and in combination with rifampicin in the treatment of experimental murine *Brucella abortus* infection / B. Arda, M. Tuncel, T. Yaimazhan [et al.] // *Int J Antimicrob Agents.* -2004 (Feb). - Vol. 23, № 2. - P. 204-207.
67. Esragül A.A. complication of brucellosis: Epididymoorchitis / A. Esragül, A.A. Esragül // *International journal of infectious Diseases*, 2006 (March). - P. 171-177.
68. Gencer S. Spontaneous bacterial peritonitis caused by *Brucella melitensis* / S. Gencer, S. Ozer // *Scand J. Infect. Dis.* - 2003. - Vol. 35, № 5. - P. 341-343.
69. Hatipoglu C.A. Pulmonary involvement in brucellosis / C.A. Hatipoglu, G. Bilgin, N. Tulek, U. Kosar // *J. Infect.* - 2005 (Aug). - Vol. 51, № 2. - P. 116-119.
70. Hepatitis B carriage and *Brucella* seroprevalence in urban and rural areas of Bolu province of Turkey: a prospective epidemiologic study / O. Karabay, E. Serin, A. Tamer [et al.] // *Turk J Gastroenterol.* - 2004 (Mar). - Vol. 15, № 1. - P 11-13.
71. Hepatosplenic brucellosis: clinical presentation and imaging features in six cases / E. Ruiz Carazo, F. Munoz Parra, M.P. Jimenez Villares [et al.] // *Abdom Imaging.* - 2005 (May-Jun.) - Vol. 30, № 3. - P. 291-296.
72. Hermida Lazcano I. Mixed cryoglobulinemia with renal failure, cutaneous vasculitis and peritonitis due to *Brucella melitensis* / I. Hermida Lazcano, L.S. Mendez, J.S. Santos // *J. Infect.* - 2005. - Vol. 51 (5). - P. 257-259.
73. Immune thrombocytopenic purpura associated with *Brucella* and *Toxoplasma* infections / E. Gurkan, F. Baslamisli, B. Guvenc [et al.] // *J Hematol.* -2003 (Sep). - Vol. 74, №1. - P, 52-54.
74. In vitro susceptibility of clinical isolates of *Brucella melitensis* to fucidic acid / I. Celik, M. Cihangiroglu [et al.] // *J. Infect Chemother.* - 2005 (Apr). - Vol. 11, № 2. - P. 101-103.
75. Jaffar A. Al-Tawfiq *Brucella* epididymo-orchitis: a consideration in endemic area / Jaffar A. Al-Tawfiq // *Int. braz j urol.* - 2006. - Vol. 32, № 3. - P. 26-29.
76. Kadanali A. Tc-99m polyclonal human immune-globulin scintigraphy in brucellosis / A. Kadanali, E. Varoglu, M. Kerek, M.A. Tasyaran // *Clin. Microbiol. Infect.* - 2005. - Vol. 11, №6. - P. 480-485.
77. Mahajan N.K. Immunogenicity of major cell surface protein(s) of *Brucella melitensis* Rev 1 / N.K. Mahajan, R.C. Kulshreshtha, G. Malik, J.P. Dahiya // *Vet. Res. Commun.* - 2005. - Vol. 29, №3. - P. 189-199.
78. Mazokopakis E. Acute brucellosis presenting with erythema nodosum / E. Mazokopakis, E. Christias, D. Kofteridis // *Eur. J. Epidemiol.* - 2003. - Vol.18, №9. - P. 913-915.
79. Epididymo-orchitis due to brucellosis: not only to be considered in endemic areas. Two cases for the price of three patients / A.A. Moens, F. Vlaspolder, J. Verlind, J.M. Sepers, F. Stam // *Urol Int.* - 2009. - Vol. 82, № 4. - P. 481-483.
80. Namiduru M. Guillain-Barre syndrome associated with acute neurobrucellosis /

M. Namiduru, I. Karaoglan, M. Yilmaz // *Int. J. Clin. Pract.* - 2003 (Dec). - Vol. 57, №10. - P. 919-920.

81. Neurobrucellosis: clinical features and therapeutic responses in 15 patients / S. Koussa, A. Tohme, E. Ghayad [et al.] // *Rev Neurol (Paris)*. - 2003 (Dec). - Vol. 159, № 12. - P. 1148-1155.

82. Pancytopenia a rare hematologic manifestation of brucellosis in children / M. Karakukcu, T. Patiroglu [et al.] // *J. Pediatr Hematol Oncol.* - 2004 (Dec). - Vol. 26, № 12. - P. 803-806.

83. Papatsoris A.G. Endemic brucellar epididymo-orchitis: a 10-year experience / A.G. Papatsoris, F.A. Mpadra, M.V. Karamouzis, C.Y. Frangides // *Int. J. Infect Dis.* - 2002. - № 6. - P. 309-313.

84. Pappas G. Immune thrombocytopenia attributed to brucellosis and other mechanisms of Brucella-induced thrombocytopenia/ G. Pappas, M. Kitsanou, L. Christou, E. Tsianos // *J. Hematol.* - 2004 (Mar). - Vol. 75, № 3. - P. 139-141.

85. Recurrent transverse myelitis following neurobrucellosis: immunologic features and beneficial response to immunosuppression / C. Krishnan, A.I. Kaplin, J.S. Graber [et al.] // *Neurovirol.* - 2005 (Apr). - Vol. 11, № 2. - P. 225-231.

86. Scintigraphic findings in osteoarticular brucellosis / M. Aydin, A. Fuat Yapar, L. Savas [et al.] // *Nucl Med Commun.* - 2005 (Jul). - Vol. 26, № 7. - P. 639-647.

87. Selimoglu, M.A. Autoimmune hepatitis triggered by Brucella infection or doxycycline or both / M.A. Selimoglu, V. Ertekin // *J Clin Pract.* - 2003 (Sep). - Vol. 57, № 7. - P. 639-641.

88. Severe thrombotic microangiopathy associated with brucellosis: successful treatment with plasmapheresis / F. Altuntas, B. Eser [et al.] // *Clin Appl Thromb Hemost.* - 2005 (Jan). - Vol. 11, № 1. - P. 105-108.

89. Singh, M. Pneumonic presentation of brucellosis / M. Singh, M. Salaria, L. Kumar // *Indian J Pediatr.* -2005 (Jan). - Vol. 72, № 1. - P. 65-66.

90. Brucella melitensis: a rarely suspected cause of infections of genitalia and the lower urinary tract / K. Stamatiou, K. Polyzois, S. Dahanis, T. Lambou, A. Skolarikos // *Braz J Infect Dis.* - 2009 (Apr). - Vol. 13, № 2. - P. 86-89.

91. Successful medical treatment of intracranial abscess caused by Brucella spp. / O. Kizilkilic, T. Turunc, T. Yildirim [et al.] // *J. Infect.* - 2005 (Jul). - Vol. 51, № 1. - P. 77-80.

92. Thrombocytopenia in brucellosis: case report and literature review/ A. Sevinc, N. Buyukberber, C. Camci [et al.] // *J. Natl Med Assoc.* - 2005 (Feb). - Vol. 97, № 2. - P. 290-293.

93. Treatment of Brucella endocarditis: our surgical experience with 6 patients/ M. Ozkokeli, Y. Sensoz, I. Kayacioglu [et al.] // *Heart Surg Forum.* -2005. - Vol. 8, № 4. - P. 262-265.

94. Turgut M. Brucellar spondylodiscitis in the lumbar region / M. Turgut, O.F. Sendur, M. Gurel // *Neurol Med Chir (Tokyo)*. - 2003 (Apr). - Vol. 43, № 4. - P. 210-212.

95. Unusual presentation of brucellosis in a child: acute blindness / B. Karapinar, D. Yilmaz, F. Vardar [et al.] // *Acta Paediatr.* - 2005 (Mar). - Vol. 94, № 3. - P. 378-380.

96. Use of the Brucella IgM and IgG flow assays in the serodiagnosis of human brucellosis in an area endemic for brucellosis / H. Irmak, T. Buzgan, O. Evirgen [et al.] // *J. Trop Med Hyg.* - 2004 (Jun). - Vol. 70, № 6. - P. 688-694.

97. Vajramani G.V. Neurobrucellosis presenting as an intra-medullary spinal cord abscess / G.V. Vajramani M.B. Nagmoti, C.S. Patil // *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* - 2005 (Sep). - Vol. 16. - № 4. - P. 14.

98. Yalaz M. Thrombocytopenic purpura as only manifestation of brucellosis in a child / M. Yalaz, M.T. Arslan, Z. Kurugol // Turk J. Pediatr. - 2004 (Jul-Sep). - Vol. 46, № 3. - P. 265-267.
99. Yilören Tanıdır Brucella epididymo-orchitis as the first presenting sign of brucellosis: a case report and review of the literature / Yilören Tanıdır, Abdülkadir Gümrah, Cem Akbal, Tufan Tarcan // Marmara Medical Journal. - 2008, Cilt 21, Sayı 1, Sayfa (lar) 056-060.
100. Yorgancigil H. Neglected case of osteoarticular Brucella infection of the knee/Croat / H. Yorgancigil, G. Yayli, O. Oyar // Med J. - 2003 (Dec). - Vol. 44, № 6. - P. 761-763.
101. Adetunji S.A. A systematic review and meta-analysis of the prevalence of osteoarticular brucellosis / S.A. Adetunji, G. Ramirez, M.J. Foster, A.A.M. Arenas-Gamboa // PLOS Negl Trop Dis. - 2019 (Jan18). - Vol. 13, № 1. - e0007112. doi: 10.1371/journal.pntd.0007112.
102. Mohseni K. A comparative Evaluation of ELISA, PCR, and Serum Agglutination Tests for Diagnosis of Brucella Using Human Serum / K. Mohseni // Iranian Journal of Pathology. - 2017. - Vol. 12, № 4. - P. 371-6.
103. Clinical features of 2041 human brucellosis cases in China // Shi Yujing, Hui Gao, G. Pappas, Q. Chen, Li Mei, Xu Jun, S. Lai, Q. Liao, W. Yang, Z. Yi, Z. Rouzi, H. Yu // PLoS One. - 2019 (Jan16). - Vol. 14, № 1. - e0211102. doi: 10.1371/journal.pone.0211102. eCollection 2019.
104. Sveroni D. Rifampicin: not always an innocent drug / D. Sveroni, A. Stefos, El. Riqopolou, G.N. Dalekos // BMJ Case Report. -2018 Dec 9. - Vol. 11, № 1. - e227356. doi: 10.1136/bcr-2018-227356.
105. Predictors of therapeutic failure among patients with acute brucellosis treated by dual therapy with doxycycline-rifampin / A.F. Alsaed Hasanain, M.A. El-Masry, A.A.H. Zaed, A.M.A. Nafee, R.A.H. Attia, S.M. Abdel-Aal // Trop Med Int Health. - 2018 (Nov 9). - doi: 10.1111/tmi.13179. [Epub ahead of print].
106. Ющук Н.Д. Инфекционные болезни / Н.Д. Ющук., Ю.Я. Венгеров. - М: ГЭОТАР-Медиа, 2018. - 1104 с. - (Серия «Национальные руководства»).
107. Ахмедов Д.Р. Бруцеллез у взрослых / Д.Р. Ахмедов, А.Р. Тагирбекова, С.А. Магомедова, И.В. Шестакова. - М: НП «Национальное научное общество инфекционистов», 2014. -71 с. - (Серия «Клинические рекомендации»).
108. Метод ПЦР в лабораторной диагностике бруцеллеза // Ю.К. Кулаков, М.М. Желудков, Т.А. Толмачева, Л.Е. Цирельсон // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. - 2010. - № 2 (51). - С. 29-33.
109. Нурпейсова А.Х. Клинико-лабораторные критерии диагностики и эффективности терапии хронического бруцеллеза: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А. Х. Нурпейсова. - СПб, 2009. - 20 с.

Лабораторная диагностика бруцеллёза у людей

Лабораторная диагностика бруцеллёза включает бактериологический, биологический, иммунологические и молекулярно-генетические методы [28, 29].

Бактериологический и биологический методы

Несмотря на то, что при диагностике бруцеллёза у людей бактериологическое подтверждение не является обязательным, и окончательный диагноз может быть поставлен по совокупности клинико-эпидемиологических данных, результатов серологических, молекулярно-генетических исследований и алергодиагностики, изоляция возбудителя из образцов клинического материала остается «золотым стандартом» в бактериологии, что является наиболее достоверным критерием для постановки диагноза «бруцеллёз» и обеспечивает возможность расследования вспышек бруцеллёзной инфекции [45]. Бактериологический метод предусматривает индикацию возбудителя в патологическом материале, выделение чистой культуры, ее идентификацию и дифференциацию [28]. Объектами исследования при бруцеллёзе у людей в зависимости от клинической формы являются: кровь, костный мозг, спинномозговая жидкость, пунктат из лимфатических узлов, моча, желчь, суставная жидкость (при артритах), гной (при абсцессах), мокрота, грудное молоко [8, 28]. Возбудители бруцеллёза являются патогенными микроорганизмами, представляющими известный риск для персонала лабораторий [24, 136].

Кроме того, индикация *Brucella* spp. является трудоемким методом и не всегда дает положительный результат [10]. Это связано с тем, что бактериемия при бруцеллёзе отмечается лишь на определенных стадиях болезни: выход бруцелл в кровь (фаза гематогенного заноса или первичная генерализация) совпадает с началом клинических проявлений. На фоне бактериемии идет процесс диссеминации бруцелл в различные органы с формированием метастатических очагов [4].

По данным Е.С. Арбатской с соавт. (1934), *B. melitensis* из крови больных выделяют в 62-90 % случаев [7]. W.B. Varham с соавт. (1993) указывают, что чувствительность культурального метода составляет около 50-70 % в случае острого бруцеллёза [58]. Выделение гемокультуры от больных бруцеллёзом, вызванным *B. abortus*, менее эффективно - в 5-15 %, что связано с кратковременностью бактериемии при заболеваниях, вызванных этим видом бруцелл [7]. Кроме того, частота высеваемости бруцелл из крови больных во многом зависит от периода инфекции и характера клинических проявлений. Бактерии чаще выделяют в остром периоде заболевания.

При хроническом бруцеллёзе получить гемокультуру удаётся лишь в единичных случаях [75, 168]. По данным А.М. Asaad, J.M. Alqahtani

(2012), при хроническом течении заболевания возбудитель бруцеллёза в крови был выявлен в 25,9 % случаев [39, 55].

Пункция и посев костного мозга являются более чувствительными методами бактериологического исследования - получение миелокультуры в несколько раз выше, чем выделение культуры из крови [7]. В.А. Малов (2011) утверждает, что при посеве костного мозга результативность метода достигает 92 % (против 70 % при исследовании культуры крови) и рекомендует использовать данный метод у пациентов с лихорадками неясного генеза, имеющих отрицательные результаты серологических методов исследования, при подозрении на хроническую форму бруцеллёза [18, 23].

Частота выделения культуры из мочи также зависит от периода заболевания и вида возбудителя. Бактериурия при бруцеллёзе наблюдается как при остром, так и при хроническом и даже резидуальном бруцеллёзе. В литературе описаны единичные случаи выделения из мочи культур *B. abortus* и *B. suis* [7].

Особенно трудно выделить возбудитель из материала, загрязненного посторонней микрофлорой [40]. Поэтому в этих случаях для получения культур бруцелл, а также при малой концентрации их в исследуемом материале применяется биологический метод, так как лабораторные животные (морские свинки и белые мыши) обладают высокой чувствительностью к заражению бруцеллами.

Одним из недостатков бактериологического метода является его длительность, связанная с медленным ростом (в течение нескольких недель) бруцелл *in vitro*. Метод лизис-концентрации, предложенный Н. Etemadi et al. (1984), заключающийся в добавлении к исследуемой крови ДВ для лизиса форменных элементов с последующим центрифугированием и высевам осадка, показал более высокую чувствительность по сравнению с методом Кастанеда и сократил время выделения возбудителя до двух-шести суток [83]. Автоматические системы культивирования, используемые за рубежом, такие как Bactec, BACT/ALERT и другие, тоже позволяют сократить время идентификации возбудителя с трех недель до нескольких дней. Однако В.А. Малов (2011) сообщает, что даже при индикации бруцелл с помощью современных автоматических культиваторов в 20-30 % случаях диагноз «бруцеллёз» бактериологически не подтверждается. Число таких пациентов существенно повышается за счет больных, до начала обследования получавших антибактериальную терапию [23]. Также недостатком автоматизированных систем биохимической идентификации, таких как API 20NE (bioMérieux), является невозможность идентификации *Brucella* spp. до видовой принадлежности [58]. Описаны случаи, когда виды бруцелл были неправильно идентифицированы как *Moraxella phenylpyruvica* и *Heatophilus influenzae* [58].

Нужно быть готовым к подобным ошибкам при использовании автоматизированных бактериальных идентификационных систем, т.к. определение вида присутствующих в исследуемом образце бактерий проводится на основе установления их ферментативной активности, которая может отличаться и у представителей одного вида.

Все варианты бактериологического и биологического методов могут проводиться только в специализированных бактериологических лабораториях при соблюдении противоэпидемического режима работы с возбудителями II группы патогенности. Они мало пригодны для исследования большого количества образцов и представляют известный риск инфицирования для персонала лабораторий. Регламентированные методы видовой идентификации - анализ потребности в CO_2 при культивировании, выработки H_2S , устойчивости к фуксину и тионину, способности агглютинироваться монорецепторными сыворотками, чувствительности к фагу «Тб» отличаются достаточной длительностью и трудоемкостью. Данные методы, основанные на изучении фенотипических свойств, имеют существенные недостатки, связанные с относительной однородностью фенотипических свойств штаммов возбудителя бруцеллёза, что определяет трудности в их межвидовой дифференциации [83, 107, 137].

Поэтому эти методы не нашли широкого применения в лабораторной практике. Объем бактериологических исследований на бруцеллёз в Российской Федерации ежегодно снижается. В 2017-2018 гг. они проводились только в административных субъектах с регистрируемой заболеваемостью населения. Было проведено 625 бактериологических исследований материала от людей и выделено более 30 культур бруцелл.

Иммунологические методы

Несмотря на всю сложность диагностики различных форм бруцеллёза, ключевыми (референсными) методами верификации диагноза остаются бактериологические и серологические методы исследования [23].

В настоящее время серологические тесты включают: реакции агглютинации (пластинчатая (Хеддлсона), реакция агглютинации Райта, РНГА, реакция Кумбса), ИФА, непрямой иммунофлуоресцентный метод. Серологические методы имеют ограничения: их чувствительность низкая на ранней стадии заболевания, а их специфичность снижается в областях, где заболевание является высокоэндемичным и происходят частые рецидивы заболевания [54]. Данные из стран Ближнего Востока выявили уровни серопревалентности в диапазоне от 8 % в Иордании [48] до 12 % в Кувейте [117].

Из серологических методов диагностики бруцелллезной инфекции,

используемых для обнаружения противобруцеллёзных антител, наиболее широко применяется реакция агглютинации, предложенная А. Райтом и Д. Семплом в 1897 г. [73]. Под названием реакции Райта она и на сегодняшний день остается одним из основных диагностических методов при бруцеллёзе ввиду простоты и надежности. По мнению многих авторов, эта реакция обладает высокой специфичностью. У людей реакция Райта становится положительной уже с первого дня лихорадочного состояния [7, 41]. Наиболее высокие титры РА наблюдаются обычно через 1-2 месяца после начала заболевания в фазе генерализации инфекции (в 80 % и более), а затем они начинают довольно быстро падать: так, в фазе очаговых поражений количество положительных результатов составляет 37,3 %, а при резидуальном бруцеллёзе - 34,7 %, причем титры не превышают 1:200 [8]. Выраженное колебание титров может наблюдаться даже в течение суток. Существует прямая зависимость между накоплением агглютининов в крови и степенью антигенного раздражения, поэтому наиболее высокие титры агглютининов наблюдаются при бактериемии [41]. Н.А. Жуманбаев (1978), Е.С. Белозеров (1985) отмечают, что через 7-8 месяцев от начала заболевания при отсутствии рецидивов РА становится отрицательной примерно у 50 % больных, а к концу года - у большинства из них. Агглютинины могут сохраняться в сыворотке на протяжении длительного времени - в течение 3-7 и даже 10 лет, что, вероятно, связано с повторным инфицированием или рецидивами заболевания [8]. В хронической стадии положительный результат реакции в титре 1:100 и выше убедительно подтверждает диагноз бруцеллёза и, по-видимому, говорит об активности процесса.

Необходимо иметь в виду, что сыворотки больных бруцеллёзом могут не обладать способностью агглютинировать. Описаны случаи, когда при многократных исследованиях реакция Райта давала отрицательный результат, при этом диагноз бруцеллёза был подтвержден выделением возбудителя из крови и положительной реакцией Бюрне (аллергической пробой). В связи с этим исключительный интерес представляет исследование I. Potasman et al. (1991) [139], в котором они приводят наблюдение за 16-летней пациенткой, у которой бруцеллёз проявился не только нетипичной клинической картиной, но и был серонегативным. Диагноз в последующем был верифицирован на основании выделения из крови культуры *B. melitensis*, хотя результаты серологических исследований оставались отрицательными. Авторы, проведя анализ литературных данных, приводят наблюдения P.J. Kelly и соавт., которые еще в 1960 г. отмечали, что сыворотка крови больных с бруцеллёзным поражением скелета может не содержать агглютининов, на обнаружении которых базируется классическая серологическая диагностика бруцеллёза.

Таким образом, при отрицательных результатах реакции агглютинации нельзя исключить бруцеллёзную инфекцию [9].

Реакция агглютинации Райта недостаточно диагностически информативна при эпидемиологическом обследовании групп риска по бруцеллёзу, т.к. не позволяет выявлять всех инфицированных [9].

Пластинчатая реакция агглютинации была предложена J.F. Huddlson (1943) и модифицирована Е.И. Кайтмазовой (1945). Эта реакция является методом ускоренной серологической диагностики бруцеллёза путем проведения реакции агглютинации на стекле с использованием неразведенной сыворотки крови больного и концентрированного антигена (взвеси убитых бруцелл в 12 %-ном растворе хлорида натрия), к которому прибавлены краски: генциановый фиолетовый и бриллиантовый зеленый. Преимуществами этой реакции являются ее доступность, быстрота получения результата, возможность использования в лабораториях любого уровня и экспедиционных условиях, а также применение в качестве скрининговых тестов в эндемичных популяциях для исключения острого бруцеллёза и при массовых эпидемиологических обследованиях [52]. Недостатком реакции Хеддльсона является то, что ею нельзя пользоваться при необходимости наблюдения за динамикой титров, а только для качественного определения присутствия агглютининов в крови больных бруцеллёзом. Таким образом, положительные результаты, полученные в реакции Хеддльсона, должны быть подтверждены другими реакциями: реакцией Райта, реакцией Кумбса или пробой Бюрне [9].

Роз-Бенгал проба представляет собой ускоренную реакцию агглютинации, которая проводится в кислой среде (рН 4,0), что препятствует неспецифическому связыванию антигена и антител. Реакция была первоначально использована в ветеринарии для дифференциации между ответом на инфекционный или вакцинный процесс у КРС. Роз-Бенгал проба нашла широкое применение и как метод серологической диагностики бруцеллёза у людей в связи с высокой достоверностью получаемых результатов. Исследования, проведенные *Andriopoulos P. et al.* (2015) [52], показали похожие результаты. Авторами были обследованы 83 пациента, все были профессионально связаны с животноводством. У всех была лихорадочная болезнь и различные очаговые поражения. У 100 % были положительные какие-либо серологические реакции (Роз-Бенгал проба или реакция Райта), из них у 12,5% были положительными обе реакции - Роз-Бенгал проба и реакция Райта в титре до 1:320. В 82,2% была выделена гемокультура. Оба теста имели высокую чувствительность (почти 100 %), специфичность 87,5 % и отрицательную прогностическую ценность (почти 100 %).

На сегодняшний день в мире предложено много вариантов сероло-

гических методов диагностики бруцеллёза, что косвенно свидетельствует об отсутствии идеального метода. В. Mantur et al. (2010) [119], О. Рабуццуоглу (2011) [134] отмечают, что ни один из серологических методов, используемых в диагностике бруцеллёза, не является на 100 % чувствительным и специфичным. Чувствительность серологических методов варьируется в диапазоне от 65 до 95 %, но специфичность, особенно в эндемичных регионах, из-за частого обнаружения антител невысока. Кроме того, серологические методы диагностики могут давать ложноположительные результаты с другими возбудителями (*V. cholerae*, *F. tularensis*, *Y. enterocolitica* - серотипы O:3 и O:9, *Yersinia pseudotuberculosis*, *S. typhimurium* и патогенными эшерихиями) [32], но, например, в реакции Райта титры сывороток при этом не превышают 1:100 - 1:200 [9]. Слабоположительная реакция Райта в разведениях 1:50 - 1:100 может наблюдаться и у здоровых женщин в последние месяцы беременности. Тем не менее быстрые и недорогие тесты, такие как Роз-Бенгал проба, реакция Хеддльсона и реакция Райта, все еще очень актуальны для диагностики острого бруцеллёза. Каждый положительный тест должен быть рассмотрен вместе с клиническими симптомами и эпидемиологическим анамнезом. Серологические методы могут использоваться в качестве скрининговых в эндемичных популяциях для исключения острого бруцеллёза.

В 1947 г. J.J. Griffiths [94] впервые обнаружил неполные (блокирующие) агглютинины у людей, переболевших бруцеллёзом. В отличие от полных антител неполные антитела не дают видимой невооруженным глазом реакции агглютинации со специфическим диагностикумом. При бруцеллёзе имеет большое диагностическое значение выявление неполных антител с помощью реакции Кумбса. По данным ряда авторов, они появляются раньше, чем агглютинины и сохраняются в сыворотке значительно дольше, чем агглютинирующие и комплементсвязывающие антитела. Е.С. Белозеров (1985) [3, 5] приводит результаты параллельного обследования больных: реакция Кумбса была положительна в острой фазе у 88,2 %; в подострой - у 86,9 % и в хронической - у 41,6 %, тогда как РА - у 76,8 %, 74,4 % и 21,1 % соответственно. Высокая чувствительность реакции доказана как у больных, так и у людей, находящихся в контакте с инфицированным материалом или животными. Выявление неполных антител является наиболее чувствительным методом, который позволяет судить об иммунной перестройке организма к бруцеллезному антигену. Похожее исследование было проведено Н. Colak et al. (1992) [73]. Авторы выявляли неполные иммуноглобулины класса Ig G и Ig A, образующиеся при хроническом бруцеллёзе, которые не выявлялись с помощью классического теста - реакции Райта. Однако эти антитела выявляли с помощью реакции Кумбса и иммуноферментного

анализа. В этом исследовании у всех пациентов был поставлен диагноз «хронический бруцеллёз». У 48,9 % пациентов с отрицательным результатом в реакции Райта были обнаружены специфические антитела Ig G (ИФА) и неполные антитела (реакция Кумбса). Реакцию Кумбса рекомендуют применять с целью ретроспективного выявления контакта с антигеном, изучения иммунологической структуры населения в очагах бруцеллёза, а также для диагностики бруцеллёза у людей и животных, особенно при хронических формах. Эта реакция ставится параллельно с реакцией Райта [11, 41].

Для серологической диагностики бруцеллёза используют реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА). Высокая специфичность и значительная чувствительность РНГА доказана G. Renoux et M. Renoux (1975); E.J. Young (1991). Гемагглютинины часто выявляются в сыворотке больных в тех случаях, когда все остальные реакции дают отрицательный или сомнительный результат. По данным М.И. Чернышевой с соавт. (1971), при остром и подостром бруцеллёзе гемагглютинирующие антитела обнаруживаются у 91-100 % больных. При хроническом бруцеллёзе они выявляются гораздо в большем проценте случаев (55-70 %), чем агглютинирующие антитела (17-35 %). При сравнении результатов исследования сывороток крови от больных хроническим бруцеллёзом П.А. Вершилова и др. (1969) получила следующие результаты: положительный результат РНГА был в 62 % случаев, а реакции Райта - только в 22 %. Схожие данные демонстрируют исследования М.И. Чернышевой с соавт. (1969, 1971, 1978) - 80 % и 17 % соответственно. К.Д. Дусейнов (1971) отмечает положительный результат РНГА при хронической форме болезни у 62 %, при резидуальной - у 17 %. Е.С. Белозеров (1985) [3] указывает на возможность использования РНГА для диагностики бруцеллёза при сомнительных случаях хронического и субклинического течения. Кроме того, использование РНГА при обследовании в так называемых «скрытых очагах» бруцеллёза позволяет выявить антитела в 45-70 % случаев при отрицательных или сомнительных результатах реакции агглютинации [9].

Иммунофлюоресцентный анализ

Одним из чувствительных и специфичных методов, применяемых для индикации бруцелл, является иммунофлюоресцентный анализ, позволяющий обнаружить возбудителя в мазках из материала, содержащего постороннюю микрофлору [8]. Данный метод позволяет обнаружить возбудитель бруцеллёза через 1-2 ч. после начала исследования, однако положительный результат может быть получен лишь при наличии в исследуемом материале сравнительно высокой концентрации микроорганизмов (не менее 1×10^5 - 1×10^6 м.к./мл). Поэтому при иссле-

довании нативного материала предварительно проводят концентрирование бактерий путем центрифугирования, фильтрации через мембранные фильтры или агглютинации диагностической бруцеллезной поливалентной сывороткой.

С целью повышения чувствительности МФА разработан способ индикации возбудителя бруцеллёза, предполагающий предварительное подращивание исследуемого материала в организме биопробных животных [47]. При этом подкожно белым мышам в область спины вводят 0,5 - 1,0 мл суспензии исследуемого материала в 0,9 % растворе натрия хлорида, которую предварительно смешивают с гепаринизированной кровью в соотношении 1:0,5 - 1:0,7. К приготовленной смеси из расчета на одно животное добавляют 0,5 мл куриного желтка, 5 - 7 мг кортизона и 90 - 120 мг сухого молока. Из содержимого, полученного из места введения, готовят мазки, которые окрашивают иммуноглобулинами диагностическими флуоресцирующими бруцеллезными лошадиными (ИДБЛ) [46]. Применение предложенного способа позволяет обнаружить клетки возбудителя бруцеллёза при их минимальной концентрации в исследуемом материале. МФА используется при исследовании фильтратов и центрифугатов проб воды, почвы и молока, а также на этапе идентификации выделенных культур бруцелл. Метод может применяться для исследования патологического материала от людей и животных. Положительный результат МФА при соответствующих клинических, патологоанатомических, эпидемиологических и эпизоотологических данных позволяет дать предварительный положительный ответ. Но он, как и любой другой метод, основанный на микроскопии, малопроизводителен, громоздок и не пригоден для скрининга большого количества объектов [10].

Непрямой метод флуоресцирующих антител (НМФА).

Данная реакция позволяет выявлять как полные, так и неполные специфические бруцеллезные антитела [20]. Выявление комплекса антиген + антитело в непрямом МФА осуществляется с помощью меченой флуоресцеина изотиоцианатом (ФИТЦ) антиглобулиновой сывороткой (сыворотка кролика, содержащая антитела против иммуноглобулинов человека). Реакцию считают положительной при наличии специфического свечения с сывороткой людей, начиная с разведения 1:4.

Иммуноферментный анализ (ИФА).

Несмотря на большие успехи, достигнутые в диагностике бруцеллёза человека после внедрения автоматизированных методов посева крови, диагностика этого заболевания все еще основывается, главным образом, на серологических и молекулярных методах. Среди совре-

менных серологических тестов ИФА является наиболее чувствительным, специфичным, экономичным и простым в исполнении [76, 167]: совпадение между наличием Ig M и Ig G в ИФА и диагностических титров в реакции агглютинации Райта были обнаружены в 88,5 % случаев и только в 9 % случаев результаты были отрицательными в обоих тестах (ИФА и реакции Райта). Похожие данные были описаны и другими авторами, которые указывают, что обнаружение Ig M более информативно для острого бруцеллёза, тогда как Ig G являются более показательными для диагностики подострой и хронической инфекции [118, 119, 133].

Тесты, выявляющие повышенную сенсibilизацию организма к бруцелллёзному антигену

Одним из ключевых моментов в патогенезе бруцеллёза является аллергическая перестройка организма, которая влияет на клиническое течение заболевания [9, 41]. В настоящее время для выявления сенсibilизации организма разработан комплекс методов, включающий кожные пробы и аллергологические тесты *in vitro* [13, 14, 38].

Н.Д. Беклемишев (1971) указывал на превалирующую роль реакций повышенной чувствительности замедленного типа как на проявление гиперчувствительности в формировании симптомокомплексов при бруцеллёзе. Это свойство сенсibilизированных тканей специфически отвечать местной реакцией на внутрикожное введение антигена используется в широкой практике под названием внутрикожной пробы Бюрне [9].

Кожно-аллергическая проба с бруцеллином (проба Бюрне) была разработана во второй половине XX века. Кожно-аллергическую пробу Бюрне используют для лабораторной диагностики бруцеллёза [14], а также с целью определения напряженности поствакцинального иммунитета перед повторной иммунизацией [27]. Диагностическая ценность пробы Бюрне подтверждена многими исследователями, и реакция получила широкое практическое признание. Внутрикожная аллергическая проба становится положительной к концу первого месяца (20-30 сутки) заболевания в 70-85 % случаев, но бывают случаи и более раннего её появления - на 7-8-й день болезни [8, 9]. По данным Е.С. Белозерова (1985) [3], положительная проба Бюрне отмечена в острой фазе болезни у 55 % больных, в подострой - у 80,3 %. У больных при хроническом бруцеллёзе проба Бюрне выявляется в 90-95 % случаев [41].

Кожная проба становится положительной и спустя 1-1,5 месяцев после вакцинации людей живой бруцелллёзной вакциной. Она бывает ясно выраженной в период от 2-3 до 12-13 месяцев и постепенно угасает [9, 10].

В неблагополучных по бруцеллёзу КРС хозяйствах обычно отмечается высокий процент работников с положительной внутрикожной пробой Бюрне без клинических признаков заболевания, поэтому недопустимо

полагаться только на её значения для постановки диагноза, а необходимо принимать во внимание комплекс данных эпиданамнеза, клиники и других лабораторных данных [41].

Степень интенсивности внутрикожной аллергической реакции Бюрне у людей в основном зависит от индивидуальной чувствительности организма и может подвергаться значительным колебаниям вплоть до полного исчезновения [9].

Постановка аллергических тестов с бруцеллином *in vivo* имеет ряд недостатков, сопряженных с риском возникновения общих и местных реакций на дополнительную антигенную нагрузку макроорганизма [2]. Так, у лиц, высоко сенсибилизированных к бруцеллезному антигену, возможно развитие реакции в виде повышения температуры, озноба, головной боли, недомогания, лимфангита, артралгии, болезненности на месте введения аллергена, повышение температуры (до 38 °С) и т.д. После постановки аллергической пробы могут возникать аллергические реакции немедленного типа как местные (наличие отека (инфильтрата), гиперемии и болезненности кожи в месте введения аллергена), так и общие (развитие анафилактического шока). К недостаткам можно отнести риск возникновения ложноположительного результата при иммунопатологических состояниях и отсроченный учет реакции (через 24-48 часов), а также невозможность применения пробы Бюрне при беременности и в период грудного вскармливания ввиду отсутствия данных о безопасности применения бруцеллина.

К недостаткам кожной пробы относится и то, что при повторных постановках она может усиливать сенсибилизацию организма и нередко вызывать возникновение общих и очаговых реакций. Кроме того, не всегда имеется выраженный параллелизм между показателем кожной реакции, степенью сенсибилизации организма и тяжестью клинического течения. E. J. Young (1995) в связи с отсутствием стандартизации внутрикожной аллергической пробы Бюрне не рекомендует применять её для диагностических целей [167, 168].

