

ISSN 2587-5728 (Print)

Каталожный индекс на 2020 г.
«Пресса России» 33015



ТЕМА НОМЕРА:
ПАНДЕМИЯ COVID-19

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
ФГБУ «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации

ВЕСТНИК ВОЙСК РХБ ЗАЩИТЫ

JOURNAL OF NBC PROTECTION CORPS



В НОМЕРЕ:

Том 4, № 1
январь-март
2020

- ◆ Новая опасная эмерджентная коронавирусная инфекция
- ◆ Новый коронавирус SARS-CoV-2 в аспекте глобальной эпидемиологии коронавирусных инфекций

Наша замечательная Россия

Хребет Черского (Забайкалье)



Горный хребет на территории Забайкальского края. Его протяженность – около 650 км. Начинается в междуречье реки Ингоды и ее правого притока – Ушумун, далее продолжается на северо-восток, после пересечения Ингоды у города Читы занимает междуречье Каренги и Нерчи до истоков реки Делингд – правого притока Витима. Максимальная высота хребта наблюдается на горной перемычке с Яблоновым хребтом – гора Чингикан (1644 м). По склонам произрастают как сосновые, так и лиственные леса, в оврагах преобладают ели и пихты. Назван в честь польского исследователя Сибири Ивана Дементьевича Черского (1845–1892), по счастливой случайности не повешенного при разгроме польского восстания в 1863 г. На фотографии сверху – вид на горную систему хребта Черского в 22 км к югу от Читы. Высота над уровнем моря – 920 м. Фотография внизу слева – долина реки Молоковка. Геологически – это дно угасшего миллионы лет назад вулкана, на снимке видны фрагменты древней кальдеры. Однако вулкан и подвижные разломные зоны дают о себе знать водой, насыщенной радоном. Несмотря на большое количество водных ресурсов на поверхности долины, добуриться до питьевой воды здесь не удастся. На снимке в центре нижнего ряда – часовня Иоанна Предтечи. Расположена в долине реки Молоковка над источником радоновой минеральной воды, считающейся местными жителями целебной. Вода удивительно вкусная, но радиоактивная. На снимке внизу справа – покрытый мхами неподвижный курум (скопление остроугольных глыб, образовавшееся естественным путем) на склоне одной из сопот хребта Черского. Курумы – характерные образования для горной системы хребта Черского.

Фотографии М.В. Супотницкого



Журнал издается
с 2017 года

ВЕСТНИК ВОЙСК РХБ ЗАЩИТЫ

ISSN 2587-5728
(Print)

Том 4, № 1
2020 г.

Рецензируемый научно-практический журнал, специализирующийся на освещении химических и биологических угроз Российской Федерации, научных достижений по основным направлениям деятельности и задачам войск РХБ защиты ВС РФ, повышении профессионального уровня специалистов войск РХБ защиты ВС РФ, возрождении интереса к их истории и привлечении молодых ученых к работе в научно-исследовательских организациях войск РХБ защиты ВС РФ

Учредитель и издатель

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«27 Научный центр»
Министерства обороны
Российской Федерации
(27 НЦ МО РФ)

Выходит ежеквартально

Главный редактор

д-р техн. наук, доц. Петров С.В. (Москва)

Заместители главного редактора

канд. биол. наук, снс Супотницкий М.В. (Москва)
канд. техн. наук, доц. Колесников Д.П. (Москва)

Ответственный секретарь

Шило Н.И. (Москва)

Научный редактор

канд. биол. наук Лебединская Е.В. (Москва)

Редакционная коллегия

член-корреспондент РАН, д-р биол. наук, проф.
Аминин Д.Л. (Владивосток)

д-р мед. наук, проф. Дармов И.В. (Киров)

д-р биол. наук, проф. Ефременко Е.Н. (Москва)

д-р биол. наук, проф. Завьялова Н.В. (Москва)

д-р техн. наук, проф. Мухин В.М.

(Электросталь)

д-р мед. наук, проф. Рембовский В.Р.

(Санкт-Петербург)

д-р хим. наук Родин И.А. (Москва)

д-р хим. наук, проф. Рыбальченко И.В. (Москва)

д-р хим. наук Савельева Е.И. (Санкт-Петербург)

Редакционный совет

Председатель –

канд. воен. наук Кириллов И.А. (Москва)

Заместители председателя:

канд. экон. наук Кикоть С.Г. (Москва)

канд. хим. наук, доц. Ковтун В.А. (Москва)

Члены редакционного совета:

канд. хим. наук Иноземцев В.А. (Вольск)

д-р техн. наук, проф. Кондратьев В.Б. (Москва)

канд. мед. наук Туманов А.С. (Киров)

д-р хим. наук, проф. Холстов В.И. (Москва)

Дизайн, верстка: Сластилова Л.М. (Москва)

Адрес редакции:

27 НЦ МО РФ, 105005, г. Москва,

Бригадирский пер., д. 13.

Тел.: 8 (499) 265-42-90, e-mail: 27nc@mil.ru.

Издание зарегистрировано Федеральной

службой по надзору в сфере связи,

информационных технологий и массовых

коммуникаций (Роскомнадзор).

Свидетельство о регистрации средства

массовой информации

ПИ № ФС 77-69472 от 25.04.2017 г.

Все права защищены. При перепечатке

материалов и размещении их на

интернет-ресурсах ссылка на журнал

обязательна.

Подписано в печать: 16.03.2020 г. Тираж 500 экз.

Отпечатано в типографии:

ФГУП «ЦНИИХМ им. Д.И. Менделеева»,

115487, г. Москва, ул. Нагатинская, д. 16 А.

Тел.: 8 (499) 661-80-46, e-mail: ntrved@cniim.ru

СОДЕРЖАНИЕ

Редакционная статья

Обращение главного редактора к читателям 3

Проблемы соблюдения конвенций о запрещении химического и биологического оружия

Разработка способа измерения массовой концентрации цианидов в почве с использованием газовой хроматографии и тандемного масс-селективного детектирования
Д.О. Корнеев, М.А. Понсов, А.А. Родионов,
Л.В. Петракова, И.В. Рыбальченко 4

Биологическая безопасность и защита от биологических угроз

Новая опасная эмерджентная коронавирусная инфекция
Т.Е. Сизикова, Н.В. Карулина, А.А. Петров,
В.Н. Лебедев, С.В. Борисевич 21
Новый коронавирус SARS-CoV-2 в аспекте глобальной эпидемиологии
коронавирусных инфекций
М.В. Супотницкий 32
Эволюция средств и принципов оспопрививания
С.В. Борисевич, В.Н. Подкуйко, А.П. Пирожков, А.И. Тереньтев,
В.П. Краснянский, Е.В. Рождественский, С.В. Назаров, С.Л. Кузнецов 66

Хроника

Российские специалисты войск РХБ защиты и военные врачи оказывают помощь
Италии и Сербии в борьбе со вспышкой коронавирусной инфекции. 86

Правила направления и опубликования научных статей в журнале
«Вестник войск РХБ защиты» 89

Порядок рецензирования статей
в журнале «Вестник войск РХБ защиты» 98

Журнал включен в научную электронную библиотеку eLIBRARY.RU и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ).
Условия оферты для авторов приведены в п. 11 Правил направления и опубликования научных статей в журнале «Вестник войск РХБ защиты» (Вестник войск РХБ защиты. 2020. № 1. С. 89-97).

К публикации принимаются статьи на русском и английском языках, подготовленные в соответствии с «Правилами направления и опубликования научных статей в журнале «Вестник войск РХБ защиты». Статьи проходят рецензирование не менее чем двумя рецензентами. Используются модели двойного слепого рецензирования либо открытого рецензирования (по выбору авторов). Плата за публикацию статьи и рецензирование рукописей не взимается, ускоренная публикация не допускается. Труды заочных конференций не публикуются.

Журнал распространяется в органах законодательной и исполнительной власти Российской Федерации, в центральных органах военного управления, в научно-исследовательских организациях и образовательных учреждениях Министерства обороны Российской Федерации, в организациях и на предприятиях промышленности, работающих в сфере РХБ защиты, а также поступает в Российскую государственную библиотеку, Российскую национальную библиотеку и другие крупнейшие библиотеки Российской Федерации. Позиция редакции может не совпадать с точкой зрения авторов.



Published since
2017

JOURNAL

OF NBC PROTECTION CORPS

ISSN 2587-5728
(Print)
Vol. 4 No 1
2020

«Journal of NBC Protection Corps» is a peer-reviewed scientific and practical journal, publishing papers in the fields of chemical and biological threats to the Russian Federation. It covers scientific achievements in the main spheres and tasks of the NBC Protection Troops. The objective of the journal is to improve the professional level of specialists of the NBC Protection Troops, to revive the interest in their history and to attract young scientists to the work in scientific research organization of the NBC Protection Troops

Founder and Publisher

Federal State Budgetary Establishment
«27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence
of the Russian Federation.

Quarterly Edition

Editor-in-Chief

Doctor of Technical Sciences, Associate Professor
Petrov S.V. (Moscow)

Deputy Editors-in-Chief

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher
Supotnitskiy M.V. (Moscow)

Candidate of Technical Sciences, Associate Professor
Kolesnikov D.P. (Moscow)

Executive Secretary

Shilo N.I. (Moscow)

Science Editor

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher
Lebedinskaya E.V. (Moscow)

Editorial Board

Corresponding Member of RAS, Doctor of Biological
Sciences, Professor Aminin D.L. (Vladivostok)

Doctor of Medical Sciences, Professor

Darmov I.V. (Kirov)

Doctor of Biological Sciences, Professor

Efremenko E.N. (Moscow)

Doctor of Biological Sciences, Professor

Zavyalova N.V. (Moscow)

Doctor of Technical Sciences, Professor

Mukhin V.M. (Elektrostal)

Doctor of Medical Sciences, Professor

Rembovskiy V.R. (St.-Petersburg)

Doctor of Chemical Sciences Rodin I.A. (Moscow)

Doctor of Chemical Sciences, Professor

Rybalchenko I.V. (Moscow)

Doctor of Chemical Sciences

Savelieva E.I. (St.-Petersburg)

Editorial Council

Chairman –

Candidate of Military Sciences Kirillov I.A. (Moscow)

Vice-Chairmen:

Candidate of Economical Sciences Kikot S.G.

(Moscow)

Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor

Kovtun V.A. (Moscow)

Editorial Council Members:

Candidate of Chemical Sciences

Inozemcev V.A. (Volsk)

Doctor of Technical Sciences, Professor

Kondratyev V.B. (Moscow)

Candidate of Medical Sciences Tumanov A.S. (Kirov)

Doctor of Chemical Sciences, Professor

Kholstov V.I. (Moscow)

CRC preparation: Slasilova L.M. (Moscow)

Address of the Editorial Office

Federal State Budgetary Establishment

«27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence

of the Russian Federation, Brigadirskii Lane 13,

Moscow 105005, Russian Federation.

Tel.: 8 (499) 265-42-90, e-mail: 27nc@mil.ru.

Publication is registered by the Federal

Service for Supervision in the Sphere of

Telecom, Information Technologies and Mass

Communications.

Certification of the Mass Media

ПН № ФС 77-69472, April 25, 2017.

All rights reserved. Links to the journal are

obligatory while citing.

The publication data for the journal is

16 March, 2020.

Circulation: 500 copies.

Published in: Federal State Unitary Establishment

«TsNIIKhM» named after D.I. Mendeleev,

Nagatinskaya Str. 16A, Moscow 115487, Russian

Federation Tel.: 8 (499) 661-80-46,

e-mail: ntrved@cniikhm.ru

Contents

Editorial

To Our Readers from the Editor-in-Chief 3

The Problems of Adherence to the Chemical and Biological Weapons Conventions

Development of a method for measuring mass concentration of cyanides in soil
samples using gas chromatography and tandem mass-selective detection
D.O. Korneev, M.A. Ponsov, A.A. Rodionov, L.V. Petrakova, I.V. Rybalchenko 4

Biological Security and Protection against Biological Threats

Novel dangerous emergent coronavirus infection
T.E. Sizikova, N.V. Karulina, A.A. Petrov, V.N. Lebedev, S.V. Borisevich 21

Novel coronavirus SARS-CoV-2 in the context of global epidemiology
of coronavirus infections
M.V. Supotnitskiy 32

Evolution of means and principles of smallpox vaccination
S.V. Borisevich, V.N. Podkuyko, A.P. Pirozhkov, A.I. Terent'ev,
V.P. Krasnyansky, E.V. Rozhdestvensky, S.V. Nazarov, S.L. Kuznecov 66

Cronicle

Russian NBC Protection Troops and medical experts step in to help Italy
and Serbia battle the virus 86

Rules for the Authors Sending and Publishing Articles
in the «Journal of NBC Protection Corps» 89

The Order of Peer Reviewing of the Articles in the
«Journal of NBC Protection Corps» 98

The journal is included into the scientific electronic library eLIBRARY.RU and the Russian Science Citation Index
Terms of the offer for the authors are given in the Article 11 of the Rules for the authors (Journal of NBC
Protections Corps. 2020. V. 4. No 1. P. 89–97).

Only articles prepared in Russian and English languages and in accordance with the Rules for the Authors of Sending
and Publishing of the Articles in the «Journal of NBC Protection Corps», are acceptable for the publication. All research
articles are peer reviewed by at least two suitably qualified experts. Double-blind peer review and open peer review
are both available by the authors' choice. The journal does not charge article-processing, publication and peer review
fees. Accelerated publication is not allowed. The papers from correspondence conferences are not published.

The journal is distributed among the bodies of legislative and executive power of the Russian Federation, in
the main military headquarters, scientific and research institutions and educational establishments of the
Ministry of Defence of the Russian Federation, in engineering, experimental design offices and industrial and
manufacturing structures, working in the sphere of NBC Defence. The journal is distributed also among the main
libraries of the Russian Federation, including Russian State Library and Russian National Library

The information and views set out in this publication are those of the author(s) and do not necessarily reflect the
official opinion of the Editorial Board.

Уважаемые товарищи, друзья, коллеги!

Журналу «Вестник войск РХБ защиты» в 2020 году исполняется четвертый год. В настоящее время это единственный в России научно-практический журнал, специализирующийся на освещении химических и биологических угроз Российской Федерации.

В минувшем году журнал качественно изменился. Произошло это, прежде всего, благодаря изменению состава редколлегии и кропотливой работе редакционного коллектива, в котором, кстати, все его члены являются научными сотрудниками и выполняют работу по изданию журнала, совмещая ее со своей основной научной деятельностью. Новой редколлегии удалось довести качество публикаций до уровня, принятого в современных западных научных изданиях и сделать журнал привлекательным для авторов не только из НИО войск РХБ защиты, но и из МГУ им. М.В. Ломоносов (г. Москва), Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН (ТИБОХ ДВО РАН, г. Владивосток) и Тихоокеанского государственного медицинского университета (г. Владивосток). Появились публикации на английском языке и две новые рубрики: «Химическое и биологическое оружие в войнах и конфликтах» и «Охрана результатов интеллектуальной деятельности войсках РХБ защиты». Журнал вошел в Международный фонд DOI (International DOI Foundation, IDF), связывающий всю мировую научную коммуникацию в одно целое. Теперь каждая научная статья, опубликованная в журнале (мы проиндексировали все научные статьи, начиная с первого номера журнала за 2017 г.), имеет цифровой идентификатор объекта (Digital Object Identifier, DOI), обеспечивающий ей прямую связь с мировым научным пространством. Поэтому я и в дальнейшем, в соответствии с правом, предоставленным мне уставом журнала, буду ежегодно обновлять редколлегию и редсовет журнала, и хочу, чтобы коллеги понимали, что членство в этих структурах не является некой статусной «доской почета», на которой можно пребывать за прошлые заслуги.

В 2019 году мы опубликовали 20 оригинальных и обзорных научных статей 79 специалистов, представляющих 8 организаций. Основные направления публикаций ушедшего года: «Проблемы соблюдения конвенций о запрещении химического и биологического оружия», «Химическая безопасность и защита от химического терроризма», «Биологическая безопасность и защита от биологических угроз» и «Химическое и биологическое оружие в войнах и конфликтах».

Большой нашей удачей ушедшего года я считаю:

цикл статей, посвященных применению химического оружия в ирано-иракской войне 1980–1988 гг. (№ 1–3), заставляющий задуматься, а не слишком ли мы самонадеянны в том, что химическая война между крупными государствами ушла в прошлое;

цикл статей, посвященных опасностям, исходящим от токсинов морских животных (№ 1 и 2), показывающих новые угрозы и риски для населения Дальнего Востока России;

цикл статей по методам контроля за соблюдением Конвенции о запрещении химического оружия (№ 1–3) на основе разработанных высокочувствительных технологий обнаружения последствий попадания токсических веществ в окружающую среду и организм человека;

цикл статей по оценке опасности для России со стороны арена- и филовирюсов (№ 4), что особенно важно учитывать на фоне внезапно вспыхнувшей эпидемии COVID-19;

статью по достижениям в области биокатализа ФОВ (№ 2), открывающую перспективы в разработке новых защитных материалов и антидотов на основе фермента органофосфатгидролазы;

статью, посвященную современным направлениям создания защитных материалов от ОВ и агентов БО (№ 3).

Все опубликованные статьи имеют обстоятельные и профессионально переведенные на английский язык аннотации, библиографическое описание и большой библиографический список.

В 2019 году мы увеличили объем журнала до 100 полос, как это определено свидетельством о его регистрации. Со второго полугодия 2019 года журнал был объявлен в подписку по каталогу «Роспечати», подписка продлена на 2020 год через каталог «Пресса России». Мы сделали очень много, но еще много предстоит сделать. Насколько наш журнал будет влиятелен и авторитетен в мире научных изданий, зависит и от вас, уважаемые коллеги.

Главный редактор

С.В. Петров

Д-р техн. наук, лауреат Ленинской премии 1991 г., генерал-полковник в отставке.

В 1989–1991 гг. – начальник Химических войск СССР, в 1992–2001 гг. – начальник войск РХБ защиты.

Разработка способа измерения массовой концентрации цианидов в почве с использованием газовой хроматографии и tandemного масс-селективного детектирования

Д.О. Корнеев, М.А. Понсов, А.А. Родионов, Л.В. Петракова, И.В. Рыбальченко

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации,
105005, Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13

Поступила 02.02.2020 г. Принята к публикации 23.02.2020 г.

Конвенцией о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении под международный контроль в области нераспространения химического оружия поставлены CN-содержащие токсичные химикаты, такие как табун и его многочисленные гомологи и аналоги, насчитывающие во всех вариациях углеродных радикалов около 10 тыс. органических соединений; синильная кислота; хлорциан и другие. Кроме того, CN-содержащие токсичные химикаты представляют собой опасные технологические и экологические загрязнители. Наиболее распространенными и сложными объектами окружающей среды при анализе цианидов являются почвы. *Цель работы* – разработать способ измерения массовой концентрации цианидов в почве, имеющий преимущество по чувствительности и трудоемкости осуществления в сравнении с принятым в Российской Федерации фотометрическим способом. Разработанный способ предполагает использование в качестве дериватизирующего агента 2,3,4,5,6-пентафторбензилбромид и газовую хроматографию с применением tandemного масс-селективного детектирования в условиях отрицательной химической ионизации метаном. Он позволяет осуществлять идентификацию и количественное определение цианид-ионов в почве в диапазоне 0,7 нг/г–10,0 мкг/г, что более чем на три десятичных порядка превосходит по чувствительности включенный в федеральный реестр фотометрический метод того же назначения. Способ для своего осуществления не требует применения в качестве внутреннего стандарта изотопов цианистого калия с радиоактивными метками углерода и калия, и менее продолжителен по времени.