С конца XX века ведутся исследования, направленные на замену инвазивных аллергических тестов на более безопасный и высокоспецифичный метод оценки аллергической перестройки организма *in vitro*. Предложенные к использованию тесты, такие как радиоаллергосорбентный [30, 166], метод микроскопической оценки дегрануляции базофилов при окраске щелочными красителями, определение концентрации освобожденного гистамина (метод Шелли), реакция лейкоцитолитического теста (тест аллергической альтерации лейкоцитов), выявления специфических Ig E имеют ряд ограничений, обусловленных или трудоемкостью, или низкой чувствительностью и слабой специфичностью [31, 61, 79].

В 1994 г. J. Sainte-Laudu et al. [79] впервые предложили определение дегрануляции базофилов под воздействием известного аллергена при наличии сенсибилизации макроорганизма методом проточной цитометрии. В результате происходит каскад ферментных реакций, приводящих к дегрануляции эффекторной клетки с экспрессией маркера клеточной перестройки CD63 (gp53). На основе вышеописанного метода Д.Г. Пономаренко с соавт. (2012, 2013) предложен новый цитометрический метод лабораторной диагностики бруцеллёза в условиях *in vitro*, основанный на определении повышенной чувствительности (реактивности) организма к антигенам бруцелл [35, 36]. Тест позволяет дифференцировать вакцинный и инфекционный процессы при хроническом бруцеллёзе, производить количественный учет степени сенсибилизации к бруцеллам и, соответственно, может быть использован для оценки специфической иммунореактивности лиц перед повторной иммунизацией против бруцеллёза. Использование метода проточной цитометрии при постановке теста исключает добавочное антигенное воздействие на организм и позволяет проводить постановку и учет реакции в течение 1 часа.

Комплексная серо-аллергологическая диагностика бруцеллёза у больных людей

Лабораторная диагностика бруцеллёза у людей проводится согласно МУК 3.1.7.3402-16 «Эпидемиологический надзор и лабораторная диагностика бруцеллёза: Методические указания» [28]. Максимальная диагностическая достоверность иммунологических исследований на бруцеллёз достигается при применении комплексной серо-аллергологической диагностики, так как выраженность этих реакций на разных этапах развития инфекционного процесса неодинакова. Соотношение между положительными и отрицательными результатами реакции по мере увеличения сроков от начала заболевания меняется закономерно. В ранние сроки от начала заболевания диагностическая ценность серологических методов выше, чем аллергического. По мере увеличения срока от начала заболевания большую диагностическую ценность приобретают аллергические тесты.

Для диагностики бруцеллёза рекомендуется применять несколько методов, которые используются в зависимости от целей исследования.

При проведении эпидемиологического расследования в очагах бруцеллёза для обследования населения рекомендуется использовать: реакцию агглютинации - пластинчатая (Хеддлсона), РА, РНГА, ИФА, непрямой иммунофлуоресцентный метод, аллерготесты (кожно-аллергическая проба Бюрне, определение экспрессии на базофилах рецепторов CD63 методом проточной цитометрии).

При обследовании населения перед профилактической вакцинацией целесообразно использовать пластинчатую реакцию агглютинации (Хеддлсона), РНГА или ИФА и аллержотесты (кожно-аллергическая проба Бюрне, определение экспрессии на базофилах рецепторов CD63 методом проточной цитометрии).

Для диагностики острого и подострого бруцеллёза проводят бактериологические и серологические исследования (РА, РНГА, ИФА). В случаях отрицательного результата используют постановку реакции Кумбса и ИФА.

Для диагностики хронического бруцеллёза и при проведении диспансерного наблюдения за переболевшими бруцеллёзом рекомендуется постановка реакции Кумбса, ИФА и аллергических тестов.

Серологические реакции и аллергические пробы по своему диагностическому значению в различные периоды заболевания не равноценны, вследствие чего не могут заменять друг друга. Это обуславливает необходимость применения комплексного серо-аллергологического метода, являющегося наиболее надежным способом диагностики бруцеллёза.

В ранние сроки от начала заболевания (первые 6 месяцев) диагностическая ценность серологического метода выше, чем аллергического. Серологические реакции в этот период оказываются положительными почти в 98 % случаев. По мере удлинения срока заболевания процент положительных серологических реакций (РА, РНГА) уменьшается. В поздние периоды заболевания большую диагностическую ценность имеет реакция Кумбса, ИФА и аллергическая проба.

При проведении обследования нужно учитывать следующую особенность: титры антител почти всегда указывают на наличие инфекции, антитела в низких титрах или их полное отсутствие не исключают возможности заболевания. В связи с этим рекомендуется проводить повторные исследования с интервалом 1-2 недели, особенно при подозрении на острую форму бруцеллёза. Следует иметь в виду, что положительную реакцию агглютинации с бруцеллёзным антигеном могут давать также сыворотки, содержащие антитела к микроорганизмам, имеющим общие антигенные детерминанты с бруцеллами (*E. coli*, *V. cholerae*, *F. tularensis*, *Y. enterocolitica*, *S. typhimurium*). Сохраняются сложности при идентификации L-форм бруцелл, которые могут длительное время персистировать в живом организме и отличаются от исходных бактерий по своим культурально-морфологическим и антигенным свойствам [25].

Усовершенствование комплекса лабораторной диагностики бруцеллёзной инфекции у людей требует разработки современных дополнительных методов верификации, основанных на клеточных факторах иммунитета, как ведущих в иммуногенезе и патогенезе бруцеллёза [155]. По данным ряда авторов перспективными показателями специ-

фической клеточной антигенреактивности могут выступать следующие маркеры (рецепторы) активации лимфоцитов: CD25 - высокоаффинный рецептор интерлейкина 2 (IL-2R α), маркер ранней активации Т-лимфоцитов; HLA-DR - антиген главного комплекса гистосовместимости класса II, экспрессия маркера ассоциирована не только с поздней, но и длительной активацией лимфоцитов; CD95 (Fas, APO-1) - рецептор индукции апоптоза («клеточной смерти»), маркер «поздней» активации (представлен преимущественно на CD4⁺ лимфоцитах) и Fas L (CD178) - рецептор индукции апоптоза, экспрессируется в основном на CD8⁺ клетках [148, 154, 158]. М.В. Костюченко с соавт. (2017) [17] установлено, что наиболее перспективными показателями интенсивности антигенстимулированной активации лимфоцитов *in vitro* можно считать рецепторы к IL-2 (CD25) и маркеры апоптоза - CD95, CD95L (CD178), что в дальнейшем можно использовать в качестве маркера для диагностики острой бруцеллезной инфекции у человека.

При обследовании группы лиц, положительно реагирующих на бруцеллез, П.Н. Попов с соавт. (2007) [37] выявили умеренное увеличение количества CD16 лимфоцитов, повышение активности нейтрофилов по данным НСТ-теста и увеличение продукции Ig A, что, по их мнению, свидетельствует об увеличении неспецифической реактивности. В то же время снижение абсолютного количества моноцитов, CD3 и CD4 лимфоцитов на фоне низкой продукции ИЛ2 указывает на нарушение специфической клеточной цитотоксичности. Таким образом, наличие у 17,5 % лиц, положительно реагирующих на бруцеллез, умеренно выраженных изменений субпопуляционного состава и функциональной активности иммунокомпетентных клеток периферической крови позволяет утверждать, что, по меньшей мере, часть из этих пациентов следует рассматривать как больных бруцеллезом с субклиническим течением болезни. При положительных эпидемиологических данных им необходимо устанавливать профессиональный характер заболевания.

Молекулярно-генетические методы

Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

В настоящее время для идентификации, дифференциации бруцелл и лабораторного подтверждения диагноза используют молекулярно-генетические методы исследования, в частности полимеразную цепную реакцию (ПЦР) [12, 65, 159]. ПЦР позволяет повысить информативность анализа и в короткие сроки определить наличие специфической последовательности ДНК бруцелл в пробах как клинического, так и полевого материала. Наличие уникальных видоспецифических последовательностей ДНК для каждого вида дает возможность их использования в

качестве мишеней в ПЦР для проведения дифференциации видов бруцелл [1, 19, 169]. ПЦР-исследования являются перспективными альтернативами в диагностике бруцеллёза.

Ю.К. Кулаковым с соавт. (2009) было показано [19], что высокие чувствительность и специфичность ПЦР обеспечивают возможность не только верификации диагноза на всем протяжении инфекционного процесса (в острой, подострой и хронической стадиях болезни), но и выявления активности течения заболевания, в том числе у длительно болеющих хроническим бруцеллёзом. Авторы провели сравнительную оценку эффективности ПЦР и методов серологической диагностики бруцеллёза: наибольшее совпадение положительных результатов лабораторных тестов отмечено между ПЦР и ИФА (90-93 %), затем - между ПЦР и реакцией Хеддельсона (сомнительный и положительный результат) - 84-93 %, ПЦР и реакцией колюпреципитации (РК) - 58-62 %, а между ПЦР и РА - только 24-32 %. Уровень специфических антител в ИФА (средний титр 1:1280) значительно превышал таковой в РК и РА (1:160), что свидетельствует о высокой чувствительности этого метода при диагностике хронических форм заболевания. Положительный результат ПЦР у 38,8 % больных хронической формой бруцеллёза указывает на наличие возбудителя в макроорганизме, что является ценной информацией для лечащего врача при определении тактики лечения этих больных и назначении антибактериальной терапии. Наличие ДНК возбудителя в крови больных в комплексе с положительными серологическими реакциями и клиническими проявлениями свидетельствует о высокой активности течения инфекционного процесса.

Похожие данные были получены П.Н. Поповым с соавт. (2007) при обследовании лиц без клинических проявлений бруцеллёза, у которых обнаруживаются положительные серологические реакции на бруцеллёз и/или положительная проба Бюрне - так называемая группа «положительно реагирующих на бруцеллёз» [37]. Это понятие впервые было введено и включено в классификацию бруцеллёза Е.С. Белозеровым (1985), который объяснял положительные реакции длительным контактом с возбудителем лиц, находящихся в очаге, сенсбилизацией их [3]. Эти лица не подлежат регистрации и в дальнейшем остается неизвестной их судьба. П.Н. Поповым с соавт. (2007) [37] было проведено обследование 74 пациентов, отнесенных к группе положительно реагирующих на бруцеллёз. У всех пациентов отсутствовали клинические признаки болезни. Проводимое обследование включало в себя бактериологическое исследование крови, серологические исследования (реакция Райта, Хеддельсона, РПГА), постановку пробы Бюрне. У всех больных осуществлялось определение ДНК возбудителя методом ПЦР. При исследовании иммунологического статуса проводилось изучение

относительного и абсолютного количества основных субпопуляций иммунокомпетентных клеток периферической крови (лейкоциты, лимфоциты, моноциты, нейтрофилы, субпопуляций мононуклеарных клеток с фенотипом CD3, CD4, CD8, CD16, CD21), определение IgA, IgM, IgG, НСТ-теста. Контрольную группу составили 30 здоровых лиц. По данным авторов [37], положительная реакция Хеддельсона была выявлена у 72,9 % больных, резко положительная - у 8,1 %, реакция была отрицательной у 18 % пациентов. При этом реакция Райта была слабоположительной у 9,5 % больных, у остальных обследуемых она была отрицательной. РПГА в титрах 1:50 и 1:100 определялась у 19,1 % пациентов. Сомнительная проба Бюрне наблюдалась у 27 %, слабоположительная - у 33,8 % положительно реагирующих лиц. Авторы обращают внимание, что ДНК бруцелл в периферической крови положительно реагирующих лиц выявлялась у 17,5 % больных. Бактериологическим методом ни у одного из обследованных бруцелла выделена не была. Положительный результат данного метода позволяет отнести положительно реагирующих лиц к больным субклинической формой бруцеллёза. Авторы сообщают о высокой диагностической ценности ПЦР при бруцеллёзе в целом и, в частности, у положительно реагирующих на бруцеллёз по сравнению с общепринятыми методами диагностики.

Показано, что наиболее перспективным в лабораторной диагностике бруцеллёза людей является сочетание традиционных методов исследования с молекулярно-генетическими, к числу которых относится ПЦР [1, 12, 19]. Так же на эффективность ПЦР в диагностике бруцеллёза указывают Михайлов с соавт. (2012) и рекомендуют его в качестве перспективного ускоренного метода лабораторной диагностики атипичного бруцеллёза, вызванного возбудителем в L-форме, дополняя результаты тестирования общепринятыми методами [26].

В других исследованиях были показаны эффективность и чувствительность ПЦР при различных формах заболевания бруцеллёзом. S. Mitka et al. (2007) [124] обнаружили, что процент ПЦР-положительных результатов с острым бруцеллёзом составил 99 %, тогда как в исследовании H. Surucuoglu et al. (2009) [159] - 91,2 %. Напротив, в исследованиях A.M. Asaad et al. (2012) [55] при хроническом бруцеллёзе результаты теста ПЦР были положительными только для 11,1 % пациентов. Такой низкий результат, по мнению авторов, связан с низкой бактериальной нагрузкой в крови пациентов с хроническим бруцеллёзом. Одной из основных характеристик ПЦР-анализа, которая повышает его ценность, является его несомненная способность устанавливать диагноз острого бруцеллёза.

Применение молекулярно-генетических методов для определения видовой и биоварной принадлежности бруцелл.

Одним из таких подходов является определение полиморфизма расположения *IS711* элемента в геноме возбудителя бруцеллеза. Несмотря на то, что у всех видов *Brucella* spp. число и расположение большинства инсерционных элементов достаточно консервативно, показано, что одна из копий *IS711* локализуется на различных участках хромосомы у определенных видов и биоваров патогена [62]. В.Ж. Бриккер с соавторами (1994) предложили использовать это свойство для определения таксономического положения *Brucella* spp. Авторами подобрано пять праймеров, один из которых комплементарен нуклеотидной последовательности *IS711* элемента, а остальные четыре - видоспецифичным участкам бруцелл, которые обеспечивают амплификацию фрагментов различного размера в зависимости от видовой принадлежности патогена. С использованием такого подхода удалось идентифицировать *B. abortus* биовары 1, 2 и 4 (498 п.н.), *B. melitensis* (731 п.н.), *B. ovis* (976 п.н.) и *B. suis* биовар 1 (285 п.н.). По аббревиатуре от *abortus*, *melitensis*, *ovis* и *suis* разработанная система была названа AMOS[62].

Предложенный подход получил широкое применение при исследовании проб клинического и биологического материала, а также культур бруцелл, выделенных из них [80, 89, 92, 114, 123, 125]. Диагностическая чувствительность метода составила - до 97,4 %, специфичность - 100 %. Результаты идентификации штаммов бруцелл до вида, полученные с помощью системы AMOS, в полной мере совпали с данными бактериологического анализа.

Учитывая полученный положительный опыт по использованию системы AMOS, в течение последнего десятилетия были предложены её различные модификации. В частности, D.R. Ewalt с соавторами (2000) усовершенствовали AMOS для возможности дополнительно идентифицировать вакцинные штаммы *B. abortus* S19 и RB51 на основании выявления двойной инсерции *IS711* в специфическом локусе *B. abortus* RB51 (ген *wboA*) и делеции в гене *eryS* у штамма *B. abortus* S19 [63, 84, 149]. Установлено, что результаты идентификации культур бруцелл с использованием разработанной ПЦР-системы и бактериологического анализа полностью совпадали. Позднее В.Ж. Бриккер с соавторами (2003) расширили предложенную систему, включив в нее праймеры на основе последовательности 16S рДНК (внутренний контроль) [64]. Авторы исследовали 344 пробы биологического материала от КРС. Специфичность метода составила 100 %.

Для выявления большего количества биоваров *B. abortus*, а также для проведения дифференциации между вакцинными и природными штаммами *B. abortus* предложено ввести в состав реакционной смеси системы AMOS праймеры для амплификации локуса *ery* (определения рода *Brucella* spp. и идентификации вакцинного штамма *B. abortus* S19)

и праймер DEL 569, обеспечивающий совместно с другими олигонуклеотидами выявление делеции размером 5,4 т.п.н., характерной для *B. abortus* 5, 6 и 9 биоваров [131]. Данная методика была применена при анализе возникших случаев заболевания бруцеллезом КРС и МРС в Турции [101]. Установлено, что штаммы бруцелл, выделенные из 61 пробы абортированных плодов от КРС, идентифицированы как *B. abortus* 3b биовара, а из 64 проб от МРС - как *B. melitensis*. Определенное с помощью системы AMOS-ERY таксономическое положение бруцелл было полностью подтверждено результатами бактериологической идентификации указанных культур.

В.К. Ваек с соавторами (2003) применили AMOS с использованием дополнительных праймеров, специфичных для вида *B. canis*, при исследовании серопозитивных на бруцеллез собак в Южной Корее [56]. При проведении реакции во всех образцах регистрировалось образование фрагмента размером 458 п.н., что указывает на наличие в них ДНК *B. abortus* 1, 2, 4 биоваров. Полученные результаты позволили авторам сделать вывод о миграции бруцеллеза с крупного рогатого скота на собак, находящихся на данной ферме.

Широкое применение для определения видовой принадлежности бруцелл получили способы, направленные на выявление генов, которые имеют отличия у разных таксонов *Brucella* spp. или в разной степени встречаются в их геноме. Для дифференциации штаммов *B. abortus* 1 биовара D.S. Leal-Klevezas et al. (1995) подобрали праймеры DSF-DSR, которые обеспечивают амплификацию фрагмента *omp2b* гена размером 804 п.н. у всех видов бруцелл и фрагмента *omp2a* гена размером 689 п.н. у *B. abortus* 1 биовара и 804-830 п.н. у остальных биоваров *B. abortus* и видов патогена [111, 112]. Предложенный подход был успешно использован для идентификации культур бруцелл, выделенных из проб биологического материала в Мехико. На основании молекулярно-генетического анализа в совокупности с данными биохимических тестов установлено, что заболевание ассоциировано с 1 биоваром *B. abortus* [113].

А.М. Sifuentes-Rinc с соавт. (1997), основываясь на различиях в нуклеотидной последовательности *omp2a*, *omp2b* генов, предложили набор праймеров, обеспечивающих амплификацию фрагментов различного размера у отдельных видов патогена: *B. abortus* 1 биовар - 900 п.н., *B. canis* - 720 п.н., *B. ovis* - 600 п.н. и *B. melitensis* 1 биовар, *B. suis*, *B. neotomae* - 200 п.н./ [152].

Установлена возможность идентификации *B. melitensis* на основании выявления фрагмента гена *omp31*, размером 720 п.н., последовательность которого имеет отличия у данного вида бруцелл [96]. Позднее А. Singh с соавторами (2013) использовали данный подход для

характеристики штаммов возбудителя бруцеллеза, выделенных из проб от абортированных плодов коз в Индии [153]. На основании данных молекулярно-генетического анализа все изученные культуры относились к виду *B. melitensis*, что в полной мере совпадает с результатами бактериологического исследования - *B. melitensis* 3 биовара.

Для дифференциации четырех видов бруцелл *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. canis*, *B. suis* была предложена ПЦР, основанная на детекции нескольких генов, кодирующих белки внешней мембраны бруцелл: *bcsp31*, *omp2b*, *omp2a* и *omp31* [102]. Авторы к прямому праймеру JPF, предложенному D.S. Leal-Klevezas et al. (1995), подобрали два обратных - JPR-ab и JPR-ca, что позволило амплифицировать участки *omp2a* и *omp2b* генов, специфично для отдельных видов или групп видов бруцелл. Чувствительность метода составила 1 пг ДНК [111, 112].

Для выявления *B. canis* S.I. Kang с соавт. (2014) применили набор реагентов с электрофоретическим учетом результатов, разработанный на основе амплификации участка *BCAN_B0548-0549* размером 300 п.н., расположенного на II хромосоме *B. canis*, который не был выявлен у других видов бруцелл и близкородственных микроорганизмов [104]. Чувствительность метода составила 3×10^3 м.к./мл, специфичность - 100 %. Диагностическая чувствительность подхода при исследовании биологического материала от собак составила 61,5 %.

M.N. Xavier с соавт. (2010) предложили ПЦР-ЭФ для выявления *B. ovis*. В качестве ДНК-мишеней были выбраны гены *BOV_A0503* и *BOV_A0512*, участвующие в синтезе АВС-транспортера и гемагглютинаина соответственно [165]. Данные локусы входят в геномный остров 26,5 кДа (*BOV_A0482- BOV_A0515*), встречающийся только у штаммов *B. ovis* [160]. Соответствие между результатами исследования с помощью разработанной ПЦР и бактериологическим методом проб биологического материала от биопробных животных с экспериментальным бруцеллезом (*B. ovis*) составило не менее 90 %. Позднее L.F. Costa с соавт. (2013) разработали «гнездовую» ПЦР для выявления ДНК данного вида бруцелл, используя в качестве матрицы локус *BOV_A0503* [75]. Авторы при исследовании биологического материала от баранов с экспериментальным бруцеллезом показали более высокую чувствительность предложенного варианта видоспецифичной ПЦР по сравнению с детекцией *Brucella spp.* на основании амплификации IS711 элемента по протоколу L. Manterola с соавт. (2003) [118].

V.G. Ratushna с соавт. (2006) в ходе сравнительного анализа нуклеотидной последовательности полных геномов разных видов бруцелл определили ряд локусов, перспективных в качестве ДНК-мишеней при родовой и видовой идентификации возбудителя бруцеллеза методом ПЦР: *BruAbl_1825*, *BruAb2_1035* - встречается у *Brucella spp.*, *BRA0378*,

BRA0369, BRA0363 - специфичны для *B. suis* и *B. canis*, BME1661 - для *B. melitensis*, BruAb2_0168 - для *B. abortus*, BME10827 - для *B. melitensis*, *B. suis*, BruAb1_0266, BruAb1_0248 - для *B. abortus*, *B. melitensis* [145]. В более поздних работах Ю.К. Кулаковым с соавт. [19] встречаемость ряда указанных локусов была изучена на референтных штаммах бруцелл и природных изолятов, выделенных на территории Российской Федерации, Монголии, Азербайджана. Авторы подтвердили возможность определения видовой принадлежности бруцелл методом ПЦР с использованием праймеров, предложенных V.G. Ratushna с соавт. (2006), однако установлено, что ген BME1661 выявлен у *B. melitensis* биоваров 1 и 3, *B. suis* биоваров 2,3 и 5, ген BME10827 обнаружен в геноме всех видов возбудителя бруцеллеза, кроме *B. abortus* 1 биовара [145].

Способ дифференциации *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. ovis*, *B. canis*, *B. neotomae*, *B. suis*, культур бруцелл, выделенных от морских животных и вакцинных штаммов *B. abortus* RB51, *B. abortus* S19 *B. melitensis* Rev1, был предложен D. Garcia-Yoldi (2006) [90]. Он основывался на выявлении видо- и штаммоспецифичных генетических маркеров, описанных ранее в ряде работ: делеции размером 25 т.п.н. рядом с геном *omp31* у *B. abortus* всех биоваров, 15 т.п.н. (гены BME10993-BME11012) - *B. ovis*, 976 п.н. (гены BME11436-BME11435) - *B. canis*, 2,2 т.п.н. (гены BME10986-BME10988) - *B. neotomae*, 2,6 т.п.н. (гены BR0951-BR0955) - *B. abortus* и *B. melitensis*, инсерции IS711 в ген *bp26* (морские виды), разрыва последовательности *wboA* гена элементом IS711 у *B. abortus* RB51, делеции размером 702 п.н. в *ery* опероне у *B. abortus* S19, специфической мутации в *rpsL* гене у *B. melitensis* Rev1 [69, 97, 144, 149]. Позднее на основе вышеуказанной методики I. Lopez-Goni (2008) была разработана и стандартизирована система Bruce-Ladder для определения видовой принадлежности бруцелл и дифференцирования вакцинных штаммов методом мультилокусной ПЦР-ЭФ [115]. Апробация предложенного подхода при исследовании 625 штаммов возбудителя бруцеллеза различного географического происхождения показала его высокую специфичность, определенное с помощью молекулярно-генетических методов таксономическое положение культур в полной мере совпало с паспортными данными, за исключением некоторых штаммов *B. canis*. Эти культуры имели одинаковые профили амплификации, как у *B. suis*.

Для увеличения разрешающей способности данной системы A. Mayer-Scholl с соавт. (2010) предложили дополнить её праймерами, обеспечивающими специфичную амплификацию фрагмента размером 510 п.н. у штаммов *B. microti* [122]. Авторы использовали олигонуклеотиды, ранее подобранные Н.С. Scholz с соавт. (2008), для выявления возбудителя бруцеллеза данного вида методом ПЦР-ЭФ [151].

Также была оценена эффективность использования модифицированной системы Bruce-Ladder для идентификации *B. pinnipedialis*, *B. ceti* и *B. inopinata*. Показано, что профиль амплификации у штаммов *B. inopinata* близок к таковому, как у *B. abortus* за исключением отсутствия амплификации фрагмента 272 п.н., а по наличию дупликации 19 п.н. в генах *BME11436-BME11435* возможна дифференциация видов *B. pinnipedialis* и *B. ceti*.

С целью дифференциации видов *B. canis* и *B. suis* предложена система Suis-Ladder [116]. На основании амплификации фрагментов генов *BME11426*, *BME11688*, *BR1080*, *BME10205* авторам удалось не только провести идентификацию *B. suis*, *B. canis* и *B. microti*, но и определить все биовары *B. suis*.

В последние годы все более широкое распространение получают методы ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ), т.к. существенно повышают достоверность ПЦР-анализа, увеличивая специфичность реакции, максимально снижая возможность контаминации, а также значительно сокращают трудоемкость исследования. Установлена эффективность применения ПЦР-РВ для выявления *Brucella* spp. [22, 59, 72, 81, 143, 147], отдельных видов патогена [15, 16, 33, 34, 127, 128, 129, 146] и для комплексной оценки наличия в пробе бруцелл с определением их видовой принадлежности [34, 78, 100, 140].

М.І. Queiro-Ortuno с соавт. (2005) оценили эффективность выявления возбудителя бруцеллеза в 62 образцах сывороток крови людей с острой формой бруцеллеза методом ПЦР-РВ [143]. Для проведения исследований использовали праймеры В4 и В5, специфичные последовательности гена *bcspr31* и предложенные G. Baily с соавт. (1992), а для образования флуоресцентного сигнала реакцию осуществляли в присутствии красителя SYBR Green I [57]. Диагностическая чувствительность и специфичность анализа составила 91,9 % и 95,4 % соответственно, предел детекции бруцелл - 5×10^3 м.к./мл. При исследовании J.D. Colmenero с соавт. (2005) спинно-мозговой жидкости у пациентов с нейробруцеллезом вышеуказанным методом положительный ответ был получен в 100 % (6) случаев [72].

Т. Bogdanovich с соавт. (2004) при разработке способа выявления бруцелл методом ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени в качестве ДНК-мишени выбрали высококонсервативный ген *per*, участвующий в синтезе О-цепи [59, 70]. Авторами были подобраны специфичные праймеры и зонды формата TaqMan, которые обеспечивали при проведении реакции высокую чувствительность (до 4×10^4 м.к./мл) и специфичность (100 %).

Одной из родоспецифичных ДНК-мишеней также является ген *wboA*, который был использован при конструировании набора реаген-

тов «АмплиСенс-*Brucella* spp.-Fl» для выявления возбудителя бруцеллеза в пробах клинического и биологического материала, объектов окружающей среды [22].

Корпорацией Ingenetix GmbH (Австрия, Вена) разработана тест-система VastoReal® Kit *Brucella* spp. для выявления ДНК бруцелл методом ПЦР-РВ, где в качестве ДНК-мишени выбрана последовательность IS711 элемента, который ранее уже был использован в качестве генетической матрицы для обнаружения возбудителя бруцеллеза методом ПЦР-ЭФ [50, 99]. Эффективность предложенного диагностического препарата была продемонстрирована R. Sabrina с соавт. (2018) при исследовании проб молока от серонегативных по бруцеллезу коров в Алжире [147]. Из 65 изученных образцов в трех случаях была выявлена ДНК возбудителя бруцеллеза. Исходя из полученных результатов, авторы делают вывод о перспективности использования ПЦР-РВ для диагностики бруцеллеза у животных и людей.

L. Bouaadja с соавт. (2009) подтвердили эффективность использования генов IS711, *bcspr31* и *per* в качестве ДНК-мишеней при выявлении возбудителя бруцеллеза методом ПЦР-РВ [60]. Для проведения исследований авторы подобрали специфичные праймеры и зонды формата TaqMan на основе указанных локусов. Наибольшая чувствительность ПЦР-РВ отмечена в случае, когда ДНК-мишенью являлся IS711 элемент. Специфичность разработанных подходов была одинаковая, за исключением выявления при использовании праймеров и зонда на основе *bcspr31* гена ДНК близкородственного вида *O. intermedium*. Решить этот вопрос позволяет применение двухстадийной («гнездовой») ПЦР.

R. Redkar с соавт. (2001) показали возможность дифференциации видов *B. abortus*, *B. melitensis* и *B. suis* 1 биовара методом ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени [146]. Авторы использовали принцип, заложенный в систему AMOS [64], с дополнительным введением в состав реакционной смеси зондов формата FRET, специфичные, так же как и вторые праймеры, отдельным генам разных видов бруцелл. Чувствительность реакции составила от 16 до 50 геном-эквивалентов.

Опираясь на полученные данные, E. Navarro с соавт. (2006) с использованием предложенного подхода исследовали 180 образцов крови от 18 пациентов, из них 11 - без рецидива болезни, 7 - с рецидивирующим течением. В 100 % случаев был получен положительный ответ и определено наличие в пробах ДНК *B. melitensis* [127]. Аналитическая чувствительность метода составила $1,5 \times 10^3$ м.к./мл. Позднее A. Navarro-Martinez с соавт. (2008) применил вышеуказанный способ для дифференциальной диагностики спондилита, определив, что заболевание было вызвано *B. melitensis* [128].

D.T. Newby et al. (2003) оценили возможность выявления *B. abortus* с

помощью ПЦР-РВ, где в качестве ДНК-мишени использовали видоспецифичный ген *alkB*, содержащий инсерционный элемент *IS711*, а для генерации флуоресцентного сигнала - интеркалирующий краситель SYBR Green I, зонды формата TaqMan и FRET [130]. Наибольшая специфичность реакции была отмечена в случае применения зондов типа FRET, в то время как при использовании SYBR Green I и зондов TaqMan в ряде случаев были получены ложноположительные результаты.

Позже W.S. Probert с соавторами (2004) был предложен способ обнаружения возбудителя бруцеллеза с одновременным определением видов *B. abortus* и *B. melitensis* методом мультилокусной ПЦР-РВ с зондами формата TaqMan. Для выявления ДНК *Brucella* spp. в качестве генетического маркера выбран ген *bcspr31*, а для дифференциации видов *B. abortus* и *B. melitensis* - специфическая вставка *IS711* элемента в генах *alkB* и *BME1162*, соответственно [141, 147]. Чувствительность разработанного подхода составила $1,5 \times 10^4$ м.к./мл, специфичность - 98 % (отмечена специфичная флуоресценция по каналу FAM (*bcspr31* ген) при исследовании ДНК штамма *O. anthropi* LMG 3331 (ATCC 49188). Для двух штаммов *B. abortus* были получены неоднозначные результаты: по данным молекулярно-генетического анализа с использованием предложенного способа они идентифицированы как *B. melitensis*, в то же время нуклеотидная последовательность *omp2a* гена у них практически идентична таковой для штаммов *B. abortus* и *B. melitensis*, а в гене *omp25* выявлены отличия в 1, 3 и 5 позициях по сравнению с аналогичным локусом *B. melitensis*, *B. suis* и *B. abortus*, соответственно. На основании полученных результатов авторами сделано предположение, что данные штаммы являются атипичными и обладают фенотипическими и генотипическими характеристиками как вида *B. abortus*, так и *B. melitensis*. Разработанный авторами способ выявления и идентификации бруцелл методом ПЦР-РВ был успешно использован при изучении 249 проб сыворотки крови больных бруцеллезом, собранных на территории ряда провинций Восточной Анатолии, Турция [78]. Совпадение между результатами молекулярно-генетического и серологических исследований данных образцов составило до 83 %, при этом у 17 пациентов маркеры возбудителя бруцеллеза были выявлены только с помощью мультилокусной ПЦР. В большинстве случаев этиологическим агентом заболевания являлся *B. melitensis* (98,1 %).

Эффективность подходов, предложенных R. Redkar с соавт. (2001), D.T. Newby с соавт. (2003), Т. Bogdanovich с соавт. (2004) и W.S. Probert с соавт. (2004), была в полной мере подтверждена при исследовании 248 штаммов возбудителя бруцеллеза разных видов и биоваров [49, 59, 129, 140, 146]. Авторами дополнительно были подобраны зонды формата FRET на основе последовательности *bcspr31*, фланкированной

праймерами B4 и B5, предложенными G. Vaily с соавт. (1992) [57]. Установлено, что чувствительность анализа составляла от 3×10^3 до $1,5 \times 10^5$ м.к./мл и зависела от типа и количества используемых ДНК-мишеней, специфичность - 100 %. Исходя из полученных результатов, ими был предложен следующий алгоритм исследования проб клинического и биологического материала на наличие возбудителя бруцеллеза с помощью ПЦР-РВ: первоначально - выявление в нативных пробах ДНК *Brucella* spp. на основании амплификации *bcspr31* гена, а затем определение видовой принадлежности одним из предложенных способов с выделением или без выделения культуры патогена.

V. Hinić с соавт. (2008) предложен способ детекции *Brucella* spp. и дифференциации 6 основных видов бруцелл, основанный на амплификации фрагментов генов IS711, *BME110466*, *BruAb2_0168*, *BR0952*, *BOV_A0504*, *BME110635- BME110636* и *BME110986 - BME11 0988* в монолокусном формате с электрофоретическим и гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов (TaqMan) [100]. При исследовании 18 референтных и 47 природных штаммов бруцелл, а также 49 культур гетерологичных микроорганизмов авторами установлена высокая чувствительность - до 1×10^3 м.к./мл и специфичность - 100 % разработанных вариантов ПЦР. Позднее M. Li с соавт. (2018) использовали предложенные V. Hinić с соавт. (2008) праймеры и зонды для обнаружения методом ПЦР-РВ возбудителя бруцеллеза в фиксированных формалином и залитых парафином срезах тканей от людей больных бруцеллезом со спондилитом [100, 157]. По данным авторов, молекулярно-генетический метод оказался более чувствительным, чем окраска срезов по Гимса, иммунологический и бактериологический анализ. Во всех случаях этиологическим агентом заболевания являлся *B. melitensis*.

Ж.А. Касьян с соавт. (2016) разработали методический подход для дифференциации видов или групп видов возбудителя бруцеллеза: *B. abortus/B. ovis*, *B. melitensis*, *B. suis/B. canis*, *B. neotomae* методом мультилокусной ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени. В качестве ДНК-матриц авторами выбраны локусы *BME110711*, *BR0262*, *BRA0541*, которые в разной степени встречаются у видов бруцелл [16]. На основании полученных результатов ими сконструирована и зарегистрирована в установленном порядке тест-система «Ген *Brucella*-идентификация-РГФ», обладающая чувствительностью 1×10^4 м.к./мл и специфичностью 100 %. Получен положительный опыт по использованию разработанного препарата при исследовании проб биологического материала на наличие возбудителя бруцеллеза и при молекулярной идентификации штаммов бруцелл из фонда Государственной коллекции патогенных бактерий «Микроб» [15, 16, 33].

Позднее Н.А. Осинной с соавт. (2017) предложен способ определения

основных шести видов бруцелл (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae*), основанный на амплификации родоспецифичного гена *bcspr31* и видоспецифичных локусов *BRA0420*, *BRA054*, *BME11426*, *BME110711*, *BME10994* методом мультилокусной ПЦР-РВ [34]. Установлена возможность использования разработанного подхода как при исследовании бактериальных суспензий штаммов возбудителя бруцеллеза, так и проб клинического, биологического материала и из объектов окружающей среды. Для практического внедрения данного методического приема создан набор реагентов «Бру-Диф-РГФ».

Группой авторов [98] разработана количественная ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени для определения штаммов *B. suis* 1-4 биоваров. Для этого подобраны праймеры и олигонуклеотидный зонд к участку *BS1330_110657*, в котором у штаммов *B. suis* 1-4 биовара был выявлен повтор 17 п.н., который отсутствует у *B. suis* 5 биовара и остальных видов бруцелл. Методика была апробирована на 25 референтных штаммах *Brucella* spp., 75 природных штаммах *B. suis* и 30 близкородственных микроорганизмах. Эффективность реакции составила 95%, с порогом чувствительности 12,5 фг/мкл.

R. Kaden с соавт. (2017) для дифференциации *B. melitensis* подобрали праймеры и зонды формата TaqMan MGB, фланкирующие фрагмент гена, кодирующего синтез ацетил-КоА ацетилтрансферазы и несущий у штаммов данного вида бруцелл делецию 2 п.н. [103]. Высокая чувствительность - 1×10^3 м.к./мл и специфичность - 100 % разработанной ПЦР была подтверждена при исследовании 120 штаммов *B. melitensis*, 31 - других видов бруцелл и 45 - гетерологичных микроорганизмов.

Для молекулярной идентификации бруцелл нашли применение не только подходы, направленные на выявление родо- и видоспецифичных генетических маркеров методом ПЦР, но и приемы, позволяющие детектировать полиморфизм единичных нуклеотидов. Одним из таких методов является анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов.

Первые работы, посвященные рестрикционному анализу тотальной ДНК *Brucella* spp., не показали его перспективность для видовой дифференциации возбудителя бруцеллеза, в отличие от обработки эндонуклеазами амплифицированных фрагментов генов *omp2*, *dnak*, *htr*, *ery* [66, 86, 149]. При исследовании шести генов бруцелл: *bcspr31*, *16S рДНК*, *groEL*, *dnaK*, *dnaJ*, *htrA* с помощью рестрикционного анализа M. Da Costa с соавторами (1996) не удалось выявить отличия ни в одном из указанных генов. Аналогичная картина наблюдалась при изучении генов, связанных с синтезом ЛПС [69, 70, 77].

В работах А. Слоскаерт с соавт. (1995) и N. Vizcaino с соавт. (2000) было показано, что наиболее перспективным для видовой дифферен-

циации бруцелл является анализ полиморфизма генов, кодирующих белки внешней мембраны: *omp2a*, *omp2b*, *omp31* и *omp25* [71, 163].

D. Garcia-Yoldi (2005) применили рестрикционный анализ для изучения варибельности фрагментов генов *omp* у 37 референтных и природных штаммов бруцелл [90]. При исследовании локусов *omp22* и *omp25c/omp25d* установлена их гомология у всех видов и биоваров бруцелл, за исключением *B. ovis*, у которого была выявлена делеция 30 п.н., расположенная рядом с *omp22* геном. Помимо этого, штаммы *B. abortus* 6 биовара и *B. ovis* не имели сайтов рестрикции *Ddel*, *Hinfl* в генах *omp25c/omp25d*, соответственно. Варибельность фрагмента гена *omp31* была более значительной. Делеция размером 232 п.н. была обнаружена у 14 штаммов *B. melitensis* различного географического происхождения. Анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов гена *omp31b* с помощью *Ddel* позволил выявить видоспецифичные участки для *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. ovis*.

Именно *omp* гены были выбраны С.Б. Чегировым (2014) для определения видов и биоваров бруцелл, выделенных на территории Кыргызской Республики [44]. С помощью рестрикционного анализа (фермент *Pst1*) установлено, что изученные штаммы относились к *B. melitensis* биовар 3 и *B. abortus* 2 биовара. Однако ранее было известно, что в данном районе зарегистрирована циркуляция только 3 биовара *B. melitensis*. Исходя из полученных данных, сделан вывод, что *B. abortus* биовар 2 также может присутствовать в эндемичных регионах республики.

F. De Massis с соавт. (2019) успешно использовали рестрикционный анализ фрагментов *omp2a*, *omp2b*, *omp31* ферментами *PstI*, *HinfI*, *TaqI*, *Avall*, *NcoI* для видовой идентификации штаммов бруцелл, выделенных от человека и животных в Италии с 2007-2015 гг. [80].

При сравнении нуклеотидных последовательностей консервативных генов у 36 штаммов бруцелл разных видов было выявлено 19 полиморфных нуклеотидов (SNP) в генах *abc*, *aroE*, *cysW*, *gdh*, *groEL*, *pip*, *omp25*, включая 4 специфичных для *B. abortus*, 3 - *B. canis/B. suis*, 2 - *B. ovis* и 1 - *B. melitensis* [87]. Четыре из обнаруженных SNP (по два нуклеотида в генах *abc* и *cysW*), а также полиморфные нуклеотиды, специфичные для *B. canis* (ген *omp25*), *B. neotomae* (ген *groV*) и видов, выделенных от морских животных (ген *trpE*), были использованы для разработки видоспецифичной ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени. Для выявления полиморфных нуклеотидов авторы использовали зонды формата TaqMan MGB. В последующем данная система была апробирована на 338 штаммах возбудителя бруцеллеза, чувствительность метода составила - 10 фг/мкл ДНК *Brucella* spp.

Аналогичное исследование проведено К.К. Горлау (2008) на 300 культурах бруцелл [93]. Ранее при проведении секвенирования 160 штаммов

Brucella spp. [163] были выявлены точечные мутации, специфичные для *B. melitensis*, *B. ovis*, *B. canis* и бруцелл, выделенных от морских видов. SNP, специфичные для видов *B. abortus*, *B. suis*, *B. Neotomae*, обнаружены авторами при анализе 21 генетического участка у 400 штаммов бруцелл. В случае с *B. suis* не удалось выявить отдельного SNP, характерного для всей таксономической группы. Это обусловлено тем фактом, что *B. suis* 5 биовара генетически отличается от *B. suis* 1-4 биоваров [110, 164], поэтому SNP, используемый авторами в данном исследовании, позволил идентифицировать только четыре биовара *B. suis*. Тем не менее, А.М. Whatmore с соавт. (2007) найден уникальный SNP для *B. suis* 5 биовара [164].

D. Fretin с соавт. (2008) предложен метод идентификации всех пяти биоваров *B. suis* с помощью анализа SNP [88]. Генетические маркеры (*ptsP*-1677, *pyrH*-816-817, *groB*-244 and *dnaK*-1005) были выбраны по данным предыдущих исследований [121, 164] и находились внутри конститутивных генов, которые имеют большее филогенетическое значение, нежели локусы, содержащие повторы. Метод был апробирован на 137 природных штаммах бруцелл с помощью ПЦР-РВ. Однако с помощью данного подхода не удалось дифференцировать виды *B. suis* и *B. canis*, а некоторые штаммы *B. suis* 3 биовара имели профиль амплификации схожий с таковым у *B. suis* 1 биовара. Для разделения указанных видов может быть использовано выявление полиморфного нуклеотида *omp25_3715* [164].

J.M. Winchell с соавт. (2010) разработан способ дифференциации основных шести видов бруцелл, а также штаммов, относящихся к морским видам с помощью SYBR Green ПЦР-РВ с последующим анализом кривых плавления (HMR), также основанный на детекции специфичных для каждого вида SNP [58, 93]. Однако данная методика, как и многие другие, не позволила провести полную дифференциацию между *B. suis* и *B. canis*. Авторами был найден единичный нуклеотидный полиморфизм в пределах *int-hyp* гена, где у вида *B. melitensis* наблюдалась замена с G на T, а у *B. canis* G на A, что в последующем было использовано M.J. Zahidi (2015) для идентификации штаммов бруцелл, выделенных от людей в Малазии [170]. С помощью HMR-анализа в 40 случаях удалось установить принадлежность культур к виду *B. melitensis*, в 1 - к виду *B. canis*.

J.Y. Kim с соавт. (2015) предложили ПЦР с гибридизационными зондами FRET для выявления и идентификации *B. abortus* на основании выявления полиморфного нуклеотида в гене *fbaA* [108]. Авторы определили более высокую чувствительность разработанного подхода по сравнению с ранее описанными способами детекции данного вида бруцелл с помощью ПЦТ-ЭФ и ПЦР-РВ с зондами TaqMan. W. Nan с соавт. (2016) показали возможность детекции штаммов *B. abortus* с быстрой дифференциацией вакцинного штамма *B. abortus* A19 методом ПЦР-РВ с зондами TaqMan

MGB, где в качестве генетической матрицы была использована замена нуклеотида «С» на «Т» в позиции 587 гена *BabS19_107270* [126].

Среди других амплификационных технологий для обнаружения и идентификации возбудителя бруцеллеза нашел применение метод LAMP (от англ. Loop mediated isothermal amplification) или петлевая изотермическая амплификация). В качестве ДНК-мишеней для выявления *Brucella* spp. методом LAMP авторами были использованы гены: *bscp31* [120, 132, 141], *omp25* [67, 91; 135, 142, 156, 157]; IS711 элемент [51, 138]. Получен положительный опыт по обнаружению *B. abortus* на основании амплификации фрагмента гена *BruAb_0168* с помощью петлевой изотермической реакции [106]. Во всех случаях авторами показана высокая чувствительность и специфичность разработанных подходов как при исследовании бактериальных суспензий бруцелл, так и проб клинического и биологического материала.

Несмотря на многообразие существующих методов, используемых для индикации и идентификации возбудителя бруцеллеза, наиболее широкое применение на сегодняшний день получили молекулярно-генетические методы исследования, в частности ПЦР. Применение ПЦР с электрофоретическим и гибридным флуоресцентным учетом результатов в режиме реального времени или изотермической петлевой амплификации позволяет не только обнаруживать возбудитель бруцеллеза, но также определять его видовую и биоварную принадлежность. Не менее востребованным для видовой идентификации бруцелл оказался рестрикционный анализ *omp* генов, кодирующих синтез белков внешней мембраны.

***MALDI-TOF* масс-спектрометрия**

В последнее десятилетие наблюдается интеграция MALDI-TOF масс-спектрометрии в алгоритм традиционных схем индикации и идентификации бруцелл [95, 109]. В настоящее время сформировались два основных направления применения MALDI-TOF масс-спектрометрии в лабораторной диагностике бруцеллеза: первое - идентификация культур возбудителя бруцеллеза на основе сравнения белковых профилей со спектрами из базы данных референсных штаммов; второе - индикация бруцелл в образцах крови после этапа биологического обогащения исследуемого материала [43].

В зарубежных источниках литературы встречаются сообщения о возможности использования крови и цереброспинальной жидкости в протеомном профилировании для диагностики инфекционных болезней [53]. При этом прямая идентификация бактерий методом MALDI-TOF-MS с помощью программного пакета BioTyper (Bruker Daltonics, Германия), обеспечивающая идентификацию микроорганизма путем

сравнения полученного масс-спектра с архивированными в базе данных суперспектрами, возможна только до рода, реже до вида [130]. По мнению Д.В. Ульшиной с соавт. (2018), низкие значения Score (коэффициент совпадения полученного масс-спектра с референсным из базы данных) при анализе экстрактов контаминированных образцов, в том числе клинических, вероятно, обусловлены присутствием в исследуемом материале фракций основных небактериальных белков, существенно влияющих на качество масс-спектров. Таким образом, в настоящее время выявление возбудителя бруцеллёза в экстрактах клинических образцов биологических жидкостей методом MALDI-TOFMS с использованием программы BioTyper неэффективно [43].

Описано применение метода MALDI-TOF MS для идентификации бруцелл до уровня рода, полученных в виде чистых культур на твердой питательной среде с использованием наборов MALDI Sepsityper Kit (Bruker Daltonics). Точная видовая идентификация возбудителя бруцеллёза при помощи указанного набора и соответствующего программного обеспечения оказалась затруднительной [68]. Одно из активно развивающихся направлений протеомных исследований - изучение возможности применения MALDI-TOF MS для выявления возбудителей инфекционных болезней, в том числе бруцелл, в клинических или иных контаминированных образцах без этапа выделения чистой культуры или увеличения бактериальной массы на стадии пробоподготовки [85]. При этом следует отметить, что метод MALDI-TOF MS для исследования клинических образцов при диагностике бруцеллёза имеет ряд ограничений, которые связаны в том числе с низкой концентрацией возбудителя в материале [21, 161]. Сложность интерпретации полученных MALDI-TOF MS масс-спектров при анализе клинических образцов обусловлена существенной вариабельностью качественного и количественного состава белковых профилей аналитов, полученных от различных индивидуумов. В качестве эффективного решения указанной проблемы исследователями предложены различные способы предварительной подготовки проб: концентрирование, фракционирование, удаление мажорных фракций белков, селективное удаление небелковых примесей и др. [150].

Ранее предложена схема идентификации культур возбудителя бруцеллёза методом MALDI-TOF MS, основанная на выявлении группы родоспецифичных фрагментов в диапазоне масс 2-20 кДа ($m/z \pm 5$ Да): 2422, 2581, 3025, 3268, 3336, 3523, 3696, 3754, 4545, 4770, 5036, 5170, 5360, 6672, 7048, 9085, 16068 [42]. Возможность применения этого подхода для выявления возбудителя бруцеллёза в белковых экстрактах клинических образцов не изучена.

Видовая дифференциация и субтипирование изолятов бруцеллёза из очагов инфекции на конкретных территориях имеет важное эпиде-

миологическое значение с точки зрения классификации очагов, оценки степени напряженности эпизоотического процесса, выявления путей распространения возбудителя, выбора тактики лечения и др. R. Karger (2013) [105] проанализировал евклидовы расстояния между видами и биоварами изолятов *Brucella* spp., полученные методом MALDI Biotyper на основе MSP-спектров и в среде языка статистического программирования R, выявил ряд разногласий между полученными результатами и классической таксономией, основанной на фенотипических признаках. При этом для штаммов *B. abortus* и *B. melitensis* получены сходные спектры, что затруднило однозначную дифференциацию представителей этих видов. Для дифференциации белковых профилей штаммов *B. canis*, *B. ovis* и *B. suis* (биовар 3 и 4) предложено использовать статистическое моделирование на основе метода главных компонент. Учитывая ошибочные результаты дифференциации видов и биоваров бруцелл при анализе с помощью MALDI Biotyper, автор предложил использовать статистическое моделирование на основе коммерческого ПО ClinProTools (Bruker Daltonics, Германия). В качестве основных ограничений для эксплуатации этого подхода выступают относительно высокая стоимость программного обеспечения и расходных материалов, необходимость стандартизации условий культивирования штаммов бруцелл и протоколов пробоподготовки.

Д.В. Ульшиной с соавт. (2018) [43] была подтверждена возможность выявления специфичных маркеров возбудителя бруцелллёза в клиническом материале методом MALDI-TOF MS без этапа выделения чистой культуры или накопления возбудителя в образце на стадии пробоподготовки. В результате сравнительного анализа белковых профилей образцов больных бруцеллёзом людей было охарактеризовано 27 общих сигналов, в том числе 7 родоспецифичных для бруцелл ($m/z \pm 5$ Да): 2422, 3268, 3336, 3696, 5360, 6672, 7048, позволяющих проводить точную дифференциацию их от масс-спектров условно здоровых людей. Описанный комплекс родоспецифичных маркеров может быть в дальнейшем использован при разработке нового подхода для лабораторной диагностики бруцелллёза, основанного на методе масс-спектрометрии. Полученные результаты демонстрируют эффективность применения прикладных пакетов в среде языка R для биоинформационной обработки данных времяпролетной масс-спектрометрии белковых экстрактов культур в целях межвидовой дифференциации штаммов возбудителя бруцелллёза, имеющих клиническое значение: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*.

В настоящее время внедрение MALDI-TOF масс-спектрометрии в систему лабораторной диагностики бруцелллёза требует разработки стандартизированных подходов к пробоподготовке, формированию и оценке масс-спектров, интерпретации полученных результатов.

В целом, на сегодняшний день диагностика бруцеллёза требует комплексного подхода - совместного использования как классических (бактериологических и иммунологических), так и современных методов диагностики, которые дополняют друг друга, и максимальный диагностический эффект достигается лишь при их сочетанном применении.

Список литературы

1. Оценка диагностической эффективности наборов реагентов для выявления ДНК возбудителей сибирской язвы, бруцеллёза и холеры методом ПЦР с учетом результатов в режиме «реального времени» / А.С. Абдрашитова, Л.В. Саяпина, А.Н. Малахаева, Н.А. Осина // *Здоровье населения и среда обитания*. - 2013. - № 1. - С. 32-34.
2. Аллерген бруцеллезный жидкий (Бруцеллин) (*Allergen brucelesum fluidum* (Brucellin)): инструкция по применению, рег. №: ЛС-002624 от 30.12.11. - URL: <https://www.vidal.ru/drugs/allergen-brucelesum-fluidum-brucellin-34005>. - (Дата обращения: 16.01.2019 г.)
3. Белозеров Е.С. Бруцеллез / Е.С. Белозеров. - Л.: Медицина, 1985. - 184 с.
4. Бруцеллез (клиника, диагностика, лечение, организация медицинской помощи): методическое пособие для врачей-инфекционистов и врачей общей практики / сост.: И.В. Санникова, П.Н. Попов, О.М. Павлова, М.В. Титоренко, Д.А. Дейнека, О.В. Махиня, О.Г. Голубь. - Ставрополь, Издательство СтГМУ, 2015. - 84 с.
5. Бруцеллез в Омской области и его клиничко-лабораторные особенности в зависимости от длительности заболевания / А.Х. Нурпейсова [и др.] // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. - 2009. - № 6. - С. 4-8.
6. Бруцеллез в Российской Федерации в 2017 году: информационный бюллетень / Пономаренко Д.Г., Русанова Д.В., Манин Е.А., Бердникова Т.В., Хачатурова А.А., Семенко О.В., Куличенко А.Н. - Ставрополь, 2018. - 29 с.
7. Вершилова П.А. Бруцеллез / П.А. Вершилова. - М.: Медгиз, 1961. - 414 с.
8. Вершилова П.А. Эпидемиология бруцеллёза / П.А. Вершилова, А.А. Голубева // *Бруцеллез*. - М., 1972. - С. 319-284.
9. Вершилова П.А., Чернышева М.И., Князева Э.Н. Патогенез и иммунология бруцеллёза. - М: Медицина. - 1974. - 272 с.
10. Дентовская С.В. Бруцеллез в Саратовской области: клиничко-эпидемиологические аспекты совершенствования лабораторной диагностики: автореферат дис. ... кандидата медицинских наук / С.В. Дентовская. - Саратов, 2000. - 18 с.
11. Джалалова Н.А. Клиничко-биохимические аспекты хронического бруцеллёза / Н.А. Джалалова // *Инфекция, иммунитет и фармакология*. - 2006. № 6. С. 56-59.
12. Желудков М.М. Бруцеллез в России: современная эпидемиология и лабораторная диагностика: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. - М., 2009. - 50 с.
13. Иммунопатология и аллергология. Алгоритмы диагностики и лечения / Под ред. Р.М. Хаитова. - М.: ГЭОТАР-МЕД, 2003. - 112 с.
14. Инфекционные болезни: национальное руководство / под ред. Н.Д. Ющука, Ю.Я. Венгерова. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. - С. 396-406.
15. Касьян Ж.А. Апробация нового генодиагностического препарата при исследовании проб биологического материала на наличие возбудителя бруцеллеза / Ж.А. Касьян, Н.А. Осина, И.А. Касьян, И.Н. Шарова, Е.С. Казакова // *Здоровье населения и среда обитания* - 2016. - Вып. 4 (277). - С. 48-50.
16. Касьян Ж.А. Разработка тест- системы для дифференциации видов бруцелл

методом ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени / Ж.А. Касьян, Н.А. Осина, С.А. Щербакова // Пробл. особо опасн. инфекций - 2016. - Вып. 3. - С. 47-51.

17. Перспектива оценки антигенреактивности лимфоцитов *in vitro* для диагностики острого бруцеллёза / М.В. Костюченко, Д.Г. Пономаренко, Е.Л. Ракитина, О.В. Логвиненко, И.В. Санникова, Д.А. Дейнека, О.Г. Голубь // Инфекция и иммунитет. - 2017. - Т. 7, № 1. - С. 91-96.

18. Кошерава Б.Н. Эффективность этиопатогенетического лечения хронического бруцеллёза / Б.Н. Кошерава // Медицина и экология. - 2012. - № 3. - С. 69-72.

19. Метод ПЦР в лабораторной диагностике бруцеллёза / Ю.К. Кулаков, М.М. Желудков, Т.А. Толмачева, Л.Е. Цирельсон // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. - 2010. - № 2 (51). - С. 29-33.

20. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство / под ред. В.В. Кутырева. - Изд. 2-е, перераб. и доп. - М.: Шико, 2013. - 560 с.

21. Использование метода MALDI-TOF масс-спектрометрии для ускорения идентификации микроорганизмов в гемокультурах пациентов с подозрением на сепсис / Г.Г. Ломинадзе, Е.А. Семенова, О.В. Мотузова, А.Н. Калакуцкая [и др.] // Лаборатория ЛПУ. - 2014. - № 4. (Спецвыпуск). - С. 17-20.

22. Малахаева А.Н. Оценка нового набора реагентов «Амплисенс *Brucella* spp.-FL» с гибридизационно-флуоресцентной детекцией / А.Н. Малахаева, Л.В. Саяпина, И.С. Барулина [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. - 2011. - Вып. 109. - С. 58-60.

23. Малов В.А. Терапевтические маски бруцеллёза / В.А. Малов // Фарматека. - 2011. - № 4. - С. 22-28.

24. Маматкулов И.Х. Новые подходы к решению проблемы бруцеллёза в странах с отгонным животноводством / И.Х. Маматкулов, Х.Б. Сапаров // Современные технологии в реализации глобальной стратегии борьбы с инфекционными болезнями на территории государств-участников Содружества Независимых Государств: матер. IX Межгос. науч.-практ. конф. государств-участников СНГ, 30 сент.-2 окт. 2008, г. Волгоград. - Волгоград, 2008. - С. 252-254.

25. Актуальные вопросы эпидемиологии и лабораторной диагностики бруцеллёза, обусловленного L-формой возбудителя. - Эпидемиология и вакцинопрофилактика / Л.М. Михайлов, А.И. Калиновский, С.В. Балахонов [и др.]. - 2010. - № 2 (51). - С. 23-29.

26. Особенности лабораторной диагностики экспериментального бруцеллёза, вызванного S- и L-формами возбудителя инфекции / Л.М. Михайлов, А.И. Калиновский, Баранникова Н.Л. [и др.]. - Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2012. - № 2 (84), Часть 1. - С. 131-134.

27. МУ 3.3.1889-04 Иммунопрофилактика инфекционных болезней. Порядок проведения профилактических прививок. Методические указания (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 04.03.2004).

28. МУК 3.1.7.3402-16 Эпидемиологический надзор и лабораторная диагностика бруцеллёза: Методические указания. - М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2017. - 60 с.

29. МУК 4.2.3010-12 Методические указания по порядку организации и проведения лабораторной диагностики бруцеллёза для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней. - М., 2012. - 65 с.

30. Применение иммуноанализа для решения актуальных проблем стандартизации препаратов аллергенов / Л.В. Невская, С.Ф. Радунская, Е.И. Лавренчик, А.А. Мовсесянц,

В.К. Капитанова, М.Ю. Короткова // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. - 2015. - № 3 (55). - С. 17-20.

31. Новиков П.Д. Диагностика аллергии в реакции выброса миелопероксидазы под влиянием аллергена / П.Д. Новиков, Н.Д. Новикова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. - 2002. - № 1. - С. 63-68.

32. Серомониторинг за лицами профессиональной группы риска по бруцеллезу / А.Х. Нурпейсова, Г.В. Березкина, С.В. Штрек [и др.] // Национальные приоритеты России. - 2017. - № 4 (26). - С. 137-139.

33. Осина Н.А. Определение видовой принадлежности штаммов бруцелл из фонда Государственной коллекции патогенных бактерий «Микроб» с помощью амплификационных и рестрикционных технологий / Н.А. Осина, Ж.А. Касьян, О.Ю. Ляшова, А.В. Осин // Пробл. особо опасн. инфекций - 2016. - Вып. 4. - С. 69-74.

34. Осина Н.А., Касьян Ж.А., Касьян И.А. Способ определения видовой принадлежности возбудителя бруцеллеза методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов в режиме реального времени // Патент № RU 2621864, 07.06.2017.

35. Новый подход к аллергодиагностике бруцеллёза / Д.Г. Пономаренко, О.В. Логвиненко, Н.С. Саркисян, Е.Л. Ракитина, О.Г. Голубь, А.Н. Куличенко // Инфекция и иммунитет. - 2013. - Т. 3, № 1. - С. 89-92.

36. Пономаренко Д.Г. Использование теста активации базофилов для лабораторной диагностики бруцеллёза и сибирской язвы. - Сборник научных трудов Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства / Д.Г. Пономаренко, Е.Л. Ракитина, О.В. Логвиненко. - Ставрополь: Изд-во: Всеросс. науч.-исслед. ин-т овцеводства и козоводства (Ставрополь), 2012. - Том 3, № 1-1. - С. 26-29.

37. Попов П.Н. Иммунологические параллели у лиц, положительно реагирующих на бруцеллёз / П.Н. Попов, О.М. Павлова, И.В. Санникова // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2007. - № 2 - С. 45-47.

38. Ройт А. Иммунология / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл: [пер. с англ.]. - М.: Мир, 2000. - 592 с.

39. Сергеева И.В. Ошибки в диагностике хронического бруцеллёза // Современные проблемы науки и образования / И.В. Сергеева - 2013. - № 4. - URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=9838> (дата обращения: 10.01.2019).

40. Патент № 2132880. Российская Федерация, МПК: 6С 12Q 1/04. Способ выявления возбудителя бруцеллёза: № заявки: 97113192/13; заявл. 31.07.1997; опубл. 10.07.1999 / В.Г. Дальвадянц, В.И. Щедрин, Г.И. Лямкин, Ю.М. Евченко; заявитель Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. - 1999.

41. Таран И.Ф. Бруцеллёз (микробиология, иммунология, эпидемиология, профилактика) / И.Ф. Таран, Г.И. Лямкин. - Ставрополь, 1996. -173 с.

42. Разработка алгоритма и идентификации культур возбудителя бруцеллёза методом MALDI-TOF масс-спектрометрии / Д.В. Ульшина, Д.А. Ковалев, О.В. Бобрышева, Г.И. Лямкин, А.А. Худолеев, Ю.В. Сирица, А.Н. Куличенко // Пробл. особо опасных инфекций. - 2015. - № 4. - С. 96-99.

43. Применение времяпролетной масс-спектрометрии для диагностики бруцеллёза и межвидовой дифференциации штаммов *Brucella* spp. / Д.В. Ульшина, Д.А. Ковалев, О.В. Бобрышева, Д.Г. Пономаренко, Д.В. Русанова, Н.И. Ковалева, А.Н. Куличенко // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. - 2018. - Том 7, № 4. - С. 15-24.

44. Чегиров С.Б. Детекция бактерии рода бруцелл с помощью ПЦР-ПДРФ анали-

за / С.Б. Чегиров // Вестник Кыргызского национального аграрного университета им. К.И. Скрябина. - 2014. - 1 (30). - С. 84-87.

45. Применение молекулярно-генетических методов для характеристики клинических изолятов бруцеллёзного микроба / Л.И. Шакирова, Л.В. Ляпустина, С.И. Головнева, Н.М. Швецова. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. - 2014, № 2 (75). - С. 54-59.

46. Патент № 2093580 Российская Федерация, МПК C12Q 1/04 (1997.10) Способ индикации возбудителя бруцеллёза: № 92006909/13; заявл. 18.11.1992; опубл. 20.10.1997 / В.И. Щедрин, Г.И. Лямкин. - Бюл. № 29.

47. Способ индикации возбудителей особо опасных инфекций: а.с. 1565238: G01N33/533, 1/28 / В.И. Щедрин, Г.И. Лямкин, В.В. Зарубин.

48. Abu Shaqra Q.M. Epidemiological aspects of brucellosis in Jordan / Q.M. Abu Shaqra // Eur J Epidemiol. - 2000. - Vol. 16. - P. 581-584.

49. Al Dahouk S. Evaluation of genus-specific and species-specific real-time PCR assays for the identification of *Brucella* spp. / S. Al Dahouk, K. Nockler, H.C. Scholz, M. Pfeiffer, H. Neubauer, H. Tomaso // Clin. Chem. Lab. Med. - 2007. - Vol. 45. - P. 1464-1470.

50. Al Nakkas A.F. Single-tube nested PCR for the diagnosis of human brucellosis in Kuwait / A.F. Al Nakkas, S.G. Wright, A.S. Mustafa, S. Wilson // Ann. Trop. Med. Parasitol. - 2002. - Vol. 96(4). - P. 397-403.

51. Amenov A.A. Development and application of rapid xtreme chain reaction and loop-mediated isothermal amplification assays for the detection of leukaemia and brucellosis of cattle / A.A. Amenov, R.N. Kalendar, S.K. Abeldenov, A.S. Musakhmetov, P.K. Li, A.K. Kiribayeva, B.B. Khassenov // Eurasian J. Appl. Biotechnol. - 2017. - Vol. 3. - P. 49-55.

52. Prevalence of *Brucella* antibodies on a previously acute brucellosis infected population: sensitivity, specificity and predictive values of Rose Bengal and Wright standard tube agglutination tests / P. Andriopoulos, A. Kalogerakou, D. Rebelou, A.P. Gil, S. Zyga, V. Gennimata, M. Tsironi // Infection. - 2015 (Jun). Vol. 43 (3). P. 325-30. doi: 10.1007/s15010-015-0748-z.

53. Angeletti S. Matrix assisted laser desorption time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in clinical microbiology / S. Angeletti // J. Microbiol. Methods. - 2017. - Vol. 138. - P. 20-29.

54. Specific antibody profile in human brucellosis / J. Ariza, T. Pellicer, R. Pallares, A. Foz, F. Gudiol // Clin. Infect. Dis. - 1992. - Vol. 14. - P. 131-140.

55. Asaad A.M. Serological and molecular diagnosis of human brucellosis in Najran, Southwestern Saudi Arabia / A.M. Asaad, J.M. Alqahtani // J. Infect. Public. Health. - 2012 (Apr). -Vol. 5(2). - P. 189-94. doi: 10.1016/j.jiph.2012.02.001.

56. Baek B.K. *Brucella abortus* infection in indigenous Korean dogs / B.K. Baek, C.W. Lim, M.S. Rahman, C-Hyun Kim, A. Oluoch, I. Kakoma // Can. J. Vet Res. - 2003. - Vol. 67. - P. 312-314.

57. Baily G.G. Detection of *Brucella melitensis* and *Brucella abortus* by DNA amplification / G.G. Baily, J.B. Krahn, B.S. Drasar, N.G. Stoker // J. Trop. Med. Hyg. - 1992. - Vol. 95(4) - P. 271-275.

58. Barham W.B. Paparello S. Misidentification of *Brucella* species with use of rapid bacterial identification systems / W.B. Barham, P. Church, J.E. Brown, S. Paparello // Clin. Infect. Dis. - 1993. - Vol. 17. - P. 1068-1069.

59. Bogdanovich T. Validated 5Nuclease PCR Assay for Rapid Identification of the Genus *Brucella* / T. Bogdanovich, M. Skurnik, P. S. Lu Beck, P. Ahrens, J. Hoorfar // J.

clin. Microbiol. - 2004. Vol. 42, N5. - P. 2261-2263.

60. Bounaadja L. Real-time PCR for identification of *Brucella* spp.: a comparative study of IS711, bcsP31 and per target genes / L. Bounaadja, D. Albert, B. Chénais, S. Hénauld, M.S. Zygmunt, S. Poliak, B. Garin-Bastuji // Vet. Microbiol. - 2009. - Vol. 137 (1-2). - P. 156-164.

61. Effect of bacterial extracts on the immunologic profile in chronic relapsing brucellosis patients / P. Boura, P. Skendros, J. Kountouras, E. Zacharioudaki, T. Tsapas // Int. J. Immunopathol. Pharmacol. - 1999. - Vol. 12 (2). - P. 103-111.

62. Bricker B.J. Differentiation of *Brucella abortus* bv. 1, 2, and 4, *Brucella melitensis*, *Brucella ovis*, and *Brucella suis* bv. 1 by PCR / B.J. Bricker, S.M. Halling // J. Clin. Microbiol. - 1994. - Vol. 32. - P. 2660-2666.

63. Bricker B.J. Enhancement of the *Brucella* AMOS PCR assay for differentiation of *Brucella abortus* vaccine strains S19 and RB51 / B.J. Bricker, S.M. Halling // J. Clin. Microbiol. - 1995. - Vol. 33. - P. 1640-1642

64. Bricker B.J. Evaluation of the *Brucella abortus* species-specific polymerase chain reaction assay, an improved version of the *Brucella* AMOS polymerase chain reaction assay for cattle / B.J. Bricker, D.R. Ewalt, S.C. Olsen, A.E. Jensen // J. Vet. Diagn. Invest. - 2003. - Vol. 15. - P. 374-378.

65. Castaño M.J. Chronic brucellosis and persistence of *Brucella melitensis* DNA / M.J. Castaño, J. Solera // J. Clin. Microbiol. - 2009. - Vol. 47 (7). - P. 2084 - 2089.

66. Cellier M.F. Cloning and characterization of the *Brucella ovis* heat shock protein DnaK functionally expressed in *Escherichia coli* / M.F. Cellier, J. Teyssier, M. Nicolas, J.P. Liautard, J. Marti, J. Sri Widada // J. Bacteriol. - 1992. - Vol. 174. - P. 8036-42.

67. Chen S. Rapid detection of *Brucella* spp. Using Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) / S. Chen, X. Li, J. Li // Methods Mol. Biol. - 2013. - Vol. 1039 P. 99-108.

68. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology / A. Clark, E. Kaleta [et al.] // Clin. Microbiol. Rev. - 2013. - Vol. 26, № 3. - P. 547-603.

69. Cloeckaert A. An IS711 element downstream of the bp26 gene is a specific marker of *Brucella* spp. isolated from marine mammals / A. Cloeckaert, M. Grayon, O. Grepinet // Clin. Diagn. Lab. Immunol. - 2000a. - Vol. 7. - P. 835-839.

70. Cloeckaert A. Conservation of seven genes involved in the biosynthesis of the lipopolysaccharide O-side chain in *Brucella* spp. / A. Cloeckaert, M. Grayon, J.M. Verger, J.J. Letesson, F. Godfroid // Res. Microbiol. - 2000b. - Vol. 151. - P. 209-216.

71. Cloeckaert A. Identification of *Brucella melitensis* vaccine strain Rev. 1 by PCR-RFLP based on a mutation in the rpsL gene / M. Grayon, O. Grepinet // Vaccine. - 2002. - Vol. 20. - P. 2546-50.

72. Colmenero J.D. Real time polymerase chain reaction: a new powerful tool for the diagnosis of neurobrucellosis / J.D. Colmenero, M.I. Queipo-Ortuno, J.M. Reguera, G. Baeza, J.A. Salazar, P. Morata // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. - 2005. - Vol. 76. - P. 1025-1027.

73. Comparison of the Wright, indirect Coombs and enzyme immunoassay Ig G methods for the diagnosis of chronic brucellosis / H. Colak, G. Usluer, I. Özgüneş, B. Karagüven, S. Barlas // Mikrobiyol. Bul. - 1992 (Jan). - Vol. 26 (1). - P. 56-60.

74. Corbel M.J. Brucellosis: an Overview / M.J. Corbel // Emerg Infect Dis. - 1997. - Vol. 3. - P. 213-21.

75. Costa L.F. Species-specific nested PCR as a diagnostic tool for *Brucella ovis*

infection in rams / L.F. Costa, C.N. Nozaki, N.S.C. Lira [et al.] // Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. - 2013. - Vol. 65. - P. 55-60.