Ключевые слова: 2,3,4,5,6-пентафторбензилбромид; газовая хроматография; дериватизация; идентификация; количественный анализ; проба почвы; хромото-масс-спектрометрия; цианиды.

Библиографическое описание: Корнеев Д.О., Понсов М.А., Родионов А.А., Петракова Л.В., Рыбальченко И.В. Разработка способа измерения массовой концентрации цианидов в почве с использованием газовой хроматографии и tandemного масс-селективного детектирования // Вестник войск РХБ защиты. 2020. Т. 4. № 1. С. 4–20. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-4-1-4-20>

Под международный контроль в области нераспространения химического оружия в списки токсичных химикатов и их прекурсоров «Конвенцией о запрещении разработки, производства,

накопления и применения химического оружия и о его уничтожении» (далее – Конвенция) включены CN-содержащие токсичные химикаты (ТХ)¹. Среди них в Списке 1 Приложения по

¹ Convention on the Prohibition of the Development, Production, Stockpiling and Use of Chemical Weapons and on their Destruction. Organisation for the Prohibition of Chemical Weapons (OPCW), The Hague, The Netherlands, 1997. 179 p.

химикатам – табун (GA) и его многочисленные гомологи и аналоги, насчитывающие во всех вариациях углеродных радикалов около 10 тыс. органических соединений, а также ТХ Списка 3 – синильная кислота и хлорциан [1]. Помимо этого, сам цианид-анион, образующийся в результате гидролиза цианидов, и который имеет прямое отношение ко всем органическим нитрилам и многим неорганическим соединениям (соли синильной кислоты), также подлежит контролю согласно Конвенции [2]. Для них должны существовать надежные способы идентификации и обнаружения в окружающей среде.

Кроме того, цианиды² – опасные экологические и техногенные загрязнители [3–5]. В Российской Федерации содержание цианидов в почве регламентируется гигиеническими нормативами³, при этом относительная допустимая концентрация (ОДК) свободных цианидов составляет 1,0 мг/кг почвы, комплексных – 5,0 мг/кг почвы соответственно. Согласно ГОСТ 12.1.007-76⁴ и ГОСТ 12.1.005-88⁵, по степени опасности воздействия на организм синильная кислота и цианиды относятся к I классу опасности веществ. Порядок количественного анализа проб почв на содержание цианидов в Российской Федерации определяется документом ФР.1.31.2017.27246⁶. Указанный документ устанавливает методику измерений содержания цианидов (в том числе, находящихся в форме комплексных соединений) в пробах почв, грунтов, донных отложений, илов, осадков сточных вод, жидких и твердых отходов производства и потребления фотометрическим методом с пиридином и барбитуровой кислотой. Диапазон измерений массовой доли цианидов в почве по данному способу составляет 0,5–130 мг/кг почвы. В связи с высокой лабильностью свободных цианид-ионов в экологических пробах результат определения напрямую зависит от правильности выполнения условий отбора, транспортировки проб, влажности почвы, сроков проведения анализа после отбора проб, а также

чистоты используемых реактивов, особенно барбитуровой кислоты (требования по чистоте – не менее 99 %).

Поэтому в зарубежной аналитической практике качественное и количественное определение цианидов в почве рекомендуется осуществлять с помощью газовой хроматографии с использованием при пробоподготовке способов связывания циан-анионов в хроматографируемые органические нитрилы или тиоцианаты путем дериватизации с помощью 2(N,N-диалкиламино)этантолов, замещенных производных диазометана или 2,3,4,5,6-пентафторбензилбромид (CAS 1765-40-8). Аналитический способ определения 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила основан на применении газовой хроматографии в совокупности с масс-селективным детектированием в режимах электронного удара или химической ионизации, а описанный способ пробоподготовки не требует значительных трудозатрат, времени и использования значительного количества лабораторной посуды, дорогостоящих реактивов и растворителей. Предел обнаружения цианид-анионов в 1 г почвы, по данным авторов, составляет 1,0 нг. Однако, на наш взгляд, использование в приведенном методе в качестве стандарта труднодоступного цианистого калия с мечеными изотопами атомов углерода и калия представляется излишним [6].

Цель работы – разработать способ измерения массовой концентрации цианидов в почве с использованием газовой хроматографии и тандемного масс-селективного детектирования.

Исходя из анализа литературных источников, наименее трудоемким и оптимальным способом количественного определения циан-анионов в почве является обработка ее 2,3,4,5,6-пентафторбензилбромидом, при этом в результате алкилирования анионов в интервале температур 50–70 °С образуется регистрируемый аналит 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрил (CAS 653-30-5) (рисунок 1).

² К ним относится группа химических соединений – производных синильной (цианистой) кислоты. Все они содержат циано-группу – $C\equiv N$. Различают неорганические цианиды (синильная кислота, цианиды металлов, дициан, галогенцианиды, комплексоны металлов и т.д.) и органические цианиды (например, эфиры или амиды цианмуравьиной и циануксусной кислот, нитрилы, гетерогликозиды и др.).

³ ГН 2.1.7.12-1-2006. Перечень предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно допустимых концентраций (ОДК) химических веществ в почве.

⁴ Межгосударственный стандарт ГОСТ 12.1.007-76: Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.

⁵ Государственный стандарт ГОСТ 12.1.005-88. Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны.

⁶ ФР.1.31.2017.27246 (М4-2017). Количественный химический анализ отходов, почв, грунтов и донных отложений. Методика измерений массовой доли цианидов (в т. ч. находящихся в форме комплексных соединений) в пробах почв, грунтов, донных отложений, илов, осадков сточных вод, жидких и твердых отходов производства и потребления фотометрическим методом с пиридином и барбитуровой кислотой. «Уральский научно-исследовательский институт метрологии» (ФГУП «УНИИМ»). Свидетельство об аттестации № 222.0091/RA.RU.311866/2017 от 21.04.2017. Филиал «ЦЛАТИ по Енисейскому региону» ФГБУ «ЦЛАТИ по СФО». Красноярск, 2017.

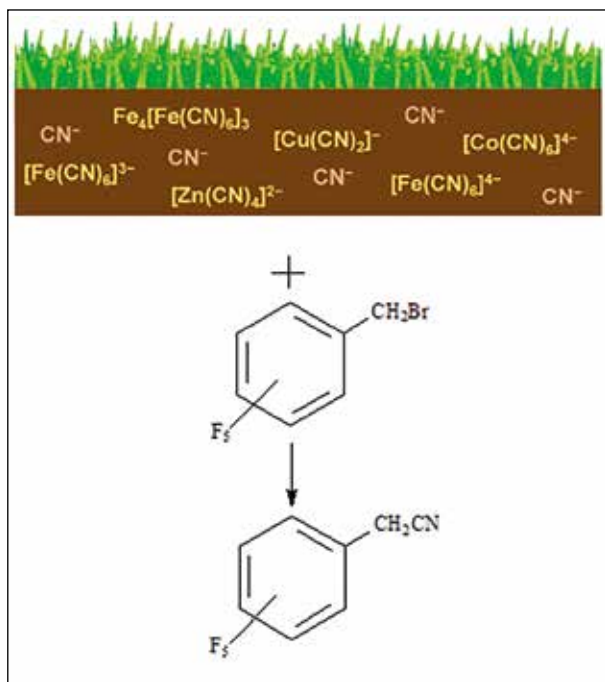


Рисунок 1 – Основная химическая реакция, определяющая способ анализа цианидов на основе связывания цианид-анионов в почве с 2,3,4,5,6-пентафторбензилбромидом [6]

Для разработки данного способа оценивали основные физико-химические свойства 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила, образующегося в результате дериватизации целевого соединения (таблица 1).

Проведенная оценка указанных в таблице 1 основных физико-химических характеристик целевого анализатора позволила в дальнейшем выбрать оптимальные условия пробоподготовки, хроматографирования и детектирования при определении данного вещества в образцах почвы. В качестве стандарта в исследованиях использовали коммерческий образец 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила со степенью чистоты не менее 98,5 % (фирма «Alfa Aesar», США).

Выбор условий проведения экстракции цианидов из почвы. При проведении процедуры

экстракции цианидов из почвы руководствовались рекомендациями, установленными ОЗХО для ежегодных международных профессиональных тестов⁷.

Отбор проб почвы производится в соответствии с требованиями ГОСТ 174.3.01-83⁸, ГОСТ 174.4.02-84⁹, ПНДФ 12.1:2.2.2.3:3.2-2003¹⁰ и ПНДФ 12.4.2.1-99¹¹ или другими нормативными документами, утвержденными и применяемыми в установленном порядке.

Пробы отбирают в емкости (банки) из темного стекла с притертой или плотно завинчивающейся крышкой, заполняя емкости «под горло». Масса отобранной пробы должна составлять не менее 100 г. При отборе полужидких образцов почв, пастообразных проб или проб, имеющих значение pH < 5 (по универсальной индикаторной бумаге), рекомендуется использовать для отбора колбы со шлифом. Колбу закрывают притертой пробкой и привинчивают ее к колбе тонкой проволокой.

Емкости с отобранными в них пробами доставляют в лабораторию и хранят в закрытом виде не более 10 сут при температуре не выше 10 °С. Доставленную в лабораторию пробу перед анализом усредняют. Для этого весь объем пробы извлекают из емкости, удаляют механические примеси (камешки, корни и пр.) и тщательно перемешивают растиранием пестиком в фарфоровой ступке соответствующего объема.

После усреднения часть пробы используют для анализа, оставшуюся часть помещают в чистую емкость и хранят при условиях и сроках, описанных выше; при необходимости ее используют для получения повторных результатов и проведения внутрилабораторного контроля. После отбора проб составляется акт (протокол) отбора пробы по установленной в лаборатории форме, в котором указываются: наименование и адрес обследуемого предприятия; цель анализа, предполагаемые загрязнители; наименование анализируемого объекта (отходы, почва и т.д.), место, дата и время отбора; тип пробы (точечная, составная); номер пробы; условия

⁷ Recommended Operating Procedures for Analysis in the Verification of Chemical Disarmament: 2017 Edition. Editor: Paula Vanninen. The Ministry for Foreign Affairs of Finland University of Helsinki. VERIFIN, Department of Chemistry P.O. Box 55, fin-00014 - University of Helsinki, Finland., 286 p., ISBN 978-952-10-7408-0.

OPCW Technical Secretariat. Quality management system document № QDOC/LAB/SOP/PT01-PT04, Standard Operating Procedure for the organisation of OPCW proficiency tests: Philippe Denier, Director of the Verification Division. Issue № 3, Revision № 5, April 2019.

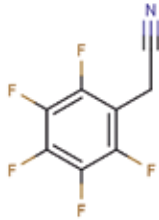
⁸ ГОСТ 174.3.01-83. Почвы. Общие требования к отбору проб.

⁹ ГОСТ 174.4.02-84. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа.

¹⁰ ПНДФ 12.1:2.2.2.3:3.2-2003. Отбор проб почв, грунтов, осадков биологических очистных сооружений, шламов промышленных сточных вод, донных отложений искусственно созданных водоемов, прудов-накопителей и гидротехнических сооружений.

¹¹ ПНДФ 12.4.2.1-99. Отходы минерального происхождения. Рекомендации по отбору и подготовке проб. Общие положения.

Таблица 1 – Основные физико-химические свойства 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила [7]

Свойство, единица измерения	Значение или показатель
Структурная формула	
Номер по номенклатуре CAS	653-30-5
Название по номенклатуре IUPAC (синонимы и международные торговые названия)	2,3,4,5,6-Pentafluorophenylacetonitrile (2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl cyanide, benzeneacetonitrile, 2,3,4,5,6-pentafluoro-, pentafluorophenylacetonitrile, pentafluorobenzeneacetonitrile)
Брутто-формула	$C_8H_2F_5N$
Молекулярная масса, а.е.м.	207,102
Атомарный состав	C(46,40 %), H(0,97 %), F(45,87 %), N(6,76 %)
Агрегатное состояние	Бесцветная жидкость
Плотность при 20 °C, г/см ³	1,515
Температура кипения при н.у., °C	223 (107–111 °C/17 мм рт.ст.)
Температура плавления, °C	минус 56–58
Показатель преломления, n_D^{20}	1,439
Температура вспышки, °C	72–73
Давление насыщенного пара, мм рт.ст. при $t = 25$ °C	0,1–0,4
Коэффициент произведения растворимости, LogP, усл. ед.	1,63±0,4
Фактор биоконцентрирования, BCF, усл. ед.	10,26
Растворимость	В воде – плохо, в органических растворителях – хорошо

отбора проб; должности, фамилии лиц, участвующих в отборе, подписи, дата.

Далее определяют влажность почвы. Для пересчета массы навески на абсолютно сухую пробу определяют содержание гигроскопической влаги. Для этого берут 3 навески пробы по 0,2 г, помещают в предварительно подготовленные фарфоровые чашки и высушивают при $t = (105 \pm 5)$ °C в сушильном шкафу до постоянной массы. Жидкие пробы предварительно выпаривают на водяной бане досуха.

$$g = (P - P_{\text{сух}}) \times 100 / P, \quad (1)$$

где g – содержание гигроскопической влаги, %;

P – масса пробы, взятой для полного высушивания, г;

$P_{\text{сух}}$ – масса полностью высушенной пробы, г.

При выполнении условия: $|g_{\text{max}} - g_{\text{min}}| < 12$ % вычисляют $g_{\text{ср.}}$ (%):

$$g_{\text{ср.}} = (g_1 + g_2 + g_3) / 3 \quad (2)$$

Далее определяют коэффициент пересчета на абсолютно сухую пробу:

$$K = (100 - g_{\text{ср.}}) / 100, \quad (3)$$

где $g_{\text{ср.}}$ – содержание гигроскопической влаги, %.

Точная масса (кг) навески абсолютно сухой пробы, взятой для анализа, рассчитывается по формуле:

$$m_{\text{абс.сух.}} = m \times K / 1000, \quad (4)$$

где m – масса пробы, взятая для анализа, г.

K – коэффициент пересчета (см. выше формулу 3).

Подготовка стандартных растворов (два способа) и построение градуировочной зависимости

1. Готовят не менее 10 растворов стандартного образца (2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила) в абсолютном этилацетате, с различными концентрациями в диапазоне 10 нг/мл – 10 мкг/мл. Вносят в 10 виал с завинчивающейся крышкой, содержащих по 1,0 г предварительно подготовленной навески почвы, заданное количество раствора стандартного образца. Виалы герметично закрывают, встряхивают на шейкере в течение 2 часов. Добавляют в каждую виалу по 1,0 мл этилацетата, встряхивают на шейкере,

центрифугируют при 15000 об/мин и отбирают центрифугат. Полученные растворы упаривают до остаточного объема 500 мкл в токе азота при комнатной температуре. Эксперимент повторяют 5–6 раз. Далее все образцы подвергают ГХ-анализу для построения градуировочной зависимости.

2. Готовят исходный раствор стандарта цианистого калия (CAS 151-50-8) с содержанием основного вещества не менее 99,8 % в абс. этилацетате с концентрацией 1,0 мкг/мл. После этого вносят в 10 виал, содержащих по 1,0 г предварительно подготовленной навески почвы расчетное количество раствора цианистого калия с заданными концентрациями в диапазоне 10 нг/мл – 10 мкг/мл. Виалы герметично закрывают, встряхивают на механическом шейкере в течение 2 часов. Помещают все виалы в термостат и в каждую добавляют расчетное количество 2,3,4,5,6-пентафторбензилбромида. Встряхивают виалы при $t = 50^\circ\text{C}$ в течение 2 часов. После охлаждения центрифугируют при 15 тыс. об/мин и отбирают центрифугат. Полученные растворы упаривают до остаточного объема 500 мкл в токе азота при комнатной температуре. Эксперимент повторяют 5–6 раз. Далее все образцы подвергают ГХ-анализу для построения градуировочной зависимости.

Экстракция цианид-ионов из проб почвы

Образец анализируемой почвы массой 1,0 г помещают в виалу с завинчивающейся крышкой, приливают 2 мл абс. этилацетата. Встряхивают виалу на механическом шейкере в течение 0,5 часа, добавляют 100 мкл 2,3,4,5,6-пентафторбензилбромида. Встряхивают виалу при $t = 50^\circ\text{C}$ в течение 2 часов. Охлаждают виалу, центрифугируют при 15 тыс. об/мин и отбирают центрифугат. Полученный раствор упаривают до остаточного объема 500 мкл в токе азота при комнатной температуре. Эксперимент повторяют 5–6 раз. Далее образец подвергают ГХ-анализу для определения содержания цианид-ионов в пробе почвы с использованием ранее построенной градуировочной зависимости.

Разработка хромато-масс-спектрометрического способа определения концентрации цианид-ионов в пробах почвы. Построение калибровочной зависимости, а также количественное определение содержания цианид-ионов в анализируемой почве проводилось с использованием хромато-масс-аналитической станции, включающей газовый хроматограф

«Agilent 7890A» и трехквადрупольный масс-селективный детектор типа «Agilent 7000B GC/MS Triple Quad» фирмы «Agilent Technologies, Inc.», США. Для разделения смесей в хроматографе применялась кварцевая капиллярная колонка типа «DB-5MS Ultra Inert» длиной 30 м с внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной неподвижной фазы полисилоксана 0,25 мкм.

Подготовка газового хроматографа, масс-селективного детектора проводилась в соответствии с руководством пользователя¹². Обработка и расчеты полученных хроматографических и масс-спектральных данных проводились на ПЭВМ «HP Compaq 530» фирмы «Hewlett Packard» (США) с использованием лицензионного программного обеспечения¹³. Для математических расчетов градуировочных зависимостей также использовалось лицензионное программное обеспечение¹⁴.

В качестве дериватизирующего агента применялся коммерческий 2,3,4,5,6-пентафторбензилбромид (CAS 1765-40-8) со степенью чистоты не менее 99,5 % фирмы «Alfa Aesar», США.

Разработка и поиск оптимальных условий разделения смесей и идентификации включали в себя проведение анализа образцов проб почвы на наличие в них определяемого аналита (2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила) с использованием трех типов ионизации (таблица 2):

- электронной (70 эВ);
- химической ионизации метаном с регистрацией отрицательных ионов;
- химической ионизации метаном с регистрацией положительных ионов.

Для определения предела обнаружения цианид-ионов в почве в рамках разработанного хромато-масс-спектрометрического способа проводился анализ растворов с различной концентрацией аналита и анализ проб почвы, искусственно зараженных цианидом калия, с такими же значениями концентраций, как у набора стандартных растворов.

Ввод проб и проведение анализа выполнялись в соответствии с параметрами и условиями, указанными в таблице 2. Масс-спектры электронного удара, зарегистрированные при сканировании в режиме «MS1SCAN», совпадали с библиотечными данными. Степень совпадения полученных масс-спектров определяемого аналита с библиотечными данными

¹² Руководство пользователя работы с газовым хроматографом «Agilent 7890A» и масс-селективным детектором «Agilent 7000B GC/MS Triple Quad»: «Agilent Technologies, Inc.», США, 2013.

¹³ Mass Hunter Workstation Software, Qualitative and Quantitative Analysis, version B.08.00 build 4.0.548.0: Agilent Technologies, Inc., США. 2016.

¹⁴ Математическая программа расчетов / Mathcad-2018, Add-In for Excel ver. 15.0.02.A7 for Windows 7,8,XP.

Таблица 2 – Оптимальные условия и значения газохроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования для определения 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила в различных режимах и типах ионизации

Условия или параметры газохроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования	Тип ионизации		
	Электронная	Химическая (метаном), положительная	Химическая (метаном), отрицательная
	Значение параметра		
Ввод пробы	Программируемый, с помощью автосамплера «Agilent 7693A»		
Объем вводимого раствора аналита, мкл	1,0		
Режим ввода пробы	Без разделения потока (Splitless), 1 мин		
Температура ввода пробы (испаритель), °C	270	280	280
Время задержки растворителя, мин	2	5	5
Тип ввода пробы	Вертикальный		
Тип и неподвижная фаза хроматографической колонки	Agilent DB-5MS Ultra Inert / (5 % phenyl 95 % dimethyl arylene siloxane, США), 30 m × 0.25 mm × 0.25 µm		
Режим программирования температуры термостата колонки	40 °C (1 min), 10 °C/min 280 °C (5 min)		
Газ-носитель	1,439		
Скорость потока гелия через колонку, мл/мин	72–73		
Скорость и время потока гелия после разгонки	0,1–0,4		
Вакуум внешнего насоса, мм рт. ст.	1,63±0,4		
Вакуум внутреннего турбонасоса, мм рт. ст.	10,26		
Растворимость	В воде – плохо, в органических растворителях – хорошо		
Газ-носитель	Гелий сжатый газообразный высокой чистоты марки «7.0», чистота не менее 99,99999 % (по ТУ 0271-001-45905715-02) фирмы ООО «НИИ КМ» (Россия)		
Скорость потока гелия через колонку, мл/мин	Постоянная, 1,0		
Скорость и время потока гелия после разгонки	60 мл/мин в течение 1 мин		
Вакуум внешнего насоса, мм рт. ст.	(2,18–2,48)×10 ⁻¹		
Вакуум внутреннего турбонасоса, мм рт. ст.	(6,95–7,56)×10 ⁻⁵		
Скорость потока гелия	3,0		
Число промываний иглы шприца абсолютным хлористым метиленом (до ввода пробы и после)	5–6		
Тип масс-селективного детектора	Тройной квадруполь		
Режимы масс-селективного детектирования	«MS1SCAN», «Product Ion Scan», «MRM»		
Диапазон сканируемых масс в режиме «MS1SCAN», а.е.м.	25–350		
Внутренний калибровочный стандарт для ионизации	Перфтортрибутиламин	Перфтор-5,8-диметил-3,6,9-триоксидодекан	
Газ-реагент для химической ионизации	-	Метан газообразный сжатый 99,9995 %, степень чистоты – 5.5 по ISO/IEC 17050-1:2004, производство ФРГ (фирма «Linde AG, Geschäftsbereich Linde Gas»)	

Условия или параметры газохроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования	Тип ионизации		
	Электронная	Химическая (метаном), положительная	Химическая (метаном), отрицательная
	Значение параметра		
Газ ячейки соударений	Азот сжатый газообразный высокой чистоты, чистота не менее 99,9999 % (по ТУ 2114-009-45905715-2011) фирмы ООО «НИИ КМ» (Россия)		
Скорость потока гелия в ячейке соударений, мл/мин	2,25		
Скорость потока азота в ячейке соударений, мл/мин	1,5		
Скорость потока метана в источник ионизации, мл/мин	-	1,0	2,0
Температура источника ионов, °C	230	250	150
Основные масс-энергетические переходы в режиме сканирования MRM, m/z (продукт ион $\rightarrow$ прекурсор ион), энергия ячейки соударений (CE, эВ eV)	m/z 207 $\rightarrow$ 157 (13 эВ), m/z 207 $\rightarrow$ 188 (9 эВ)	-	m/z 187 $\rightarrow$ 167 (8 эВ), m/z 187 $\rightarrow$ 98 (16 эВ)
Наиболее интенсивный определяемый ион в режиме «Produt Ion Scan», m/z	207 [M] ⁺	208 [M+1] ⁺	187 [M-(HF)] ⁻
Температура переднего квадрупольа, °C	150		
Температура интерфейса, °C	285		
Температура заднего квадрупольа, °C	150		
Время сканирования, циклов/с	5,1–6,8 (35–51 мс/цикл)		
Масс-разрешение	Unit		
Ширина щели пучка ионов, условных ед.	150		
Шаг сканирования, а.е.м.	0,1		
Порог детектирования, усл. ед.	100		
Коэффициент усиления сигнала (Gain)	5–10		
Энергия эмиссии электронов, эВ	70	200	145
Сила тока эмиссии электронов, мкА	35	150	50
Время удерживания хроматографического сигнала, мин	8,67±0,1	8,69±0,1	8,67±0,1
Ширина детектируемого пика, с	0,7		

оказалась в диапазоне 97–98 %, что свидетельствует о достоверной идентификации¹⁵.

Хроматограммы по полному ионному току и масс-спектры электронной и химической ионизации определяемого 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила, зарегистрированные при сканировании в режиме «MSISCAN», приведены на рисунках 2–4.

В масс-спектре электронной ионизации определяемого аналита (рисунок 2) наиболее интенсивный сигнал иона с m/z 207 соответствует молекулярному иону [M]⁺. Предполагаемая нами

схема фрагментации 2,3,4,5,6-пентафторбензил ацетонитрила при электронной ионизации представлена на рисунке 5.

В масс-спектре положительной химической ионизации (рисунок 3) наиболее интенсивный сигнал иона с m/z 208 соответствует квазимолекулярному иону [M+1]⁺; наличие сигналов ионов с m/z 236 [M+29]⁺ и m/z 248 [M+41]⁺ соответствует образованию так называемых аддуктивных ионов [M+C₂H₅]⁺ и [M+C₃H₅]⁺, что характерно для большинства органических соединений [8].

¹⁵ OCAD-OPCW Central Analytical DATABASE. OPCW Mass Spectral Database (v.21_2019, January 2019). Программа поиска MS NIST для Windows и NIST/EPA/NIH Масс-спектральная База данных в формате NIST и Формате ChemStation. Mass Spectral Database (NIST-17) (№G1033-60049). Национальный институт стандартов и технологии США, шт. Мэриленд 20899-8320, 100 Bureau Drive Stop 8380. Гейтерсбург.

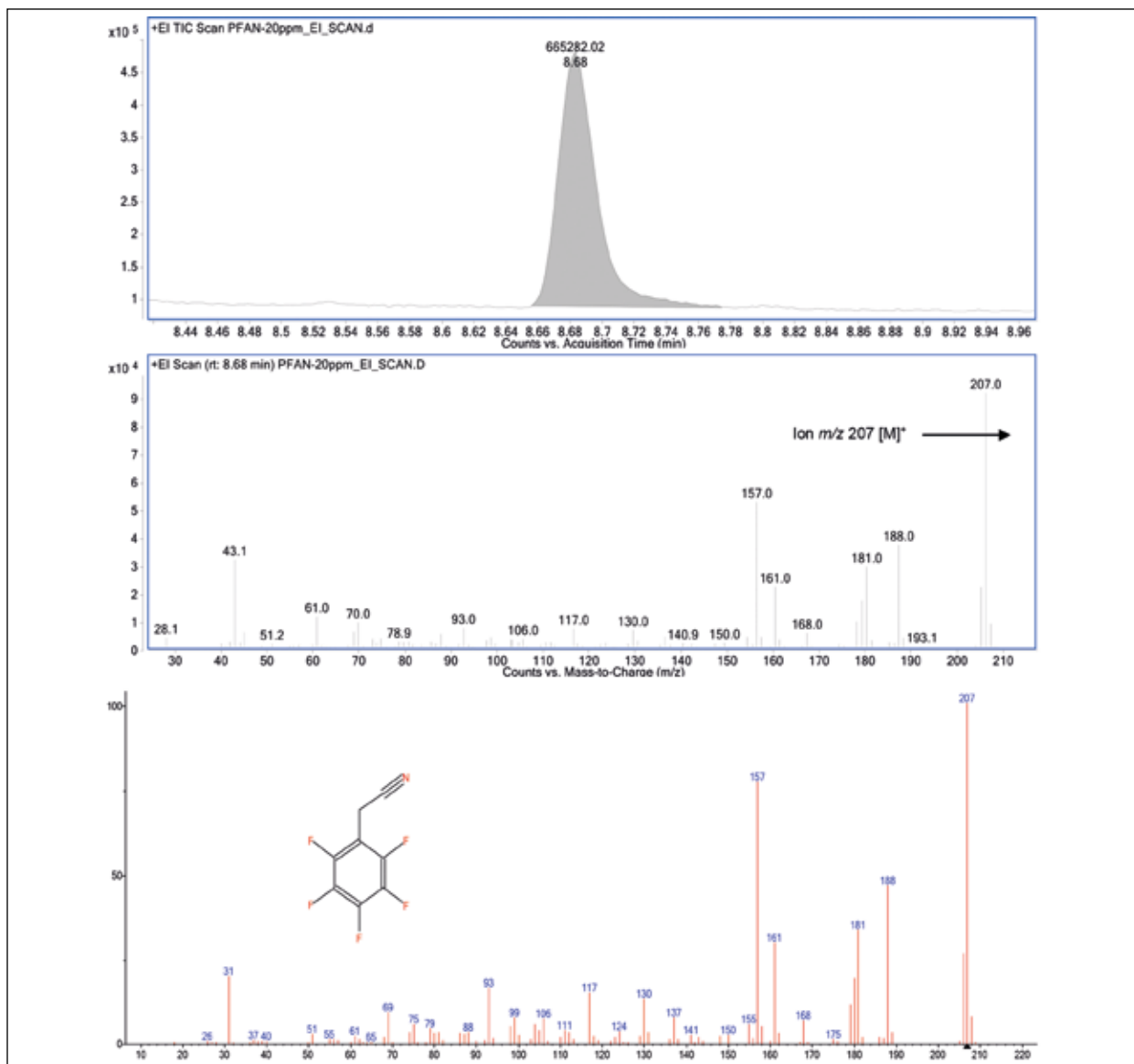


Рисунок 2 – Фрагмент хроматограммы по полному ионному току и масс-спектр электронной ионизации 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила, зарегистрированные при сканировании в режиме «MS1SCAN» (концентрация аналита – 10 мкг/мл в абс. этилацетате). Снизу приведен сравнительный масс-спектр электронной ионизации данного вещества из библиотеки масс-спектров NIST (см. сноску 15)

С другой стороны, масс-спектр отрицательной химической ионизации 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила (рисунок 4) менее информативен. Так, в данном спектре зарегистрирован только один интенсивный ион с m/z 187 $[M-19]^-$, что соответствует фрагменту $[M-(HF)]^-$.

Полученные хроматограммы и MS/MS-спектры в режимах электронной и отрицательной химической ионизации приведены на рисунках 6 и 7. Хроматограммы и MS/MS-спектры положительной химической ионизации не приводятся в связи с их низкой информативностью.

Выбор параметров и условий MS/MS-сканирования целевого аналита в наиболее чувствительном режиме – мониторинг множественных реакций «MRM» – базировался на экспериментальном поиске оптимальной энергии ячейки соударений (Collision Energy, CE) для каждого из двух масс-энергетических переходов как при электронной, так и при отрицательной химической ионизации.

Известно, что наибольший отклик МСД при анализе сверхнизких концентраций аналитов (на уровне десятых долей нанogramм) для большинства органических соединений в

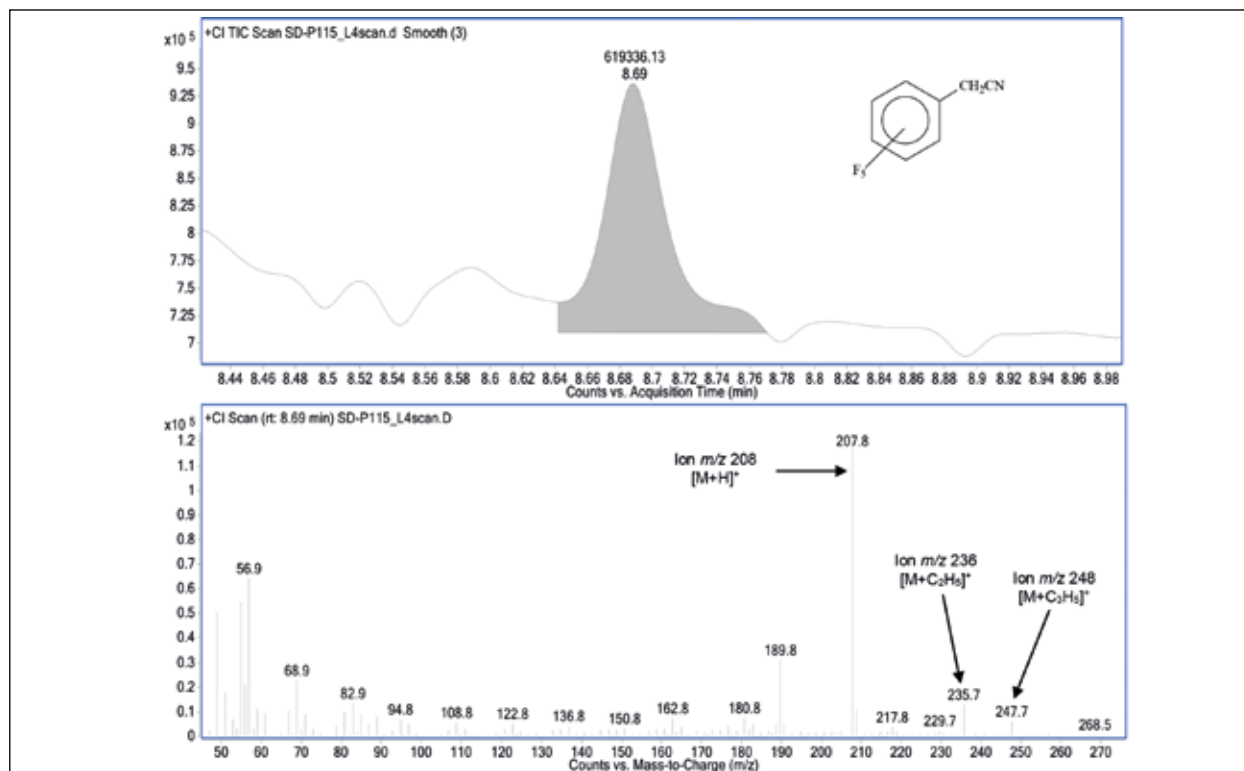


Рисунок 3 – Фрагмент хроматограммы по полному ионному току и масс-спектр положительной химической ионизации 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила, зарегистрированные при сканировании в режиме «MS1SCAN» (концентрация аналита – 1,0 мкг/мл в абс. этилацетате)

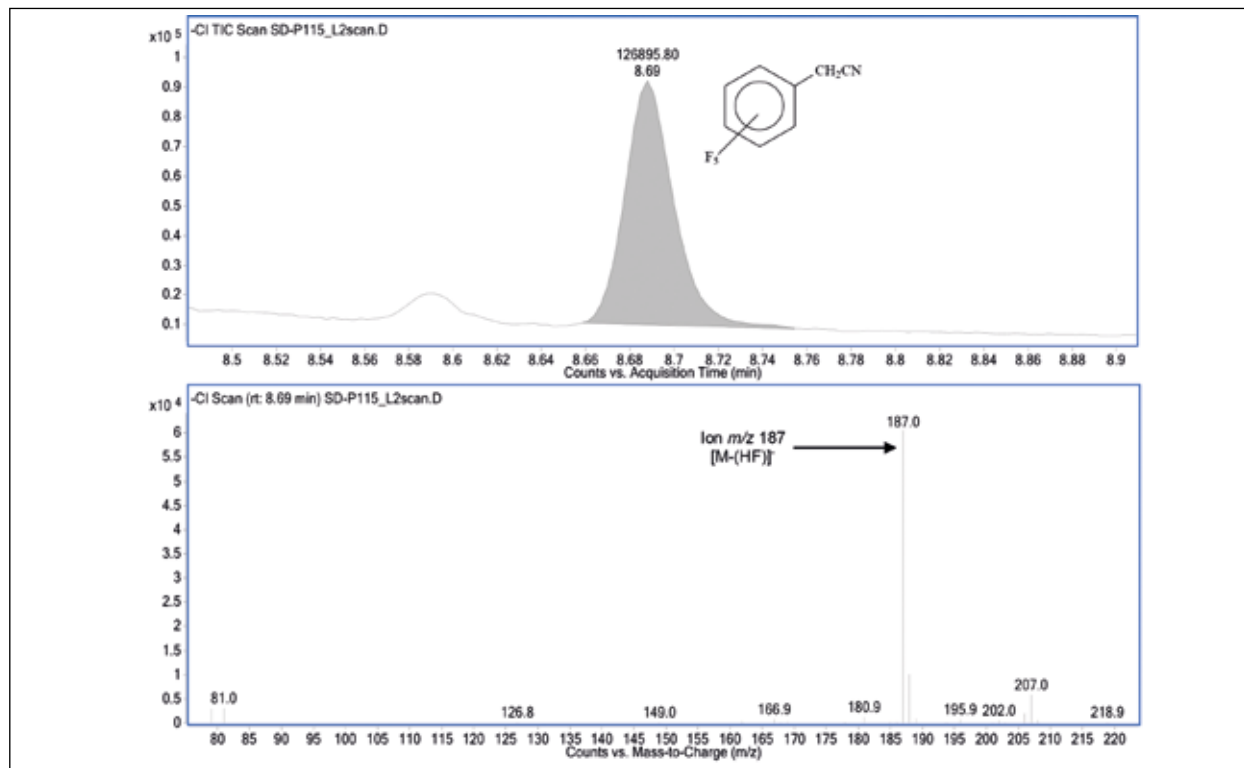


Рисунок 4 – Фрагмент хроматограммы по полному ионному току и масс-спектр отрицательной химической ионизации 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила, зарегистрированные при сканировании в режиме «MS1SCAN» (концентрация аналита – 1,0 мкг/мл в абс. этилацетате)