76. Cutler S.J. Brucellosis - new aspects of an old disease / S.J. Cutler, A.M. Whatmore, N.J. Commander // J Appl Microbiol. - 2005. - Vol. 98. - P. 1270-1281.

77. Da Costa M. Specificity of six gene sequences for the detection of the genus *Brucella* by DNA amplification / M. Da Costa, J.P. Guillou, B. Garin-Bastuji [et al.] // J. Appl. Bacteriol. - 1996. - V. 81. - P. 267-275.

78. Dal T. Comparison of multiplex real-time polymerase chain reaction with serological tests and culture for diagnosing human brucellosis / T. Dal, S.S. Kara, A. Cikman [et al.] // J. Infect. Public Health. - 2018. - P. 203-205.

79. Nonsteroidal anti-inflammatory drug hypersensitivity syndrome: a multicenter study. II. Basophil activation by nonsteroidal anti-inflammatory drugs and its impact on pathogenesis / A.L. De Weck, M.L. Sanz, P.M. Gamboa [et al.] // J. Investig. Allergol. Clin. Immunol. - 2010. - Vol. 20 (1). - P. 39-57.

80. De massis F. Distribution of *Brucella* field strains isolated from livestock, wildlife populations, and humans in Italy from 2007 to 2015 / F. De massis, K. Zilli, G. Di Donato [et al.] // PlosONE. - 2019. - Vol. 14 (3). - P.0213689.

81. Debeaumont C. Real-time PCR for detection of *Brucella* spp. DNA in human serum samples / C. Debeaumont, P.A. Falconnet, M. Maurin // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. - 2005. - Vol. 24. - P. 842-845.

82. A systematic review of matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry compared to routine microbiological methods for the time taken to identify microbial organisms from positive blood cultures / P. Dixon [et al.] // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. - 2015. - Vol. 34, N 5. - P. 863-876.

83. Isolation of *Brucella* spp. from Clinical Specimens / H. Etemadi, A. Raissadat, M.J. Pickett [et al.] // Journal of clinical microbiology (Sept.). - 1984. - Vol. 20, № 3. - P. 586.

84. Ewalt D.R. Validation of the abbreviated AMOS PCR as a rapid screening method for differentiation of *Brucella abortus* field strain isolates and the vaccine strains, 19 and RB51 / D.R. Ewalt, B.J. Bricker // J. Clin. Microbiol. - 2000. - Vol. 38. - P. 3085-3086.

85. Identification of *Brucella* by MALDI-TOF mass spectrometry. Fast and reliable identification from agar plates and blood cultures / L. Ferreira, S.V. Castano, F. Sanchez-Juanes [et al.] // PLoS One. - 2010. - Vol. 5, № 12. - URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014235> (дата обращения 12.03.2019).

86. Ficht T.A. DNA sequence and expression of the 36-kilodalton outer membrane protein gene of *Brucella abortus* / T.A. Ficht, S.W. Bearden, B.A. Sowa, L.G. Adams // Infect. Immun. - 1989. - Vol. 57. - P. 3281-3291.

87. Foster J.T. Real-time PCR assays of single-nucleotide polymorphisms defining the major *Brucella* clades / J.T. Foster, R.T. Okinaka, R. Svensson [et al.] // Journal Of Clinical Microbiology. - 2008. - Vol. 46, № 1. - P. 296-301.

88. Fretin D. *Brucella suis* identification and biovar typing by real-time PCR / D. Fretin, A.M. Whatmore, S. Al Dahouk [et al.] // Veterinary Microbiology, Elsevier. - 2008. - Vol. 131 (3-4). - P. 376.

89. Garshasbi M. Molecular detection of *Brucella* species in patients suspicious of Brucellosis from Zanjan, Iran / M. Garshasbi, A. Ramazani, R. Sorouni [et al.] // Brazilian J Microbiol. - 2014. - Vol. 45 (2). - P. 533-538.

90. Garcia-Yoldi D. Multiplex PCR Assay for the Identification and Differentiation of all *Brucella* Species and the Vaccine Strains *Brucella abortus* S19 and RB51 and *Brucella*

melitensis / D. Garcia-Yoldi, C.M. Marin, M.J. de Miquel [et al.] // Clinical Chemistry. - 2006. - Vol. 52. - No. 4. - P. 779-781.

91. Differentiation between active and inactive human brucellosis by measuring antiprotein humoral immune responses / F.A Goldbaum, C.P. Rubbi, J. Wallach, [et al.] // J. Clin Microbiol. - 1992. - Vol. 30. - P. 604-07.

92. Gomo C. Detection of *Brucella abortus* in Chiredzi district in Zimbabwe / C. Gomo, S. Musari, M. De Garine-Wichatitsky [et al.] // Onderstepoort Journal of Veterinary Research. - 2012. - 79 (1). - Art. 417.

93. Gopaul K.K. Rapid identification of *Brucella* isolates to the species level by real time PCR based single nucleotide polymorphism (SNP) analysis / K.K. Gopaul, M.S. Koylass, C.J. Smith [et al.] // BMC Microbiology. - 2008. - Vol. 8 (86).

94. Griffiths J.J. Agglutination and agglutinin blocking property in serum from known cases of brucellosis / J.J. Griffiths // Publ. Hlth. Rep. - 1947. - Vol. 62. - P. 865.

95. Brucellosis in a refugee who migrated from Syria to Germany and lessons learnt / R. Grunow, D. Jacob, S. Klee [et al.] // Euro Surveill. - 2016. - Vol. 21, № 31. - P. 1-4.

96. Gupta V.K. Detection of *Brucella melitensis* from goat tissues employing PCR / V.K. Gupta, R. Kumari, D.K. Verma [et al.] // Indian Journal of Animal Sciences. - 2006. - Vol. 76. - Vol. 10. - P. 793-795.

97. Halling S.M. Completion of the genome sequence of *Brucella abortus* and comparison to the highly similar genomes of *Brucella melitensis* and *Brucella suis* / S.M. Halling, B.D. Peterson-Burch, B.J. Bricker [et al.] // J. Bacteriol. - 2005. - Vol. 187. - P. 2715-2726.

98. Hansel C. Novel real-time PCR detection assay for *Brucella suis* / K. Mertens, M.C. Elschner, F. Melzer // Vet. Rec. Open. - 2015. - 2: P.000084. - doi: 10.1136/vetreco-2014-000084.

99. Henault S. Validation of a nested-PCR based on the IS6501/711 sequence for the detection of *Brucella* in animal samples / S. Henault, D. Calvez, M. Thiébaud [et al.] // Proceedings of the Brucellosis 200 International Research Conference 9 including the 53rd Brucellosis Research Conference, Nimes, France. Paris. - 2000.

100. Hinic V. Novel identification and differentiation of *Brucella melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, and *B. neotomae* suitable for both conventional and real-time PCR systems / V. Hinic, I. Brodard, A. Thomann [et al.] // Journal of Microbiological Methods. - 2008. - Vol. 75. - P. 375-378.

101. Ica T. Conventional and molecular biotyping of *Brucella* strains isolated from cattle, sheep and human Ankara / T. Ica, F. Aydin, K.S. Gumussoy [et al.] // Univ. Vet. Fak. Derg. - 2012. - Vol. 59. - P. 259-264.

102. Imaoka K. Simultaneous detection of the genus *Brucella* by combinatorial PCR / K. Imaoka, M. Kimura, M. Suzuki [et al.] // Jpn. J. Infect. Dis. - 2007. - Vol. 60. - P. 137-139.

103. Kaden R. A novel real-time PCR assay for specific detection of *Brucella melitensis*. / R. Kaden, S. Ferrari, E. Alm, T. Wahab // BMC Infect. Dis. - 2017. - Vol. 17. - P. 230-235.

104. Kang S.I. A new *Brucella canis* species-specific PCR assay for the diagnosis of canine brucellosis / S.I. Kang, S.E. Lee, J.Y. Kim [et al.] // Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases. - 2014. - Vol. 37 (4). - P. 237-41.

105. Interlaboratory comparison of intact-cell matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry results for identification and differentiation of *Brucella* spp / A. Karger, F. Melzer, M. Timke [et al.] // J. Clin. Microbiol. - 2013. - Vol. 51, № 9. - P. 3123-3126.

106. Karthik K. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) test for specific and rapid detection of *Brucella abortus* in cattle / K. Karthik, R. Rathore, P. Thomas [et al.] // *Vet. Q.* - 2014. - Vol. 34 (4). - P. 174-179.
107. Evaluation of brucellosis in patients and diagnostic tests / S. Kazemi, S. Borzoueisileh, S. Ebrahimpour // *Online J. Anim. Feed Res.* - 2015. - Vol. 4, № 3. - P. 60-66.
108. Kim J.Y. Differential diagnosis of *Brucella abortus* by real-time PCR based on a SingleNucleotide Polymorphisms / J.Y. Kim, S. Kang, J.J. Lee [et al.] // *Clin. Microbiol.* - 2015. - Vol. 4. - P. 5-10.
109. Identification of highly pathogenic microorganisms by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: results of an interlaboratory ring trial / P. Lasch, T. Wahab, S. Weil [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* - 2015. - Vol. 53, № 8. - P. 2632-2640.
110. Le Fleche P. Evaluation and selection of tandem repeat loci for a *Brucella* MLVA typing assay / P. Le Fleche, I. Jacques, M. Grayon [et al.] // *BMC Microbiology.* - 2006. - Vol. 6, № 9. doi:10.1186/1471-2180-6-9.
111. Leal-Klevezas D.S. Molecular detection of *Brucella* spp.: rapid identification of *B. abortus* biovar 1 using PCR / D.S. Leal-Klevezas, A. Lopez-Merino, J.P. Martinez-Soriano // *Arch. Med. Res.* - 1995. Vol. 26. - P. 263-267.
112. Leal-Klevezas D.S. Single-step PCR for detection of *Brucella* spp. from blood and milk of infected animals / D.S. Leal-Klevezas, I.O. Marti Nez-Va Zquez, A. Lopez-Merino, J.P. Marti Nez-Soriano // *J. Of Clinical Microbiology.* - 1995. - P. 3087-3090.
113. Leal-Klevezas D.S. Use of polymerase chain reaction to detect *Brucella abortus* biovar 1 in infected goats / D.S. Leal-Klevezas, I.O. Martinez-Vazquez, J. Garcia-Cantu [et al.] // *Veterinary Microbiology.* - 2000. - Vol. 75. - P. 91-97.
114. Leyla G. Comparison of polymerase chain reaction and bacteriological culture for the diagnosis of sheep brucellosis using aborted fetus samples / Leyla G., Kadri G. // *Vet. Microbiol.* - 2003. - Vol. 93, №1. - P. 53-61.
115. Lopez-Goni I. Evaluation of a multiplex PCR assay (Bruce-ladder) for molecular typing of all *Brucella* species, including the vaccine strains / I. Lopez-Goni, D. Garcia-Yoldi, C.M. Marin, [et al.] // *J. of Clinical Microbiology.* - 2008. - Vol. 46, №10. - P. 3484-3487.
116. Lopez-Goni I. New Bruce-ladder multiplex PCR assay for the biovar typing of *Brucella suis* and the discrimination of *Brucella suis* and *Brucella canis* / I. Lopez-Goni, D. Garcia-Yoldi, C.M. Marin [et al.] // *Veterinary Microbiology.* - 2011. - Vol. 154. - P. 152-155.
117. Ferech Human brucellosis in Kuwait / A.R. Lulu, G.F. Arja, M.Y. Khateeb [et al.] // *Q. J. Med.* - 1998. - Vol. 66. - P. 39-44.
118. Manterola L. Evaluation of a PCR test for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in semen samples from rams / L. Manterola, A. Tejero-Garces, A. Ficapal [et al.] // *Vet. Microbiol.* - 2003. - Vol. - 20, № 92 (1-2). - P. 65-72.
119. ELISA versus conventional methods of diagnosing endemic brucellosis / B. Mantur, A. Parande, S. Amarnath [et al.] // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* - 2010. - Vol. 83. - P. 314-318.
120. Marcos D.T. LAMP technology: Rapid identification of *Brucella* and *Mycobacterium avium* subsp. Paratuberculosis / D.T. Marcos, A.K. Gioffré, M.E.C. Cucchi // *Braz. J. Microbiol.* - 2015. - Vol. 46 (2). - P. 619-626.
121. Marianelli C. Molecular characterization of the *rpoB* gene in *Brucella* species: new potential molecular markers for genotyping / F. Ciuchini, M. Tarantino, P. Pasquali, R. Adone // *Microbes Infect.* - 2006. - Vol. 8. - P. 860-865.

122. Mayer-Scholl A. Advancement of a multiplex PCR for the differentiation of all currently described *Brucella* species / A. Mayer-Scholl, A. Draeger, C. Göllner, H.C. Scholz, K. Nöckler // *J. Microbiol Methods*. - 2010. - Vol. 80. - P. 112-114.
123. Mirnejad R. A duplex PCR for the rapid and simultaneous detection of *Brucella* spp. in human blood samples / R. Mirnejad, M. Mohamadi, V. Piranfar [et al.] // *Asian Pacific J. of Tropical Medicine*. - 2013. - P. 453-456.
124. Evaluation of different PCR assays for early detection of acute and relapsing brucellosis in humans in comparison with conventional methods // S. Mitka, C. Anetakis, E. Souliou [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* - 2007. - Vol. 45. - P. 1211-1218.
125. Nan W. Duplex PCR for differentiation of the vaccine strain *Brucella suis* S2 and *B. suis* biovar 1 from other strains of *Brucella* spp. / W. Nan, P. Tan, Y. Wang [et al.] // *The Veterinary Journal*. - 2014. - P. 1090-1093.
126. Nan W. A rapid cycle-PCR method for distinguishing the vaccine strain *Brucella abortus* A19 in China / W. Nan, Y. Zhang, P. Tan [et al.] // *J. Vet. Diagn. Invest.* - 2016. - Vol. 28 (3). - P. 214-218.
127. Navarro E. Use of real-time quantitative polymerase chain reaction to monitor the evolution of *Brucella melitensis* DNA load during therapy and post-therapy follow-up in patients with brucellosis / E. Navarro, J.C. Segura, M.J. Castano, J. Solera // *CID*. - 2006. - Vol. 42. - P. 1266-1277.
128. Navarro-Martinez A. Rapid diagnosis of human brucellosis by quantitative real-time pcr: a case report of Brucellar spondylitis / A. Navarro-Martinez, E. Navarro, M.J. Castano, J. Solera // *J. of Clinical Microbiology*. - 2008. - Vol. 46. - P. 385-387.
129. Newby D.T. Real-Time PCR Detection of *Brucella abortus*: a Comparative Study of SYBR Green I, 5-Exonuclease, and Hybridization Probe Assays / D.T. Newby, T.L. Hadfield, F.F. Roberto // *Applied and Environmental Microbiology*. - 2003. - Vol. 69. - P. 4753-4759
130. Mass spectrometry: pneumococcal meningitis verified and *Brucella* species identified in less than half an hour / H.G. Nyvang, J.A. Kvistholm, S. Bocher, B.M. Damkjaer [et al.] // *Scand. J. Infect. Dis.* - 2010. - Vol. 42, № 9. - P. 716-718.
131. Ocampo-Sosa, A.A. Development of a new PCR assay to identify *Brucella abortus* biovars 5, 6 and 9 and the new subgroup 3b of biovar 3 / A.A. Ocampo-Sosa, J.A. Balblin, J.M. Garcia-Lobo // *Vet. Microbiol.* - 2005. - Vol. 110. - P. 41-51.
132. Ohtsuki, R. Rapid detection of *Brucella* spp. by the loop-mediated isothermal amplification method / R. Ohtsuki, K. Kawamoto, Y. Kato [et al.] // *J. of Applied Microbiology*. - 2008. - Vol. 104. - P. 1815-1823.
133. Diagnostic value of *Brucella* ELISA IgG and IgM in bacteremic and non-bacteremic patients with brucellosis / A.O. Osoba, H. Balkhy, Z. Memish [et al.] // *J. Chemother.* - 2001. - Vol. 13 (Suppl. 1). - P. 54-59.
134. Evaluation of serological tests for diagnosis of brucellosis / O. Pabuccuoglu, T. Ecemis, S. El [et al.] // *Jpn. J. Infect. Dis.* - 2011. - Vol. 64. P. 272-276.
135. Pan W. Development and application of the novel visual loop-mediated isothermal amplification of *Omp25* sequence for rapid detection of *Brucella* sp. / W. Pan, J.Y. Wang, H. Shen [et al.] // *J. Anim. Vet. Adv.* - 2011. - Vol. 10. - P. 2120-2126.
136. Biological weapons: *Brucella* as a biological weapon / G. Pappas, P. Panagopoulou, L. Christou, N. Akritidis // *Cell Mol. Life. Sci.* - 2006. - Vol. 63 - P. 2229-2236.
137. Patel R. MALDI-TOF MS for the diagnosis of infectious diseases / R. Patel // *Clin. Chem.* - 2015. - Vol. 61, № 1. - P. 100-111.
138. Perez-Sancho M. Development and evaluation of an IS711-based loop mediated isothermal amplification method (LAMP) for detection of *Brucella* spp. on clinical samples

/ M. Perez-Sancho, T. Garcia-Seco, L. Arrogante [et al.] // Res. Vet. Sci. - 2013. - Vol. 95. - P. 489-494.

139. Brucellosis: An Unusual Diagnosis for a Seronegative Patient with Abscesses, Osteomyelitis, and Ulcerative Colitis / I. Potasman, L. Even, M. Danaï [et al.] // Rev. Infect. Dis. - 1991. - Vol. 13. - P. 1039-42.

140. Probert W.S. Real-Time Multiplex PCR Assay for Detection of *Brucella* spp., *B. abortus*, and *B. melitensis* / W.S. Probert, K.N. Schrader, N.Y. Khuong // J. Of Clinical Microbiology. - 2004. - Vol. 42. - P. 1290-1293.

141. Prusty B.R. A closed tube loop-mediated isothermal amplification assay for identification of *Brucella* Species in Bull Semen / B.R. Prusty, R. Tabassum, P. Chaudhuri [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. B Biol. Sci. - 2016b. - P. 1-7.

142. Prusty B.R. Visual detection of *Brucella* spp. in spiked bovine semen using loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay / B.R. Prusty, P. Chaudhuri, V.K. Chaturvedi, M. Saini, B.P. Mishra, P.K. Gupta // Indian J. Microbiol. - 2016a. - Vol. 56. - P. 142-147.

143. Queipo-Ortuno M.I Rapid diagnosis of human brucellosis by SYBR Green I-based real-time PCR assay and melting curve analysis in serum samples / M.I. Queipo-Ortuno, J.D. Colmenero, J.M. Reguera [et al.] // Clinical Microbiology and Infection. - 2005. - Vol. 11 № 9. - P. 713-718.

144. Rajashekara G. Comparative whole-genome hybridization reveals genomic islands in *Brucella* species / G. Rajashekara, J.D. Glasner, D.A. Glover, G.A. Splitter // J. Bacteriol. - 2004. - Vol. 186. - P. 5040-5051.

145. Ratushna V.G. Molecular targets for rapid identification of *Brucella* spp. / V.G. Ratushna, D.M. Sturgill, S. Ramamoort [et al.] // BMS Microbiology. - 2006. - Vol. 6. - P. 13.

146. Redkar R. Real-time detection of *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* and *Brucella suis* / R. Redkar, S. Rose, B. Bricker, V. Del Vecchio // Molecular and Cellular Probes. - 2001. - Vol. 15. - P. 43-52.

147. Sabrina R. Detection of *Brucella* spp. in milk from seronegative cows by real-time polymerase chain reaction in the region of Batna, Algeria / R. Sabrina, H. Taha Mossadak, M. Bakir, M. Asma, B. Khaoula // Veterinary World. - 2018. - Vol. 11 (3). - P. 363-367.

148. Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+ CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self / S. Sakaguchi // J. Nat. Immunol. - 2005. - Vol. 6, №. 4. P. 345-352. doi: 10.1038/ni1178.

149. Sangari F.J. The *Brucella abortus* vaccine strain B19 carries a deletion in the erythritol catabolic genes / F.J. Sangary, J.M. Garcia-Lobo, J. Aguero // FEMS Microbiol. Lett. - 1994. - Vol.121. - P. 337-342.

150. Sedo O. Sample preparation methods for MALDIMS profiling of bacteria / O. Sedo, I. Sedlacek, Z. Zdrahal // Mass Spectrom. Rev. - 2011. - Vol. 30, № 3. - P. 417-434.

151. Scholz H.C. Isolation of *Brucella microti* from soil / H.C. Scholz, Z. Hubalek, J. Nesvadnova [et al.] // Emerg. Infect. Dis. - 2008. - Vol. 14 (8). - P. 1316-1317.

152. Sifuentes-Rinc A.M. Detection and differentiation of the six *Brucella* species by polymerase chain reaction / A.M. Sifuentes-Rinca, A. Revol, H.A. Barrera-Salda // Mol. Med. - 1997. - Vol. 3 (11). - P. 734-739.

153. Singh A. 16S rRNA and omp31 gene based molecular characterization of field strains of *B. melitensis* from aborted foetus of goats in India / A. Singh, V.K. Gupta, A. Kumar, V.K. Singh, S. Nayakwadi // Hindawi Publishing Corporation The Scientific World Journal. -

2013. - Vol. 2013. - Article ID 160376, 7 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/160376>.

154. Chronic brucellosis patients retain low frequency of CD4+ T-lymphocytes expressing CD25 and CD28 after *Escherichia coli* LPS stimulation of PHA-cultured PBMCs. / P. Skendros, A. Sarantopoulos, K. Tselios, P. Boura // *J. Clin. Dev. Immunol.* - 2008. - Vol. 2008. - P. 327-346. doi: 10.1155/2008/327346.

155. Skendros P. Immunity to brucellosis / P. Skendros, P. Boura // *Rev. Sci. Tech.* - 2013. - Vol. 32, № 1.- P. 137-147.

156. Soleimani M. Developing a real-time quantitative loop-mediated isothermal amplification assay as a rapid and accurate method for detection of Brucellosis / M. Soleimani, S. Shams, A.K. Majidzadeh // *J. Appl. Microbiol.* - 2013. - Vol. 115. - P. 828-834.

157. Song L. Establishment of loopmediated isothermal amplification (LAMP) for rapid detection of *Brucella* spp. and application to milk and blood samples / L. Song, J. Li, S. Hou [et al.] // *J. Microbiol.Methods.* - 2012. - Vol. 90. - P. 292-297.

158. Starska K. Prognostic value of the immunological phenomena and relationship with clinicopathological characteristics of the tumor-the expression of the early CD69+, CD71+ and the late CD25+, CD26+, HLA/DR+ activation markers on T CD4+ and CD8+ lymphocytes in squamous cell laryngeal carcinoma. Part II. / K. Starska, E. Głowacka, A. Kulig [et al.] // *J. Folia Histochem. Cytopbiol.* - 2011. - Vol. 49, № 4. P. 593-603. doi: 10.5603/FHC.2011.0082.

159. Evaluation of real time PCR method for rapid diagnosis of brucellosis with different clinical manifestations / H. Surucuoglu, S. El, S. Ural, [et al.] // *Pol. J. Microbiol.* - 2009. - Vol. 58. - P. 15-19.

160. Tsolis R.M. Genome degradation in *Brucella ovis* corresponds with narrowing of its host range and tissue tropism / R.M. Tsolis, R. Sechadri, R.L. Santos [et al.] // *PLoS One.* - 2009. - Vol. 4. - P. 1-9.

161. Vitr M.A. *Brucella melitensis* invades murine erythrocytes during infection / M.A. Vitr [et al.] // *Infect. Immun.* 2014. Vol. 82, № 9. P. 3927-3938.

162. Vizcaino N. DNA polymorphism in the genus *Brucella* / N. Vizcaino, A. Cloeckert, J. Verger [et al.] // *Microbes and infection.* - 2000. - Vol. 2, № 9. - P. 1089-1100.

163. Whatmore A.M. Identification and characterization of variable-number tandem-repeat markers for typing of *Brucella* spp. / A.M. Whatmore, J. Shankster, L.L. Perrett [et al.] // *J. Of Clinical Microbiology.* - 2006. - Vol. 44, № 6 - P. 1982-1993.

164. Whatmore A.M. Characterisation of the genetic diversity of *Brucella* by multilocus sequencing / A.M. Whatmore, L.L. Perrett, A.P. MacMillan // Published: *BMC Microbiology.* - 2007. - Vol. 7. - P. 34. doi: 10.1186/1471-2180-7-34.

165. Xavier M.N. Development and evaluation of a species-specific PCR assay for the detection of *Brucella ovis* infection in rams / M.N. Xavier, T.M.A. Silva, E.A. Costa [et al.] // *Veterinary Microbiol.* - 2010. - Vol. 145. - P. 158-164.

166. Yman L. Allergen assay and extract ponency estimation / L. Yman, G. Ponterius, R. Brand // *Allergy Immunology.* - 1979. - Vol. 49. - P. 55-62.

167. Young E.J. Brucellosis: current epidemiology, diagnosis and management / E.J. Young // *Curr Trop Infect Dis.* - 1995. - Vol. 15. - P. 115-128.

168. Young E.J. An Overview of Human Brucellosis / E.J. Young // *Clin Infect Dis.* - 1995. - Vol. 21. - P. 283-90.

169. Evaluation of different primers for detection of *Brucella* in human and animal serum samples by using PCR method / M. Zamanian, G.R. Hashemi Tabar, M. Rad [et al.] // *Arch. Iran. Med.* 2015.

170. Zahidi M.J. Identification of *Brucella* spp. isolated from human brucellosis in

Профилактика бруцеллёза

Профилактика бруцеллёза включает комплекс ветеринарно-санитарных, хозяйственных и медико-санитарных мероприятий, конечной целью которых является ликвидация инфекции среди сельскохозяйственных животных и предупреждение (прекращение) заболеваний среди населения (таблица 11) [2, 3, 5, 11, 21].

Основные требования в Российской Федерации к комплексу организационных, санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий, проведение которых обеспечивает предупреждение возникновения и распространения случаев заболевания бруцеллёзом среди людей, регламентированы действующей нормативной базой [3, 7-28].

Комплекс противоэпидемических (профилактических) мероприятий при бруцеллёзе включает три основных раздела [2, 5, 11, 19, 20, 21]:

1. Профилактика и ликвидация инфекций среди источников, обеззараживание (уничтожение) объектов внешней среды в местах их обитания.

2. Обеззараживание (контроль) продуктов и сырья животного происхождения.

3. Медико-санитарные мероприятия включают:

– защиту лиц, подвергающихся угрозе (рискам) заражения в эпизоотических очагах и за их пределами;

– вакцинопрофилактику - создание иммунологической устойчивости к инфекции;

– медицинские осмотры контингентов риска.

Целенаправленная профилактика и борьба с бруцеллёзом возможны лишь при подробном анализе эпизоотолого-эпидемиологической ситуации и особенностей проявления инфекции, определяющих региональную патологию бруцеллёза.

При планировании направлений и объемов профилактических мероприятий необходима оценка следующих основных (дискретных) предпосылок (рисков) возникновения и распространения бруцеллёзной инфекции на конкретной административной или географически выделенной территории и приграничных территориях [1, 2, 21, 29-33].

1. Состояние заболеваемости животных бруцеллёзом.

Необходимо учитывать:

– наличие и степень распространения бруцеллёза среди эпидемиологически значимых видов животных (наличие и количество неблагополучных по бруцеллёзу пунктов, динамика неблагополучия территорий);

- причины возникновения случаев заболевания животных бруцеллёзом;
- особенности проявления эпизоотического процесса в условиях конкретной территории: виды животных, поражаемых бруцеллёзом, условия инфицирования, превалентность очагов бруцеллёза в частном и общественном секторах;
- результаты планового и по эпизоотическим показаниям обследования поголовья на бруцеллёз (результаты иммунологических реакций, бактериологических исследований, виды и биовары выделенных культур бруцелл);
- состояние вакцинопрофилактики бруцеллёза среди сельскохозяйственных животных (степень охвата поголовья, виды используемых вакцин, контроль эффективности иммунопрофилактики).

2. Состояние заболеваемости людей бруцеллёзом.

Необходимо учитывать:

- многолетнюю динамику заболеваемости, возникновения групповых вспышек, неблагополучия территорий; наличие регистрации «завозных» случаев;
- причины заболевания людей бруцеллёзом;
- структуру контингента, поражаемого бруцеллёзом: социальная и профессиональная принадлежности, возраст, пол, тип поселения и др.;
- источники, механизмы и факторы передачи инфекции, сезонность, клинические формы болезни;
- результаты изучения выделенных из клинического материала культур бруцелл;
- состояние иммунопрофилактики среди контингентов риска;
- состояние клинической лабораторной диагностики бруцеллёза и регистрации, учета случаев заболевания у людей;
- состояние учета всех контингентов, которые в той или иной степени связаны с факторами риска и могут подвергаться заражению в процессе производственной деятельности или в условиях быта.

3. Уровень ветеринарного обслуживания территории.

Необходимо учитывать:

- наличие на территории утвержденного комплексного плана профилактики бруцеллёза; эффективность его реализации;
- состояние учета сельскохозяйственных животных на подведомственной территории в хозяйствах различных форм собственности;
- состояние порядка выпаса, прогона и водопоя сельскохозяйственных животных с учетом расположения населенных пунктов и мелкотоварных ферм (ИП, КФК, ЛПХ);
- наличие и состояние материально-технической и лабораторной

базы, укомплектованность кадрами, квалификация персонала ветеринарных лабораторий;

- использование в работе ветеринарных лабораторий современных, высокоинформативных методов диагностики бруцеллёза у животных;

- уровень координации органов (учреждений) (экстренный и плановый информационный обмен, внедрение совместных программ, информационно-просветительская работа и др.), обеспечивающих государственный ветеринарный надзор, государственный санитарно-эпидемиологический надзор, здравоохранения, МВД и местных органов самоуправления.

4. Природно-климатические, географические и социально-экономические условия региона, определяющие особенности ведения, структуры животноводства, экономических и хозяйственно-бытовых отношений населения.

Необходимо учитывать:

- виды разводимых сельскохозяйственных животных, с учётом различной степени восприимчивости к возбудителю бруцеллёза и эпидемиологической значимости;

- пути формирования животноводческих хозяйств, с учетом возможного заноса возбудителей бруцеллёза с зараженными животными, продукцией или сырьем животного происхождения из неблагополучных по бруцеллёзу территорий;

- условия содержания животных: стойловое, отгонно-пастбищное содержания, горные выпасы и др.;

- хозяйственно-бытовые особенности разведения и обслуживания животных, национальные (местные) традиции, которые могут способствовать распространению бруцеллёза и заболеванию людей (культура ведения хозяйства, привлечение к уходу за животными несовершеннолетних, употребление термически не обработанной продукции);

- структуру и социально-экономические отношения населения (соотношение численности городского/сельского населения, наличие неофициальных торгово-бартерных отношений и др.);

- структуру и соотношение хозяйств различных форм собственности;

- уровень индустриализации животноводства, наличие в регионе предприятий по промышленному убою животных и переработке мясомолочной продукции.

Противоэпидемические (профилактические) мероприятия (неспецифическая профилактика)

Учитывая то, что бруцеллёз - зоонозная инфекция и заболевания людей являются следствием вовлечения их в эпизоотический процесс, основой эпидемического благополучия являются меры по профилак-

тике инфекции среди животных и своевременной ликвидации очагов эпизоотии в случае их возникновения

Основные меры (принципы) профилактики бруцеллёза среди сельскохозяйственных животных

Основным положением, определяющим эффективность мероприятий по профилактике бруцеллеза среди сельскохозяйственных животных, является недопущение возникновения очагов - охрана благополучных хозяйств (населенных пунктов) от заноса в них инфекции, а в случае эпизоотии - экстренное проведение мер по локализации и ликвидации очага.

Основные требования в Российской Федерации к комплексу организационных, профилактических и противозооотических в отношении бруцеллеза регламентированы действующей нормативной базой [3, 28].

Наиболее частой причиной возникновения новых эпизоотических очагов бруцеллёза является комплектование поголовья (ввод в стадо, хозяйство) вновь приобретёнными животными. В местностях, «относительно» благополучных по бруцеллёзу или где ранее бруцеллёз не регистрировался, возникновение очагов эпизоотии часто приводит к групповым заболеваниям, которые могут принимать характер эпидемических вспышек.

С целью недопущения заноса бруцеллёзной инфекции в хозяйства допускается ввод животных только из благополучных населенных пунктов и хозяйств, что должно быть подтверждено ветеринарно-сопроводительной документацией, оформленной в соответствующем порядке.

Перед вводом новой партии животных в общее стадо обязательна его карантинизация в течение 30 дней с лабораторным обследованием на бруцеллёз. В случае выявления в период карантина положительно реагирующих животных их в срочном порядке изолируют и сдают на убой. Решения в отношении остального поголовья принимают службы, обеспечивающие государственный ветеринарный надзор. При импорте животных ветеринарные службы должны требовать представления международного ветеринарного сертификата, подтверждающего отсутствие у ввозимых животных симптомов, характерных для бруцеллёза (в день отправки), эпизоотическое благополучие поголовья (стада), хозяйства по бруцеллёзу, отрицательные результаты лабораторного обследования на бруцеллёз.

К числу основных мер по охране благополучных хозяйств (поголовья) от заноса в них инфекции относится также недопущение контакта животных благополучных и неблагополучных хозяйств на пастбищах, водопое, территории содержания. Строго соблюдается принцип раз-

дельного обслуживания здорового поголовья и подозрительного (неблагополучного) на заболевание бруцеллёзом.

За благополучными хозяйствами устанавливается постоянный ветеринарный надзор. При регистрации признаков заболевания, вызывающих подозрение на бруцеллёз, принимаются меры по изоляции животных и лабораторному обследованию животных высокочувствительными методами. К характерным для бруцеллеза животных клиническим признакам относят: аборт, рождение нежизнеспособного приплода, задержка отделения плодных оболочек, бесплодие. Подозрение должны вызвать случаи возникновения метрита, вагинита, орхита, поражения суставов.

Ответственность за здоровье, содержание и использование животных несут их владельцы, а за выпуск безопасных в ветеринарно-санитарном отношении продуктов животноводства - производители этих продуктов [28].

Владельцы животных и производители продуктов животноводства обязаны:

- осуществлять хозяйственные и ветеринарные мероприятия, обеспечивающие предупреждение болезней животных и безопасность в ветеринарно-санитарном отношении продуктов животноводства;

- содержать в надлежащем состоянии животноводческие помещения и сооружения для хранения кормов и переработки продуктов животноводства, не допускать загрязнения окружающей среды отходами животноводства;

- соблюдать зооигиенические и ветеринарно-санитарные требования при размещении, строительстве, вводе в эксплуатацию объектов, связанных с содержанием животных, переработкой, хранением и реализацией продуктов животноводства;

- предоставлять специалистам в области ветеринарии по их требованию животных для осмотра, немедленно извещать указанных специалистов о всех случаях внезапного падежа или одновременного массового заболевания животных, а также об их необычном поведении;

- до прибытия специалистов в области ветеринарии принять меры по изоляции животных, подозреваемых в заболевании;

- соблюдать установленные ветеринарно-санитарные правила перевозки и убоя животных, переработки, хранения и реализации продуктов животноводства;

- выполнять указания специалистов в области ветеринарии о проведении мероприятий по профилактике болезней животных и борьбе с этими болезнями.

Профилактические мероприятия по предупреждению заражения людей в эпизоотических очагах бруцеллёза

При выявлении случаев заболевания бруцеллёзом сельскохозяйственных животных специалисты ветеринарной службы информируют органы, осуществляющие государственный санитарно-эпидемиологический надзор; на неблагополучное хозяйство накладывается ограничение, организуются мероприятия по защите людей от заражения возбудителем бруцеллёза и по оздоровлению неблагополучного пункта.