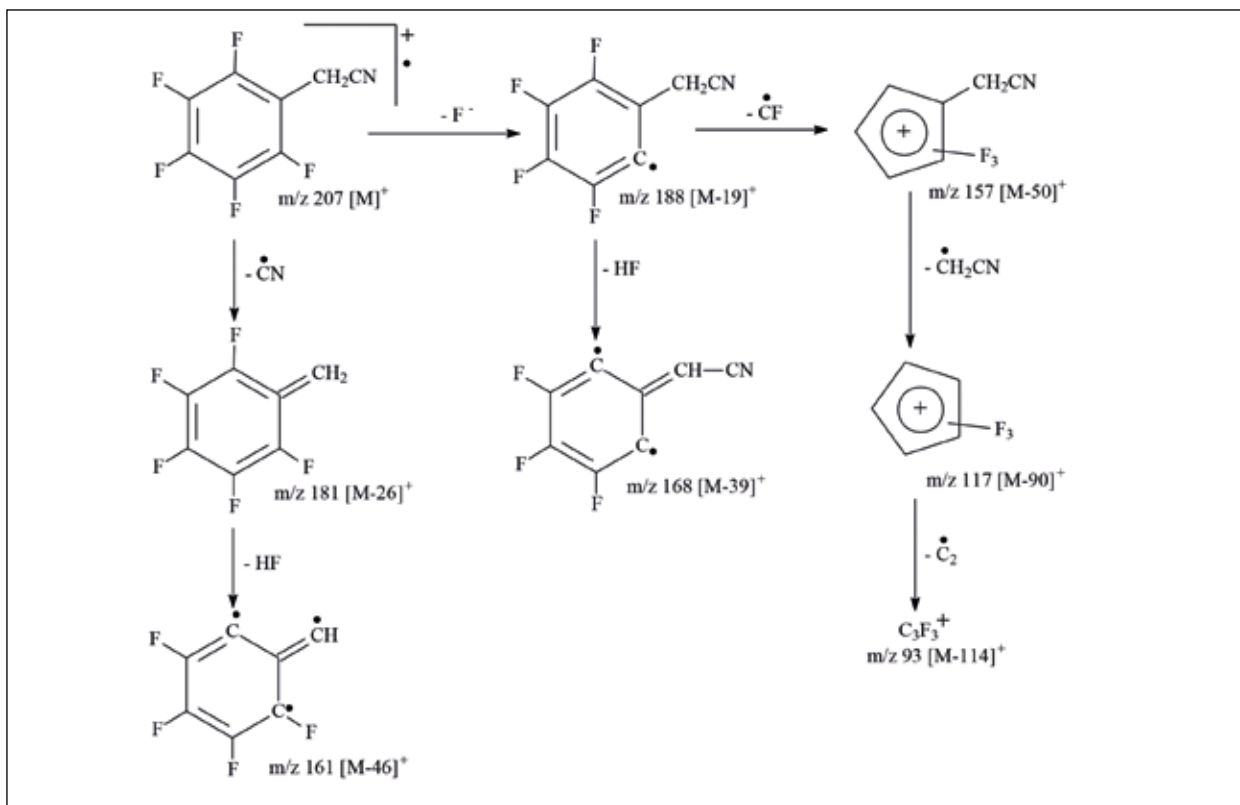


Рисунок 5 – Предполагаемые пути фрагментации 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила при электронной ионизации

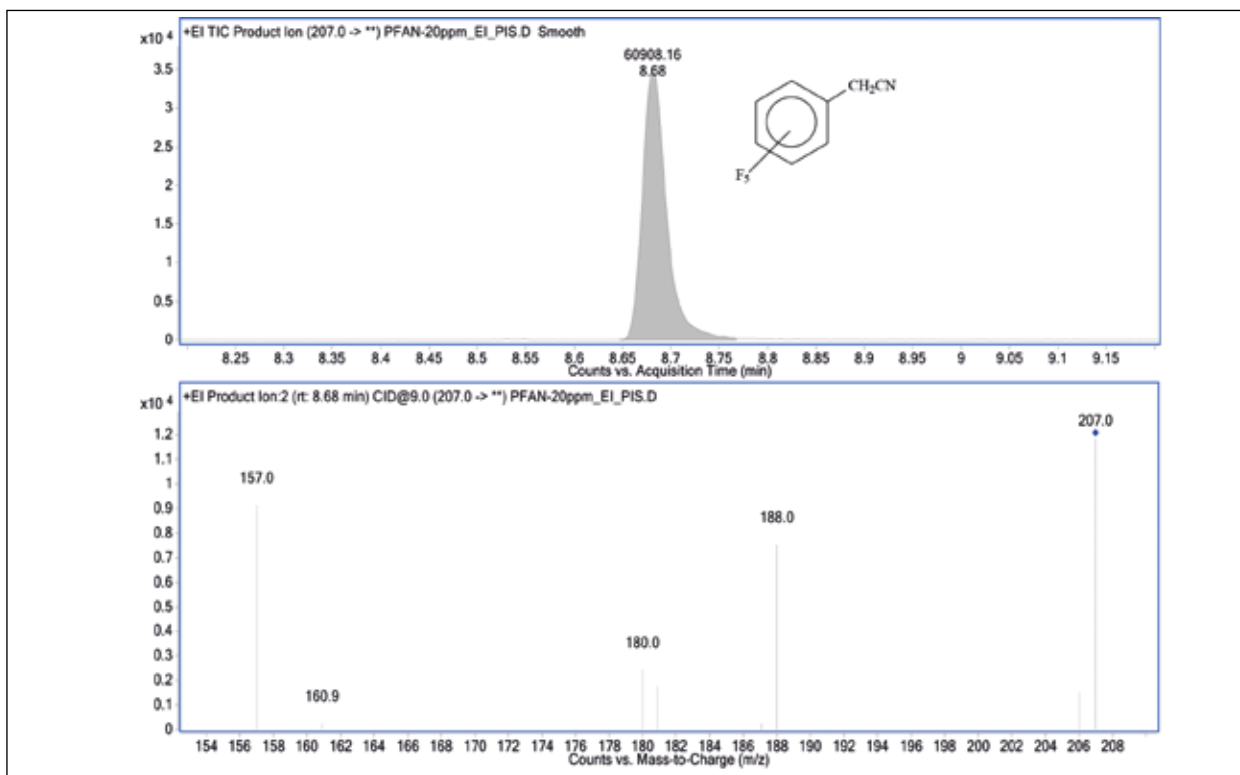


Рисунок 6 – Фрагмент хроматограммы по полному ионному току и MS/MS – спектр электронной ионизации 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила, зарегистрированные при MS/MS – сканировании в режиме «Product Ion Scan» (m/z 207) (концентрация аналита – 20,0 мкг/мл в абс. этилацетате)

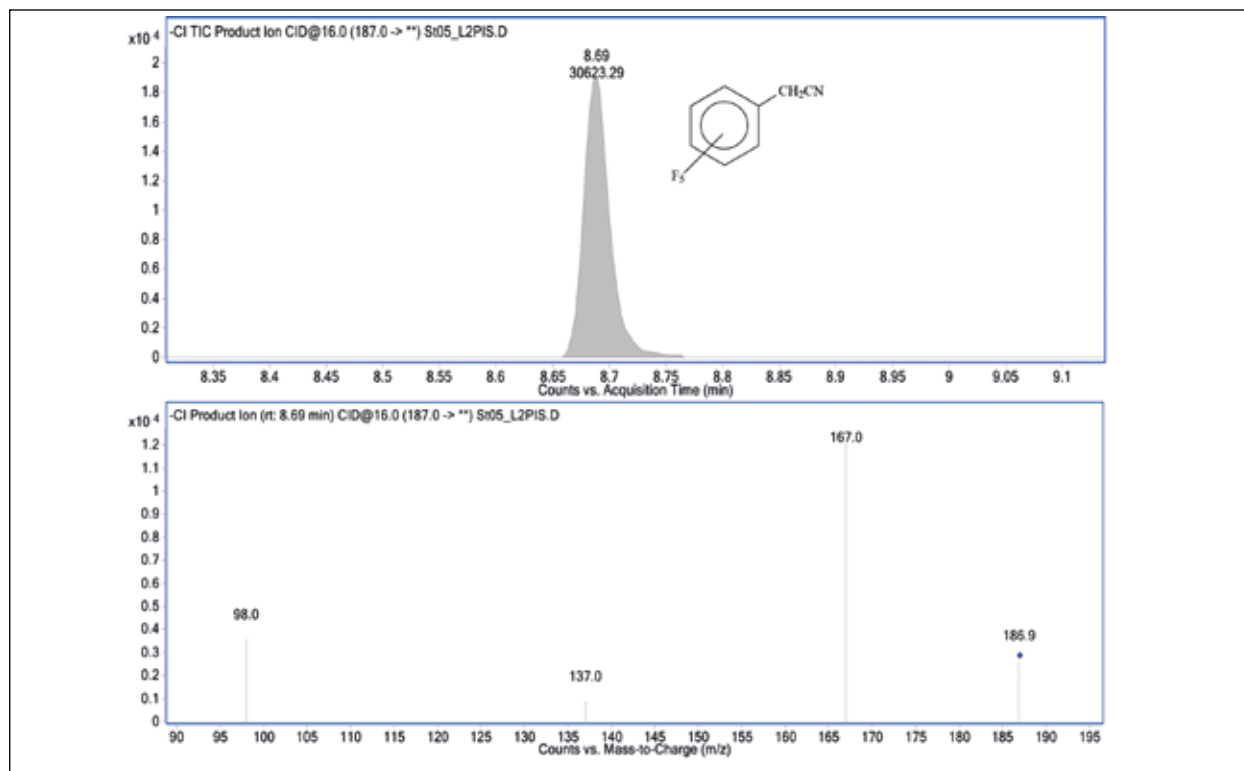


Рисунок 7 – Фрагмент хроматограммы по полному ионному току и MS/MS – спектр отрицательной химической ионизации 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила, зарегистрированные при MS/MS – сканировании в режиме «Product Ion Scan» (m/z 187) (концентрация аналита – 1,0 мкг/мл в абс. этилацетате)

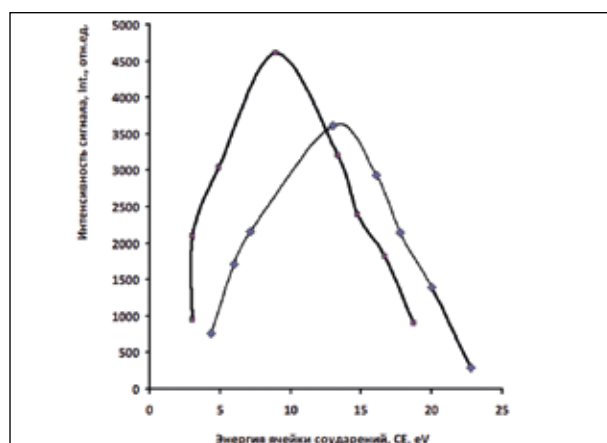


Рисунок 8 – Определение оптимальной энергии ячейки соударений при электронной ионизации определяемого аналита в режиме MS/MS-сканирования «MRM» (с концентрацией 20,0 нг/мл в абс. этилацетате) для масс-энергетических переходов: А – для m/z (207 → 157), Б – для m/z (207 → 188)

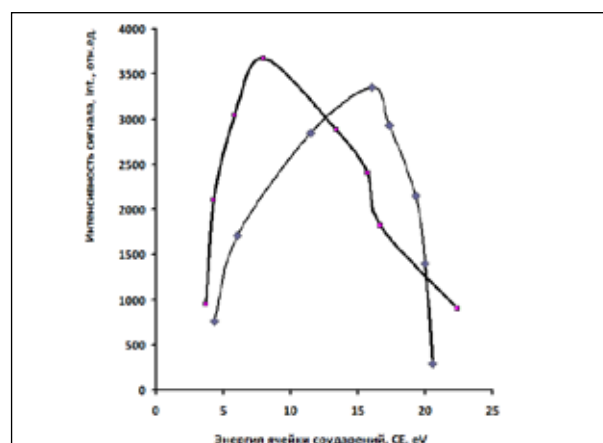


Рисунок 9 – Определение оптимальной энергии ячейки соударений при отрицательной химической ионизации определяемого аналита в режиме MS/MS-сканирования «MRM» (с концентрацией 35,0 нг/мл в абс. этилацетате) для масс-энергетических переходов: А – для m/z (187 → 167), Б – для m/z (187 → 98)

режимах химической ионизации наблюдается в интервале значений энергии ячейки соуда-

рений от 2,0 до 20,0 эВ и коэффициентов усиления сигнала (Gain) от 2 до 10^{16} .

¹⁶ Руководство пользователя работы с газовым хроматографом «Agilent 7890A» и масс-селективным детектором «Agilent 7000B GC/MS Triple Quad»: «Agilent Technologies, Inc.», США, 2013. Mass Hunter

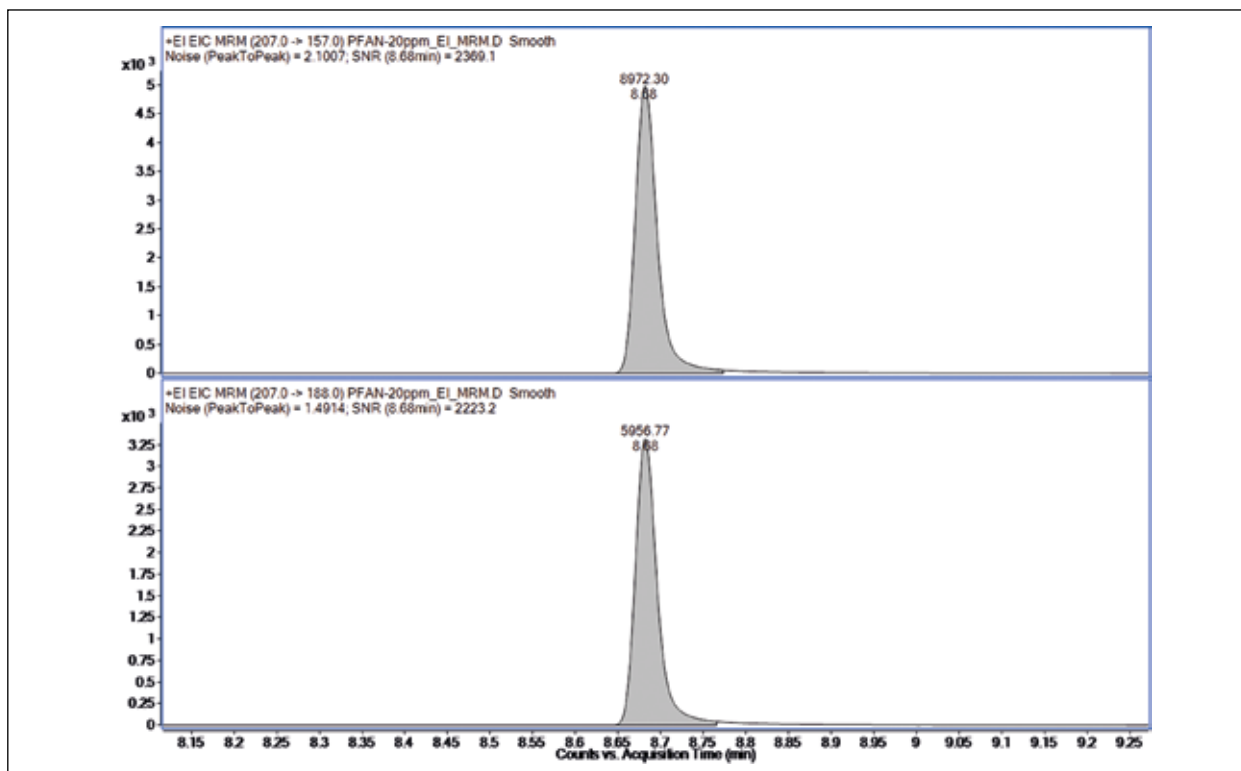


Рисунок 10 – Фрагменты хроматограмм электронной ионизации

2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила по выделенным масс-энергетическим переходам m/z (207 $\rightarrow$ 157) при 13 эВ и m/z (207 $\rightarrow$ 188) при CE=9 эВ, зарегистрированных при MS/MS-сканировании в режиме «MRM» (концентрация аналита – 20,0 нг/мл в абс. этилацетате)

Определение оптимальной энергии ячейки соударений CE в режиме MS/MS-сканирования «MRM» в нашем случае проводили в условиях эксперимента с шагом с разницей в 2–5 эВ и последующей регистрацией интенсивности сигналов основных ионов в MS/MS-спектрах по двум выделенным масс-энергетическим переходам. Концентрация вводимых образцов аналита составляла 20–50 нг/мл (рисунки 8 и 9).

В результате проведенных экспериментов было установлено, что оптимальной величиной коэффициента усиления сигнала (Gain) в выбранных условиях является значение, равное 5, при этом диапазон измерения концентраций целевого аналита составил 1–100 нг/мл. Хроматограммы по выделенным масс-энергетическим переходам 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила при разных типах ионизации в режиме MS/MS-сканирования «MRM» приведены на рисунках 10 и 11.

В целях окончательного выбора способа ионизации провели анализ ряда стандартных растворов с одинаковыми концентрациями растворов аналита в диапазоне 1,0 нг/мл – 10,0 мкг/мл (по десяти точкам).

Графические зависимости площади хроматографического сигнала от концентрации 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила при электронной и химической (отрицательной) ионизации приведены на рисунках 12 и 13.

Полученные расчетные значения среднеквадратичного отклонения от наложенной линии тренда линейной зависимости площади хроматографического сигнала от концентрации аналита в обоих случаях свидетельствуют о высокой валидности разработанной математической модели и уравнения для расчетов ($R^2 > 0,99$).

Математическая обработка зависимостей, представленных на рисунках 12 и 13, показала, что предел обнаружения 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила находится в интервале 0,35–0,42 нг/мл. Это достигается при использовании отрицательной химической ионизации метаном при MS/MS-сканировании в режиме «MRM». Условия регистрации данных представлены в таблице 3.

Вместе с тем, было установлено, что при проведении пробоподготовки различных образцов почв, загрязненных цианидами в концентрациях от 0,20 до 10,0 мг/кг, степень извлечения

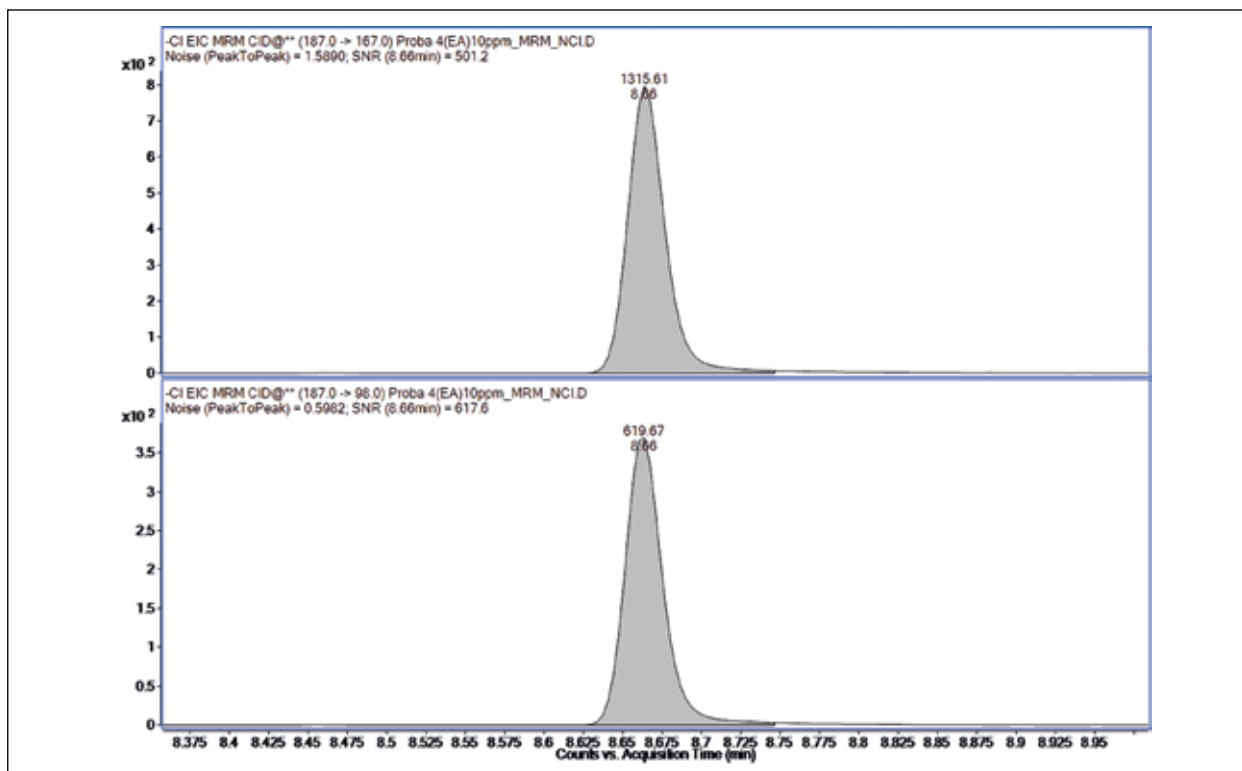


Рисунок 11 – Фрагменты хроматограмм отрицательной химической ионизации 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила по выделенным масс-энергетическим переходам m/z (187 $\rightarrow$ 167) при 8 эВ и m/z (187 $\rightarrow$ 98) при $CE=16$ эВ, зарегистрированных при MS/MS-сканировании в режиме «MRM» (концентрация аналита – 25,0 нг/мл в абс. этилацетате)

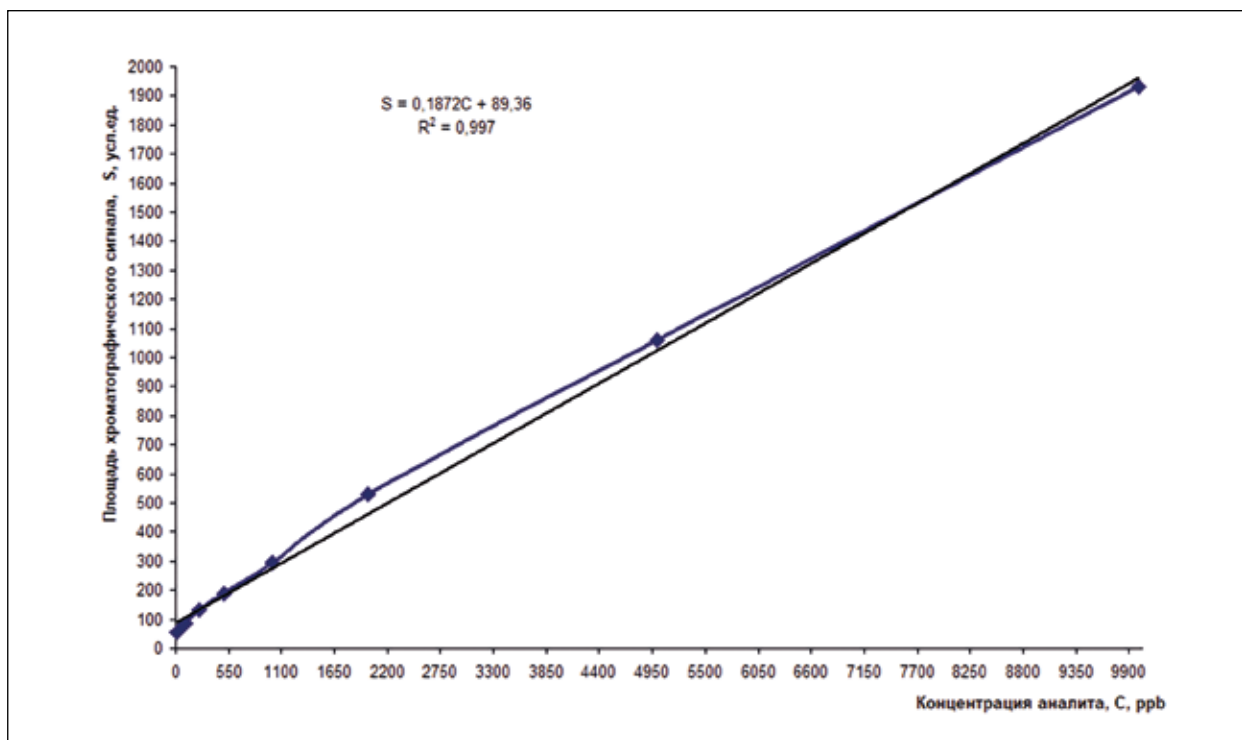


Рисунок 12 – Графическая зависимость площади хроматографического сигнала от концентрации раствора стандарта 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила в этилацетате (электронная ионизация при MS/MS-сканировании в режиме «MRM»)

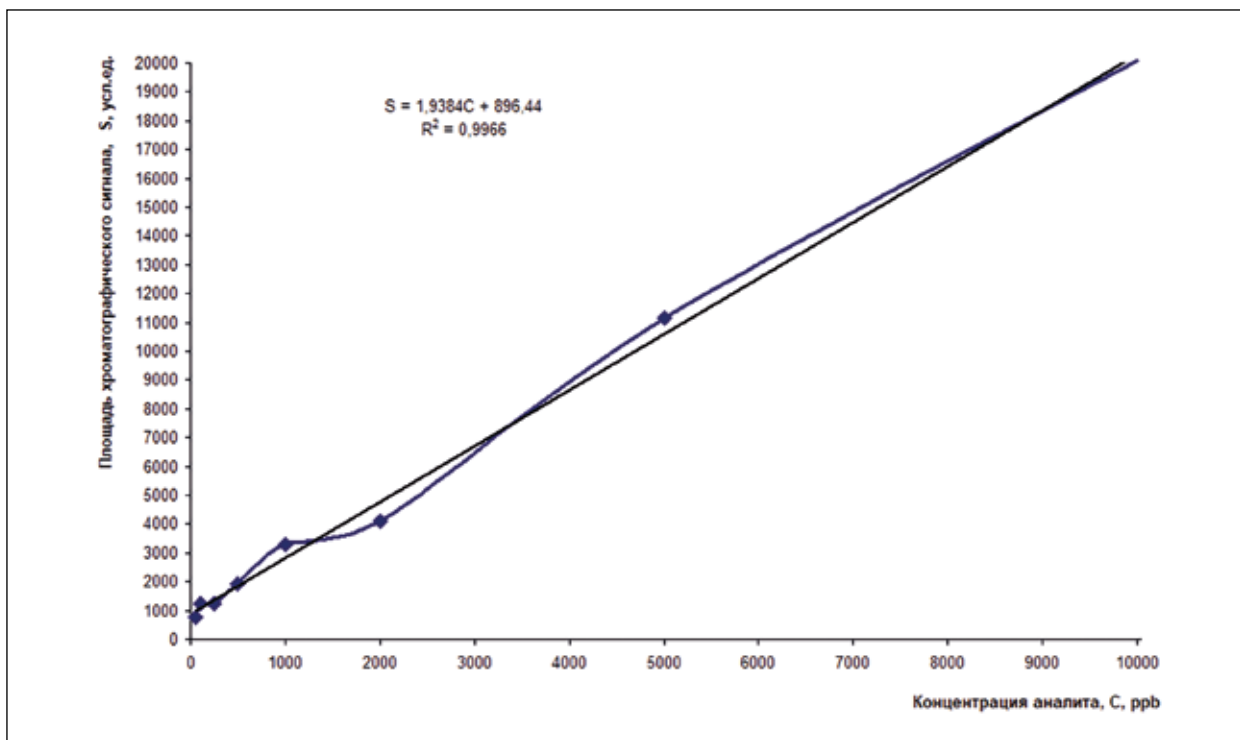


Рисунок 13 – Графическая зависимость площади хроматографического сигнала от концентрации раствора стандарта 2,3,4,5,6-пентафторбензилацетонитрила в этилацетате (отрицательная химическая ионизация метаном при MS/MS-сканировании в режиме «MRM»)

Таблица 3 – Условия анализа при обнаружении пентафторбензилацетонитрила методом газовой хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием с использованием отрицательной химической ионизации метаном

Время удерживания хроматографического сигнала аналита, RT, мин	Основные масс-энергетические переходы родительского иона в продукт-ион, m/z	Энергия ячейки соударений, CE, эВ	Соотношение интенсивностей сигналов, %	Соотношение сигнал : шум, SNR, усл. ед., не менее
8,68 ± 0,1	187 → 167 (качественный анализ)	8,0	100	5 : 1
	187 → 98 (количественный анализ)	16,0	78±3	

цианид-ионов (по массе) составляет 68–77 % (в среднем – 72,5 %). При пересчете, с учетом среднего коэффициента извлечения, значение предела обнаружения цианида с помощью разработанного способа составило $(0,70 \pm 0,06) \times 10^{-3}$ мкг/г почвы, что существенно превышает ранее достигнутые и описанные в литературе результаты.

Заключение

На основании проведенного выше исследования, можно заключить, что надежную идентификацию и количественное определение цианид-ионов в почве в диапазоне 0,7 нг/г–10,0 мкг/г

почвы, с учетом коэффициента извлечения, возможно проводить с помощью дериватизации цианидов 2,3,4,5,6-пентафторбензилбромидом и анализа методом газовой хроматографии с применением tandemного масс-селективного детектирования в режиме отрицательной химической ионизации метаном и мониторинга множественных реакций по основным масс-энергетическим переходам, а также по времени удерживания в условиях разработанного метода.

Предложенный способ более чем на три десятичных порядка превосходит по чувствительности включенный в федеральный реестр

фотометрический метод проведения количественного анализа проб почв на содержание цианидов и, кроме того, отличается меньшим временем проведения анализа, использованием меньшего количества химических реактивов и растворителей, что значительно уменьшает финансово-экономические затраты проведения процедуры в целом.

Полученные выше результаты могут быть реализованы при разработке и последующей государственной аттестации методики выполнения измерений содержаний цианид-ионов в почве методом газовой хроматографии с применением tandemного масс-селективного детектирования при химической ионизации метаном с регистрацией отрицательных ионов.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

1. Johnson C.A. The fate of cyanide in leach wastes at gold mines: An environmental perspective // Appl. Geochem. 2015. V. 57. P. 194–205.
2. Shifrin N.S., Beck B.D., Gauthier T.D. et al. Chemistry, toxicology, and human health risk of cyanide compounds in soils at former manufactured gas plant sites // Regul. Toxicol. Pharmacol. 1996. V. 23. P. 106–116.
3. Hilson G., Monhemius A.J. Alternatives to cyanide in the gold mining industry: What prospects for the future? // J. Clean. Prod. 2006. V. 14. P. 1158–1167.
4. Куценко С.А., Бутомо Н.В., Гребеньюк А.Н. и др. Военная токсикология, радиобиология и медицинская защита: учебник / Под. ред. Куценко С.А. Спб. 2004.
5. Shifrin N.S., Beck B.D., Gauthier T.D. et al. Chemistry, toxicology, and human health risk of cyanide compounds in soils at former manufactured gas plant sites // Regul. Toxicol. Pharmacol. 1996. V. 23. P. 106–116.
6. Campanella B., Biancalana L., D'Ulivo L. et al. Determination of total cyanide in soil by isotope dilution GC/MS following pentafluorobenzyl derivatization // Analyt. Chimica Acta. 2017. V. 961. P.74–81. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2017.01.026>
7. Tsikas D. Pentafluorobenzyl bromide – versatile derivatization agent in chromatography and mass spectrometry. I. Analysis of inorganic anions and organophosphates // J. Chromatogr. B. 2017. V. 1043. P. 187–201. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.08.015>
8. Лебедев А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии. Изд. второе, перераб. и доп. М. 2015.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации, 105005, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13.

Корнеев Дмитрий Олегович. Старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела, канд. хим. наук, доц.

Понсов Михаил Александрович. Старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела, канд. хим. наук, доц.

Родионов Александр Анатольевич. Старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела, канд. техн. наук, проф. АВН.

Петракова Лидия Васильевна. Научный сотрудник научно-исследовательского отдела.

Рыбальченко Игорь Владимирович. Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела, доктор хим. наук, проф.

Контактная информация для всех авторов: 27nc_1@mail.ru
Контактное лицо: Корнеев Дмитрий Олегович, 27nc_1@mail.ru

Development of a method for measuring mass concentration of cyanides in soil samples using gas chromatography and tandem mass-selective detection

D.O. Korneev, M.A. Ponsov, A.A. Rodionov, L.V. Petrakova, I.V. Rybalchenko

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation

The Convention on the Prohibition of the Development, Production, Stockpiling and Use of Chemical Weapons and on Their Destruction places CN-containing toxic chemicals like tabun and its numerous homologues and analogues (around 10.000 organic compounds), hydrogen cyanide, cyanogen chloride etc., under the international control in the field of arms control, disarmament and non-proliferation. Moreover, CN-containing toxic chemicals are hazardous industrial and environmental pollutants. Soils are the most widely-spread and complex environmental objects for the detection and analysis of cyanides. The aim of this work is to elaborate the method for measuring mass concentration of cyanides in soil samples, which is more sensitive and less labor-intensive, than photometric method, adopted in the Russian Federation. The developed method involves the use of 2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl bromide as a derivatizing agent and GC/MS/MS with methane negative ion chemical ionization. It enables the identification and quantification of cyanide ions in soil in the range of 0.7 ng/g – 10.0 µg/g. This method is much more sensitive than the photometric method, included in the federal registry. It does not require the use of potassium cyanide isotopes with radioactive labels of carbon and potassium as an internal standard, and it requires less implementation time.

Keywords: 2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl bromide; gas chromatography; derivatization; identification; quantification analysis; soil sample; chromatomass-spectrometry; cyanide.

For citation: Korneev D.O., Ponsov M.A., Rodionov A.A., Petrakova L.V., Rybalchenko I.V. Development of a method for measuring mass concentration of cyanides in soil samples using gas chromatography and tandem mass-selective detection // *Journal of NBC Protection Corps*. 2019. V. 4. № 1. P. 4–20. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-4-1-4-20>

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

References

1. Johnson C.A. The fate of cyanide in leach wastes at gold mines: An environmental perspective // *Appl. Geochem.* 2015. V. 57. P. 194–205.
2. Shifrin N.S., Beck B.D., Gauthier T.D. et al. Chemistry, toxicology, and human health risk of cyanide compounds in soils at former manufactured gas plant sites // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 1996. V. 23. P. 106–116.
3. Hilson G., Monhemius A.J. Alternatives to cyanide in the gold mining industry: What prospects for the future? // *J. Clean. Prod.* 2006. V. 14. P. 1158–1167.
4. Kutsenko S.A., Butomo N.V., Grebenyuk A.N. et al. Military Toxicology, Radiobiology and Medical Protection: Textbook for Medical Students / Ed. Kutsenko S.A. St. Petersburg: Foliant, 2004 (in Russian).
5. Shifrin N.S., Beck B.D., Gauthier T.D. et al. Chemistry, toxicology, and human health risk of cyanide compounds in soils at former manufactured gas plant sites // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 1996. V. 23. P. 106–116.
6. Campanella B., Biancalana L., D'Ulivo L. et al.

Determination of total cyanide in soil by isotope dilution GC/MS following pentafluorobenzyl derivatization // *Analytica Chimica Acta*. 2017. V. 961. P. 74–81. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2017.01.026>

7. Tsikas D. Pentafluorobenzyl bromide – versatile derivatization agent in chromatography

and mass spectrometry. I. Analysis of inorganic anions and organophosphates // *J. Chromatogr. B*. 2017. V. 1043. P. 187–201. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.08.015>

8. Lebedev A.T. Mass Spectrometry in Organic Chemistry. 2nd edition. Moscow, 2015.

Authors

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation.

Dmitry Olegovich Korneev. Senior Researcher of the Department. Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor.

Mikhail Aleksandrovich Ponsov. Senior Researcher of the Department. Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor.

Aleksandr Anatolyevich Rodionov. Senior Researcher of the Department. Candidate of Technical Sciences, Professor of the Academy of Military Sciences.

Lidia Vasilyevna Petrakova. Researcher of the Department.

Igor Vladimirovich Rybalchenko. Leading Researcher of the Department. Doctor of Chemical Sciences, Professor.

Contact information for all authors: 27nc_1@mil.ru

Contact person: Korneev Dmitry Olegovich; 27nc_1@mil.ru

Новая опасная эмерджентная коронавирусная инфекция

Т.Е. Сизикова, Н.В. Карулина, А.А. Петров, В.Н. Лебедев, С.В. Борисевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«48 Центральный научно-исследовательский институт»
Министерства обороны Российской Федерации,
141306, Российская Федерация, г. Сергиев Посад, ул. Октябрьская, д. 11

Поступила 16.04.2020 г. Принята к публикации 29.03.2020 г.

Генетическое разнообразие коронавирусов и их изменчивость обеспечиваются за счет высокой частоты рекомбинации их геномной РНК, что способствует спонтанному появлению вирусов с новыми свойствами, которые потенциально могут быть причиной возникновения вспышек особо опасных и экзотических инфекционных заболеваний. В декабре 2019 – январе 2020 гг. в КНР выявлено новое коронавирусное заболевание, впоследствии получившее название COVID-19 (англ. Corona Virus Disease 2019), вызываемое вирусом SARS-CoV-2. Цель работы – анализ возможного механизма возникновения вспышки COVID-19 и свойств этиологического агента заболевания, вируса SARS-CoV-2. Проведено сравнение зоонозного резервуара патогенных для человека коронавирусов, возбудителей тяжелого острого респираторного синдрома (SARS – англ. Severe Acute Respiratory Syndrome), Ближневосточного респираторного синдрома (MERS – англ. Middle East Respiratory Syndrome) и COVID-19, а также клинических признаков вызываемых ими заболеваний. Рассмотрен возможный механизм формирования эпидемических вспышек. Для COVID-19 представлены хронология возникновения вспышки (впоследствии переросшей в пандемию) с начала декабря 2019 г. по конец марта 2020 г., таксономические и молекулярно-биологические характеристики этиологического агента заболевания, вируса SARS-CoV-2, и его место на филогенетическом древе коронавирусов. Рассмотрены основные направления борьбы с распространением инфекции.

Ключевые слова: ближневосточный респираторный синдром (MERS); коронавирус SARS-CoV-2; коронавирусы; новое коронавирусное заболевание (COVID-19); тяжелый острый респираторный синдром (SARS); эмерджентные вирусные инфекции.