Руководители животноводческих хозяйств обязаны:

- организовать мероприятия по раннему выявлению заболевших бруцеллёзом (проведение внеочередного профилактического медосмотра работников);

- приказом по хозяйству закрепить работников, занятых уходом за больными и положительно реагирующими на бруцеллёз животными, и провести их инструктаж о соблюдении требований безопасности, использовании средств индивидуальной защиты (СИЗ);

- обеспечить всех работников достаточным количеством средств личной гигиены, СИЗ, уборочного инвентаря, дезинфицирующими средствами, эффективными в отношении возбудителя бруцеллёза, и надлежащими условиями для соблюдения противоэпидемического режима, личной гигиены, приема пищи и отдыха;

- обеспечить условия по недопущению вывоза положительно реагирующего на бруцеллёз поголовья для убоя и переработки, а также использования, переработки и вывоза за пределы неблагополучного хозяйства животноводческой продукции (молоко, мясо и т.д.) без согласования с органами Россельхознадзора и Роспотребнадзора.

При выявлении в индивидуальных хозяйствах положительно реагирующего на бруцеллёз поголовья или больных животных органы и учреждения Роспотребнадзора уточняют список лиц, занимающихся уходом за животными, а также лиц, употреблявших животноводческую продукцию, полученную от больного поголовья (в т.ч. контактных лиц), дают предписания по проведению медицинского обследования; проводят инструктаж с индивидуальными владельцами по соблюдению мер профилактики заражения бруцеллёзом при уходе за больным и положительно реагирующим на бруцеллёз поголовьем животных.

Убой, переработка животных, положительно реагирующих на бруцеллёз, и продуктов их убоя осуществляется на мясоперерабатывающих предприятиях, имеющих разрешение от органов, осуществляющих государственный ветеринарный и санитарно-эпидемиологический надзор. К приему, транспортированию и убою положительно реагирующих на бруцеллёз животных, разделке туш и переработке сырья, получаемого от них, допускаются только постоянные (закрепленные приказом), прошедшие соответствующий инструктаж работники предприятия, вакцинированные против бруцеллёза и не имеющие меди-

цинских или иных регламентированных действующими санитарными правилами по профилактике бруцеллёза противопоказаний. Работники мясоперерабатывающего предприятия должны быть в полной мере обеспечены достаточным количеством средств личной гигиены, СИЗ, мощными и дезинфицирующими средствами.

Организация периодических медицинских осмотров профессиональных контингентов

Диспансерным профилактическим осмотрам с обязательным серологическим обследованием при поступлении на работу и не реже 1 раза в год подлежат контингенты, подвергающиеся риску заражения бруцеллёзом:

- постоянные и временные работники животноводческих, звероводческих хозяйств (ферм) как благополучных, так и неблагополучных по бруцеллёзу;

- лица, занятые обслуживанием, стрижкой, забоем животных, первичной обработкой и транспортированием сырья и продуктов животноводства из этих хозяйств;

- постоянные и временные работники предприятий по переработке сырья и продуктов животноводства, поступающих из районов и хозяйств, неблагополучных по бруцеллёзу любого вида животных;

- медицинский, ветеринарный, зоотехнический и другой персонал, работающий с живыми культурами бруцелл или зараженным материалом, с больными и подозрительными на заражение бруцеллёзом животными.

При проведении медицинского осмотра в обязательном порядке проводится серологическое обследование работников на бруцеллёз. На территориях, благополучных по бруцеллёзу сельскохозяйственных животных (в течение 5 лет), серологическое обследование людей проводят один раз в два года.

Лица с положительными и сомнительными результатами серологических реакций без клинических проявлений подлежат тщательному обследованию врачом-инфекционистом два раза в год с обязательным лабораторным исследованием сыворотки крови на бруцеллёз и при необходимости - специалистами по профилю выявленной патологии.

Профилактические медицинские осмотры животноводов следует проводить через 1-2 мес. после окончания массового окота и отела животных (обычно II квартал), работников предприятий по переработке сырья и продуктов животноводства - через 1-2 мес. после массового забоя скота (не позднее III квартала). Лица, временно привлекаемые к уходу за животными и к переработке сырья и продуктов животноводства, обследуются через 1-2 мес. после сезонных работ.

Гигиеническое воспитание населения

Работу по организации и проведению информационно-разъяснительной работы по вопросам бруцеллёза среди населения проводят органы, осуществляющие государственный санитарно-эпидемиологический надзор, ветеринарные службы, органы и учреждения здравоохранения, центры медицинской профилактики.

Гигиеническое воспитание населения включает: представление населению подробной информации о заболевании, мерах специфической и неспецифической профилактики бруцеллёза, основных симптомах болезни, важности своевременного выявления заболевших животных, необходимости их изоляции, проведения санитарных, специальных ветеринарных, дезинфекционных и других мероприятий с использованием средств массовой информации, листовок, плакатов, бюллетеней, проведением индивидуальных бесед и т.д. Внимание работников животноводческих организаций акцентируют на вопросах профессионального характера, возможного экономического ущерба от болезни, важности своевременного выявления больных животных и проведения срочных дезинфекционных мер, способствующих оздоровлению хозяйства. Работников мясоперерабатывающих предприятий необходимо ознакомить с их правами и правилами по обеспечению спецодеждой, условиями соблюдения мер личной гигиены. Собственникам сельскохозяйственных животных (МРС, КРС) необходимо указать на важность экстренных санитарно-ветеринарных мер при появлении признаков заболевания животных бруцеллёзом.

Таблица 11. Противоэпидемические (профилактические) мероприятия в очагах бруцеллёза

Мероприятия	Содержание
1. Мероприятия в отношении больного	
1.1 Выявление больных бруцеллёзом	Осуществляют врачи всех специальностей, средний медицинский персонал ЛПО, детских/ подростковых, оздоровительных и других организаций, независимо от организационно-правовой формы, при всех видах оказания медицинской помощи, в том числе: <ul style="list-style-type: none">- при обращении населения за медицинской помощью;- при оказании медицинской помощи на дому;- при проведении медицинских осмотров;- при приеме у врачей, занимающихся частной медицинской практикой.

Мероприятия	Содержание
<p>1.2 Сбор эпидемиологического анамнеза</p>	<p>Выясняется возможность контактов больного с животными, с сырьем и продуктами животного происхождения:</p> <ul style="list-style-type: none"> - в результате профессиональной деятельности, в т. ч. при участии в сезонных работах с животными; - при уходе за животными в индивидуальных хозяйствах; - при употреблении инфицированной мясомолочной продукции; - при контакте с приобретенными шерстью, пухом, шкурами инфицированных животных и т. п. <p>Для выявления путей и факторов заражения людей проводится обследование животноводческих хозяйств сельхозпредприятий (молокотоварных ферм, овцеводческих хозяйств, отгонных пастбищ, пунктов стрижки овец, кошар и др.), индивидуальных животноводческих хозяйств, звероводческих хозяйств, предприятий по переработке сырья и продуктов животноводства (мясокомбинатов, молокозаводов, сыроваренных предприятий, убойных пунктов, частных предприятий по переработке сырья и продуктов животноводства при фермерских хозяйствах), в которых предположительно произошло заражение людей бруцеллёзом.</p> <p>Данные эпидемиологического обследования контактных лиц заносят в Карту эпидемиологического обследования зоонозного заболевания. Сведения о больном человеке, заразившимся в данном очаге, а также лицах из числа подвергшихся инфицированию, диагноз у которых был установлен позже, заносятся во Вкладыш к Карте, который заполняется в установленном порядке. Вкладыш (сведения о больном в данном очаге) хранится в Карте на данный очаг и нумеруется в соответствии с числом заболевших лиц в данном очаге.</p>

Мероприятия	Содержание
<p>1.3 Диагностика</p>	<p>Диагноз «бруцеллёз» устанавливают на основании клинических, эпидемиологических данных и лабораторного подтверждения (обнаружение маркеров возбудителя бруцеллёза с использованием методов и диагностических препаратов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации).</p> <p>Для лабораторной диагностики бруцеллёза у людей применяются три группы методов:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. тесты, позволяющие выявить возбудителя заболевания и его растворимые антигены; 2. тесты, позволяющие выявить специфические антитела; 3. тесты, свидетельствующие о сенсибилизации организма. <p>При эпидемиологическом расследовании групповых случаев бруцеллёза (при регистрации 5 и более взаимосвязанных случаев заболеваний) обязательно проводят лабораторное обследование. Больным из очагов групповых заболеваний, в которых имеются лабораторно подтвержденные случаи, диагноз «бруцеллёз» может быть установлен на основании клинико-эпидемиологических данных.</p>
<p>1.4 Учет и регистрация</p>	<p>О каждом случае заболевания бруцеллёзом, подозрении на это заболевание врачи всех специальностей, средние медицинские работники ЛПО, детских, подростковых и оздоровительных организаций, независимо от организационно-правовой формы в течение 12 часов посылают экстренное извещение по установленной форме в органы, осуществляющие государственный санитарно-эпидемиологический надзор (независимо от места проживания больного).</p> <p>ЛПО, изменившая или уточнившая диагноз, в течение 12 часов подает новое экстренное извещение в органы, осуществляющие госсанэпиднадзор по месту выявления заболевания, указав первоначальный диагноз, измененный (уточненный) диагноз, дату установления уточненного диагноза и результаты лабораторного исследования.</p>

Мероприятия	Содержание
1.4 Учет и регистрация	<p>В случае подозрения на профессиональное заболевание бруцеллёзом медицинский работник ЛПО, в которой впервые заподозрен профессиональный характер данного заболевания, заполняет экстренное извещение по установленной форме («Извещение об установлении предварительного диагноза острого или хронического профессионального заболевания») и не позднее 12 часов с момента обращения больного направляет это извещение в органы, осуществляющие госсанэпиднадзор.</p> <p>Первичные документы учета информации о заболевании: карта амбулаторного больного, история развития ребенка, медицинская карта ребенка. Каждый случай заболевания бруцеллёзом подлежит регистрации и учету в журнале учета инфекционных заболеваний по месту выявления больного.</p>
1.5 Экстренное извещение ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора	<p>Информацию о случае заболевания или подозрении на него врач либо представитель среднего медицинского персонала передает в территориальное ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора по телефону или письменно в виде экстренного извещения в течение 12 ч. после выявления заболевания в городе, 24 ч. - в сельской местности.</p>
1.6 Изоляция	<p>Госпитализация проводится по клиническим показаниям (тяжелые и среднетяжелые формы, рецидивы заболевания), так как больной человек не является источником инфекции и не представляет эпидемической опасности.</p> <p>В соответствии с «Федеральным стандартом объема медицинской помощи, оказываемой больным бруцеллёзом» длительность госпитализации составляет 26 дней для больных острыми формами заболевания и 30 дней - хроническими.</p>
1.7 Лечение	<p>Проводится в соответствии с протоколами (стандартами) обследования и лечения больных инфекционными и паразитарными болезнями до клинического выздоровления.</p>
1.8 Выписка	<p>Проводится на основании клинических данных о выздоровлении (стойкой ремиссии).</p>

Мероприятия	Содержание
<p>1.9 Диспансерное наблюдение</p>	<p>Диспансерным профилактическим осмотрам с обязательным серологическим обследованием при поступлении на работу и не реже 1 раза в год подлежат контингенты, подвергающиеся риску заражения бруцеллёзом.</p> <p>При проведении медицинского осмотра в обязательном порядке проводится серологическое обследование работников на бруцеллёз. На территориях, благополучных по бруцеллёзу сельскохозяйственных животных (в течение 5 лет) серологическое обследование людей проводят один раз в два года.</p> <p>Лица с положительными и сомнительными результатами серологических реакций без клинических проявлений подлежат тщательному обследованию врачом-инфекционистом два раза в год с обязательным лабораторным исследованием сыворотки крови на бруцеллёз и при необходимости - специалистами по профилю выявленной патологии.</p> <p>Профилактические медицинские осмотры животноводов следует проводить через 1-2 мес. после окончания массового окота и отела животных (обычно II квартал), работников предприятий по переработке сырья и продуктов животноводства - через 1-2 мес. после массового забоя скота (не позднее III квартала). Лица, временно привлекаемые к уходу за животными и к переработке сырья и продуктов животноводства, обследуются через 1-2 мес. после сезонных работ.</p>
<p>2. Мероприятия, направленные на механизм заражения</p>	
<p>2.1 Санитарно-гигиенические и ограничительные мероприятия</p>	<p>При выявлении случаев заболевания бруцеллёзом сельскохозяйственных животных специалисты ветеринарной службы информируют органы, осуществляющие госсанэпиднадзор. Хозяйство (населенный пункт) объявляют неблагополучным и вводят ограничения, организуются мероприятия по защите людей от заражения возбудителем бруцеллёза и по оздоровлению неблагополучного пункта. Проводится инструктаж работников, занятых уходом за больными животными и подозрительными в качестве источника инфекции, о соблюдении требований безопасности, использовании средств индивидуальной защиты (СИЗ).</p>

Мероприятия	Содержание
<p>2.1 Санитарно-гигиенические и ограничительные мероприятия</p>	<p>Всех работников обеспечивают достаточным количеством средств личной гигиены, СИЗ, уборочного инвентаря, дезинфицирующими средствами, эффективными в отношении возбудителя бруцеллёза, и надлежащими условиями для соблюдения противоэпидемического режима, личной гигиены, приема пищи и отдыха.</p> <p>По условиям ограничения запрещаются: провоз (прогон) животных через неблагополучную территорию, ввоз на эту территорию восприимчивых к бруцеллёзу животных, перегруппировка животных внутри хозяйства без разрешения главного ветеринарного врача хозяйства; использование больных (положительно реагирующих) бруцеллёзом животных и полученного от них приплода для воспроизводства стада; продажа населению с целью откорма или выращивания животных, содержащихся на неблагополучных фермах; совместный выпас, водопой и иной контакт больных животных и поголовья неблагополучных стад со здоровыми животными; вывоз сена и соломы за пределы неблагополучного хозяйства. Животных всех видов, положительно реагирующих на бруцеллёз, немедленно изолируют и в течение 15 дней сдают на убой без откорма и нагула независимо от их племенной ценности, возраста, состояния беременности.</p> <p>При выявлении в индивидуальных хозяйствах положительно реагирующего на бруцеллёз поголовья или больных животных органы и учреждения Роспотребнадзора уточняют список лиц, занимающихся уходом за животными, а также употреблявших животноводческую продукцию, полученную от больного поголовья (в т. ч. контактных лиц), дают предписания по проведению медицинского обследования; проводят инструктаж с индивидуальными владельцами по соблюдению мер профилактики заражения бруцеллёзом при уходе за больным и положительно реагирующим на бруцеллёз поголовьем животных.</p>

Мероприятия	Содержание
2.1 Санитарно-гигиенические и ограничительные мероприятия	<p>Убой, переработка животных, положительно реагирующих на бруцеллёз, и продуктов их убоя, осуществляется на мясоперерабатывающих предприятиях, получивших разрешение от органов, осуществляющих государственный ветеринарный и санитарно-эпидемиологический надзор. К приему, транспортированию и убою положительно реагирующих на бруцеллёз животных, разделке туш и переработке сырья, получаемого от них, допускаются только постоянные (закрепленные приказом), прошедшие соответствующий инструктаж работники предприятия, вакцинированные против бруцеллёза и не имеющие медицинских или иных регламентированных действующими санитарными правилами противопоказаний.</p>
2.2 Дезинфекционные мероприятия	<p>Молоко от коров, положительно реагирующих на бруцеллёз, обеззараживают кипячением или переработкой на масло топленое - сырец. Кипяченое молоко разрешается использовать на пищевые цели, при этом поставка его в лечебно-профилактические, детские и школьные учреждения не допускается. Молоко (сливки) от нереагирующих коров неблагополучного стада обеззараживают при температуре 70 °С в течение 30 мин, или при температуре 85-90 °С в течение 20 с. или кипячением.</p> <p>Для дезинфекции в хозяйствах применяют 20 % взвесь свежегашеной извести, взвесь или осветленный раствор хлорной извести, содержащей 2 % активного хлора, препарат ДП-2, 2 % горячий раствор едкого натра, 3 % горячий раствор каустифицированной содопоташной смеси, 2 % раствор формальдегида, 5 % горячий раствор кальцинированной соды, 0,5 % раствор глутарового альдегида, 5 % раствор технического фенолята натрия, растворы нейтрального гипохлорита кальция, тексанита, содержащие 3 % активного хлора.</p> <p>Для аэрозольной дезинфекции очищенных и герметически закрытых помещений в отсутствие животных применяется 40 % водный раствор формальдегида. Поверхностный слой почвы дезинфицируют 3 % раствором формальдегида или дустом тиазона.</p>

Мероприятия	Содержание
2.2 Дезинфекционные мероприятия	Навоз, постилку и остатки корма от животных, больных или подозрительных по заболеванию и в заражении бруцеллёзом, уничтожают или обеззараживают. Хозяйственное использование навоза от этих животных допускается только после предварительного его обеззараживания.
3. Мероприятия в отношении лиц, имеющих аналогичный риск заражения	
3.1 Выявление	В ходе эпидемиологического обследования выявляются лица, находившиеся в равных с заболевшим бруцеллёзом условиях заражения. Устанавливаются контакты с больным (подозреваемым) животным, контаминированным сырьем животного происхождения, употребление контаминированных пищевых продуктов
3.2. Клинический осмотр	Выявив лиц, имевших возможность заразиться в очаге, необходимо организовать и проконтролировать проведение их клинико-лабораторного обследования на бруцеллёз. Клинический осмотр проводится врачом территориальной ЛПО
3.3 Сбор эпидемиологического анамнеза	Выясняются: дата и характер контакта с больным (подозреваемым в качестве источника инфекции) животным; контаминированные продукты и дата их употребления в пищу; профессия контактировавших лиц и их участие в уходе за больными (подозреваемыми) животными, убойе, переработке сырья животного происхождения
3.4 Медицинское наблюдение	Все работники хозяйства, где обнаружены больные люди или животные, а также владельцы больных (подозрительных) животных и члены их семьи подлежат медицинскому наблюдению в течение 21 дня с обязательной ежедневной термометрией. Контактные температурающие или подозрительные на заболевание бруцеллёзом лица подлежат обязательному бактериологическому обследованию на бруцеллёз.

Мероприятия	Содержание
3.5. Лабораторное обследование	Лабораторное обследование контактных лиц включает комплекс иммунологических реакций на бруцеллёз (Хеддельсона, Райта, ИФА). Лабораторное исследование целесообразно повторить через 3 мес. Лица с положительными реакциями на бруцеллёз подлежат повторному серологическому обследованию и углубленному клиническому осмотру.
3.6. Санитарное просвещение	Обучение населения мерам профилактики бруцеллёза. Разъяснительная работа с профессиональными контингентами и другими группами повышенного риска заражения
4. Ветеринарно-санитарные мероприятия	
4.1. Оздоровление неблагополучных очагов по бруцеллёзу животных	<p>При установлении диагноза «бруцеллёз» ветеринарная служба совместно с санитарно-эпидемиологической службой разрабатывают проект решения о наложении ограничений и план оздоровления хозяйства от бруцеллёза.</p> <p>Ограничительные мероприятия касаются содержания животных из неблагополучных по бруцеллёзу хозяйств и территорий; заготовки кормов, использования пастбищных участков и непроточных водоемов на неблагополучных территориях; использования больных (положительно реагирующих) бруцеллёзом животных для животноводческих целей.</p> <p>Животных эпидемиологически значимых видов, положительно реагирующих на бруцеллёз, абортировавших или имеющих другие клинические признаки болезни, немедленно изолируют от другого поголовья и в течение 15 дней сдают на убой. Трупы животных, абортированные плоды подлежат немедленному уничтожению или утилизации.</p> <p>Остальное поголовье скота, бывшее в контакте с больными животными, подвергается двукратному серологическому обследованию с интервалом 30 дней. Поголовье животных, у которого выявлены отрицательные результаты серологического исследования, подлежит иммунизации противобруцеллёзными вакцинами согласно инструкций по их применению</p>

Мероприятия	Содержание
<p>4.2. Оздоровление от бруцеллёза животных в хозяйствах граждан</p>	<p>Если заболевание установлено у КРС, все поголовье скота в данном населенном пункте исследуют на бруцеллёз серологическим методом до получения двукратного (подряд) отрицательного результата по всему стаду, и при отсутствии новых случаев заболевания животных стадо считают оздоровленным от бруцеллёза.</p> <p>При выявлении больных бруцеллёзом овец или коз все неблагополучное поголовье животных этих видов подлежит немедленному убою. В данном населенном пункте всех овец и коз, принадлежащих другим индивидуальным владельцам, исследуют на бруцеллёз серологическим методом (розбенгал-проба или РА и РСК, реакция длительного связывания комплемента - РДСК) до получения двукратного (подряд) отрицательного результата, и при отсутствии новых случаев заболевания поголовье животных считают благополучным по бруцеллёзу. При установлении бруцеллёза у свиней все неблагополучное свиноголовье, содержащееся в хозяйстве данного владельца, подвергают убою. В районах, областях, краях и республиках со значительным распространением бруцеллёза крупный и мелкий рогатый скот, принадлежащий населению, в целях профилактики может быть иммунизирован противобруцеллёзными вакцинами согласно инструкций по их применению.</p>

Список литературы

1. Бруцеллёз в Российской Федерации в 2018 году. Информационный бюллетень. - URL: <http://www.snipchi.ru/updoc/2019/Bruzelez%20-2018.pdf> (дата обращения 23. 08. 2019 г.).
2. Бруцеллёз у взрослых: Клинические рекомендации. - URL: <http://nnoi.ru/uploads/files/protokoly/Brucellez.pdf> (дата обращения 05. 03. 2019 г.).
3. Ветеринарные правила. ВП 13.3.1302-96 Профилактика и борьба с заразными болезнями, общими для человека и животных. Бруцеллез. - URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200031875> (дата обращения 05. 03. 2019 г.).
4. Доклад ФАО по животноводству и охране здоровья животных. № 8. Рим. Италия. Региональное совещание по борьбе с бруцеллёзом в Центральной Азии и Восточной Европе. Опубликовано в 2015 г. - URL: <http://www.fao.org/publications/card/en/c/4ac37332-2a83-4c3f-8e30-0f1769df5b9/> (дата обращения 08. 07. 2019 г.).
5. Инфекционные болезни: национальное руководство / под ред. Н.Д. Ющука, Ю.Я. Венгерова. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. - С. 396-406.
6. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство / под ред. академика РАМН Г.Г. Онищенко, академика РАМН В.В. Кутырева. - Изд. 2-е, перераб. и доп. - 2013. - М.: Шико. - 560 с.
7. Эпидемиологический надзор и лабораторная диагностика бруцеллёза: метод. указания : МУК 3.1.7.3402-16. - М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2017. - 60 с.
8. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики бруцеллёза для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней: метод. указания : МУК 4.2.3010-12. - М., 2013.
9. «Перечень форм первичной медицинской документации учреждений здравоохранения» (утв. Приказом Минздрава СССР от 04.10.1980 № 1030).
10. «Положение о государственном санитарно-эпидемиологическом нормировании» (утв. постановлением Правительства Российской Федерации от 24 июля 2000 г. № 554 (ред. от 15.09.2005)).
11. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 26.04.2010 N 39 «Об утверждении СП 3.1.7.2613-10» (вместе с «СП 3.1.7.2613-10. Профилактика бруцеллеза. Санитарно-эпидемиологические правила»).
12. Постановление Правительства РФ от 30 июня 2004 г. № 322 «Об утверждении Положения о Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека» (с изменениями и дополнениями, ред. от 24.04.2018).
13. Постановление Правительства РФ от 15.12.2000 № 967 (ред. от 24.12.2014) «Об утверждении Положения о расследовании и учете профессиональных заболеваний».
14. Постановление Правительства РФ от 30.06.2004 № 327 (ред. от 11.04.2018) «Об утверждении Положения о Федеральной службе по ветеринарному и фитосанитарному надзору».
15. Приказ Министерства труда и социальной защиты Российской Федерации от 9.12.2014 № 997н «Об утверждении Типовых норм бесплатной выдачи специальной одежды, специальной обуви и других средств индивидуальной защиты работникам сквозных профессий и должностей всех видов экономической деятельности, занятым на работах с вредными и (или) опасными условиями труда, а также на работах, выполняемых в особых температурных условиях или связанных с загрязнением» (зарегистрировано в Минюсте России 26.02.2015№ 36213).
16. Приказ Роспотребнадзора от 31.03.2008 № 103 «Об утверждении инструкции по составлению санитарно-гигиенической характеристики условий труда работника при подозрении у него профессионального заболевания».

17. Приказ Минздравсоцразвития России от 12.04.2011 № 302н (ред. от 06.02.2018) «Об утверждении перечней вредных и (или) опасных производственных факторов и работ, при выполнении которых проводятся обязательные предварительные и периодические медицинские осмотры (обследования), и Порядка проведения обязательных предварительных и периодических медицинских осмотров (обследований) работников, занятых на тяжелых работах и на работах с вредными и (или) опасными условиями труда» (зарегистрировано в Минюсте России 21.10.2011 № 22111).

18. Приказ Минздрава РФ от 28.05.2001 № 176 (ред. от 15.08.2011) «О совершенствовании системы расследования и учёта профессиональных заболеваний в Российской Федерации» (вместе с «Инструкцией о порядке применения Положения о расследовании и учете профессиональных заболеваний, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 15.12.2000 № 967») (зарегистрировано в Минюсте РФ 27.07.2001 № 2828).

19. Приказ Минздрава России от 21.03.2014 № 125н (ред. от 13.04.2017) «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям» (зарегистрировано в Минюсте России 25.04.2014 № 32115).

20. Руководство по вакцинопрофилактике особо опасных инфекций (раздел «Вакцинопрофилактика бруцеллёза») / под ред. профессора И.В. Борисевича, профессора И.В. Дармова. - Киров: Кировская областная типография. - 2011. - 152 с. - С. 74-79.

21. Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней. Т.1 / Н.И. Брико, Г.Г. Онищенко, В.И. Покровский. - Москва: Медицинское информационное агентство, 2019. - 880 с.

22. Санитарные правила СП 3.1/3.2.3146-13 Общие требования по профилактике инфекционных и паразитарных болезней. - Москва, 2013.

23. Санитарные правила СП 1.3.3118-13 Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности). - Москва, 2013.

24. Указ Президента Российской Федерации от 11.03.2019 № 97 «Об Основах государственной политики Российской Федерации в области обеспечения химической и биологической безопасности на период до 2025 года и дальнейшую перспективу».

25. Федеральный закон Российской Федерации от 30 марта 1999 г., № 52-ФЗ (ред. от 03.08.2018) «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения».

26. Федеральный закон Российской Федерации от 29 ноября 2010 г. № 326-ФЗ «Об обязательном медицинском страховании в Российской Федерации».

27. Федеральный закон от 21.11.2011 N 323-ФЗ (ред. от 29.05.2019) «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».

28. Федеральный закон от 14.05.1993 N 4979-1 (ред. от 02.08.2019). «О ветеринарии».

29. Brucellosis. - URL: <http://www.cdc.gov/brucellosis>. (дата обращения 08. 07. 2019 г.).

30. Brucellosis reference guide: exposures, testing, and prevention. <https://www.cdc.gov/brucellosis/pdf/brucellosis-reference-guide.pdf>. (дата обращения 12. 03. 2019 г.).

31. Corbel M.J. (2006) Brucellosis in Humans and Animals / M.J. Corbel FAO, OIE, WHO. URL: <http://www.who.int/csr/resources/publications/Brucellosis.pdf> (дата обращения: 13. 07. 2019).

32. Galinska E.M. Brucellosis in humans - etiology, diagnostics, clinical forms / E.M. Galinska, J. Zagorski // Ann. Agric. Environ. Med. - 2013. - Vol. 20 (2). - P. 233-8.

33. Spickler A.R. Brucellosis. 2018. - URL: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/brucellosis.pdf> (дата обращения: 30. 06. 2019).

Специфическая профилактика

Комплекс мероприятий по вакцинации включает отбор лиц, подлежащих вакцинации, выбор вакцинного препарата и определение схемы его использования, также (при необходимости) контроль эффективности и купирование возможных побочных эффектов прививки [18].

В Российской Федерации профилактическая иммунизация против бруцеллёза входит в календарь прививок по эпидемическим показаниям и проводится в соответствии с действующими нормативными актами в области иммунопрофилактики [37].

Специфическая иммунопрофилактика людей против бруцеллёза применяется к контингентам повышенного риска заражения бруцеллами козье-овечьего вида - *B. melitensis*, наиболее патогенными для человека. Плановой иммунизации против бруцеллёза подлежат лица, достигшие 18 лет из групп профессионального риска: работники режимных мясоперерабатывающих предприятий, осуществляющих убой скота, больного бруцеллёзом, заготовку и переработку полученной от него продукции. Также ежегодно вакцинируют работников бактериологических лабораторий, работающих с живыми культурами бруцелл и заражёнными возбудителем бруцеллёза лабораторными животными [35].

Согласно санитарно-эпидемиологическим правилам СП 3.1.7.2613-10. «Профилактика бруцеллёза», вакцинацию постоянным и временным работникам, занятым в животноводстве, проводят до прекращения регистрации в хозяйствах случаев бруцеллёза козье-овечьего вида среди поголовья как мелкого, так и КРС, а персоналу предприятий по переработке сырья и продуктов животноводства - до окончания регистрации случаев бруцеллёза в хозяйствах, откуда поступает скот, сырьё и продукты животноводства [35].

Решение о проведении и объеме профилактической иммунизации людей против бруцеллёза принимается органами, осуществляющими государственный санитарно-эпидемиологический надзор при согласовании с органами управления здравоохранением в субъекте с учетом эпизоотологических и эпидемиологических показаний.

В мире плановая вакцинация людей против бруцеллёза проводилась только в трех странах - СССР, Китае и Монголии [13, 43, 143]. Причинами отказа большинства государств от специфической профилактики бруцеллёза у людей с использованием живых бруцеллёзных вакцин послужили результаты сравнительных клинических испытаний безвредности, реактогенности и иммунологической эффективности препаратов бруцеллёзных вакцин на основе штаммов *B. abortus* 19-ВА и *B. melitensis* Rev-1, проведенных под эгидой Всемирной организации здравоохранения (1960). Приводятся сведения, что у двоих из 16 добровольцев, подкожно привитых вакциной 19-ВА в дозе 250 млн

микробных клеток, регистрировали клинические признаки острого бруцеллёза, выделена гемокультура вакцинного штамма. От одного иммунизированного без клинических признаков заболевания на 23-й день после прививки выделен штамм *B. abortus* 19. Исследования показали, что испытанные вакцины не могут считаться безопасными для иммунопрофилактики людей и, соответственно, не имеют реальных перспектив для их практического использования в здравоохранении [144, 152, 167].

Анализ применения в СССР вакцины на основе аттенуированного штамма *B. abortus* 19-ВА для профилактики бруцеллёза среди людей (вакцинация - с 1952 г., ревакцинация - с 1956 г.) свидетельствовал о положительном эффекте иммунопрофилактики, которая способствовала снижению случаев заболевания. В период с 1952 по 1964 гг. количество случаев впервые выявленного бруцеллёза у людей сократилось в шесть раз. Однако на фоне последующей стабилизации уровня заболеваемости людей бруцеллёзом увеличение количества профилактических прививок существенным образом не повлияло на эпидемиологическую ситуацию. В дальнейшем отмечалось сокращение объемов иммунизации в стране, что было обусловлено высокой реактогенностью вакцины и относительно частым формированием осложнений у людей после иммунизации. Начиная с 1950-х годов, в странах бывшего Советского Союза, Монголии и Китае вакцинация штаммом *B. abortus* ВА-19 была проведена около 50 миллионам человек. В целом, проводимая вакцинальная кампания в СССР способствовала снижению заболеваемости людей бруцеллёзом в среднем на 60 %. По сути, вакцинация населения страны не позволила добиться больших и долгосрочных успехов в профилактике бруцеллёза среди людей, что в большой степени было связано с частым отсутствием радикальных мер в отношении источника инфекции [43, 160].

После распада СССР и существенных преобразований в структуре животноводства, по причине экономических трудностей, объемы иммунопрофилактики бруцеллёза у людей сократились в 6-7 раз. В среднем ежегодно иммунизировали против бруцеллёза 1100-1300 человек (вакцинация - 700 чел., ревакцинация - 500 чел.). В период с 2003 по 2005 гг. вакцинация контингентов риска проводилась только в 8 субъектах России: республики Калмыкия, Алтай, Бурятия, Ростовская, Оренбургская и Иркутская области. В неблагополучных по бруцеллёзу субъектах - Ставропольский край, Республика Хакасия, Карачаево-Черкесская Республика, где отмечается высокий процент профессионального бруцеллёза, иммунизация не проводилась [16].

Анализ динамики объёмов вакцинации за последние 10 лет указывает на наметившуюся тенденцию в последние 4 года к увеличению

количества прививок против бруцеллёза. За период с 2009 по 2018 гг. в Российской Федерации против бруцеллёза привито 40208 человек, в среднем ежегодно вакцинировалось 2040 человек, ревакцинировалось - 1970 (рисунок 31) [3].

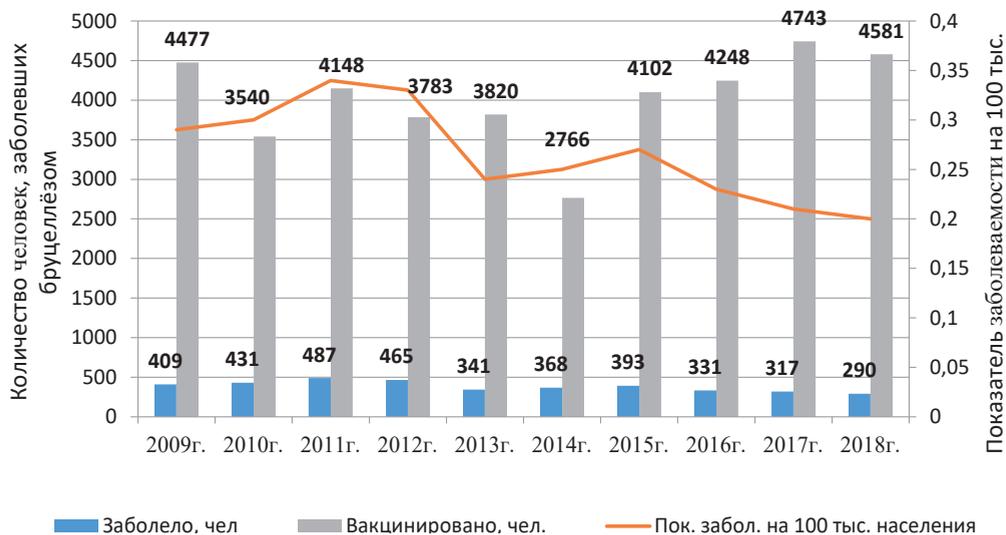


Рисунок 31. Динамика регистрации заболеваемости, количество заболевших бруцеллёзом и вакцинированных против бруцеллёза людей в Российской Федерации в 2009-2018 гг.

Наибольшее количество людей было иммунизировано в СФО (36,4 %, в среднем в год - 1460 чел.), ЮФО (20,4 %, 818 чел.) и СКФО (19,2 %, 770 чел.). При этом в СКФО, начиная с 2015 г., количество прививок увеличилось более чем вдвое, преимущественно за счет увеличения объемов иммунизации контингентов риска в Республике Дагестан. Проведение иммунизации в указанных субъектах обусловлено длительным неблагополучием территорий округов по бруцеллёзу МРС, ежегодно в данных регионах регистрируется 75-90 % от всех, выявленных в Российской Федерации неблагополучных пунктов по бруцеллёзу коз и овец [3].