Библиографическое описание: Сизикова Т.Е., Карулина Н.В., Петров А.А., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. Новая опасная эмерджентная коронавирусная инфекция // Вестник войск РХБ защиты. 2020. Т. 4. № 1. С. 21–31. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-4-1-21-31>

Эмерджентные инфекции (заболевания, представляющие угрозу для здравоохранения, вызванные ранее неизвестным возбудителем) на протяжении длительного времени представляли перманентную угрозу для людей. Основными причинами появления эмерджентных инфекций являются мутационная изменчивость микроорганизмов, расширение ареала хозяйственной деятельности человека, развитие пассажирских и грузовых перевозок, приведшее к резкому повышению контактов человека с природой.

Возбудители эмерджентных вирусных инфекций относятся к различным таксономическим группам вирусов. Среди опасных и особо опасных

эмерджентных вирусных инфекций начала XXI века видное место занимают заболевания, этиологическими агентами которых являются коронавирусы. Это тяжелый острый респираторный синдром (SARS – англ. Severe Acute Respiratory Syndrome), Ближневосточный респираторный синдром (MERS – англ. Middle East Respiratory Syndrome) и выявленная в конце 2019 года новая коронавирусная пневмония (COVID-19), вызванная новым коронавирусом, получившим в середине февраля 2020 г. название вирус SARS-CoV-2. Вспышка заболевания, вызванная данным возбудителем, впоследствии переросла в пандемию, объявленную ВОЗ 11 марта 2020 г.

Цель работы – анализ возможного механизма возникновения вспышки COVID-19 и свойств этиологического агента заболевания, вируса SARS-CoV-2.

Коронавирусы представляют собой оболочечные вирусы с одноцепочечной «плюс» РНК, с размерами генома от 25 до 32 тысяч нуклеотидных остатков (н.о.) (самые большие из известных геномов среди РНК-содержащих вирусов), которые вызывают респираторные и кишечные заболевания животных и человека [1, 2].

Коронавирусы образуют подсемейство *Orthocoronavirinae* в пределах семейства *Coronaviridae*, порядка *Nidovirales*. Согласно классификации Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV), в настоящее время семейство *Coronaviridae* включает 4 рода: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* и *Deltacoronavirus*. Коронавирусы распределены на роды на основе определения степени гомологии семи высококонсервативных доменов репликазного полипротеина [1]. Заболевания человека вызывают представители родов *Alphacoronavirus* и *Betacoronavirus*. Генетическое разнообразие коронавирусов и их изменчивость обеспечиваются за счет высокой частоты рекомбинации их геномной РНК и способности геномов коронавирусов приобретать и утрачивать домены [1–4].

Именно эти факторы и способствуют спонтанному появлению коронавирусов с новыми свойствами, которые способны адаптироваться к новым хозяевам и экологическим нишам, что потенциально может быть причиной возникновения вспышек вызываемых ими заболеваний.

До 2002 года были известны только два патогенных для человека коронавируса, HCoV-OC43 и HCoV-229E (род *Alphacoronavirus*), которые вызывают инфекционный процесс верхних дыхательных путей у человека. Они считались одной из важных (около 15 %) составных частей спектра патогенов, вызывающих респираторные заболевания.

В 2002 году зарегистрировано появление нового коронавируса (SARS-CoV), являющегося этиологическим агентом SARS. Циркуляция в течение 2002–2003 гг. данного возбудителя привела к более чем 8 тыс. случаев заболевания, клиническая картина которого характеризовалась первичной вирусной пневмонией с выраженным респираторным син-

дромом. Летальность среди заболевших составляла около 10 % [5].

Ретроспективный анализ установил, что SARS-CoV относительно недавно появился в человеческой популяции из зооозного резервуара [5].

После пандемии ТОРС были идентифицированы еще два человеческих коронавируса, NL63 и HKU1, вызывающие заболевания верхних и нижних дыхательных путей человека. Филогенетический анализ выявил, что эти коронавирусы циркулировали в человеческой популяции длительное время.

25 сентября 2012 г. ВОЗ сообщила о выявлении нового коронавируса, возбудителя тяжелой респираторной инфекции, сопровождающейся лихорадкой, респираторными симптомами, носовыми кровотечениями, пневмонией. Случаи заболевания были ассоциированы с постоянным пребыванием или посещением стран Аравийского полуострова (Саудовская Аравия и Катар). Секвенирование полученного из проб пациента возбудителя¹ в Медицинском Центре Эразма Роттердамского (ЕМС) в г. Роттердам (Нидерланды) позволило открыть новый коронавирус человека, впоследствии получивший название «коронавирус – возбудитель Ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV)» [6].

Установлены случаи MERS при отсутствии каких бы то ни было контактов с животными², что указывает на возможность трансмиссии от человека к человеку [7, 8]. Более того, вероятно, что инфекция от человека к человеку передается респираторным путем [9].

В 2013–2019 гг. случаи MERS, кроме стран, расположенных на Аравийском полуострове, были выявлены в Германии, Греции, Италии, Франции, Бельгии, Нидерландах, Люксембурге, Алжире, Египте, США, Австралии, Южной Кореи, Китае. Все первичные случаи заболевания в том или ином регионе были так или иначе связаны с посещением стран Ближнего Востока³. Для эпидемиологической характеристики заболевания это имеет весьма важное значение, так как Саудовскую Аравию во время хаджа ежегодно посещают миллионы мусульман, проживающих во многих странах [10–13]. Если число случаев заболевания в европейских странах³ и США является ограниченным [11], то во время вспышки MERS в Южной Корее выявлено в общей сложности 169 лабораторно подтвержденных случаев заболевания [13].

¹ Health Protection Agency. A Case of novel coronavirus identified in the UK. 11 February 2013. URL: http://www9.who.int/csr/don/2013_02_11b/en/ (дата обращения: 28.02.2020).

² Novel coronavirus - Saudi Arabia. URL: <https://promedmail.org/promed-post/?id=2390003> (дата обращения: 28.02.2020).

³ European Center for Disease Prevention and Control, Stockholm, 2018. Severe respiratory disease associated with MERS coronavirus (MERS-CoV). URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/rapid-risk-assessment-severe-respiratory-disease-associated-middle-east-11> (дата обращения: 28.02.2020).

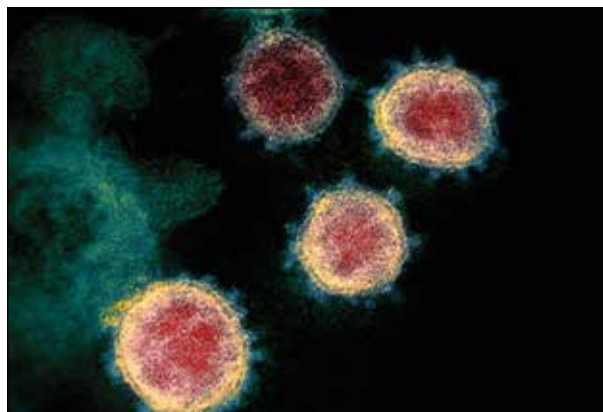
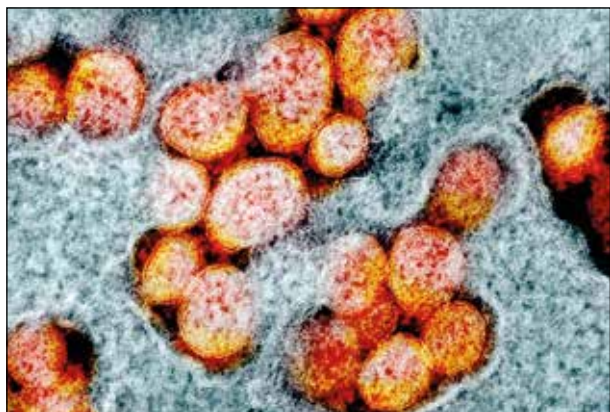


Рисунок 1 – Фотографии вирионов коронавируса, сделанные при электронной микроскопии инфицированной культуры клеток^{1,2}

¹ URL: <https://news.mail.ru/society/41028456/gallery/1028904/> (дата обращения: 28.02.2020).

² URL: <https://news.mail.ru/society/41028456/gallery/1028906/> (дата обращения: 28.02.2020).

Всего по состоянию на 3 февраля 2020 г. зарегистрировано 2499 лабораторно подтвержденных случаев заболеваний, вызванных вирусом MERS, из которых 861 завершились летальным исходом⁴.

Периодически возникающие случаи MERS вызывают тревогу органов здравоохранения в глобальном масштабе, поскольку они служат напоминанием о потенциальной угрозе коронавирусов для здравоохранения, отмеченной после вспышки SARS в 2003 году [10].

Следовательно, к концу 2019 года было выявлено шесть патогенных для человека коронавирусов, у каждого из которых установлена передача от человека к человеку.

1 декабря 2019 г. в г. Ухань (КНР) зарегистрирован первый случай пневмонии неясной этиологии, 31 декабря 2020 г. власти КНР известили ВОЗ о вспышке нового заболевания [14, 15]. Ухань – 7-й по численности город КНР, расположенный в центральной части страны примерно в 800 км к западу от Шанхая и 960 км к северу от Гонконга, его население составляет более 11 млн человек. Город является крупным транспортным логистическим узлом, через который проходят многие маршруты не только внутренних, но и международных пассажиропотоков.

Ухань имеет прямое воздушное сообщение с Москвой, Парижем, Лондоном, Римом. Туда ежегодно прилетают 6–65 тыс. граждан США, причем пик посещаемости приходится на январь (празднование Нового года по лунному кален-

дарю). Ухань в ходе деловых и туристических поездок часто посещают граждане РФ.

Клинические признаки заболевания – новой коронавирусной пневмонии – лихорадка, в ряде случаев затрудненное дыхание, при рентгенографии грудной клетки интенсивные пневмонийные инфильтраты [14].

В соответствии с данными предварительных эпидемиологических исследований, большинство подтвержденных случаев заболевания зарегистрированы у рабочих Южно-китайского оптового рынка морепродуктов в Ухане и покупателей, часто посещающих данный рынок. С высокой долей вероятности установлено, что вспышка ассоциирована с рынком морепродуктов, на котором также продавали цыплят, кошек, фазанов, летучих мышей, сурков, ядовитых змей, тушки кроликов и различных диких животных. Указанный рынок морепродуктов был закрыт только 1 января 2020 г.

К началу 2020 г. поступила информация о 27 случаях заболевания. В КНР проведены исследования по идентификации этиологического агента заболевания^{5,6}. На первом этапе были исключены такие респираторные патогены, как возбудители сезонного гриппа, гриппа А (H5N1), коронавирусы MERS-CoV и SARS-CoV, аденовирусы⁶ [16].

7 января поступило сообщение о том, что возбудителем пневмонии неизвестной этиологии в КНР является новый коронавирус. Вирусная РНК выделена от 15 больных, от 5 пациентов выделен биологически активный вирус.

⁴ World Health Organization. Middle East respiratory syndrome (MERS-CoV). URL: <https://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/> (дата обращения: 28.02.2020).

⁵ Novel Coronavirus – China. URL: <https://www.who.int/csr/don/12-january-2020-novel-coronavirus-china/en/> (дата обращения: 28.02.2020).

⁶ Wuhan Health Commission: Pneumonia Cases Increase To 44, 11 Severe. URL: <https://afludiarly.blogspot.com/2020/01/wuhan-health-commission-pneumonia-cases.html> (дата обращения: 28.02.2020).

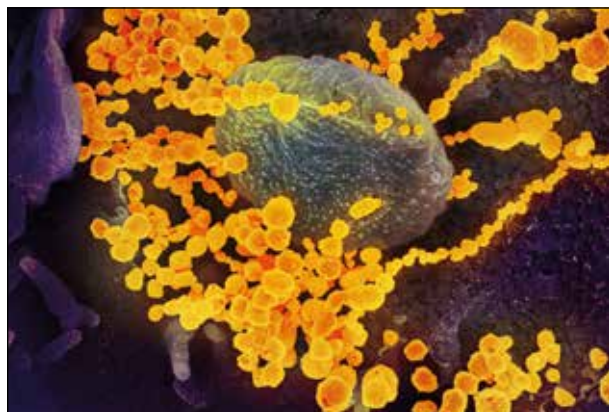


Рисунок 2 – Выход вирионов коронавируса из инфицированных клеток¹

¹ <https://news.mail.ru/society/41028456/gallery/1028899/> (дата обращения: 20.02.2020).

При электронной микроскопии возбудителя, выделенного из клинических проб, установлена морфология, характерная для коронавирусов (рисунки 1 и 2)^{7,8,9,10} [цит. по 17].

Проведено частичное, а затем и полногеномное секвенирование геномной РНК нового коронавируса [18], сначала получившего предварительное название 2019-nCoV⁷, а 12 февраля 2020 г. ВОЗ утвердила название возбудителя как вирус SARS-CoV-2¹¹ [15]. Размер генома составил 29903 н.о. Структура генома сходна с таковой для других коронавирусов: 5'-нетранслируемый регион (№ позиций генома 1-265), гены репликазного комплекса (открытые рамки считывания ORF-1A, № позиций генома 266-13468) и ORF-1B (13468-21555), ген S (21563-25384), ген ORF-3A (25393-26220), ген E (26245-26472), ген M (26523-27191), ген ORF-6 (27202-27387), ген ORF-7 (27394-27759), ген ORF-8 (27894-28259), ген N (28274-29533), ген ORF-10 (29556-29674), 3'-нетранслируемый регион (29675-29903) [15, 18].

Последовательность геномной РНК вируса SARS-CoV-2 сходна с таковой для коронавирусов, выделенных от летучих мышей (уровень гомологии более 90 %), но отличается от MERS-CoV и SARS-CoV (рисунок 3). Уровень гомологии с SARS-CoV не более 80 %⁷.

Генетический анализ 103 проанализированных изолятов вируса SARS-CoV-2 позволил выявить две линии, более вирулентную для че-

ловека линию L и менее вирулентную линию S. Линия S является предком линии L. Полногеномное секвенирование показало, что геномы данных линий различаются заменами в позициях 8782 (ген ORF-1A) и 28144 (ген ORF-8). Замена в позиции 8782 (линия S-T, линия L-C) является синонимической. Замена в позиции 28144 (линия S-C, линия L-T) приводит к замене серина (для линии S) в позиции 84 аминокислотной последовательности белка, кодируемого геном ORF-8 на лейцин (для линии L) [19].

Примерно до 19 января 2020 г. возможность трансмиссии возбудителя заболевания от человека к человеку оставалась неустановленной. Во всяком случае, власти КНР заявляли, что среди 763 лиц, тесно контактировавших с заболевшими, в том числе и 419 медицинских работников, новых случаев заболевания зарегистрировано не было [15]. Отсутствие на тот момент случаев заболевания среди медицинских работников следует особо подчеркнуть. Это можно объяснить либо тем, что уровень возможной трансмиссии возбудителя от больного человека здоровому на первом этапе вспышки являлся весьма ограниченным, либо тем, что медицинские службы КНР учли опыт вспышки SARS 2003 года и заранее приняли необходимые меры предосторожности.

Полученные в результате секвенирования данные послужили основой для разработки наборов реагентов для выявления и идентификации возбудителя нового коронавирусного заболевания во многих странах, в том числе и в России⁸.

На основании полученной информации, ВОЗ опубликовала протокол для диагностического тестирования заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, разработанный группой вирусологов госпиталя Charité [20], в котором было предложено для проведения диагностики в качестве клинических проб использовать носоглоточные смывы и сыворотки крови, взятые в острый период заболевания и у реконвалесцентов⁸.

Специалисты по материалам вспышки COVID-19 посчитали возможным провести разделение эпидемического процесса на три этапа. Первый этап вспышки характеризовался примерно одинаковым количеством зарегистрированных случаев заболевания, малым числом случаев заболевания за пределами г. Ухань, отсутствием убедительных свидетельств трансмиссии вируса от человека к человеку. Основанием

⁷ CDC Novel coronavirus, (2019-nCoV) Wuhan, China. URL: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/summary.html> (дата обращения: 28.02.2020).

⁸ URL: <https://news.mail.ru/society/41028456/gallery/1028904/> (дата обращения: 28.02.2020).

⁹ URL: <https://news.mail.ru/society/41028456/gallery/1028906/> (дата обращения: 28.02.2020).

¹⁰ URL: <https://news.mail.ru/society/41028456/gallery/1028899/> (дата обращения: 20.02.2020).

¹¹ Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) WHO Interim guidance 14 January 2020. URL: <https://regnum.ru/news/society/2832232> (дата обращения: 28.02.2020).



Опасения эпидемиологов полностью подтвердились после 20 января 2020 г., когда произошел качественный скачок по оценке эпидемической опасности заболевания (второй этап вспышки). В этот день власти КНР заявили об уже 217 подтвержденных случаях заболевания,

Динамика роста числа выявленных случаев заболевания в период с 21 января по 13 февраля 2020 г. представлена в таблице 2. Для обработки поступающих данных был проведен расчет ежедневного коэффициента роста интегральной величины выявленных случаев заболевания (DI) по формуле (1):

где: N_i – интегральная величина количества выявленных случаев заболевания на данный день;
 N_{i-1} – интегральная величина количества выявленных случаев заболевания на предшествующий день.

25

Таблица 1 – Хронология вспышки заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, за период с 12 декабря 2019 г. по 20 января 2020 г.

Дата	Событие	Источник
12.12.2019	Появление первого случая заболевания (по данным ретроспективной диагностики)	14, 15
31.12.2019	Зарегистрировано 27 случаев заболевания, о вспышке информирована ВОЗ	22, 23, ¹³
01.01.2020	Рынок морепродуктов в г. Ухань закрыт	¹⁰
05.01.2020	Общее количество случаев заболевания достигло 59 человек. Под наблюдением – 163 человека. В качестве возможных этиологических агентов рассмотрены возбудители MERS, SARS, сезонного гриппа, гриппа А (H5N1)	^{14,15}
07.01.2020	Установлен этиологический агент заболевания – новый коронавирус	¹⁶
09.01.2020	Зарегистрирована первая гибель человека от заболевания	22
13.01.2020	Первый случай заболевания за пределами КНР (Таиланд)	¹⁷
15.01.2020	ВОЗ рекомендован протокол для проведения лабораторной диагностики	20
20.01.2020	Заболевание отмечено у 14 медицинских работников, контактировавших с больными (подтверждение возможности передачи заболевания от человека к человеку)	21

Как следует из данных, представленных в таблице 2, число выявленных случаев заболевания на i -е сутки, в подавляющем большинстве случаев попадает в рамки доверительного интервала, рассчитанного по состоянию на $(i-1)$ сутки. Показатель DI позволяет отслеживать динамику развития эпидемической вспышки. При устойчивом снижении данного показателя в течение 4 и более суток можно приблизительно определить возможное время ликвидации вспышки (значение DI – 1,00).

Для расчета можно использовать эмпирически установленную формулу (2):

$$DI_{(i)} = 1 + (DI_{(i-1)} - 1) / \sqrt{i}, \quad (2)$$

где $DI_{(i)}$ и $DI_{(i-1)}$ – значения показателя DI на первые и i -е сутки соответственно.

При использовании этой формулы, при задании фиксированных значений показателя $DI_{(i)}$, можно ориентировочно рассчитать время достижения данного показателя по формуле (3):

$$i = [(DI_{(i)} - 1) / (DI_{(i-1)} - 1)]^2, \quad (3)$$

При этом за первый день следует брать дату, после которой отчетливо выявлена тенденция к снижению показателя DI .

Расчет по данным изменения показателя DI за период с 28 января по 13 февраля позволяет высказать предположение, что ориентировочная дата завершения вспышки в КНР (после которой возможно появление лишь отдельных спорадических случаев заболевания) – 28–29 марта 2020 г., сокращение указанного срока возможно за счет интенсификации проводимых противоэпидемических мероприятий. Отмена 25 марта 2020 г. карантина в эпицентре вспышки в КНР – провинции Хубэй, а также прозвучавшие 29 марта 2020 г. заявления властей КНР о завершении активной фазы вспышки COVID-19 в стране в целом подтверждают корректность использованной методики расчета (для эпицентра вспышки).

Однако к 13 февраля 2020 г. случаи заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, зарегистрированы, кроме материкового Китая (заболевание в КНР зарегистрировано во всех 33 административных районах, в том числе в грани-

¹³ Undiagnosed pneumonia – China (HUBEI): wildlife sales, market closed, RFI. Pro-MED-mail. International Society for Infectious Diseases. URL: <https://promedmail.org/?lang=soas> (дата обращения: 18.01.2020).

¹⁴ Mystery pneumonia virus probed in China. BBC News. 3 January 2020. URL: <https://crystalweb.com/news/world/mystery-pneumonia-virus-probed-in-china/> (дата обращения: 0.02.2020).

¹⁵ 2019-20 outbreak of novel coronavirus (2019-nCoV). URL: [https://org/wiki/2019-20_outbreak_of_novel_coronavirus\(2019-nCoV\)](https://org/wiki/2019-20_outbreak_of_novel_coronavirus(2019-nCoV)) (дата обращения: 15.02.2020).

¹⁶ Outbreak of Pneumonia of Unknown Etiology (PUE) in Wuhan, China. Centers for Disease Control and Prevention. 8 January 2020. URL: <https://emergency.cdc.gov/han/han00424.asp>.

¹⁷ Pneumonia of unknown cause – China. Disease outbreak news. World Health Organization. 5 January 2020. URL: <https://www.who.int/csr/don/05-january-2020-pneumonia-of-unknown-cause-china/en/> (дата обращения: 10.02.2020).

Таблица 2 – Динамика роста числа выявленных случаев заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, во время второго этапа вспышки

Дата	Ni-	DI	Ni (I95, прогнозная величина по данным на (i-1) день)
21.01.2020	235	-	-
22.01.2020	367	1,56	-
23.01.2020	574	1,56	558–586
24.01.2020	895	1,56	873–917
25.01.2020	1408	1,57	1370–1440
26.01.2020	2120	1,50	2155–2265
27.01.2020	2902	1,37	3001–3259
28.01.2020	4633	1,60	3877–4075
29.01.2020	6196	1,34	7228–7598
30.01.2020	8235	1,32	8095–8511
31.01.2020	9939	1,21	10598–11142
01.02.2020	12038	1,21	11725–12337
02.02.2020	14638	1,22	14202–14930
03.02.2020	17486	1,19	17492–18304
04.02.2020	20630	1,18	20288–21328-
05.02.2020	24582	1,19	23734–24491
06.02.2020	28634	1,17	28252–29984
07.02.2020	31538	1,10	32663--34339
08.02.2020	34957	1,11	34001–35741
09.02.2020	37558	1,08	37779–39715
10.02.2020	40554	1,08	39553–41581
11.02.2020	43102	1,06	42703–44891
12.02.2020	45171	1,05	44545–46830
13.02.2020	48076	1,06	46283–48616

Примечание.
Прогнозную интегральную величину числа выявленных случаев заболевания на i день рассчитывали, исходя из величин Ni и DI на i-1 день.

чащих с РФ провинции Хэйлунцзян, Внутренней Монголии, Синьцзян-Уйгурском автономном округе и Гирине), еще в 26 странах (Таиланд, Гонконг, Австралия, Малайзия, Сингапур, Тайвань, Франция, Япония, Вьетнам, Макао, Южная Корея, Филиппины, Камбоджа, США, Канада, Непал, Объединенные Арабские Эмираты, Германия, Италия, Бельгия, Финляндия, Россия, Испания, Швеция, Великобритания, Шри Ланка).

ВОЗ предупредила о возможности возникновения новых заболеваний, вызванных вирусом, в других странах. К сожалению, данный прогноз полностью оправдался.

С конца февраля 2020 г. можно говорить о третьем этапе вспышки COVID-19. Данный период характеризуется тем, что количество новых случаев заболевания, зарегистрированных за

пределами КНР, выше, чем аналогичный показатель КНР. Быстрое распространение заболевания привело к тому, что 11 марта 2020 г. ВОЗ объявила о пандемии COVID-19. На 2 апреля 2020 г. общее количество подтвержденных случаев COVID-19 составило 950063. При этом в перечне стран с наибольшим уровнем заболеваемости КНР (примерно 81 тыс. подтвержденных случаев) уже занимает только четвертое место после США (более 200 тыс. случаев), Италии и Испании (более 100 тыс. случаев). Общее количество летальных исходов при COVID-19 на 2 апреля 2020 г. достигло 48259 (19 % от завершившихся либо выздоровлением, либо смертью больного случаев).

Не исключена возможность, что переход эпидемической опасности COVID-19 на более высокий качественный уровень связан с эволюци-



Рисунок 4 – Китайский панголин (*Manis pentadactyla*) – вероятный промежуточный хозяин вируса SARS-CoV-2¹²

¹ <https://avatars.mds.yandex.net/get-pdb/1648714/366002d5-dba0-4656-bde5-d48295bb04ef/s1200?webp=false> (дата обращения: 10.02.2020).

² Выявлен вероятный промежуточный хозяин вируса COVID-2019. Электронный ресурс: <https://m.vz. Ru/news/ 2020> (дата обращения: 10.02.2020).

онными изменениями генома возбудителя в ходе пассажа через человека (появление линии L вируса SARS-CoV-2). Однако поскольку у изолятов вируса SARS-CoV-2, выделенных от больных с заболеванием различной степени тяжести, проходивших лечение в одном и том же медицинском учреждении, могут отсутствовать значимые генетические различия, можно сделать вывод, что основным фактором, определяющим тяжесть заболевания человека, является его физическое состояние и, возможно, иммунный статус.

При анализе свойств новых коронавирусов – возбудителей опасных и особо опасных эмерджентных вирусных инфекций XXI века, можно сделать вывод, что зоонозная трансмиссия коронавирусов животных могла стать причиной новых опасных инфекционных заболеваний человека. При этом необходимо рассмотреть при-

родный резервуар возбудителей. Для вирусов MERS-CoV, SARS-CoV и, по косвенным данным, вируса SARS-CoV-2 – это рукокрылые [16, 24]. В качестве промежуточного хозяина для SARS-CoV были идентифицированы кошки циветты [25], для MERS-CoV – верблюды-дромадеры [7]. Для вируса SARS-CoV-2 промежуточным хозяином, предположительно, являются панголины из отряда плацентарных млекопитающих, близкие к броненосцам и муравьедам. Геномная последовательность коронавируса панголинов на 99 % идентична последовательности генома коронавируса человека SARS-CoV-2 (рисунок 4)^{18,19}.

Для всех рассмотренных коронавирусов – возбудителей опасных эмерджентных заболеваний – может быть предложена одна и та же модель формирования вспышки (таблица 3).

При анализе схемы формирования вспышек опасных коронавирусных заболеваний следует обратить внимание на такой компонент вспышки, как промежуточный хозяин. Выявление в качестве такового кошек циветты при вспышке SARS в 2003 году внесло значительный вклад в борьбу с распространением инфекции. Контакты человека с промежуточным резервуаром MERS – верблюдами-дромадерами в странах Аравийского полуострова являются обыденным явлением, но имеющаяся информация о данных животных, как составляющих компонентах эпидочага, по крайней мере, позволяет определить возможные группы риска.

Важная отличительная характеристика COVID-19 по сравнению с SARS и, особенно, MERS – в ходе развития вспышки заболевание преимущественно переходит в типичный антропоноз (человек является и резервуаром возбудителя, и вектором передачи, и восприимчивым объектом).

Для оценки опасности заболеваний, вызываемых новыми коронавирусами, необходимо

Таблица 3 – Схема возникновения вспышек заболевания, вызываемых вирусами MERS-CoV, SARS-CoV и SARS-CoV-2 [7, 25]

Составляющий компонент вспышки	Характеристика компонента для		
	MERS	SARS	COVID-19
Природный резервуар возбудителя	Рукокрылые		
Промежуточный хозяин	Верблюды дромадеры	Кошки циветты	Предположительно панголины?
Восприимчивый коллектив	Первичные случаи заболевания человека (от промежуточного хозяина). Вторичные случаи заболевания – заражение от больных с клиническими признаками заболевания, возможно, и от носителей вируса с отсутствием симптомов заболевания		

¹⁸ <https://avatars.mds.yandex.net/get-pdb/1648714/366002d5-dba0-4656-bde5-d48295bb04ef/s1200?webp=false> (дата обращения: 10.02.2020).

¹⁹ Выявлен вероятный промежуточный хозяин вируса COVID-2019. Электронный ресурс: <https://m.vz. Ru/news/ 2020> (дата обращения: 10.02.2020).

оценить потенциальные видовые барьеры. Эпителий дыхательных путей человека представляет собой входные ворота и первичную мишень для респираторных вирусов, в том числе и для патогенных для человека коронавирусов. При этом рецепторы для каждого отдельного вируса могут быть различными²⁰.

Идентификация хозяйского клеточного рецептора, используемого каждым конкретным коронавирусом, поможет обеспечить понимание патогенеза легочного и почечного заболевания, а также позволит предложить эффективные способы лечения. Для вируса SARS-CoV-2 установлено, что рецептор-связывающий S-белок имеет высокую аффинность к ангиотензин-превращающему ферменту 2 (АПФ2) человека и так же, как и SARS-CoV, может использовать его для входа в чувствительные клетки.

Если к настоящему времени уже разработаны средства выявления и идентификации вируса SARS-CoV-2, то разработка средств специфической профилактики и лечения еще, по сути дела, находится на начальном этапе. По оптимистическим прогнозам, вакцина против COVID-19 может быть готова для применения только в конце 2020 года. Поэтому основным инструментом борьбы с пандемией COVID-19

сейчас являются санитарно-эпидемические мероприятия, в частности, введение режима карантина и самоизоляции.

Выводы

1. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19) заняла ведущее место в группе опасных эмерджентных вирусных инфекций XXI века.

2. Для всех рассмотренных коронавирусных инфекций характерен общий механизм формирования эпидемических вспышек. Причиной COVID-19, как и других эмерджентных коронавирусных заболеваний человека (SARS и MERS), могла стать зоонозная трансмиссия коронавирусов животных.

3. Развитие транспортного и пассажирского потоков обеспечивает быстрое проникновение возбудителей в неэндемичные регионы с последующим формированием вспышек коронавирусных инфекций и перерастанием их в пандемию.

4. Для понимания эпидемиологии заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, требуется постоянный мониторинг поступающей информации, в частности, сведений по выявлению естественного хозяина (природного резервуара) возбудителя, любых возможных промежуточных хозяев, установлению способа инфицирования при первичных (от зоонозного резервуара) и вторичных (при передаче от человека к человеку) случаях заболевания.

²⁰ WHO. Epidemiological update: additional confirmed cases of novel coronavirus including sixth case diagnosed in Europe. URL: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200126-sitrep-6-2019--ncov.pdf> (дата обращения: 28.02.2020).

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

1. De Groot R.J. Family Coronaviridae // Virus taxonomy, the 9th report of the international committee on taxonomy of viruses / Ed. King AMQ, Adams M.J., Cartens E.B., Lefkowitz E.J. San Diego: Academic Press, 2012. P. 806–828.
2. Gorbalenya A.E., Enjuanes L., Ziebuhr J., Snijder E.J. Nidovirales: evolving the largest RNA virus genome // Virus Res. 2006. V. 117. P. 17–37. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2006.01.017>
3. Masters P.S. The molecular biology of coronaviruses // Adv. Virus Res. 2006. V. 66. P. 193–292. [https://doi.org/10.1016/S0065-3527\(06\)66005-3](https://doi.org/10.1016/S0065-3527(06)66005-3)
4. Snijder E.J., Bredenbeek P.J., Dobbe J.C. et al. Unique and conserved features of genome and proteome of SARS-coronavirus, an early split-off from the coronavirus group 2 lineage // J. Mol. Biol. 2003. V. 331. P. 991–1004. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(03\)00865-5](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(03)00865-5)
5. Peiris J.S., Yuen K.Y., Osterhaus A.D., Stohr K. The severe acute respiratory syndrome // N. Engl. J. Med. 2003. V. 349. № 25. P. 2431–2441. <https://doi.org/10.1056/nejmra032498>
6. Zaki A.M., van Boheemen S., Bestebroer T.M. et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia // N. Engl. J. Med. 2012. V. 367. № 19. P. 1814–1820. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1211721>
7. Al Barrak A.M., Stephens G.M., Hewson R. et al. Recovery from severe novel coronavirus infection // Saudi Med. J. 2012. V. 33. P. 1265–1269. PMID:23232672.
8. Pollack M.P., Pringle C., Madoff L.C.,

Memish Z.A. Latest outbreak news from ProMED-mail: novel coronavirus – Middle East // J. Infect. Dis. 2013. V.17. P. 143–144. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2012.12.001>

9. Khan G. A novel coronavirus capable of lethal human infections: an emerging picture // Virol. J. 2013. V. 10. P. 66. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-10-66>

10. Bermingham A., Chand M.A., Brown C.S., Aarons E. et al. Severe respiratory illness caused by a novel coronavirus, in a patient transferred to the United Kingdom from the Middle East, September 2012 // Euro Surveill. 2012. V. 17. № 40. P. 20290. PMID:23078800

11. Kossyvakis A., Tao H., Li X., Podka V. et al. Laboratory investigation and phylogenetic analysis of an imported MERS coronavirus. Case in Greece // PLoS One. 2015. V. 10, № 4. e0125809. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125809>

12. Su S., Wong G., Liu Y., Gao G.F. et al. MERS in South Korea and China: a potential outbreak threat? // Lancet. 2015. V. 385. P. 2349–2350. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60859-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60859-5)

13. Nishiura H., Endo A., Saitoh M., Kinoshita R. et al. Identifying determinants of heterogeneous transmission dynamics of the MERS outbreak in the Republic of Korea, 2015: a retrospective epidemiological analysis // BMJ Open 2016. V. 6. P. 1–10. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2015-009936>

14. Shih G., Sun L.H. Specter of possible new virus emerging from central China raises alarms across Asia. Washington Post. URL: <https://flipboard.com/@WashPost/specter-of-possible-new-virus-emerging-from-central-china-raises-alarms-across-a/a-LVUQPrl5Qi6rS4m5HImRlg%3Aa%3A419161690-66088e4a98%2Fwashingtonpost.com> (дата обращения: 09.01.2020).

15. Hu D.S., Azhar E.I., Madani T.A. et al. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses in global health – The latest 2019 novel coronavirus outbreak to Wuhan China // Int. J. Infect. Dis. 2020. V. 91. P. 264–266. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.01.009>

16. Lu H., Stratton C.W., Tang Y.W. Outbreak pneumonia of unknown etiology in Wuhan China & the mystery and the Miracle // J. Medical Virology. 2020. V. 92, № 4. P. 401–402. <https://doi.org/10.1002/jmv.25678>

17. Zhu N., Zhang D., Wang W. et al. A Novel coronavirus from patients with pneumonia in China,

2019 // N. Engl. J. Med. 2020. V. 382, № 8. P. 727–733 <https://doi.org/10.1056/nejmoa2001017>

18. Wu F., Zhao S., Yu B., Chen Y.M. et al. Wuhan seafood market pneumonia virus isolate Wuhan-Hu-1, complete genome. NCBI Reference Sequence: NC_045512.2. Journal Unpublished. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MN908947> (дата обращения: 15.01.2020).

19. Tang X., Wu C., Li X. et al. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa036>. URL: <https://academic.oup.com/nsr/advance-article/doi/10.1093/nsr/nwaa036/5775463> (дата обращения: 09.03.2020).

20. Qin A., Hernández J.C. China reports first death from new virus. URL: [https://www.wikizero.com/en/2019%E2%80%9320_outbreak_of_novel_coronavirus_\(2019-nCoV\)](https://www.wikizero.com/en/2019%E2%80%9320_outbreak_of_novel_coronavirus_(2019-nCoV)) (дата обращения: 12.01.2020).

21. Gan N., Xiong Y., Mackintosh E. China confirms new coronavirus can spread between humans. CNN. URL: <https://edition.cnn.com/2020/01/19/asia/china-coronavirus-spike-intl-hnk/index.html> (дата обращения: 20.01.2020).

22. Schnirring L. Virologists weigh in on novel coronavirus in China's outbreak. CIDRAP. (8 January 2020). URL: <http://www.cidrap.umn.edu/news-perspective/2020/01/virologists-weigh-novel-coronavirus-chinas-outbreak> (дата обращения: 10.01.2020).

23. Imai N., Dorigatti I., Cori A. et al. Estimating the potential total number of novel Coronavirus cases in Wuhan City, China. Imperial College London. Retrieved 18 January 2020. URL: <https://www.imperial.ac.uk/media/imperial-college/medicine/sph/ide/gida-fellowships/2019-nCoV-outbreak-report-17-01-2020.pdf> (дата обращения: 19.01.2020).

24. Li W., Shi Z., Yu M. et al. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses // Science. 2005. V. 310. № 5748. P. 676–679. <https://doi.org/10.1126/science.1118391>

25. Guan Y., Zheng B.J., He Y.Q. et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China // Science. 2003. V. 302. P. 276–278. <https://doi.org/10.1126/science.1087139>

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, 141306, г. Сергиев Посад, ул. Октябрьская, д. 11.

Сизикова Татьяна Евгеньевна. Научный сотрудник, канд. биол. наук.

Карулина Наталья Васильевна. Младший научный сотрудник.

Петров Александр Анатольевич. Начальник научно-исследовательского отдела, д-р. мед наук.

Лебедев Виталий Николаевич. Ведущий научный сотрудник, д-р биол. наук, проф.

Борисевич Сергей Владимирович. Начальник Федерального государственного бюджетного учреждения «48 ЦНИИ» Минобороны России, д-р биол. наук, проф., чл.-корр. РАН.