Анализ корреляции объемов профилактической иммунизации с количеством случаев заболеваний людей бруцеллёзом в Российской Федерации за период 2009-2018 гг. показал наличие слабой степени зависимости ($r = -0,296$) увеличения/снижения количества прививок с динамикой заболеваемости.

Отсутствие тесной корреляции объемов вакцинации и заболеваемости людей бруцеллёзом, очевидно, связано с тем, что, несмотря на социально-экономические преобразования в России и изменение форм собственности в структуре животноводства (процессы интенсивной прива-

тизации в сельском хозяйстве) в последние 25-30 лет, тактика специфической иммунопрофилактики бруцеллёза у людей осталась прежней, то есть вакцинации подлежат контингенты профессионального риска. Однако за указанный период структура поражаемых бруцеллёзом претерпела существенные изменения - среди заболевших стали преобладать лица, профессионально не связанные с животноводством (до 70 % владельцы скота, иной контингент), плановая иммунизация которых по эпидпоказаниям не предусматривается действующей нормативной базой [35, 44].

В настоящее время в Российской Федерации, как и полвека назад, для иммунизации людей против бруцеллёза применяется живая вакцина, приготовленная из вакцинного штамма *B. abortus* 19-ВА. Технология изготовления вакцины была разработана в 50-х годах прошлого столетия в НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи под руководством академика П.А. Вершиловой [11].

Введение вакцины на основе аттенуированного штамма *B. abortus* 19-ВА инициирует у привитых формирование на начальном этапе нестерильного иммунитета (латентная инфекция) с последующим переходом в постинфекционный стерильный иммунитет. Наивысший уровень напряжённости поствакцинального иммунитета формируется к 5-6 месяцам после иммунизации только у 66-75 % привитых. Поствакцинальный иммунитет достаточно относительный и нестойкий - через 6-8 мес. иммунологические реакции сохраняются в 36-41 % случаев. Ревакцинация проводится не ранее чем через 12 мес. после иммунизации лицам с чёткими отрицательными серологическими и аллергическими реакциями на бруцеллёз [8, 35, 38, 39].

В литературе приводятся многочисленные факты, указывающие на относительно невысокую иммунологическую и эпидемиологическую эффективность вакцинного препарата и на возможные побочные эффекты и осложнения, сопровождающие его применение [30, 42, 43].

По данным ряда авторов, среди привитого контингента, заболевшего бруцеллёзом, более половины заражались в сроки от одного до четырех месяцев и спустя шесть-девять месяцев с момента прививки, то есть вне периода наиболее напряжённого иммунитета [5, 6]. Период эффективной защиты в условиях аэрогенного инфицирования не превышает трех месяцев. Это минимальные сроки защиты среди средств иммунопрофилактики других особо опасных инфекционных заболеваний [2].

Имеются сведения, что вакцина против бруцеллёза из штамма 19-ВА способствует формированию достаточно относительной протективной защиты, которая эффективна преимущественно против возбудителя, по патогенности близко стоящего к вакцинному штамму (*B. abortus*), и не способна обеспечить стойкий иммунитет к наиболее патогенному для человека виду бруцелл - *B. melitensis* [39].

В связи с низкой иммуногенностью применяемой в настоящее время вакцины и недостаточной длительностью поствакцинального иммунитета (до 6 мес.) при планировании иммунизации контингента риска важно учитывать сроки начала массовых животноводческих работ. Также необходи-

мо учитывать, что эпидемиологическая эффективность вакцинации против бруцеллёза является лишь составной частью комплекса санитарных и ветеринарных мероприятий [35].

Имеются сведения о негативном влиянии живой вакцины на основе *B. abortus* 19-ВА на состояние иммунного статуса привитого. Исследования безопасности препарата показали, что введение вакцины способствовало выраженной супрессии факторов естественной резистентности (комплемент, лизоцим, фагоцитоз) в ранние сроки после иммунизации (7-15 дней), снижению активности клеточного иммунитета на 15-30 день после прививки [10, 29].

В связи с низкой иммуногенной активностью вакцинного препарата для поддержания искусственного иммунитета контингенты из групп риска инфицирования возбудителем бруцеллёза подлежат ежегодным ревакцинациям [36]. При этом многократное введение препарата сопровождается прогрессирующим развитием специфической сенсibilизации организма и дисбалансом в системе фагоцитоза и клеточном звене иммунитета. По данным исследователей в СССР, в период проведения масштабной иммунизации людей (1958-1970 гг.) гиперсенсibilизация населения к бруцеллёзному антигену возросла более чем в 5 раз [19].

Также экспериментально было доказано, что аттенуированный штамм *B. abortus* 19-ВА имеет остаточную патогенность для человека и животных, способен вызывать генерализованную инфекцию у морских свинок при введении высоких доз (10^8 - 2×10^9 м.к.) [7].

При нарушении инструкции по применению живой бруцеллёзной вакцины (несоблюдение противопоказаний к прививке, превышение прививочной дозы, нарушение техники введения препарата и др.) могут развиться тяжелые поствакцинальные реакции, осложнения и бруцеллёз [43].

Описаны случаи формирования вакцинальной патергии у привитых живой бруцеллёзной вакциной с нарушением требований инструкции по применению препарата [24, 45]:

- результаты наблюдения за 56 лицами, которым была ошибочно введена 10-кратно завышенная доза вакцины 19-ВА (4 млрд м.к.) внутривенным способом, показали, что в поствакцинальный период более чем у половины привитых появились резко выраженные местные реакции в виде гиперемии и припухлости, в ряде случаев - некроза. Кроме того, в 1-2-й месяц после прививки у 52 человек отмечались жалобы и клинические проявления, характерные для бруцеллёза;

- анализ 52 карт амбулаторного наблюдения больных, которым введена 25-кратно завышенная доза препарата, показал, что клинические проявления характеризовались развитием в 100 % случаев выраженной местной реакции с длительно сохраняющейся инфильтрацией, в единичных - развитием абсцесса, в 96,2 % случаев - общей реакцией, сопровождающейся болями в суставах, не характерными для поствакцинальной реакции при применении бруцеллёзной вакцины, и отклонениями лабораторных показателей, свидетельствующими об инфекционно-токсическом характере

ре вакцинального процесса. Серологические исследования указывали на формирование более выраженного иммунного ответа, чем при типичном вакцинальном процессе, угасающем к шести месяцам. Установлен факт обнаружения на 55-е сутки после вакцинации специфических антител к L-формам бруцелл, сохраняющихся до шести месяцев (срок наблюдения).

Достаточно опасно проведение вакцинации людей уже после состоявшегося контакта с больными животными или сырьем от них. В этом случае затрудняется диагностика заболевания и может возникнуть провоцирование острого течения (или обострения) инфекции [14, 21, 42].

За более чем вековую историю борьбы с эпизоотиями бруцеллёза в мире были выработаны две наиболее эффективные стратегии снижения заболеваемости и искоренения инфекции: создание у восприимчивого поголовья с помощью вакцин специфического иммунитета и за счёт ликвидации источника инфекции, который выявляют при проведении плановых и по эпизоотическим показаниям диагностических исследований. Выбраковку серопозитивных на бруцеллёз животных использовали (и используют) в ряде развитых стран Европы и Америки. Такой метод борьбы с бруцеллёзом эффективен только в условиях высокой культуры животноводства. В регионах со слабым зоотехническим учетом поголовья общественного и частного сектора, особенно при использовании технологии отгонного скотоводства, при интенсивном перемещении животных между стадами, практически невозможно наладить эффективную систему выявления инфицированного скота. Ветслужбы часто сталкиваются с ситуацией, когда через 2-3 дня после взятия крови для лабораторных исследований не удастся найти установленных в результате проведённого обследования серопозитивных животных. В подобных условиях основным средством борьбы с бруцеллёзом становится вакцинация [1].

По мнению многих исследователей, для эпизоотологически неблагополучных по бруцеллёзу регионов мира, где искоренение бруцеллёза с использованием радикального подхода - тотальной замены больного поголовья на здоровый скот - невозможно по социально-экономическим причинам, массовая вакцинация является основной мерой борьбы с бруцеллёзом животных и ключевым элементом в системе профилактики инфекции у людей [143].

По данным Федеральной службы государственной статистики, по состоянию на конец декабря 2018 г. численность поголовья КРС в хозяйствах всех категорий собственности составила 18 152,1 тыс. голов, МРС - 23 129,3 тыс. голов. На долю крестьянско-фермерских хозяйств и хозяйств населения приходится 55,1 % (10 012,1 тыс. голов) поголовья КРС и 84,0 % (19 424,8 тыс. голов) МРС. Анализ динамики количества сельскохозяйственных животных за последние 20 лет свидетельствует о наличии выраженной тенденции к практически ежегодному увеличению поголовья МРС (овец и коз), в том числе в хозяйствах частного сектора, эпидемиологическая значимость которых по отношению к бруцеллёзу наиболее высока (рисунок 32).

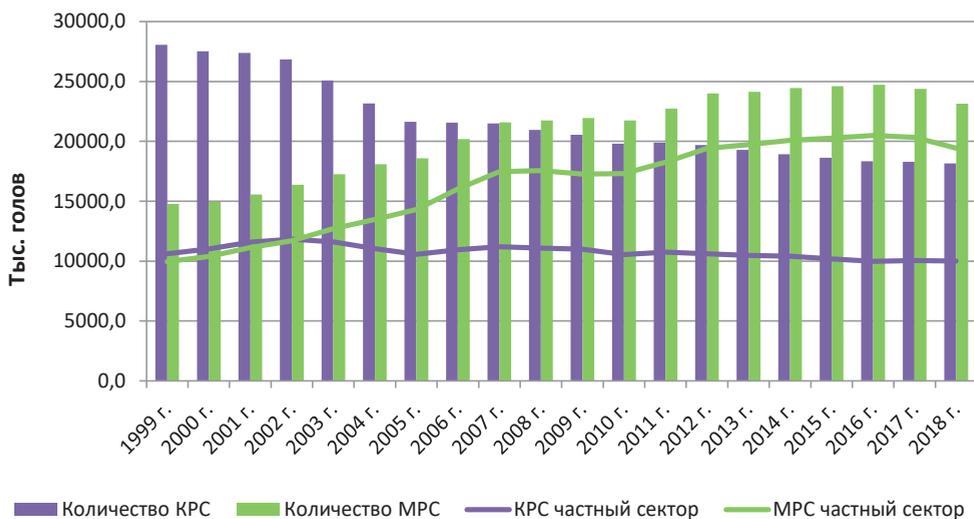


Рисунок 32. Динамика количества поголовья КРС и МРС в Российской Федерации в 1999-2018 гг.

По данным Департамента ветеринарии Минсельхоза России, в период с 2013 по 2018 гг. вакцинировано против бруцеллёза 10784,9 тыс. гол. КРС и 29424,6 тыс. гол. МРС. Анализ динамики объёмов иммунопрофилактики бруцеллёза среди эпидемиологически значимых видов КРС и МРС указывает на имеющуюся тенденцию к незначительному снижению количества вакцинированного поголовья скота (рисунок 33).

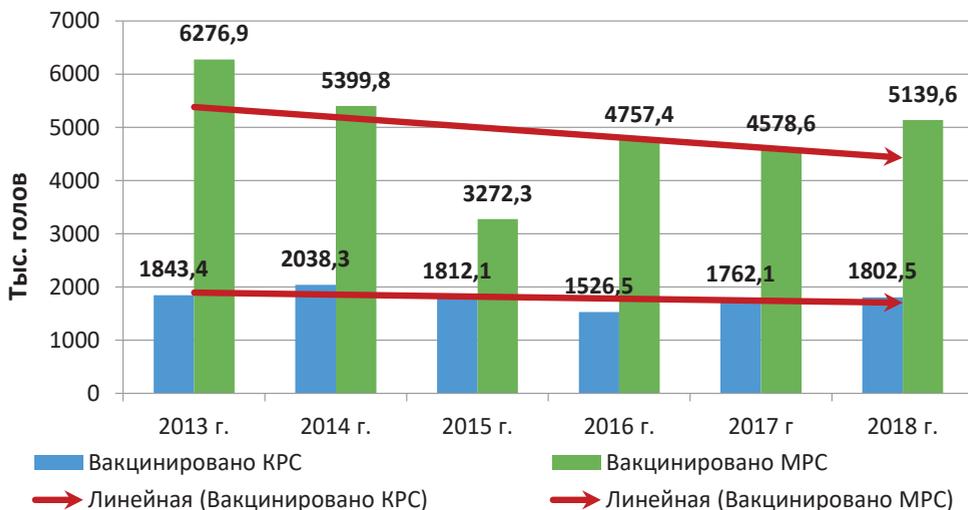


Рисунок 33. Динамика количества КРС и МРС в Российской Федерации, вакцинированного против бруцеллёза в 2013-2018 гг.

Ежегодно плановой вакцинации подлежит в среднем 9-10 % от всего поголовья КРС в Российской Федерации, 20-22 % - МРС. Основная доля иммунизированного поголовья КРС (более 90 % от поголовья КРС, привитого против бруцеллёза) приходится на наиболее эпизоотологически неблагополучные регионы страны - СКФО (50-53 %), ЮФО (20-22 %) и СФО (около 20 %). Вакцинация МРС против бруцеллёза также, в основном, проводится в СКФО (более 85 %), СФО (9-10 %) и ЮФО (4-5 %).

Традиционно живые аттенуированные вакцины имеют гораздо более широкое применение в мире [67, 111, 154].

В настоящее время в Российской Федерации для иммунизации сельскохозяйственных животных против бруцеллёза наиболее часто применяются вакцины на основе штаммов *B. abortus* 19, *B. abortus* 82, *B. abortus* 75/79-AB производства ФКП «Щелковский биокомбинат», Россия, и вакцина против бруцеллёза овец и коз и инфекционного эпидидимита баранов из штамма *B. melitensis* Rev-1 (ООО «Агровет», Россия).

За рубежом используются в основном живые аттенуированные вакцины на основе S-штаммов *B. abortus* S 19, *B. melitensis* Rev-1 и R-форм бруцелл - *B. abortus* RB51. Штамм *B. abortus* S19 часто считают «золотым стандартом» для разработки вакцин [1, 55, 114].

По данным ряда авторов, применяемые в настоящее время в ветеринарной практике вакцины против бруцеллёза имеют свои преимущества и недостатки. Приводятся данные, что заражение животных повышенными дозами (25-30 инфицирующих доз) возбудителя бруцеллёза, которые, как правило, больной скот выделяет с околоплодными водами при аборте и родах, достаточно легко прорывает поствакцинальный иммунитет, создаваемый даже самыми иммуногенными вакцинами. Роль специфических антител в защите животных от бруцеллёза, по-видимому, второстепенна. Титр специфических агглютинирующих и комплементсвязывающих антител не коррелирует с устойчивостью животных к заражению. Выявление сывороточных агглютининов в течение длительного времени после вакцинации (до 4-х лет) затрудняет дифференциацию больных и привитых животных. Живые вакцины обладают abortогенными свойствами, особенно при первичной иммунизации [1].

Проблемы и перспективы разработки вакцин против бруцеллёза

По данным ВОЗ [67, 117], в мире нет лицензированной вакцины против бруцеллёза для иммунизации человека. Существующие препараты бруцеллёзных вакцин [52, 53, 149], в том числе российского производства на основе штамма *B. abortus* 19 ВА, объективно нельзя считать безопасными. Поствакцинальный иммунитет, как и постинфекционный при бруцеллёзе, носит, в известной мере, относительный характер. Существует острая необходимость в разработке эффективных и безопасных противобруцеллёзных вакцин, которые при определённых условиях можно было бы использовать для иммунизации людей. Исследования по изысканию надёжных

средств специфической профилактики бруцеллёза проводятся во многих странах мира и в настоящее время.

Различные варианты вакцин против бруцеллёза появились к концу XIX века. Основой для создания первых препаратов бруцеллёзных вакцин служили патогенные штаммы бруцелл. Более чем 20-летний опыт использования бруцеллёзных вакцин в ряде стран - Германии, Великобритании, Голландии, Дании, Франции и США - показал, что применение разработанных препаратов для иммунизации не обеспечивает защиту животных от инфекции [101].

В более поздний исторический период было разработано большое количество аттенуированных живых вакцин, основанных, преимущественно, на S-формах бруцелл (штаммы 68, 519, 70, 150 *B. abortus*, 89/23 *B. melitensis* и 61 *B. suis*), как наиболее иммуногенных. Большинство из них применялось непродолжительное время, что обусловлено нестабильностью их свойств. Разрабатывались препараты на основе R- и SR-бруцелл, отличительной особенностью которых была низкая агглютиногенность.

В период с 1950 по конец 1980-х гг. в мире проводились исследования преимущественно по разработке аттенуированных вакцинных штаммов. Были разработаны и широко испытаны препараты на основе S-штаммов *B. melitensis* Rev-1 [121], *B. abortus* 19, *B. abortus* 104- M [22, 40, 87, 115].

П.А. Вершилова (1959) при изучении различных вариантов штамма *B. abortus* 19 получила штамм 19-BA с пониженной вирулентностью [4], который по настоящее время активно применяется в медицине и ветеринарии.

Наиболее широко используемые в мире вакцинные штаммы *B. abortus* S19 и *B. melitensis* Rev-1 обеспечивают формирование устойчивого иммунного ответа и протективную защиту КРС и МРС от бруцелл [60, 72, 115, 136].

Высокую иммуногенность ослабленных живых вакцинных штаммов можно объяснить тем, что их биологический цикл (приживаемость) в организме хозяина практически идентичен патогенным бруцеллам. Аттенуированные бруцеллы имитируют естественную инфекцию, клеточный тропизм, инициируя формирование нестерильного, а позднее стерильного иммунитета [77].

Существенные недостатки препаратов на основе S-штаммов, связанные с высокой агглютиногенностью, реактогенностью и выраженной сенсibilизирующей активностью, затрудняли ревакцинацию и выявление заболевшего бруцеллёзом скота среди ранее вакцинированного поголовья. Указанные ограничения по применению бруцеллёзных вакцин определили перспективы дальнейших исследований по разработке препаратов на основе неагглютиногенных и слабоагглютиногенных диссоциированных R- и RS-, SR-форм бруцелл. В производственных условиях было испытано большое количество вакцин, полученных из 21, 7/26, 16, 16/4, 4004/1, B-1, B-8, 82, 75/79 штаммов *B. abortus* и 56, K-24, Невский-12 *B. melitensis* [23, 28].

В настоящее время за рубежом широко применяют вакцину из неагглютиногенного штамма *B. abortus* RB-51 производства США, имеющего высокостабильные биологические и иммуногенные свойства. Вакцинный штамм *B. abortus* RB51 получен из патогенного штамма *B. abortus* 2803 путем серии пассажей на питательных средах с рифампицином. Основное преимущество данной вакцины в том, что она не индуцирует выработку антител на O-антигену ЛПС, так как находится в стабильной R-форме [25].

R-мутанты *Brucella* spp. лишены LPS-иммунодоминантного N-формилперозамина OPS [111, 136]. Некоторые R-вакцины или кандидаты являются спонтанными мутантами, отобранными после повторного пассажа на среде, содержащей антибиотики. Нокаут генов *per*, *pgm*, *wboA*, и *wbkA*, участвующих в биосинтезе LPS, приводит к стойкой R-диссоциации [110, 157, 165]. Другие известные мутанты - *purL*, *purD* и *purE* с изменённым биосинтезом пурина [47], *bacA* - модифицированным транспортом жирных кислот липида A LPS [76, 102], *heroH* - мутант феррохелатазы [51], мутант *virB* секреции типа IV [71] и мутант *pgk*, кодирующий фосфоглицераткиназу [155]. При изучении протективной активности многих мутантных штаммов бруцелл были получены многообещающие результаты, указывающие на высокий уровень защиты, равный или выше, чем у RB51.

Испытания штамма RB51 на модели мышей показали, что штамм защищает от экспериментального заражения несколькими видами *Brucella* spp. - *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus*, *B. ovis* [98, 131, 136, 137]. Защитная эффективность и иммунитет, индуцированный штаммом RB51, аналогичен или лучше, чем индуцированный штаммом *B. abortus* 19 [64, 107]. Однако при сравнительном исследовании было установлено, что R-мутант RB51 обеспечивает более низкий уровень протективной защиты по сравнению с ослабленными вакцинами Rev-1 (S-форма) [57, 86, 89, 125].

Имеются данные, указывающие на небезопасность вакцинного штамма RB51. Так, в 2017-2018 гг. в США в штатах Техас, Нью-Джерси и Пенсильвания выявлены случаи заболевания людей бруцеллёзом, которые напрямую связаны с употреблением непастеризованного молока от коров, иммунизированных живой вакциной на основе штамма *B. abortus* RB51. В отличие от диких штаммов бруцелл, *B. abortus* RB51 находится в диссоциированной R-форме, что затрудняет проведение рутинной серологической диагностики (поиск антител O-ПС). Кроме того, RB51 устойчив к рифампицину [132].

В части экспериментов на биомоделях отмечалась быстрая элиминация введённых мутантных штаммов из организма хозяина в период до полноценной иммунной сенсibilизации и адекватного ответа, обеспечивающего формирование протективной защиты [91, 99, 104, 171].

Полученные результаты стали основанием для разработки новых подходов, обеспечивающих пролонгацию персистенции и созданию депо в месте введения бруцелл, что в перспективе поможет преодолеть ограничения, связанные с быстрой элиминацией модифицированных вакцинных штаммов из организма привитого [138, 139].

С первой половины XX века и по 90-е годы активно разрабатывались инактивированные бруцеллёзные вакцины и совершенствовались методические подходы к конструированию препаратов с использованием различных адъювантов. Проводились исследования по изучению наиболее эффективных способов инактивации культур бруцелл (нагревание, обработка формалином, квасцами, хинозолом, кристалл-виолетом, фтористым натрием, йодом, карболовой кислотой, эфиром и др.). Среди отечественных разработок наиболее перспективными были полужидкая формализованная вакцина, убитая формол-квасцовая вакцина и кристалл-виолет вакцина. Также предложены две масляные адъювант-вакцины из штамма KB 17/100 против бруцеллёза КРС, препарат ЭВАК против инфекционного эпидидимита баранов, получена вакцина на основе штамма 19, конъюгированная с эритроцитарным гемоглобином [12, 17, 26, 27].

Активные разработки инактивированных вакцин велись во Франции. Были предложены препараты Duphavas (Phillips Duphar), Abortox (Пон Мерье) на основе R-штамма 45/20, инактивированная вакцина из S-штамма *B. melitensis* 53 H-38 со сложным адъювантом (парафиновое масло с арлацелом А и майолином 2214). Испытывался авторский метод получения неагглютиногенной адъювант-вакцины, основанный на применении высокоактивной антисыворотки на этапе культивирования иммуногенных штаммов [20, 69, 127, 187, 129, 163].

Позже были предложены инактивированные вакцинные препараты на основе лизатов белков наружной мембраны бактериальных клеток [112], растворимых и нерастворимых экстрактов клеточных оболочек [74, 164], цельных убитых клеток [59], периплазматических белков и белково-солевых экстрактов [147].

Разработанные инактивированные вакцины, в том числе современные, имели достаточно стабильные характеристики, однако специалисты на практике сталкивались с теми же проблемами, что и при использовании живых аналогов - длительная агглютиногенность, выраженная реактогенность. Вместе с тем препараты имели низкую иммуногенную активность, что требовало включения в состав препаратов различных адъювантов, которые часто усиливали реактогенность и аллергенность инактивированных бруцеллёзных вакцин, вызывали побочные реакции в месте введения.

С конца 1980-х гг. и по настоящее время интенсивно проводились эксперименты с нецельноклеточными вакцинами: химическими, субъединичными, ДНК-вакцинами, векторными (рекомбинантными генно-инженерными) вакцинами.

Специалистами НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи под руководством академика П.А. Вершиловой была разработана химическая вакцина на основе белково-полисахаридного комплекса из клеточной стенки S-форм бруцелл. Препарат прошёл клинические испытания, рекомендован для ревакцинации людей, однако так и не был внедрен в масштабное производство [9, 42].

В институте иммунологии Минздрава России были разработаны антиген-полимерные вакцины против бруцеллёза, основанные на конъюгации иммунодоминантных антигенных детерминант (пептидов) с полимерным иммуностимулирующим носителем. Отечественными учеными получены искусственные иммунизирующие комплексы антигенов бруцелл с полиоксидонием. Проведенные клинические испытания препарата дали обнадеживающие результаты. Входящий в его состав иммуномодулирующий полимерный носитель способствовал формированию усиленного иммунного ответа организма на антигены бруцелл, сравнимый с эффектом при использовании живых вакцин [31, 32, 33, 34].

В течение последних десятилетий проводятся исследования по созданию вакцин на основе очищенных поверхностных или внутриклеточных белков (пептидов) *Brucella* spp. [58, 118, 119, 120, 159].

На основе анализа первичной структуры фактора патогенности бруцелл - антиоксидантной системы Cu-Zn SOD (супероксиддисмутазы) штамма *B. abortus* исследователями получена синтетическая пептидная вакцина. Наиболее иммуногенный компонент препарата - пептид 3 (GGAPGEKDGKIVPAG) обладает выраженной биологической активностью, потенцирует иммунно-воспалительные реакции у биомоделей на фоне вакцинации и заражения. В экспериментах было установлено, что синтезированный пептид оказывает селективное воздействие на рецепторы T-лимфоцитов, что открывает большие перспективы по его использованию [145, 147].

Наиболее перспективные иммунодоминантные белки *Brucella* spp. (включая белки наружной мембраны) рассматриваются в качестве основы для создания субъединичных вакцин: Omp16, Omp19, Omp31, Omp28, Omp25, рибосомный белок L7 / L12 [63, 81, 95, 119], Cu-Zn супероксиддисмутазы [141], цитоплазматический белок р39 [48], люмазинсинтаза BLS [62], DnaK и SurA [70] и SodC [113] и др.

С проблемами быстрой элиминации антигенных детерминант бруцелл столкнулись исследователи и при испытании субъединичных вакцин. В качестве перспектив для решения этих вопросов рассматривается возможность увеличения количества иммунодоминантных антигенов в препарате и их комплексирование - создание стойких антигенных комплексов, в том числе сложных [130, 153].

Было продемонстрировано, что субъединичные вакцины могут быть улучшены путем их инкапсуляций в наноконтейнеры и микровезикулы, такие как эшерииосомы и липосомы и другие, или за счет обогащения (конъюгации) цитокинами (IL-18) [109, 141].

Зарубежными исследователями разрабатываются кандидатные вакцины на основе ментальной ДНК [62, 106], а также векторных (генно-инженерных) препаратов с использованием *S. enterica* serotype Typhimurium [121], *E. coli* [90], *Y. enterocolitica* [50], *Lactococcus lactis* [134], вируса гриппа [148], вируса коровьей оспы [155].

Проводятся эксперименты по изучению особенности гиперэкспрессии живыми штаммами бруцелл протективных антигенов для дальнейшей разработки новой стратегии конструирования принципиально новых векторных вакцин против инфекции [162].

Авторами указывается, что на эффективность (иммуногенность) субъединичных вакцин (антигенов) в том числе оказывает влияние способ их введения в организм. Ряд экспериментов показал, что за исключением внутримышечной инокуляции все остальные способы введения обеспечивали схожие уровни защиты. При этом подкожные инъекции давали наиболее выраженный эффект. Также было показано, что при повторном, курсовом введении (две и более инъекций) обеспечиваются лучшие результаты, чем при однократной вакцинации [154].

Анализ мировых разработок новых вакцин против бруцеллёза показал, что для создания наиболее эффективных препаратов в основном используются иммуногенные мембранные пептиды бруцелл - Omp31, Omp22, регуляторный железосодержащий белок FgrV, играющие также роль в вирулентности [15].

Исследователями был получен полимерный антиген BLSOmp31, адсорбированный на Al (OH)₃, на основе которого разработана кандидатная вакцина BLSOMP31-AX - [62, 63, 73].

Китайскими учеными предложена живая вакцина на основе штамма *B. melitensis* M5-90 manB мутант (M5-90ΔmanB), которая во многом превосходит существующие живые вакцины. Испытания кандидатного препарата показали, что штамм индуцирует в эксперименте формирование выраженного и устойчивого иммунного ответа, способствует выработке анти-бруцелл-специфических антител подтипа IgG1 и IgG2a, активирует секрецию IFN-γ и IL-4. В опыте на козах препарат M5-90ΔmanB индуцировал секрецию IFN-γ, не вызывал выработку агглютининов и защищал животных от заболевания бруцеллёзом при инфицировании высоковирулентным штаммом *B. melitensis* 16 M [172].

Также в настоящее время разрабатывается вакцина на основе *B. abortus* 2308ΔNodVΔNodW с нокаутными генами на основе вирулентного штамма *B. abortus* 2308 (S2308) [104].

Ведутся исследования ДНК-вакцин - рекомбинантная ДНК вакцина (pVGntR), основанная на транскрипционном регуляторе GntR *B. abortus*. Препарат pVGntR дает более выраженную защиту, чем обычная вакцина RB51 [105].

Спроектирована химерная вакцина на основе ДНК плазмиды, несущей мультиантигенные детерминанты 21-го антигена. Исследована иммуногенность и защитная эффективность вакцины на основе мембранного белка 2b (Omp2b) на мышах BALB/c, с использованием Белок/Белок, ДНК/ДНК и стратегии вакцины ДНК-белок с хорошей эффективностью [83].

Заключение

При бруцеллезе источниками возбудителя для человека служат животные, и основная роль в поддержании циркуляции возбудителя в природе принадлежит эпизоотическому процессу, в частности среди МРС и КРС. Заболевание людей бруцеллёзом - это следствие вовлечения их в эпизоотический процесс. Исторический опыт успешной борьбы разных государств с бруцеллёзом у людей указывает, что определяющая роль в обеспечении эпидемиологического благополучия в отношении этого опасного зооноза отводится эффективному контролю инфекции в популяции эпидемиологически значимых видов животных.

Полная ликвидация заболевания путем лабораторного скрининга, изоляции (сегрегации) и уоя положительно реагирующих животных гораздо более сложная задача, требует больших трудовых ресурсов и существенных финансовых вложений. В мире очень мало стран, даже среди экономически развитых и с госгарантированным обеспечением аграрного сектора, где реально используется такой односторонний подход борьбы с бруцеллёзом.

В настоящее время в большинстве неблагополучных по бруцеллёзу регионов мира плановая вакцинация продуктивных животных, безусловно, по-прежнему является одним из основных факторов контроля заболеваемости животных и снижения эпидемиологических рисков. Иммунизация против бруцеллёза животных сыграла огромную роль в ликвидации инфекции и снижении заболеваемости людей бруцеллёзом во многих странах мира, в том числе на постсоветском пространстве в современной России.

Вместе с тем очевидно, что вакцинация не сможет обеспечить тотальный контроль над инфекцией, и эпизоотические очаги будут возникать. В этом случае важнейшая роль отводится поствакцинальному мониторингу поголовья для раннего выявления эпизоотий, что требует разработки эффективных средств и методов для дифференциации вакцинированного и инфицированного поголовья.

В настоящее время наиболее слабым звеном в системе противоэпидемических мероприятий являются объективные ограничения по использованию регламентированного вакцинного препарата живая бруцеллёзная вакцина на основе штамма *B. abortus* 19-ВА, связанные с относительно высокой степенью реактогенности вакцинного препарата и риском развития поствакцинальных реакций.

Многочисленные факты указывают на относительно невысокую иммунологическую и эпидемиологическую эффективность вакцины, множественные побочные эффекты и осложнения, сопровождающие его применение. Иммунизация людей в условиях высокого риска заражения не обеспечивает полностью защиты организма от бруцеллёза, вызывает ряд побочных реакций и даже не исключает заболевания привитых.

Требует совершенствования и тактика планирования иммунизации по эпидемическим показаниям - в случае возникновения эпизоотического очага бруцеллёза МРС. Учитывая «несовершенство» бруцеллёзной вакцины, недопустимо проведение иммунизации людей после контакта (или вероятного контакта) с больными животными или факторами передачи инфекции в первичном или вторичном очагах инфекции. Для более рационального планирования мероприятий по специфической профилактике необходима объективная оценка наличия эпидемиологических показаний к вакцинации в соответствии с текущей эпизоотологической и эпидемиологической обстановкой и динамикой развития ситуации (прогнозом).

В ветеринарной практике, как и в медицине, поиск идеальной вакцины продолжается. Для иммунизации животных против бруцеллёза в основном применяются живые вакцины - они более эффективны, чем инактивированные и нецельноклеточные препараты, недороги при производстве, а индуцируемый ими иммунитет более стойкий. При указанных преимуществах живых вакцин было бы справедливым указать и их явные недостатки: остаточная патогенность для человека и животных, абортгенность, агглютиногенность - создает трудности для серодиагностики (кроме R-вакцин), сенсибилизирующий эффект, термолабильность (необходимость соблюдения холодовой цепи), устойчивость к некоторым антибактериальным препаратам выбора при бруцеллёзной инфекции у людей (Rev 1 - к стрептомицину, RB51 - рифампицину).

Разрешённые для применения в разных государствах вакцины используются только для иммунизации скота, при этом другие эпидемиологически значимые виды животных - свиньи, собаки, верблюды и восприимчивые дикие животные не охватываются иммунизацией.

Проблема специфической профилактики бруцеллёза в медицине и ветеринарии стоит остро и требует своего решения. В Российской Федерации в современных реалиях вакцинация животных по эпизоотологическим показаниям является одной из основных мер борьбы с бруцеллёзом среди животных и по снижению эпидемиологических рисков для населения. Применяемые вакцинные препараты и подходы к иммунизации животных не решают вопрос по искоренению инфекции, лишь позволяя, с переменным успехом, сдерживать существующий в настоящее время уровень неблагополучия поголовья скота по бруцеллёзу.

С учетом развития современной эпизоотологической ситуации по бруцеллёзу в России, когда риск распространения инфекции характеризуется специалистами как «значительный» [3] и уровень заболеваемости людей бруцеллёзом остается на достаточно высоком уровне, при этом, вероятно, истинная заболеваемость населения выше официально регистрируемой, а также с учётом возможного применения патогенных штаммов бруцелл в качестве агентов биотерроризма, вакцинация людей против бруцеллёза по эпидемическим показаниям оправдана и продолжает рассматриваться как мера индивидуальной защиты против инфекции.

В мире интенсивно занимаются проблемой создания высокоиммуногенных и безопасных кандидатов вакцин против бруцеллёза. Клонировано большое количество иммунодоминантных антигенов возбудителя, которые могут быть использованы как компоненты перспективных субъединичных химических вакцин в сочетании с новыми адъювантами.

Анализ современной ситуации по состоянию разработки вакцин против бруцеллёза в мире за последние 30 лет показал, что около 37 % исследований посвящены получению и экспериментальному изучению субъединичных вакцин, 28 % - модификации (аттенуации, повышению иммуногенности) вакцинных штаммов. Доля исследований по разработке препаратов бруцеллёзных вакцин с использованием мутантных штаммов, созданию ДНК, инактивированных и векторных вакцин составляет, соответственно, в среднем 13 %, 9 %, 8 % и 5 %.

Многочисленными исследованиями было показано, что экспериментальные препараты бруцеллёзных вакцин, разработанные на основе аттенуированных штаммов, обеспечивают лучшую защиту по сравнению с субъединичными, ДНК и рекомбинантными аналогами.

В случае применения живых ослабленных вакцинных штаммов бруцелл прослеживалась четкая корреляция результатов, полученных на биомоделях и в рамках производственных экспериментов при заражении предпочтительных (биологических) для бруцелл видов хозяев [59, 60, 72, 115, 136].

Существует большой интерес у исследователей к поколению мутантных штаммов, которые несут шероховатый LPS, такой как RB51, так как эти бруцеллы не инициируют образование агглютининов, соответственно не препятствуют использованию серологических методов диагностики бруцеллёза [126].

Недавние разработки, направленные на улучшение вакцин против бруцеллёза, в основном ориентированы на генерацию нокаутированных мутантов путем нацеливания на гены, участвующие в метаболизме, реализации вирулентности и синтезе липополисахаридов. Перспективным представляются также создание ДНК-векторных вакцин и препаратов, предназначенных для введения в организм через слизистые оболочки (конъюнктивальная вакцинация).

Большинство живых кандидатных вакцин на основе S-форм бруцелл обладают достаточной иммуногенной активностью, однако с учетом приживаемости штаммов в организме инициируют формирование специфической сенсibilизации и длительную персистенцию антител к ЛПС, затрудняющую дифференциальную диагностику. Живые вакцины на основе R (SR, RS) - штаммов слабоагглютиногенны или вообще не инициируют выработку агглютининов, но в большинстве случаев недостаточно иммуногенны. Также есть риск реверсии R-бруцелл с приобретением вирулентных свойств, формирования аллергических реакций [54, 69, 80, 95, 111, 118, 135, 136, 137, 156, 168].

Предлагаемые инактивированные (убитые) противобруцеллёзные вакцины на основе гладких штаммов зачастую реактогенные, что обусловлено большой концентрацией антигенов и адьювантов, так же часто провоцируют длительную серопозитивность и сенсibilизацию. Убитые вакцины на основе R-форм бруцелл достаточно стабильны, не вызывают длительную персистенцию агглютининов, при этом у препаратов выражены реактогенные и аллергенные свойства [46, 48, 49, 65, 75, 78, 70, 79, 83, 84, 85, 92, 93, 94, 97, 100, 102, 108, 109, 123, 124, 133, 140, 142, 150, 151, 158, 161, 169, 170].

Наиболее перспективные - нецельноклеточные вакцины (рекомбинантные, ДНК-вакцины, субъединичные, антигенные полимеры) практически не стимулируют формирование гиперчувствительности, позволяют проводить поствакцинальную серодиагностику, но имеют невысокую иммуногенную активность, что требует включение в состав препаратов - иммуностимуляторов, адьювантов или других средств, потенцирующих иммунный ответ, которые в свою очередь могут менять характеристики и свойства исходного препарата [34, 41, 47, 51, 56, 61, 66, 71, 76, 95, 104, 145, 154, 156, 165].

Теоретически вопросы остаточной вирулентности можно решать с помощью дополнительной аттенуации (модификации) вакцинных штаммов. Проблемы с дифференциальной серодиагностикой бруцеллеза можно нивелировать, используя мутантных бруцелл с измененной структурой LPS. Низкую иммуногенную активность инактивированных штаммов и нецельноклеточных вакцин целесообразно корректировать с использованием мощных стимуляторов клеточного иммунитета и синтеза цитокинов IL-12 и INF- γ , играющих важную роль в Th1-иммунном ответе при внутриклеточной инфекции.

Таким образом, несмотря на более чем полувековую историю разработок вакцин против бруцеллёза и большое количество перспективных научных исследований в последние десятилетия, коммерческого препарата эффективной и безопасной бруцеллёзной вакцины для иммунизации людей нет.

К сожалению, в мире не было предложено и реальной альтернативы живым вакцинам. Аттенуированные штаммы бруцелл обладают остаточной патогенностью для человека и животных. Как правило, инактивированные и нецельноклеточные вакцины обеспечивают относительно низкий проективный уровень защиты.

Доступные в настоящее время вакцины для животных имеют один или несколько основных недостатков, серьезно ограничивающих их массовое применение. Для того, чтобы оценить преимущества и недостатки различных кандидатных вакцин против бруцеллёза для иммунизации животных, испытываемый препарат должен отвечать следующим минимальным требованиям: обеспечивать длительную защиту не менее 70 % привитого поголовья; быть абсолютно безопасным для человека, животных и окружающей среды (отсутствие реверсии вакцинного штамма в исходные патогенные

формы, не инфицировать контактное поголовье, не обладать способностью к длительной персистенции в организме животных), не индуцировать синтез агглютинирующих антител, что позволяет отличать привитых животных и инфицированных; не вызывать сенсibilизацию при ревакцинациях; не вызывать побочных эффектов - аборт, местные и общие реакции.

Список литературы

1. Альбертян М.П. Вакцины против бруцеллеза: прошлое, настоящее и будущее / М.П. Альбертян, А.И. Федоров, М.И. Искадаров // Российский ветеринарный журнал. - 2006. - №4. - С. 8-11.
2. Экспериментальное изучение влияния иммуномодуляторов на эффективность применения вакцины бруцеллезной живой сухой / Н.В. Богачева, В.Ю. Охапкина, Н.В. Пяткова [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. - 2016. - №2 (87). - С. 84-92.
3. Бруцеллёз в Российской Федерации в 2018 году. Информационный бюллетень. - Ставрополь, 2019. - 38 с. - URL: <http://www.snipchi.ru/updoc/2019/Bruzelez%20-2018.pdf> (дата обращения 28.06.2019).
4. Вершилова П.А. Сравнительное определение вирулентности вакцинных штаммов *B. abortus* 19-ВА и 104-М, предложенных для иммунизации людей / П.А. Вершилова // ЖМЭИ. - 1959. - № 11. - С. 41-44.
5. Вершилова П.А. Состояние здоровья людей, многократно привитых против бруцеллеза живой вакциной ВА-19 в очаге инфекции / П.А. Вершилова, Х.А. Касымова, Е.А. Шнырева // Бруцеллез в Казахстане. - М.: Наука, 1965. С. 122 - 125.
6. Вершилова П.А. Бруцеллез / П.А. Вершилова. - М.: Медицина, 1972. - 439 с.
7. Вершилова П. А. Патогенез и иммунология бруцеллеза / П. А. Вершилова, М. И. Чернышова, Э. Н. Князева. - М.: Медицина, 1974. - 272 с.
8. Вершилова П.А. Накожная ревакцинация против бруцеллеза рабочих мясокомбинатов и животноводческих хозяйств / П.А. Вершилова, А.А. Голубева // ЖМЭИ. - 1958. - № 11. - С. 16 - 20.
9. Сравнительное изучение безвредности и реактогенности различных дозировок бруцеллезной химической вакцины при ревакцинации людей / П.А. Вершилова, Г.А. Ельшина, Е.А. Драновская [и др.] // ЖМЭИ. - 1985. - № 11. - С. 56 - 60.
10. Вершилова П.А. Гиперчувствительность замедленного типа при бруцеллезной инфекции и вакцинации / П.А. Вершилова, Э.Н. Князева // Вестник АМН СССР. - 1970. - № 8. - С. 73.
11. Вершилова П.А. Прививки людей против бруцеллеза живой вакциной / П.А. Вершилова, М.Л. Федер, А.М. Полякова // Вопросы инфекционной патологии и иммунологии: тр. АМН СССР. - Т. 2. - М., 1954. - С. 231.
12. Некоторые аспекты конструирования конъюгированных противобруцеллезных вакцин / Е.Л. Голубинский, А.Ф. Пинигин, С.Л. Миринов [и др.] // Тезисы докладов Всесоюзной научной конф. специалистов противочумных учреждений. Современные аспекты профилактики зоонозных инфекций. - Иркутск, 1984. - № 2. - С. 91-93.
13. Дамдинсарэн Л. Бруцеллезын эпидемиологи / Л. Дамдинсарэн // Хоний бруцеллез (Уланбатар). - Уланбатар, 1976. - С. 15 - 26.
14. Драновская Е.А. К вопросу о влиянии вакцинации на течение бруцеллезной инфекции в эксперименте / Е.А. Драновская, Н.А. Грекова // Матер. V Объедин. Съезда гигиен., эпидем. и инфекц. Казахстана. - Алма-Ата, 1991. - Т. 7. - С. 193, 194.
15. Дятлов И.А. Состояние разработки и производства вакцин для специфической профилактики опасных бактериальных инфекций [Электронный ресурс] / И.А. Дятлов // Доклад III Всероссийской научно-практической конференции с междуна-

родным участием «Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных». - URL: <http://snipchi.ru/updoc/2019/Prezent/%D0%94%D1%8F%D1%82%D0%BB%D0%BE%D0%B2%20%D0%98.%D0%90..pdf> (дата обращения: 17.07.2019).

16. Желудков М.М. Бруцеллез в России: современная эпидемиология и лабораторная диагностика: автореферат дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.30, 03.00.07 / М.М. Желудков. - Москва, 2009. - 51 с.

17. Жованник П.Н. Сравнительное исследование различных способов профилактической вакцинации против бруцеллёза / П.Н. Жованник // Научные труды Украинского ИЭВ. - 1948. - № 16. - С. 160-172.

18. Жукова Н.В. Современные вакцины: характеристика и классификация / Н.В. Жукова, И.М. Кривошеева // Крымский терапевтический журнал. - 2013. - № 2. - С. 99-104.

19. Касаткина И.Л. Патогенез поражений суставов при бруцеллезе / И.Л. Касаткина, Н.Д. Беклемишев. - Алма-Ата, 1976. - 230 с.

20. Касьянова Л.Ф. Результаты сравнительного изучения реактогенных и иммуногенных свойств адъювант-вакцин из штаммов *B. abortus* 45/20 и *B. melitensis* 53-Н-38 на морских свинках и телках / Л.Ф. Касьянова // Сборник научных трудов ВГНКИ вет. препаратов. Методы и средства диагностики, профилактики и лечения инфекционных болезней животных - М., 1985. - С. 67-71.

21. Киселева В.М., Жалмухамедов К.Б. Инфекционно-аллергический монетовидный кератит у больного бруцеллезом / В.М. Киселева, К.Б. Жалмухамедов // Офтальмологический журнал. - 1976. - № 3. - С. 232 - 234.

22. Результаты изучения уменьшенной дозы вакцины из штамма *B. abortus* 19 при иммунизации крупного рогатого скота / В.И. Ким, К.В. Шумилов, А.Р. Галлиев [и др.] // Инфекционные болезни животных и вопросы природной очаговости. - 1989. - № 11. - С. 67-71.

23. Косилов И.А. Противозооотическая эффективность вакцины из штамма 82 в общем комплексе противобруцеллезных мероприятий. Эпизоотология, диагностика и меры борьбы с инфекционными болезнями / И.А. Косилов, С.К. Димов, А.Г. Падалица // Сб. науч. трудов - Новосибирск, 1986. - С. 37-43.

24. Расследование осложненных поствакцинальных реакций на бруцеллез у людей в Республике Бурятия: научное издание / Л.М. Михайлов [и др.] // Инфекц. болезни. - 2012. - Т. 10, № 4. - С. 76-82.

25. Мустафин М.К. Серологический ответ взрослого крупного рогатого скота после вакцинации штаммом 82 *Brucella abortus* и RB51 / М.К. Мустафин, Б.М. Мустафин, А.А. Давкенова // Достижения науки и образования. - 2019. - №2 (43). - С.72-74.

26. Муромцев С.Н. Материалы по испытанию полужидкой формолвакцины против бруцеллёза / С.Н. Муромцев // Ветеринария. - 1944, № 2-3. - С. 8-10.

27. Николаев В.А. Итоги трехлетних полевых опытов применения убитых вакцин против бруцеллёза / В.А. Николаев // Ветеринария. - 1944. - № 1. - С. 13.

28. Новицкий А.А., Тягунина Е.А. Иммунитет у морских свинок, привитых разными сериями вакцины из штамма 82 и различными антигенными популяциями одной серии этой вакцины / А.А. Новицкий, Е.А. Тягунина // Сб. научных трудов Сибирского отделения ВАСХНИЛ, Новосибирск, 1984. - С. 21-26.

29. Орлова З.С. Состояние естественной резистентности у людей, привитых внутрикожно против бруцеллеза / З.С. Орлова, Х.А. Касымова // Антропозоозы в Казахстане. - Алма-Ата, 1975. С. 106 - 111.

30. Охупкина В.Ю. Иммунопрофилактика бруцеллеза у человека / В.Ю. Охупкина, И.В. Дармов, Б.А. Шабалин // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2007. - № 3. - С. 51 - 55.

31. Петров Р.В. Искусственные антигены и вакцины / Р.В. Петров., М.Р. Хаитов.

- М.: Медицина, 1988. - С. 238-255.

32. Петров Р.В., Атауллаханов Р.И. Иммуногенетика и искусственные антигены / Р.В. Петров., Р.И. Атауллаханов - М: Медицина, 1983. - С. 210-229.

33. Петров Р.В. Изучение иммуногенной активности искусственных бруцеллезных антигенов / Р.В. Петров, М.Р. Хаитов, П.Е. Игнатов [и др.] // ЖМЭИ. - 1988. - № 3. - С. 39- 43.

34. Разработка технологии получения и доклиническое изучение антиген-полимерной бруцеллезной вакцины / Р.В. Петров, М.Р. Хаитов, А.В. Некрасов [и др.] // Аллергия, астма и клиническая иммунология. - 2001. - № 1. - С. 12-15.

35. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 26.04.2010 N 39 «Об утверждении СП 3.1.7.2613-10» (вместе с «СП 3.1.7.2613-10. Профилактика бруцеллеза. Санитарно-эпидемиологические правила»).

36. Постановление Правительства от 15 июля 1999 г. № 825 «Об утверждении перечня работ, выполнение которых связано с высоким риском заболевания инфекционными заболеваниями и требует обязательного проведения профилактических прививок». - URL: <http://base.garant.ru/12116330>.

37. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 21 марта 2014 года N 125н «Об утверждении Национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям» (с изменениями на 19 февраля 2019 года).

38. Вопросы специфической вакцинопрофилактики при бруцеллезе на современном этапе / М.М. Ременцова, С.А. Амиреев, Л.Е. Цирельсон [и др.] // Краевые особенности эпидемиологии инфекционных заболеваний в Казахстане. - Алма-Ата, 1984. - С. 88 - 91.

39. Таран И.Ф. Иммунологическая характеристика и вакцинопрофилактика при бруцеллезе: автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. - Саратов, 1967. - 35 с.

40. Усманова Ф.И. Аллергическая реактивность и иммунитет у овец после многократных прививок вакциной из штамма *B. abortus* 19. / Ф.И. Усманова, Н.Л. Иванов // Иммунитет сельскохозяйственных животных. - 1973. - С. 73-75.

41. Филиппов Н.В. Управление эпизоотическим процессом бруцеллеза крупного рогатого скота в условиях повышенного риска: автореф. дис. ... / Н.В. Филиппов. - СПб, 1998. 28 с.

42. Цирельсон Л.Е. Клинико-иммунологические особенности бруцеллеза на фоне специфической вакцинации: дис. ... д-ра мед. наук / Л.Е. Цирельсон. - Алма-Ата. 1992. - 247 с.

43. Цирельсон Л.Е. Обзор проблем вакцинопрофилактики бруцеллеза / Л.Е. Цирельсон, М.М. Желудков, Ю.К. Кулаков // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. - 2013. - №3 (70). - С.77-81.

44. Состояние специфической иммунопрофилактики бруцеллеза в Российской Федерации / Л.Е. Цирельсон, М.М. Желудков, О.Д. Складов [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. - 2011. - №1 (56). - С. 59-64.

45. Яровой Л.В. О влиянии дозы бруцеллезной вакцины из штамма *B. abortus* на состояние здоровья привитых людей / Л.В. Яровой, И.Ф. Таран // ЖМЭИ. - 1963. - № 2. - С. 104.

46. Survey of Omp19 immunogenicity against *Brucella abortus* and *Brucella melitensis*: influence of nanoparticulation versus traditional immunization / M. Abkar, A.S. Lotfi, J. Amani [et al.] // Vet. Res. Commun. - 2015. - Vol. 39. - P. 217-228.

47. Intact purine biosynthesis pathways are required for wild-type virulence of *Brucella abortus* 2308 in the BALB/c mouse model / R.B. Alcantara, R.D. Read, M.W. Valderas [et al.] // Infect. Immun. - 2004. - Vol. 72 (8). - P. 4911-4917.

48. Protection of BALB/c mice against *Brucella abortus* 544 challenge by vaccination with bacterioferritin or P39 recombinant proteins with CpG oligodeoxynucleotides as adjuvant / A. Al-Mariri, A. Tibor, P. Mertens [et al.] // *Infect. Immun.* - 2001. - Vol. 69. - P. 4816-4822.
49. Induction of immune response in 332 BALB/c mice with a DNA vaccine encoding bacterioferritin or P39 of 333 *Brucella* spp / A. Al-Mariri, A. Tibor, P. Mertens [et al.] // *Infect. Immun.* - 2001. - Vol. 69. - P. 6264-6270.
50. *Yersinia enterocolitica* as a vehicle for a Naked DNA vaccine encoding *Brucella abortus* bacterioferritin or p39 antigen / A. Al-Mariri, A. Tibor, P. Lestrade, P. Mertens, X. DeBolle, J.J. Letesson // *Infect. Immun.* - 2002. - Vol. 70. - P. 19-23. doi: 10.1128/IAI.70.4.1915-1923.2002.
51. Ferrochelatase is present in *Brucella abortus* and is critical for its intracellular survival and virulence / M. Almiron, M. Martinez, N. Sanjuan // *Infect. Immun.* - 2001. - Vol. 69. - P. 6225-6230.
52. Immunization with a single dose of a microencapsulated *Brucella melitensis* mutant enhances protection against wild-type challenge / A.M. Arenas-Gamboa, T.A. Ficht, M.M. Kahl-McDonagh, A.C. Rice-Ficht // *Infect. Immun.* - 2008. - Vol. 76. - P. 2448-2455.
53. Protective efficacy and safety of *Brucella melitensis* 16 Δ mucR against intraperitoneal and aerosol challenge in BALB/c mice. / A.M. Arenas-Gamboa, A.C. Rice-Ficht, M.M. Kahl-McDonagh, T.A. Ficht // *Infect. Immun.* - 2011. - Vol. 79. - P. 3653-3658.
54. Adverse events in humans associated with accidental exposure to the livestock brucellosis vaccine RB51 / D.A. Ashford, J. di Pietra, J. Lingappa [et al.] // *Vaccine.* - 2004. - Vol. 22. - P. 3435-3439.
55. A history of the development of *Brucella* vaccines / E.D. Avila-Caldero ´n, A. Lopez-Merino, N. [et al.] // *Sriranganathan Biomed Res Int.* - 2013. - e743509. doi: 10.1155/2013/743509.
56. Immune responses of mice to vaccinia virus recombinants expressing either *Listeria monocytogenes* partial listeriolysin or *Brucella abortus* ribosomal L7/L12 protein / S. Baloglu, S.M. Boyle, R. Vemulapalli [et al.] // *Vet Microb.* - 2005. - Vol. 109, № 1-2. P. 11-7.
57. Rough mutants defective in core and O-polysaccharide synthesis and export induce antibodies reacting in an indirect ELISA with smooth lipopolysaccharide and are less effective than Rev 1 vaccine against *Brucella melitensis* infection of sheep / M.B. Barrio, M.J. Grillo, P.M. Munoz [et al.] // *Vaccine.* - 2009. - Vol. 27. - P. 1741-1749. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.01.025.
58. Comparison of protective efficacy of subcutaneous versus intranasal immunization of mice with a *Brucella melitensis* lipopolysaccharide subunit vaccine / A.K. Bhattacharjee, M.J. Izadjoo, W.D. Zollinger [et al.] // *Infect. Immun.* - 2006. - Vol. 74. - P. 5820-5825. doi: 10.1128/IAI.00331-06.
59. Evaluation of whole cell and subcellular vaccines against *Brucella ovis* in rams / B. Alonso-Urmeneta, R. Diaz // *Vet. Immunol. Immunopathol.* - 1993. - Vol. 37. - P. 257-270.
60. Blasco J.M. A review of the use of *Brucella melitensis* Rev. 1 vaccine in adult sheep and goats / J.M. Blasco // *Prev. Vet. Med.* - 1997. - Vol. 31. - P. 275-283. doi: 10.1016/S0167-5877(96)01110-5.
61. Vaccination with the recombinant *Brucella* outer membrane protein 31 or a derived 27-amino-acid synthetic peptide elicits a CD4+ T helper 1 response that protects against *Brucella melitensis* infection / J. Cassataro, S.M. Estein, K.A. Pasquevich [et al.] // *Inf. immune.* - 2005. - Vol. 73, № 12. - P. 8079-8088.
62. A DNA vaccine coding for the chimera BLSOmp31 induced a better degree of protection against *B. ovis* and a similar degree of protection against *B. melitensis* than

Rev. 1 vaccination / J. Cassataro, K.A. Pasquevich, S.M. Estein [et. al.] // *Vaccine*. - 2007. - Vol. 25. - P. 5958-67. doi: 10.1016/j.vaccine.2007.05.049.

63. The vaccine candidate BLSOmp31 protects mice against *Brucella canis* infection / M. Clause, A.G. Díaz, G. Ghersi [et al.] // *Vaccine*. - 2013 (Dec). - Vol. 9, № 31 (51). - P. 6129-35. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.07.041.

64. Jensen Effects of age at vaccination on efficacy of *Brucella abortus* strain RB51 to protect cattle against brucellosis / N.F. Cheville, S.C. Olsen [et al.] // *Am. J. Vet. Res.* - 1996. - Vol. 57. - P. 1153-1156.

65. DNA vaccination of bison to brucellar antigens elicits elevated antibody and IFN-responses / B. Clapp, N. Walters, T. Thornburg [et al.] // *J. Wildl. Dis.* - 2011. - Vol. 47 (3). - P. 501-510.

66. Conde-Alvarez R. Lipopolysaccharide as a target for brucellosis vaccine design / R. Conde-Alvarez, V. Arce-Gorvel, Y. Gil-Ramirez [et al.] // *Microb. Pathog.* - 2013. - Vol. 58. - P. 29-34.

67. Corbel M.J. *Brucellosis in Humans and Animals* / M.J. Corbel. - WHO Press: World Health Organization, Switzerland 2006.

68. Corner L.A. Persistence of *Brucella abortus* strain 19 infection in adult cattle vaccinated with reduced doses / L.A. Corner, G.G. Alton // *Res. Vet. Sci.* - 1981. - Vol. 31. - P. 342-344.

69. Croft B.C. *Brucellosis of cattle* / B.C. Croft // *Agriculture*. - 1972. - Vol. 79, № 2. - P. 77-81.

70. Vaccination with *Brucella* recombinant DnaK and SurA proteins induces protection against *Brucella abortus* infection in BALB/c mice / M.V. Delpino, S.M. Estein, C.A. Fossati, P.C. Baldi, J. Cassataro. - *Vaccine*. - 2007. - Vol. 25. - P. 6721-6729.

71. Differential requirements for VirB1 and VirB2 during *Brucella abortus* infection / A.B. Den Hartigh, Y.H. Sun, D. Sondervan [et. al.] // *Infect. Immun.* - 2004. - Vol. 72 (9). - P. 5143-5149.

72. Epidemiology and control of brucellosis in China / S. Deqiu, X. Donglou, Y. Jiming [et. al.] // *Vet. Microbiol* - 2002. - Vol. 90. - P. 165-82. doi: 10.1016/S0378-1135(02)00252-3.

73. Estein SM. Immune response induced by conjunctival immunization with polymeric antigen BLSOmp31 using a thermoresponsive and mucoadhesive in situ gel as vaccine delivery system for prevention of ovine brucellosis / A.G. Diaz, D.A. Quinteros, S.E. Gutiérrez [et. al.] // *Vet. Immunol. Immunopathol.* - 2016. - Vol. 1. - P. 50-56. doi: 10.1016/j.vetimm.2016.07.004.

74. Dzata G.K. The effects of adjuvants on immune responses in cattle injected with a *Brucella abortus* soluble antigen / G.K. Dzata, A.W. Confer, J.H. Wyckoff // *Vet. Microbiol.* - 1991. - Vol. 29. - P. 27-48

75. Escalona E. Immunogenicity of a multi-epitope DNA vaccine encoding epitopes from Cu-Zn superoxide dismutase and open reading frames of *Brucella abortus* in mice / E. Escalona, D. Saez, A. Onate // *Front. Immunol.* - 2017. - Vol. 8. - P. 125.

76. Carlson R.W., Walker G.C., Similarity to peroxisomal-membrane protein family reveals that Sinorhizobium and *Brucella* BacA affect lipid-A fatty acids / G.P. Ferguson, A. Datta, J. Baumgartner, R.M. Roop // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* - 2004. - Vol. 101. - P. 5012-5017.

77. *Brucellosis: the case for live, attenuated vaccines* / T.A. Ficht, M.M. Kahl-McDonagh, A.M. Arenas-Gamboa // *Vaccine*. - 2009. - Vol. 27 (Suppl. 4). - P. 40-43. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.08.058.

78. Goel D. Intradermal immunization with outer membrane protein 25 protects Balb/c mice from virulent *B. abortus* 544 / D. Goel, R. Bhatnagar // *Mol. Immunol.* - 2012. - Vol. 51. - P. 159-168.

79. Cell mediated immuneresponse after challenge in Omp25 liposome immunized mice contributes to protection against virulent *Brucella abortus* 544 / D. Goel, V. Rajendran, P.C. Ghosh, R. Bhatnagar // *Vaccine*. - 2013. - Vol. 31. - P. 1231-1237.
80. Goodwin Z.I. Brucellosis vaccines for livestock / Z.I. Goodwin, D.W. Pascual // *Vet. Immunol. Immunopathol.* - 2016. - Vol. 181. - P. 51-58.
81. Vaccination with recombinant L7/L12-truncated Omp31 protein induces protection against *Brucella* infection in BALB/c mice / M. Golshani, S. Rafati, A. Dashti [et al.]. - *Mol. Immunol.* - 2015. - Vol. 65. - P. 287-292. doi: 10.1016/j.molimm.2015.01.009.
82. In silico analysis of *Brucella abortus* Omp2b and in vitro expression of SOmp2b / M. Golshani, N. Vaeznia, M. Sahmani, // *Clin. Exp. Vaccine Res.* - 2016. - Vol. 5 (1). - P. 75-82. doi:10.7774/cevr.2016.5.1.75
83. Brucellosis vaccines based on the open reading frames from genomic island 3 of *Brucella abortus* / L. Gomez, F. Alvarez, D. Betancur, A. Onate // *Vaccine*. - 2018. - Vol. 36. - P. 2928-2936.
84. Multivalent fusion DNA vaccine against *Brucella abortus* / L. Gomez, J. Llanos, E. Escalona [et. al.] // *Bio-Med Res. Int.* - 2017. - Vol. 7. - P. 1-8.
85. Evaluation of *Brucella abortus* DNA vaccine by expression of Cu-Zn superoxide dismutase antigen fused to IL-2 / A. Gonzalez-Smith, R. Vemulapalli, E. Andrews, A. Onate // *Immunobiology*. - 2006. - Vol. 211, № 1-2. - P. 65-74.
86. Brucellosis vaccines: assessment of *Brucella melitensis* lipopolysaccharide rough mutants defective in core and O-polysaccharide synthesis and export / D. Gonzalez, M.J. Grillo, M.J. Miguel, T. Ali, V. Arce-Gorvel, R.M. Delrue [et al.] // *PlosOne*. - 2008. - Vol. 3. - P.2760. doi: 10.1371/journal.pone.0002760.
87. Increases of efficacy as vaccine against *Brucella abortus* infection in mice by simultaneous inoculation with avirulent smooth bvrS/bvrR and rough wbkA mutants / M.J. Grillo, L. Manterola, M.J. Miguel [et al.] // *Vaccine*. - 2006. - Vol. 24. - P. 2910-2916. doi: 10.1016/j.vaccine.2005.12.038.
88. Herr S. Profiles of serological reactions following adult cow inoculation with standard dose . B. abortus strain 19 vaccine / S. Herr, A. Lasley // *J. S. Afr. Vet. Assoc.* - 1985. - Vol. 56, № 2. - P. 93-96.
89. Hamdy M. Comparison between immune responses and resistance induced in BALB/c mice vaccinated with RB51 and Rev. 1 vaccines and challenged with *Brucella melitensis* bv. 3. / M. Hamdy, S.M. El-Gibaly, A.M. Montasser // *Vet. Microbiol.* - 2002. - Vol. 88. - P. 85-94. doi: 10.1016/S0378-1135(02)00088-3.
90. Evaluation of recombinant invasive, non-pathogenic *Escherichia coli* as a vaccine vector against the intracellular pathogen, *Brucella* / J.S. Harms, M.A. Durward, D.M. Magnani, // *J. Immune Based Ther Vaccines*. - 2009. - Vol. 7 (1). doi: 10.1186/1476-8518-7-1.
91. Hong P.C. Identification of genes required for chronic persistence of *Brucella abortus* in mice / P.C. Hong, R.M. Tsois, T.A. Ficht // *Infect. Immun.* - 2000. - Vol. 68. - P. 4102-07.
92. Immunization of BALB/c mice with a combination of four recombinant *Brucella abortus* proteins, AspC, Dps, InpB and Ndk, confers a marked protection against a virulent strain of *Brucella abortus* / H.T. Hop, L.T. Arayan, T.X.N. Huy [et al.] // *Vaccine*. - 2018. - Vol. 36. - P. 3027-3033.
93. Hop H.T. Immunization of mice with recombinant *Brucella abortus* organic hydroperoxide resistance (ohr) protein protects against a virulent *Brucella abortus* 544 infection / H.T. Hop, A.W. Reyes, H.L. Simborio [et al.] // *J. Microbiol. Biotechnol.* - 2016. - Vol. 26. - P. 190-196.
94. A combined DNA vaccine provides protective immunity against *Mycobacterium bovis* and *Brucella abortus* in cattle / X.D. Hu, D.H. Yu, S.T. Chen // *DNA Cell Biol.* - 2009. - Vol. 28. - P. 191-199.

95. A live vaccine from *Brucella abortus* strain 82 for control of cattle brucellosis in the Russian Federation / A.V. Ivanov, K.M. Salmakov, S.C. Olsen // *Anim. Health Res. Rev.* - 2011. - Vol. 12. - P. 113-121.
96. Evaluation of DNA vaccine encoding BCSP31 surface protein of *Brucella abortus* for protective immunity / W. Imtiaz, A. Khan, S.G. Shafia Tehseen // *Microbial Pathogenesis.* - 2018. - Vol. 125. - P. 514-520.
97. Jain S. Immunological responses to recombinant cysteine synthase A of *Brucella abortus* in BALB/c mice / S. Jain, P. Afley, S. Kumar // *World J. Microbiol. Biotechnol.* - 2013. - Vol. 29. - P. 907-913.
98. Vaccination with *Brucella abortus* rough mutant RB51 protects BALB/c mice against virulent strains of *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, and *Brucella ovis* / M.P. Jimenez de Bague's, P.H. Elzer, S.M. Jones [et al.] // *Infect. Immun.* - 1994. - Vol. 62. - P. 4990-96.
99. Kahl-McDonagh M.M. Evaluation of protection afforded by *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* unmarked deletion mutants exhibiting different rates of clearance in BALB/c mice / M.M. Kahl-McDonagh // *Infect. Immun.* - 2006. - Vol. 74. - P. 4048-57. doi: 10.1128/IAI.01787-05.
100. Comparison between immunization routes of live attenuated *Salmonella typhimurium* strains expressing BCSP31, *Omp3b*, and *SOD* of *Brucella abortus* in murine model / W.K. Kim, J.Y. Moon, S. Kim // *Front. Microbiol.* - 2016. - Vol. 7. - P. 550.
101. Kitselman A. A study of Bang abortion live germ vaccine in a beef herd / A. Kitselman // *Cornell Vet.* - 1933. - Vol. 23. - P. 309-311.
102. Lalsiamthara J. Effect of immunization routes and protective efficacy of *Brucella* antigens delivered via *Salmonella* vector vaccine / J. Lalsiamthara, G. Won, J.H. Lee // *J. Vet. Sci.* - 2018. - Vol. 19. - P. 416-425.
103. Similar requirements of a plant symbiont and a mammalian pathogen for prolonged intracellular survival / K. Le Vier, R.W. Phillips, V.K. Grippe [et. al.] // *Science.* - 2000. - Vol. 287. - P. 2492-2493.
104. Immunization of BALB/c mice with *Brucella abortus* 2308ΔwbkA confers protection against wild-type infection / Z. Li, D. Gui, J. Zhang [et al.] // *J. Vet. Sci.* - 2015. - Vol. 16. - P. 467-73. doi: 10.4142/jvs.2015.16.4.467.
105. Deletion of the transcriptional regulator *GntR* down regulated the expression of genes related to virulence and conferred protection against wild-type *Brucella* challenge in BALB/c mice / Z.Q. Li, J.L. Zhang, L. Xi, [et. al.] // *Mol. Immunol.* - 2017. - Vol. 92. - P. 99-105.
106. Liljeqvist S. Production of recombinant subunit vaccines: protein immunogens, live delivery systems and nucleic acid vaccines / S. Liljeqvist, S. Ståhl // *J. Biotechnol.* - 1999. - Vol. 73. - P. 1-33. doi: 10.1016/S0168-1656(99)00107-8.
107. Lord V.R. Field study of vaccination of cattle with *Brucella abortus* strains RB51 and 19 under high and low disease prevalence / V.R. Lord, G.G. Schurig, J.W. Cherwonogrodzky // *Am. J. Vet. Res.* - 1998. - Vol. 59. - P. 1016-1020.
108. Protective immunity elicited by a divalent DNA vaccine encoding both the *L7/L12* and *Omp16* genes of *Brucella abortus* in BALB/c mice / D. Luo, B. Ni, P. Li [et. al.] // *Infect. Immun.* - 2006. - Vol. 74. - P. 2734-2741.
109. Liposomised recombinant ribosomal *L7/L12* protein protects BALB/c mice against *Brucella abortus* 544 infection / A.I. Mallick, H. Singha, P. Chaudhuri [et. al.] // *Vaccine.* - 2007. - Vol. 25. - P. 3692-3704.
110. Characterization of *Brucella abortus* O-polysaccharide and core lipopolysaccharide mutants and demonstration that a complete core is required for rough vaccines to be efficient against *Brucella abortus* and *Brucella ovis* in the mouse model / D. Monreal, M.J. Grilló, D. González [et. al.] // *Infect. Immun.* - 2003. - Vol. 71. - P. 3261-3271.

111. Rough vaccines in animal brucellosis: structural and genetic basis and present status / I. Moriyon, M.J. Grillo, D. Monreal [et. al.] // *Vet. Res.* (2004) 35, 1-38.
112. Montaraz J.A. Comparison of living and nonliving vaccines for *Brucella abortus* in BALB/c mice / J.A. Montaraz, A.J. Winter // *Infect. Immun.* - 1986. - Vol. 53. - P. 245-251.
113. Intraspleen delivery of a DNA vaccine coding for superoxide dismutase (SOD) of *Brucella abortus* induces SOD-specific CD4⁺ and CD8⁺ T cells / C. Munoz-Montesino, E. Andrews, R. Rivers [et. al.] // *Infect. Immun.* - 2004. - Vol. 72. - P. 2081-2087.
114. Nicoletti P. Vaccination of cattle with *Brucella abortus* strain 19 administered by differing routes and doses / P. Nicoletti // *Vaccine.* - 1984. - Vol. 2. - P. 133-135. doi: 10.1016/0264-410X(84)90004-5.
115. Nicoletti P. Vaccination against *Brucella* / P. Nicoletti // *Adv. Biotechnol Processes.* - 1990. - Vol. 13. - P. 147-168. PMID: 2185782.
116. Revaccination with a reduced dose of *Brucella abortus* strain 19 vaccine of breeding cows in the Pampas region of Argentina / A. Odeon, C. Campero, A. Moreira [et al.] // *Rev. Sci. et Tech OIE.* - 1987. - Vol. 6. № 4. - P. 1063-1071.
117. OIE Biological Standards Commission, Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. 6ed. Paris: World Organisation for Animal Health, 2008.
118. Olsen S.C. Essential role of vaccines in brucellosis control and eradication programs for livestock, Expert Rev / S.C. Olsen, W. Stoffregen // *Vaccines.* - 2005. - Vol. 4 (6). - P. 915-928.
119. Olsen S.C. Recent developments in livestock and wildlife brucellosis vaccination / S.C. Olsen // *Rev. Sci. Tech.* - 2013. - Vol. 32. - P. 207-217. PMID: 23837378.
120. Oliveira S.C. Immunization of mice with recombinant L7/L12 ribosomal protein confers protection against *Brucella abortus* infection / S.C. Oliveira, G.A. Splitter // *Vaccine.* - 1996. - Vol. 14. - P. 959-962. doi: 10.1016/0264-410X(96) 00018-7.
121. Vaccination with live *Escherichia coli* expressing *Brucella abortus* Cu/Zn superoxide dismutase protects mice against virulent *B. abortus* / A.A. Onate, R. Vemulapalli, E. Andrews [et. al.] // *Infect. Immun.* - 1999. - Vol. 67. - P. 986-988. PMID: 9916121.
122. Serological control of sheep vaccinated with Rew-1 brucella-vaccine // *Bull Hellen Vet. Med. Soc.* - 1988. - Vol. 39 (2). - P. 126-130.
123. Recombinant outer membrane protein 25c from *Brucella abortus* induces Th1 and Th2 mediated protection against *Brucella abortus* infection in mouse model / S. Paul, B.V. Peddayalachagiri, S. Nagaraj // *Mol. Immunol.* - 2018. - Vol. 99. - P. 9-18.
124. Immunization with recombinant *Brucella* species outer membrane protein Omp16 or Omp19 in adjuvant induces specific CD4^b and CD8^b T cells as well as systemic and oral protection against *Brucella abortus* infection / K.A. Pasquevich, S.M. Estein, C.G. Samartino [et. al.] // *Infect. Immun.* - 2009. - Vol. 77 (1). - P. 436-445.
125. *Brucella abortus* RB51 induces protection in mice orally infected with the virulent strain *B. abortus* 2308 / P. Pasquali, A. Rosanna, C. Pistoia [et. al.] // *Infect. Immun.* - 2003. - Vol. 71. - P. 2326-30. doi: 10.1128/IAI.71.5.2326-2330.2003.
126. The protein moiety of *Brucella abortus* outer membraneprotein 16 is a new bacterial pathogen-associated molecular pattern that activates dendritic cells in vivo, induces a Th1 immune response, and is a promising self-adjuvanting vaccine against systemic and oral acquired brucellosis / K.A. Pasquevich, C. Garcia Samartino, L.M. Coria [et al.] // *J. Immunol.* - 2010. - Vol. 184. - P. 5200-5212. doi: 10.4049/jimmunol.0902209.
127. Pilet C. Resultats oenus a1 aide du vaccine PB contre la brucellose. Les Cahiers de / C. Pilet // *Med. Vet.* - 1970. - Vol. 39, № 3. P. 159-177.
128. Plommet M. Progres recents en immunisation contre 1 infection a *Brucella abortus*. Immunisation ches les bovis / M. Plommet // *Prev. Vet. Med.* - 1984. Vol. 2, № 1-4, P. 205-214.

129. Brucellose bovine experimentale / M. Plommet, G. Renoux, A. Philippon [et al.] // *Ann Rech Vet.* - 1970. - Vol. 1,2. - P. 189-231.
130. Plotkin S.A. Correlates of protection induced by vaccination / S.A. Plotkin // *Clin Vaccine Immunol.* - 2010. - Vol. 17. - P. 1055-65. doi: 10.1128/CI.00131-10.
131. Efficacy of strain RB51 vaccine in heifers against experimental brucellosis / F.P. Poester, V.S.P. Goncalves, T.A. Paixão [et al.] // *Vaccine.* - 2006. - Vol. 24. - P. 5327-5334. doi: 10.1016/j.vaccine.2006.04.020.
132. Analysis of Epizootiological-Epidemiological Situation on Brucellosis in the Russian Federation in 2018 and Forecast for 2019 / Ponomarenko D.G., Ezhlova E.B., Rusanova D.V. [et. al.] // *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. - 2019. - № 2. P. 14-21. (In Russian). doi: 10.21055/0370-1069-2019-2-14-21.
133. Riquelme-Neira R. Protective effect of a DNA vaccine containing an open reading frame with homology to an ABC-type transporter present in the genomic island 3 of *Brucella abortus* in BALB/c mice / R. Riquelme-Neira, A. Retamal-Diaz, F. Acuna, P. Riquelme, A. Rivera, D. Saez, A. Onate // *Vaccine.* - 2013. - Vol. 31. - P. 3663-3667.
134. Oral immunization of mice with recombinant *Lactococcus lactis* expressing Cu, Zn superoxide dismutase of *Brucella abortus* triggers protective immunity / D. Saez, P. Fernandez, A. Rivera [et al.] // *Vaccine.* - 2012. - Vol. 30. - P. 1283-1290. doi: 10.1016/j.vaccine.2011.12.088.
135. Sangari F.J. The *Brucella abortus* vaccine strain B19 carries a deletion in the erythritol catabolic genes / F.J. Sangari, J.M. García-Lobo, J. Agüero // *FEMS Microbiol. Lett.* - 1994. - Vol. 121 (3). - P. 337-342.
136. Schurig G.G. Brucellosis vaccines: past, present and future / G.G. Schurig, N. Sriranganathan, M.J. Corbel // *Vet. Microbiol.* - 2002. - Vol. 90. - P. 479-496.
137. Biological properties of RB51; a stable rough strain of *Brucella abortus* / G.G. Schurig, R.M. Roop, T. Bagchi [et al.] // *Vet. Microbiol.* - 1991. - Vol. 28. - P. 171-188. doi: 10.1016/0378-1135(91)90091-S PMID: 1908158.
138. Encapsulated *Brucella ovis* lacking a putative ATP-binding cassette transporter ($\Delta abcBA$) protects against wild type *Brucella ovis* in Rams / A.P.C. Silva, A.A Macêdo, L.F. Costa [et al.] // *PLoS One.* - 2015. - Vol. 10. - e0136865. doi: 10.1371/journal.pone.0136865 PMID: 26317399 pone.0136865.
139. Protection provided by an encapsulated live attenuated $\Delta abcBA$ strain of *Brucella ovis* against experimental challenge in a murine model / A.P. Silva, A.A. Macêdo, T.M. Silva, L.C. Ximenes, H.M. Brandão, T.A. Paixão, [et al.] // *Clin Vaccine Immunol.* - 2015. - Vol. 22. - P. 789-797. doi: 10.1128/CI.00191-15.
140. PLGA (85:15) nanoparticle based delivery of rL7/L12 ribosomal protein in mice protects against *Brucella abortus* 544 infection: a promising alternate to traditional adjuvants / D. Singh, V.K. Somani, S. Aggarwal [et al.] // *Mol. Immunol.* - 2015. - Vol. 68. - P. 272-279.
141. Co-immunization with interleukin-18 enhances the protective efficacy of liposomes encapsulated recombinant Cu-Zn superoxide dismutase protein against *Brucella abortus* / H. Singha, A.I. Mallick, C. Jana [et al.] // *Vaccine.* - 2011. - Vol. 29. - P. 4720-4727. doi: 10.1016/j.vaccine.2011.04.088/
142. Evaluation of protective effect of DNA vaccines encoding the BAB1_0263 and BAB1_0278 open reading frames of *Brucella abortus* in BALB/c mice / F. Sislema-Egas, S. Cespedes, P. Fernandez [et al.] // *Vaccine.* - 2012. - Vol. 30. - P. 7286-7291.
143. Smits H.L. Brucellosis in pastoral and confined livestock: prevention and vaccination / H.L. Smits // *Rev. Sci. Tech.* - 2013. - Vol. 32 (1). - P. 21.
144. Immunization with viable *Brucella* organisms. Results of a safety test in humans / W.W. Spink, J.W. Hall, J. Finstad [et al.] // *Bul. Organ. Mond. Sante.* - 1962. - Vol. 26 (3). - P. 409 - 419.

145. Immune responses to superoxide dismutase and synthetic peptides of superoxide dismutase in cattle vaccinated with *Brucella abortus* strain 19 or RB51 / M.G. Stevens, L.B. Tabatabai, S.C. Olsen [et al.] // *Vet. Microbiol.* - 1994. - Vol. 41. - P. 383-389.
146. *Brucella abortus* strain 2308 Wisconsin genome: importance of the definition of reference strains / M. Suarez-Esquivel, N. Ruiz-Villalobos, A. Castillo-Zeled [et al.] // *Front. Microbiol.* - 2016. - Vol. 7. - URL: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.01557>
147. Monophosphoryl lipid A-induced immune enhancement of *Brucella abortus* salt-extractable protein and lipopolysaccharide vaccines in BALB/c mice. / L.B. Tabatabai, G.W. Pugh, M.G. Stevens [et al.] // *Am J. Vet. Res.* - 1992. - Vol. 53. - P. 1900-1907.
148. Novel influenza virus vectors expressing *Brucella* L7/L12 or *Omp16* proteins in cattle induced a strong T-cell immune response, as well as high protectiveness against *B. abortus* infection / K. Tabynov, Z. Kydyrbayev, S. Ryskeldinova [et al.] // *Vaccine.* - 2014. - Vol. 32(18). - P. 2034-2041. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.02.058.
149. First evaluation of an influenza viral vector based *Brucella abortus* vaccine in sheep and goats: assessment of safety, immunogenicity and protective efficacy against *Brucella melitensis* infection / K. Tabynov, B. Yespembetov, N. Matikhan [et al.] // *Vet. Microbiol.* - 2016. - Vol. 197. - P. 15-20.
150. Intraperitoneal administration of a novel chimeric immunogen (rOP) elicits IFN-gamma and IL-12p70 protective immune response in BALB/c mice against virulent *Brucella* / G. Tadepalli, B. Konduru, H.S. Murali, H.V. Batra // *Immunol. Lett.* - 2017. - Vol. 192. - P. 79-87.
151. Immuno-genicity and protective efficacy of *Brucella abortus* recombinant protein cocktail (rOmp19prP39) against *B. abortus* 544 and *B. melitensis* 16M infection in murine model / G. Tadepalli, A.K. Singh, K. Balakrishna, H.S. Murali, H.V. Batra // *Mol. Immunol.* - 2016. - Vol. 71. - P. 34-41.
152. Action de la médecine du travail dans la prevention de la brucellose par la vaccination / J. Thual, S. Markowicz, F. Monestier [et al.] // *Arch. Malad. Prof.* - 1984. - Vol. 45(8). - P. 614 - 616.
153. Titball R.W. Vaccines against intracellular bacterial pathogens / R.W. Titball // *Drug Discov Today.* - 2008. - Vol. 13. - P. 596-600. doi: 10.1016/j.drudis.2008.04.010.
154. Meta-analysis of variables affecting mouseprotection efficacyof wholeorganism *Brucellavaccines*and vaccine candidates / T.E. Todd, O. Tibi, Y. Lin [et al.] // *BMC Bioinformatics.* - 2013. - Vol. 14. - № S3. - doi: 10.1186/1471-2105-14-S6-S3.
155. The *Brucella abortus* phosphoglycerate kinase mutant is highly attenuated and induces protection superior to that of vaccine strain 19 in immunocompromised and immunocompetent mice / C.G. Trant, T.L. Lacerda, N.B. Carvalho [et al.] // *Infect. Immun.* - 2010. - Vol. 78. - P. 2283-2291.
156. *Brucella abortus* mutants lacking ATP-binding cassette transporter proteins are highly attenuated in virulence and confer protective immunity against virulent *B. abortus* challenge in BALB/c mice / Q.L. Truong, Y. Cho, S. Park [et al.] // *Microb. Pathog.* - 2016. - Vol. 95. - P. 175-185.
157. Evaluation of *Brucella abortus* phosphoglucomutase (pgm) mutant as a new live roughphenotype vaccine / J.E. Ugalde, D.J. Comerchi, M.S. on Leguizam, R.A. Ugalde // *Infect. Immun.* - 2003. - Vol. 71. - P. 6264-6269.
158. A DNA vaccine encoding lumazine synthase from *Brucella abortus* induces protective immunity in BALB/c mice / C.A. Velikovsky, J. Cassataro, G.H. Giambartolomei [et al.] // *Infect. Immun.* - 2002. - Vol. 70. - P. 2507-2511.
159. *Brucella lumazine synthase*elicits a mixedTh1-Th2immuneresponseand reducesinfectionin mice challengedwith *Brucella abortus* 544 independently of the

adjuvant formulation used / C.A. Velikovskiy, F.A. Goldbaum, J. Cassataro [et al.] // *Infect. Immun.* - 2003. - Vol. 71. - P. 5750-5755. doi: 10.1128/IAI.71.10.5750-5755.2003 PMID: 14500496

160. Vershilova P.A. The use of live vaccine for vaccination of human beings against brucellosis in the USSR / P.A. Vershilova // *Bull World Health Organ.* - 1961. - Vol. 24. - P. 85-89.

161. Verma S.K. Immunogenicity and protective potential of a bacterially expressed recombinant dihydrolipoamide succinyltransferase (rE2o) of *Brucella abortus* in BALB/c mice / S.K. Verma, S. Jain, S. Kumar // *World J. Microbiol. Biotechnol.* - 2012. - Vol. 28. - P. 2487-2495.

162. Overexpression of protective antigen as a novel approach to enhance vaccine efficacy of *Brucella abortus* strain RB51 / R. Vemulapalli, Y. He, S. Cravero [et al.] // *Infect. Immun.* - 2000. - Vol. 68. - P. 3286-89. doi: 10.1128/IAI.68.6.3286-3289.2000 PMID: 10816475.

163. Waghella S. Serological respons of cattle in Kenya vaccinated with a killed *B. abortus* strain 45/20 adjuvant vaccine / S. Waghella, M. Philpott // *Vet. Res.* - 1976. - Vol. 99, № 25/26. - P. 505-507.

164. Effectiveness of natural and synthetic complexes of porin and O polysaccharide as vaccines against *Brucella abortus* in mice / A.J. Winter, G.E. Rowe, M.J. Duncan [et al.] // *Infect. Immun.* - 1988. - Vol. 56. - P. 2808-2817.

165. Winter A.J. Protection of BALB/c mice against homologous and heterologous species of *Brucella* by rough strain vaccines derived from *Brucella melitensis* and *Brucella suis* biovar 4 / A.J. Winter, G.G. Schurig, S.M. Boyle // *Am J. Vet. Res.* - 1996. - Vol. 57. - P. 677-683.

166. Vaccination with a DeltanorD DeltaznuA *Brucella abortus* mutant confers potent protection against virulent challenge / X. Yang, B. Clapp, T. Thornburg [et al.] // *Vaccine.* - 2016. - Vol. 34. - P. 5290-5297.

167. Yan S.S. The vaccination products and immune characters for brucellosis / S.S. Yan, D.Q. Shang. - Beijing: Publishing House of Peoples Health, 1989. - P. 380 - 341.

168. Yu D.H. A combined DNA vaccine encoding BCSP31, SOD, and L7/L12 confers high protection against *Brucella abortus* 2308 by inducing specific CTL responses / D.H. Yu, X.D. Hu, H. Cai // *DNA Cell Biol.* - 2007. - Vol. 26. - 435-443.

169. A combined DNA vaccine enhances protective immunity against *Mycobacterium tuberculosis* and *Brucella abortus* in the presence of an IL-12 expression vector / D.H. Yu, M. Li, X.D. Hu, H. Cai // *Vaccine.* - 2007. - Vol. 25. - P. 6744-6754.

170. Evaluation of immune responses induced by polymeric OMP25-BLS *Brucella* antigen / S. Yousefi, T. Abbassi-Daloi, M.H. Sekhavati, M. Tahmoorespur // *Microb. Pathog.* - 2018. - Vol. 115. - P. 50-56.

171. Comparison of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* infections of mice and their effect on acquired cellular resistance / E.J. Young, C.I. Gomez, D.H. Yawn, D.M. Musher // *Infect Immun.* - 1979. - Vol. 26. - P. 680-5.

172. Zhang J. The *Brucella melitensis* M5-90ΔmanB live vaccine candidate is safer than M5-90 and confers protection against wild-type challenge in BALB/c mice / J. Zhang, S. Yin, D. Yi [et al.] // *J. Microb Pathog.* - 2017. - Vol. 112. - P. 148-155.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В 1884 г. доктор Дэвид Брюс впервые дифференцировал бруцеллёз (мальтийскую лихорадку) и заболевания брюшным тифом, поражавших солдат ВМФ Британии и местное население на острове Мальта. Три года спустя он выделил возбудителя мальтийской лихорадки и назвал бактерию *Micrococcus melitensis*. С того момента и по настоящее время бруцеллёз рассматривается как одна из наиболее опасных зоонозных инфекций во всём мире и как «возвращающаяся» инфекция для некоторых стран.

С установлением наличия обширного видового пейзажа бруцелл, их различной эпизоотолого-эпидемиологической значимости при высокой внутривидовой гомологии большое внимание уделяется вопросу о дифференциации отдельных видов и биоваров *Brucella* spp. В настоящее время эта задача решается с применением ставшего «золотым стандартом» бактериологического метода, основанного на изучении культурально-метаболических, антигенных особенностей, фагочувствительности и редуцирующей способности возбудителя в отношении микробиологических красителей. Перспективным в этом направлении представляется использование дискриминирующих генетических мишеней, выявляемых с помощью ПЦР.

Молекулярными исследованиями установлено, что для бруцелл характерно наличие двух кольцевых хромосом и отсутствие в геноме плазмид. Степень интенсивности возможного обмена генетической информацией бруцелл между собой или с другими бактериями неизвестна. Предполагается, что внутриклеточные (репликативные) ниши в период приживаемости бруцелл в организме-хозяине ограничивают их возможности для генетического обмена с другими бактериями.

В настоящее время продолжаются комплексные исследования структуры пангенома рода *Brucella*. Определено, что пангеном рода включает около 12 тысяч последовательностей, кодирующих белки, при этом в коровом геноме насчитывается более 970 генов. Для представителей каждого вида бруцелл описаны видоспецифичные SNP, локализованные в коровой части генома, анализ которых дает возможность получить новые сведения об эволюции семейства *Brucellaceae*. Достижения в области изучения филогеографии и филодинамики глобальной популяции патогенных видов бруцелл позволили создать исторические модели распространения вариантов возбудителей бруцеллёза.

Открытые в последние двадцать лет новые виды бруцелл, родственные почвенным бактериям, характеризуются большим генетическим разнообразием по сравнению с «классическими» видами. Результаты геномного анализа свидетельствуют, что штаммы *B. microti* являются промежуточным звеном между почвенными сапрофитными микроорганизмами и патогенными бруцеллами.

Использование современных высокопроизводительных методов секвенирования нуклеиновых кислот стало основой для исследования возбу-

дителя бруцеллёза в масштабе генома: открытия специфических генов, контролирующих синтез факторов вирулентности, обнаружения масштабных геномных перестроек, геномных островов и единичных нуклеотидных замен, наличие которых может влиять на патогенность микроорганизма, чувствительность к антибактериальным препаратам, способность к выживанию в организме хозяина.

Методами транскриптомного анализа получены новые сведения о механизмах регуляции и функционирования основных элементов генома возбудителя бруцеллёза, обеспечивающих выживаемость бактерии внутри клетки и проявление вирулентных свойств. Современные технологии транскриптомики открывают качественно новые возможности в изучении биологии возбудителя бруцеллёза и инфекционного процесса.

Данные научных исследований последних лет свидетельствуют о высокой степени пластичности бруцелл в выборе хозяина. Например, КРС или верблюды в Центральной Азии, на Ближнем Востоке стали резервуарными для *B. melitensis*, КРС на юго-востоке США в настоящее время имеет значение для общественного здравоохранения как источник *B. suis*, (культуры выделяли из молока). Регистрировали случаи выделения возбудителей бруцеллёза - *B. suis*, *B. abortus* и *B. canis* от кошек (Южная Америка, Россия, Китай и др.). Возбудитель бруцеллёза *B. melitensis* был изолирован от некоторых видов рыб и бесхвостых земноводных. Культуры *B. ceti*; *B. pinnipedialis* выделяли от наземных млекопитающих.

В процессе эволюции бруцеллы приобрели более 250 белковых детерминантов патогенности, опосредующих способы молекулярной мимикрии, способствующие выживанию и размножению в организме хозяина. Из факторов патогенности главная роль в патогенезе отводится системе секреции IV типа (T4SS); сенсорно-регуляторной системе адаптации (*BvrS*/*BvrR*); периплазматическому β-циклическому глюкану; периплазматические белки *EipA*, *EipB*; белку А пролина-рацемазы (*PrpA*); *Vtp1*/*TcpB*; модифицированному флагеллину; липополисахариду (LPS); Cu-Zn супероксид-дисмутазы; белкам наружной мембраны *Omp 19* и *Omp 25*.

К настоящему времени раскрыты закономерности реализации возбудителем бруцеллёза стратегии «скрытого проникновения» в макроорганизм, ингибирования факторов естественной резистентности и уклонения от адаптивного иммунитета. Многие аспекты взаимодействия «паразит-хозяин» указывают на определяющую роль нарушений иммунитета в патогенезе заболевания, объясняют формирование далеко несовершенного (относительного, непродолжительного) постинфекционного и поствакцинального иммунитета и низкую эффективность антибактериальной терапии у больных хроническим бруцеллёзом.

Полученные современные данные о коррелятивной связи степени специфической сенсibilизации и нарушений иммунного статуса у больных бруцеллёзом определяют необходимость адресного изучения явления гиперчувствительности как одного из ведущих механизмов в патогенезе

бруцеллёза, а также прогнозирования течения заболевания и оценки эффективности терапии.

Накопленные в последние годы данные о биологии бруцелл определяют дальнейшее развитие научных исследований, направленных на разработку активных соединений и изучение их действия на компоненты главного фактора патогенности бруцелл - системы секреции IV типа (TSS4), реализация потенциала которой обеспечивает возбудителю бруцеллёза выживаемость, адаптацию и персистенцию в организме хозяина, инициируя хронизацию инфекции.

В соответствии с общими закономерностями эволюции патогенов клиника бруцеллёза за последние годы претерпела значительные изменения. Для современного бруцеллёза характерно менее манифестное течение, что затрудняет его раннюю диагностику, снижение тяжести течения острого бруцеллёза и преобладание хронических форм инфекции. Наибольшее значение в формировании комплекса клинических признаков при бруцеллёзе имеют следующие факторы: ситуационный иммунный статус хозяина, физиологическое состояние макроорганизма (половозрелость, беременность); инфекционная чувствительность к различным по степени вирулентности видам бруцелл; массивность инфекта, повторность заражения; механизм инфицирования, ворота инфекции; иммунологическая реактивность и степень специфической сенсибилизации.

Анализ современных данных показал, что практически любой орган и система могут поражаться при бруцеллёзе. Это обусловлено отражением генерализованного процесса и свидетельством системности, характерной для заболеваний с выраженными иммунопатологическими реакциями, протекающими на фоне системного воспаления и эндотоксикоза.

Многообразие клинических форм болезни и определяющих их механизмов требует индивидуального подхода к лечению больных бруцеллёзом. При выборе антибактериального средства необходимо учитывать преимущественно внутриклеточную локализацию возбудителя и механизм транспорта лекарственного препарата внутрь клетки.

Высокая вероятность хронизации бруцеллёза с большой частотой обострения инфекционного процесса является причиной поиска дополнительных методов повышения общей резистентности организма. В терапии больных бруцеллёзом используются иммуномодуляторы: тимогексин, левамизол, препараты тимуса (тималин, тимоген, Т-активин), ликопид, тамерит и др. В настоящее время имеется положительный опыт применения препаратов цитокинов.

На динамику регистрации заболеваемости бруцеллёзом во всем мире влияет уровень и качество диагностики, поэтому низкие показатели заболеваемости на неблагополучной по бруцеллёзу территории могут быть связаны с недостаточной выявляемостью больных.

Регламентированный действующей нормативно-методической базой комплекс методов для лабораторной диагностики бруцеллёза у людей

включает три группы методов. Первая - тесты, позволяющие выявить и идентифицировать возбудителя заболевания, его нуклеиновые кислоты или антигены; вторая - методы определения специфических антител; третья - тесты, свидетельствующие о наличии специфической сенсибилизации организма (аллергологические).

К лабораторным критериям постановки диагноза «бруцеллёз» сегодня относят:

- изоляцию *Brucella* spp. из крови или другого биологического материала (пунктаты костного мозга или лимфатических узлов, синовиальная жидкость, ликвор, экссудат при бурситах, грудное молоко, желчь, мокрота, трупный материал);

- положительный результат выявления ДНК *Brucella* spp. методом ПЦР только в комбинации с положительными иммунологическими реакциями: реакция Райта, ИФА, реакция Кумбса, РНГА, аллергическая проба Бюрне, цитометрический тест активации базофилов, реакция лизиса лейкоцитов;

- для диагностики острого и подострого бруцеллёза: наличие титра антител в реакции Райта, ИФА, РНГА, а при низком уровне антител - в реакции Кумбса и ИФА; положительный результат цитометрического теста активации базофилов;

- для диагностики хронического бруцеллёза: наличие комплекса положительных иммунологических реакций (ИФА, реакция Кумбса, РНГА, аллергическая проба Бюрне, цитометрический тест активации базофилов, реакция лизиса лейкоцитов);

- для диагностики резидуального бруцеллёза: положительная аллергическая проба Бюрне при отсутствии диагностического титра антител или его роста в динамике.

К настоящему времени исследователями не предложено «идеального» метода (теста) для лабораторной диагностики бруцеллёза. Для снижения риска диагностических ошибок необходимо использование комбинации из двух и более диагностических тестов.

Известно, что в более чем 70 % случаев диагноз «бруцеллёз» бактериологически не подтверждается, при этом доля таких случаев может существенно увеличиваться за счет больных, до начала обследования получавших антибактериальную терапию. Повышению чувствительности бактериологического метода диагностики бруцеллёза будет способствовать внедрение в практику высокоселективных питательных сред, транспортных сред для накопления бруцелл и методов подготовки проб биоматериала.

Сложной задачей является выделение бруцелл из биоматериала от животных и объектов окружающей среды. Наиболее перспективными в этом направлении представляются работы по разработке селективных сред с ингибиторами роста посторонней микрофлоры.

Диагностическая точность (чувствительность, специфичность) серологических методов варьирует в диапазоне 65 - 95 %. Высокие титры антител почти всегда указывают на наличие бруцеллёзной инфекции, однако

иммуноглобулины в низких титрах или их полное отсутствие не исключают возможности заболевания. Для повышения диагностической ценности серодиагностики исследователями разных стран ведётся поиск наиболее маркерных антигенных детерминантов эпитопов бруцелл для разработки тест-систем на основе высокоспецифичных моноклональных антител.

Очевидно, что есть необходимость в разработке современных иммунологических подходов для выявления неполных противобруцеллёзных антител, которые имели бы особую ценность для диагностики хронического бруцеллёза. Предложенная для этих целей реакция Кумбса достаточно редко применяется на практике из-за сложности её постановки и отсутствия коммерчески доступных стандартизированных компонентов для постановки теста.

Молекулярно-генетические методы показали себя как эффективный инструмент для быстрого обнаружения *Brucella* spp. в клиническом материале и объектах окружающей среды, а также дальнейшей идентификации. К наиболее перспективным в этом направлении можно отнести мультилокусные ПЦР-РВ тест-системы для детекции видоспецифичных локусов.

В последнее десятилетие наблюдается интеграция метода MALDI-TOF масс-спектрометрии в алгоритм традиционных схем индикации и идентификации бруцелл. На сегодняшний день сформировались два основных направления применения MALDI-TOF масс-спектрометрии для лабораторной диагностики бруцеллёза: первое - идентификация культур возбудителя бруцеллёза на основе сравнения белковых профилей со спектрами из базы данных референсных штаммов; второе - индикация бруцелл в клинических образцах после этапа биологического обогащения исследуемого материала.

С учетом ведущей роли клеточного иммунитета при бруцеллёзе перспективным представляется внедрение в практику дополнительных методов верификации, основанных на изучении антигенреактивности Т-клеток. В ближайшее время для диагностики и оценки эффективности иммунопрофилактики бруцеллёза широкое применение на практике могут найти антигенспецифические клеточные тесты *in vitro* и технология цитометрического анализа.

Учитывая то, что бруцеллёз - зоонозная инфекция, основой эпидемиологического благополучия являются меры по профилактике инфекции среди животных и ликвидации очагов таких вспышек. Эффективная, целенаправленная профилактика и борьба с бруцеллёзной инфекцией возможны лишь при изучении эпизоотологического состояния и конкретных эпидемиологических особенностей, определяющих региональную (краевую) патологию бруцеллёза. Знание географических, социально-экономических данных, являющихся предпосылкой развитию животноводства и характера его ведения, необходимо для определения возможного возникновения и распространения бруцеллёзной инфекции в конкретных условиях отдельных административных районов.

Изучение особенностей функционирования животноводческих хозяйств - главный ориентир в отношении возможного заноса возбудителя бруцеллёза. Уровень ветеринарного обслуживания, в том числе использования современных чувствительных методов исследования животных на бруцеллёз, степень охвата поголовья обследованиями - показатели для оценки благополучия территорий по бруцеллёзу.

Исторический опыт успешной борьбы разных государств с бруцеллёзом у людей указывает, что определяющая роль в обеспечении эпидемиологического благополучия в отношении этого опасного зооноза отводится эффективному контролю инфекции в популяции эпидемиологически значимых видов животных.

В экономически развитых странах контроль бруцеллёза животных преимущественно основывается на плановом иммунологическом мониторинге восприимчивого поголовья (исследование сыворотки крови, молока), выбраковке положительно реагирующих животных и вакцинации на неблагополучных территориях.

Проблема специфической профилактики бруцеллёза в медицине стоит достаточно остро и срочно требует своего решения. По данным ВОЗ, в мире нет лицензированной вакцины против бруцеллёза для иммунизации людей. Существующие препараты бруцеллёзных вакцин, в том числе российского производства на основе штамма *B. abortus* 19 VA, объективно нельзя считать безопасными. В мире интенсивно занимаются проблемой создания высокоиммуногенных и безопасных кандидатов вакцин против бруцеллёза. Клонировано большое количество иммунодоминантных антигенов возбудителя, которые могут быть использованы как компоненты перспективных субъединичных вакцин в сочетании с новыми адъювантами. Многочисленными исследованиями было показано, что экспериментальные препараты бруцеллёзных вакцин, разработанные на основе аттенуированных штаммов, обеспечивают лучшую защиту по сравнению с субъединичными, ДНК и рекомбинантными аналогами.

ВОЗ и Всемирная организация здравоохранения животных (Международное эпизоотическое бюро, МЭБ) предлагают (рекомендуют) стратегии контроля и меры для ликвидации бруцеллёза. Однако в реальности только некоторые развитые страны достигли успехов в полной элиминации бруцеллёза сельскохозяйственных животных. В большинстве развивающихся стран бруцеллёз остается серьезной проблемой. Предлагаемые МЭБ и ВОЗ стратегии и меры сложно эффективно реализовать в странах с ограниченными ресурсами, поскольку ликвидация бруцеллёза - это экономически затратный, ресурсо- и трудоёмкий процесс.

В ЕС и ряде других стран внедрена межведомственная программа «One Health» («Единое здоровье»), рассматриваемая как эффективный подход для контроля зоонозов среди людей и животных. Примеры борьбы с бактериальными зоонозами в Европе и по всему миру демонстрируют, что подходы «One Health» к международному эпиднадзору, обмену информа-

цией и координации мер способствуют успешному предотвращению и контролю вспышек заболеваний как в эндемичных, так и в неэндемичных по бруцеллёзу регионах.

Эпидемиологическая обстановка по бруцеллёзу в Российской Федерации за последние 10 лет характеризовалась как неблагоприятная с тенденцией к снижению уровня заболеваемости. В период 2009-2018 гг. зарегистрировано 3 832 случая впервые выявленного бруцеллёза среди людей. Среднепогодный интенсивный показатель заболеваемости на 100 тыс. населения ($^{\circ}/_{0000}$) составил 0,27, среди детей до 17 лет - 0,13. Более 90 % случаев бруцеллёза регистрируется на территориях СКФО, ЮФО, ПФО и СФО.

На фоне длительного эпизоотического неблагоприятия уровень заболеваемости людей бруцеллёзом в Российской Федерации в последние три года стабилизировался на уровне 290-310 случаев ($0,20-0,23^{\circ}/_{0000}$), что ниже средних многолетних значений на 14 %. Наибольшее количество заболеваний (94,1 % от общероссийской заболеваемости) регистрируется в административных субъектах СКФО, ЮФО и СФО, которые имеют максимальное количество неблагоприятных пунктов по бруцеллёзу КРС (88,9 %) и МРС (95 %). В зоне повышенного риска по заболеваемости бруцеллёзом остаются индивидуальные владельцы животных (28,2 % - от заболевших), лица, профессионально связанные с животноводством, переработкой продукции и сырья от животных (17,5 %). К особенностям современной эпидемиологии бруцеллёза в Российской Федерации можно также отнести тенденцию к практически ежегодному возникновению групповых вспышек бруцеллёза, увеличение доли городского населения среди заболевших, преобладание в последние 10 лет в структуре контингентов, вовлеченных в эпидемический процесс бруцеллёза, лиц не из группы «профессионального» риска (до 70 %), стабильное ежегодное вовлечение в эпидемический процесс детей.

К основным причинам стойкого эпизоотического неблагоприятия по бруцеллёзу в Российской Федерации относят несоблюдение ветеринарных требований при приобретении, реализации и содержании животных, несанкционированное перемещение большого скота, отсутствие должного контроля со стороны муниципальных органов за регистрацией поголовья, особенно в частном секторе, несвоевременная сдача больных животных на убой (передержка), существование невыявленных эпизоотических очагов и бруцеллоносителей. Наличие индивидуальных хозяйств (КФХ, ЛПХ), в которых содержится неучтённый скот, существенно усложняет проведение плановых профилактических и противозооотических мероприятий.

Улучшению эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по бруцеллёзу в Российской Федерации будет способствовать: проведение полного учёта (регистрации) поголовья животных, разработка алгоритма мониторинга (отслеживания) движения животных эпидемически значимых видов, максимальный охват поголовья лабораторными обследованиями на бруцеллёз и вакцинацией против бруцеллёза по эпизоотическим показаниям, усиление контроля выполнения мероприятий по пресечению несанкционированной торговли мясомолочной продукцией в населённых пунктах, совершенствование законодательства Российской Федерации в области

страхования сельскохозяйственных животных (компенсация владельцу отчуждённых животных в объеме его рыночной стоимости), ужесточение ответственности владельцев животных. Только общие усилия всех заинтересованных сторон, основанные на применении научно-обоснованных комплексных мер, позволят добиться значимых результатов в борьбе с этой особо опасной инфекцией.

НАУЧНОЕ ИЗДАНИЕ

Авторы:

Г.Г. Онищенко;

А.Н. Куличенко, О.В. Малецкая, Д.Г. Пономаренко,
Е.А. Манин, Д.А. Ковалев, Д.В. Русанова, Н.С. Саркисян,
Т.В. Таран, Е.Л. Ракитина;

Н.А. Осина, Ж.А. Касьян, И.А. Касьян, С.А. Щербакова;

Ю.К. Кулаков;

В.В. Михайлова, Е.П. Ляпина,

А.А. Шульдяков, Д.Ю. Лёвин

ISBN 978-5-6041215-6-6



9 785604 121566

Сверстано и отпечатано в типографии ООО «Губерния».

Подписано в печать 6 декабря 2019 г.

Формат 60x84/8. Бумага мелованная 130 гр. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 39,06. Гарнитура Trebuchet MS.

Заказ № 145, тираж 300 шт.

Адрес типографии: 356231, Ставропольский край,
Шпаковский район, с. Татарка, ул. Тельмана, д. 1/17.

Тел. (8652) 95-66-26, +7-962-450-19-05.

E-mail: kavpoly@bk.ru