Контактная информация для всех авторов: 48cnii@mail.ru
Контактное лицо: Борисевич Сергей Владимирович; 48cnii@mail.ru

Novel dangerous emergent coronavirus infection

T.E. Sizikova, N.V. Karulina, A.A. Petrov, V.N. Lebedev, S.V. Borisevich

*Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute»
of the Ministry of the Defence of the Russian Federation, Oktyabrskiy Street 11,
Sergiev Posad 141306, Russian Federation*

The genetic diversity of coronaviruses and their variability are provided by high frequency of recombination of their genomic RNA that assists spontaneous emergence of viruses with new characteristics, which potentially may be agents of novel extremely dangerous and exotic infectious diseases. In December 2019 – January 2020 the novel coronavirus disease, caused by SARS-CoV-2 virus, subsequently named COVID-19 (Corona Virus Disease 2019), was revealed in China. The aim of this work is to analyze the possible mechanism of COVID-19 outbreak and the properties of the possible etiological agent of the disease, SARS-CoV-2 virus. A comparison of zoonotic reservoirs of highly pathogenic human coronaviruses, agents of severe acute respiratory syndrome (SARS), Middle East respiratory syndrome (MERS) and SARS-CoV-2, as well as the clinical signs of the diseases, caused by them, are presented. The possible mechanism of epidemic outbreaks is considered. The chronology of COVID-19 outbreak (later escalated into a pandemic) from the beginning of December to the end of March, taxonomical and molecular-biological characteristics of etiological agent of disease, SARS-CoV-2 virus, and its place on phylogenetic tree of coronaviruses are presented. The main directions of the struggle with the spread of the infection are considered.

Keywords: Middle East Respiratory Syndrome (MERS); coronavirus SARS-CoV-2; coronaviruses; novel coronavirus disease (COVID-19); Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS); emergent viral diseases.

For citation: Sizikova T.E., Karulina N.V., Petrov A.A., Lebedev V.N., Borisevich S.V. Novel dangerous emergent coronavirus infection // *Journal of NBC Protection Corps*. 2020. V. 4. № 1. P. 21–31. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-4-1-21-31>.

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

References

See P. 21–31.

Authors

Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of the Defence of the Russian Federation. Oktyabrskiy Street 11, Sergiev Posad 141306, Russian Federation.

Tatyana Eugenievna Sizikova. Researcher. Candidate of Biological Sciences.

Natalya Vasilievna Karulina. Junior Researcher.

Alexander Anatolievich Petrov. Head of the Department. Doctor of Medicinal Sciences

Vitaly Nikolayevich Lebedev. Leading Researcher. Doctor of Biological Sciences, Professor.

Sergey Vladimirovich Borisevich. Head of the FSBE «48 Central Scientific Research Institute». Doctor of Biological Sciences, Corresponding Member of RAS.

Contact information for all authors: 48cnii@mil.ru

Contact person: Sergey Vladimirovich Borisevich; 48cnii@mil.ru

Новый коронавирус SARS-CoV-2 в аспекте глобальной эпидемиологии коронавирусных инфекций

© АВТОР, 2020

УДК 614.446

<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-4-1-32-65>

М.В. Супотницкий

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации
(27 НЦ МО РФ), 105005, Российская Федерация,
Москва, Бригадирский переулок, д. 13

Поступила 30.03.2020 г. Принята к публикации 10.04.2020 г.

Кажущееся неожиданным появление в КНР и затем глобальное распространение SARS-CoV-2 заставляет задуматься о коронавирусной угрозе, исходящей из природных очагов, на территории нашей страны. *Цель работы* – рассмотреть SARS-CoV-2 в аспекте глобальной эпидемиологии коронавирусных инфекций. При подготовке статьи в основном использовались данные китайских ученых, опубликованные в англоязычных научных журналах. Их анализ показал широкое распространение вирусов данного таксона среди летучих мышей и ежей, в том числе в природных экосистемах Европы. До настоящего времени промежуточный между летучими мышами и человеком вид-хозяин SARS-CoV-2 и промежуточный вид коронавируса – прямой предшественник SARS-CoV-2, не обнаружены. Основная часть генома коронавирусов консервативна, однако он легко поддается генетическим рекомбинациям в естественных условиях, так что вирус может быть перенацелен как в естественных, так и в искусственных условиях с диких животных на человека путем изменения структуры белка S1. Патогенез коронавирусных инфекций у человека, вызывающих тяжелый острый респираторный синдром (SARS), складывается из этапов специфического узавания вирусом рецепторов на клетках-мишенях в нижних отделах легких, проникновения в клетку-мишень, размножения, генерирования сначала цитокинового шторма, разрушающего нижние отделы легких, затем – феномена антитело-зависимого усиления инфекции, приводящего к изменению тропности вируса и его генерализации в организме человека. Вирулентность для человека у SARS-CoV-2 значительно ниже, чем у коронавирусов, вызвавших SARS в 2002–2003 гг. в Китае и ближневосточный респираторный синдром на Ближнем Востоке в 2012 г. Однако благодаря более высокой устойчивости при проникновении в эндосомы клетки и эффективной работе репликационно-транскрипционного комплекса, обеспечивается его размножение до количеств, позволяющих ему передаваться от больных людей здоровым. Разные этнические группы могут иметь разную чувствительность к SARS-CoV-2 и отличия в клинической симптоматике, что связано с количеством рецепторов ACE2 на поверхности пневмоцитов II типа, энтероцитов кишечника и сосудистого эндотелия других органов. В статье также приведены клинические наблюдения, сделанные китайскими исследователями во время вспышки коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2. Ими высказано мнение, что эффективная и своевременная диагностика COVID-19 возможна при сочетании молекулярно-диагностических методов обнаружения SARS-CoV-2 с обнаружением характерных пневмонических очагов компьютерной томографией. Несмотря на все трудности борьбы с новой пандемией, она стала той встряской, которая сделала Россию более сильной в противоэпидемическом отношении.

Ключевые слова: альфакоронавирус; атипичная пневмония; бетакоронавирус; дыхательные пути; зооноз; компьютерная томография; коронавирус; межвидовая передача; патогенез; COVID-19; SARS-CoV-2.

Библиографическое описание: Супотницкий М.В. Новый коронавирус SARSCoV-2 в аспекте глобальной эпидемиологии коронавирусных инфекций // Вестник войск РХБ защиты. 2020. Т. 4. № 1. С. 32–65. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-4-1-32-65>

Кажущаяся внезапность эпидемии коронавируса пневмонии в китайском городе Ухань в конце 2019 г., вызванная никому ранее не известным вирусом¹, ее масштаб и постепенное перерастание в пандемию, стали толчком к появлению различных апокалиптических слухов и подозрений в ее искусственном происхождении². Однако проблема коронавирусных заболеваний дыхательных путей существовала и раньше, но из-за их легкого течения не считалась опасной. Вспышки тяжелого острого респираторного синдрома (SARS)³ в 2002–2003 гг. и ближневосточного респираторного синдрома (MERS) в 2012 г. сопровождалась большим количеством летальных исходов среди заболевших, но, все же, имели локальный характер. С пандемическим распространением SARS-CoV-2 ситуация радикально изменилась. Стало ясно, этот вирус является только частью опасного незнания как тех природных резервуаров, где поддерживаются, возможно, еще более опасные коронавирусы, так и механизмов, по которым они образуются, а затем вовлекаются в эпидемические процессы.

Цель работы – рассмотреть коронавирус SARS-CoV-2 в аспекте глобальной эпидемиологии коронавирусных инфекций. При подготовке статьи, в основном, использовались данные китайских ученых, опубликованные в англоязычных научных журналах. С 2002–2003 гг., т.е. после вспышки SARS, ученые КНР являются лидерами в изучении опасных для людей и животных коронавирусных инфекций.

Таксономия и происхождение коронавирусов. Коронавирусы (coronaviruses, CoVs) пред-

ставляют собой сферические частицы размером 80–120 нм в диаметре. Они содержат позитивно-смысловую (positive-sense) одноцепочечную РНК (single-stranded RNA, ssRNA) протяженностью 27–32 т.п.н.⁴, образующую нуклеокапсид. Нуклеокапсид окружен белковой мембраной и липосодержащей внешней оболочкой, от которой отходят булавовидные шиповидные отростки (спайки, spikes), предназначенные для взаимодействия с трансмембранными рецепторами клеток-мишеней. В 1960-х гг. первые обнаруженные коронавирусы относили к ортомиксо- и парамиксовирусам на основании сходства их размера и общности выделения от пациентов с инфекциями дыхательных путей [1]. До начала 1980-х гг. оболочечные вирусы относили к коронавирусам по характерной морфологии, выявляемой электронно-микроскопическим исследованием – далеко отстоящими друг от друга шиповидными отростками, образующими вокруг вирусных частиц «корону» [2] (рисунок 1).

Выделение коронавирусов в отдельный таксон произошло благодаря работам S.G. Siddell соавт. [3], L.S. Sturman и K.V. Holmes [4], установивших их характерные биохимические и таксономические особенности. В настоящее время Международный комитет по таксономии вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) на основе установленных филогенетических связей и структуры генома относит коронавирусы к подсемейству (subfamily) Coronavirinae семейства (family) Coronaviridae порядка (order) Nidovirales. Подсемейство включает в себя четыре рода (genera) – Alphacoronavirus, Betacoronavirus,

¹ Название новой болезни и вызвавшего ее вируса было определено ВОЗ 11.02.2020 г. следующим образом: возбудитель болезни – коронавирус острого респираторного синдрома 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2). Болезнь – коронавирусное заболевание 2019 (Coronavirus Disease 2019, COVID-19). В тексте название вируса выделено жирным шрифтом. Распространение SARS-CoV-2 с указанием количества заболевших (с подтвержденным диагнозом), выздоровевших, находящихся на лечении и погибших по странам отражается в реальном времени на ресурсе Университета Джонса Хопкинса (США) – Coronavirus COVID-19 Global Cases by Johns Hopkins CSSE. URL: <https://gisanddata.maps.arcgis.com/apps/opsdashboard/index.html#/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6> (дата обращения: 29.02.2020).

² Такой точки зрения придерживаются в Иране – см. Coronavirus may be a product of US 'biological attack' aimed at Iran & China, IRGC chief claims. URL: https://www.rt.com/news/482405-iran-coronavirus-us-biological-weapon/?utm_source=miximedia&utm_medium=miximedia&utm_campaign=Miximedia (дата обращения: 07.03.2020).

³ Тяжелый острый респираторный синдром (Severe acute respiratory syndrome, SARS; «атипичная пневмония») – обнаруженное в 2002 г. в южно-китайской провинции Гуандун тяжелое заболевание легких человека. Источником заражения людей стали циветты – дикие хищные зверьки семейства виверровых, внешне похожие одновременно на кошку, енота и гиеновидную собаку. Масса животного достигает 12 кг. Мясо циветт широко употребляется в пищу в Южном Китае и странах Юго-Восточной Азии. Как новую и опасную инфекционную болезнь ТОРС описал итальянский врач Карло Урбани (итал. Carlo Urbani; 1956–2003), умерший 29 марта 2003 г. в Бангкоке от этой болезни.

⁴ Спаренные основания – пара двух азотистых оснований нуклеотидов на комплементарных цепочках нуклеиновых кислот (противоположных ДНК или одинаковых РНК), соединенная с помощью водородных связей. Как единицы измерения название обычно сокращается до «bp» (от англ. base pair). В русскоязычной литературе иногда также используется сокращение п.н. – пара нуклеотидов. Кроме того, применяются производные единицы: т.п.н. (т.п.н.; kilobase, kb) – тысяча пар оснований.

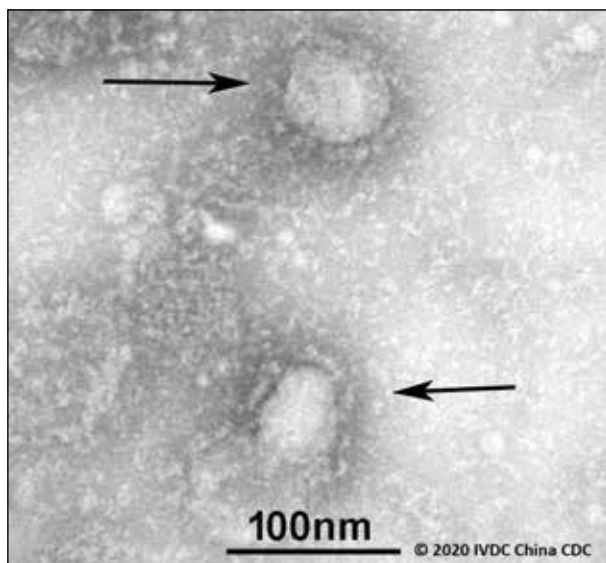


Рисунок 1 – Первое электронно-микроскопическое изображение коронавируса SARS-CoV-2, полученное учеными Китайского центра по контролю и профилактике заболеваний (Chinese Center for Disease Control and Prevention, CCDC). Он имеет круглую или эллиптическую и часто плеоморфную форму. Отчетливо видны шиповидные отростки длиной 9–12 нм, образующие вокруг вирусной частицы «корону». Диаметр вирусной частицы – приблизительно 60–140 нм. Его одноцепочечный РНК-геном содержит 29891 нуклеотидных последовательностей, кодирующих 9860 аминокислот (URL: <https://amp.ibtimes.sg/chinas-cdc-releases-first-image-new-coronavirus-shares-genetic-info-japan-thailand-38238>; дата обращения: 16.02.2020)

Gammacoronavirus и Deltacoronavirus (рисунок 2)⁵.

У млекопитающих инфекционные процессы вызывают альфакоронавирусы и бетакоронавирусы. Перед вспышкой в Ухани были известны шесть видов коронавирусов, вызывающих инфекционный процесс в дыхательных путях человека (human coronavirus, HCoV). Два высокопатогенных для человека вируса, SARS-CoV и MERS-CoV, как и SARS-CoV-2, относятся к бетакоронавирусам. Они инфицируют нижние отделы легких и вызывают тяжелый острый респираторный синдром. Остальные четыре (HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 и HKU1) становятся причиной легких заболеваний верхних дыхательных путей у иммунокомпетентных взрослых людей и тяжелых у детей. Были идентифицированы случайно, как следствие активизации усилий по эпиднадзору.

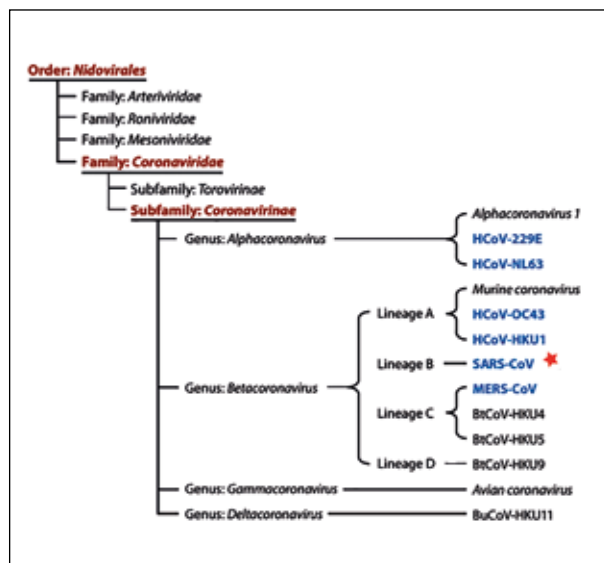


Рисунок 2 – Таксономия коронавирусов до обнаружения SARS-CoV-2. HCoVs выделены синим цветом [5]. В пределах рода Betacoronavirus были выделены линии (lineages) A, B, C и D. В 2018 г. их реклассифицировали в подроды (subgenera) и переименовали: Embecovirus (ранее – линия A), Sarbecovirus (ранее – линия B), Merbecovirus (ранее линия C) и Nobecovirus (ранее – линия D). Дополнительно выделен подрод Hibecovirus [8]. Положение SARS-CoV-2 показано звездочкой – новый вид в пределах известного подрода

Гаммакоронавирусы и дельтакоронавирусы в основном обнаруживают у птиц. Источником коронавирусов для людей считаются животные (рисунок 3). Основные патогенные для людей и животных коронавирусы перечислены в таблице 1.

Исследование генома SARS-CoV-2 не показало чего-то необычного. Первые 10 последовательностей генома SARS-CoV-2, полученные от 9 пациентов, оказались идентичными (99–98 %). При сравнении с геномами других коронавирусов наибольшее сходство с SARS-CoV-2 обнаружено у SARS-подобных вирусов летучих мышей bat-SL-CoVZC45 и bat-SL-CoVZXC21 (88 % идентичность), выделенных в 2018 г. в провинции Чжоушань (восточный Китай). При сравнении с геномами SARS-CoV и MERS-CoV, геномное сходство оказалось меньшим (~79 и 50 % соответственно). Филогенетический анализ также обнаружил сходство SARS-CoV-2 с bat-SL-CoVZC45 и bat-SL-CoVZXC21, а также его значительное отличие от SARS-CoV [9].

Молекулярное моделирование рецептор-связывающих доменов SARS-CoV-2 позволило отнести его к SARS-подобным вирусам

⁵ Когда эта статья версталась, вышла обстоятельная статья М.Ю. Щелканова с соавт. История изучения и современная классификация коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae). <https://doi.org/10.15789/2220-7619-HOI-1412>

Таблица 1 – Основные патогенные коронавирусы*

Вирус	Род	Патогенность	Симптомы
Human CoV-229E	alpha	Человек	Легкие инфекции верхнего респираторного тракта
Human CoV-NL63	То же	Человек	Легкие инфекции верхнего респираторного тракта
PRCV/ISU-1	“-	Свиньи	То же
TGEV/PUR46-MAD	“-	Свинья	Диарея со 100 % летальностью среди поросят менее 2-х недельного возраста
PEDV/ZJU-G1-2013	“-	То же	Тяжело протекающая диарея
SeACoV-CH/GD-01	“-	“-	Тяжелая и острая диарея, острая рвота
SADS-CoV	?	“-	Синдром острой диареи у свиней (Swine acute diarrhea syndrome)
Canine CoV/TU336/F/2008	“-	Собаки	Респираторный коронавирус собак (Canine respiratory coronavirus). Диарея, легкие клинические признаки
Camel alpha-coronavirus isolate camel/Riyadh	“-	Верблюды	Бессимптомно
Feline infectious peritonitis virus	“-	Кошки	Лихорадка, васкулит и серозит, с выпотами или без них
Human CoV-HKU1	beta	Человек	Пневмония
Human CoV-OC43	То же	Человек	Легко протекающие инфекции респираторного тракта
SARS-CoV	“-	То же	Тяжелый острый респираторный синдром (Severe acute respiratory syndrome). В 2002–2003 гг. заболело не менее 8 тыс. человек, 10 % летальность среди заболевших
MERS-CoV	“-	“-	Ближневосточный респираторный синдром (Middle East respiratory syndrome). Не менее 2249 лабораторно подтвержденных случаев инфекции в 27 странах. Первые случаи зарегистрированы в Саудовской Аравии в 2012 г. Летальность среди заболевших 37 %
Bovine CoV/ENT	“-	Крупный рогатый скот	Диарея
Equine CoV/Obihiro12-1	“-	Лошади	Лихорадка, анорексия, лейкопения
MHV-A59	“-	Мыши	Острая пневмония и тяжелая легочная недостаточность
Beluga Whale CoV/SW1	gamma	Белуги	Легочная патология, острая печеночная недостаточность
IBV	То же	Цыплята	Вирус инфекционного бронхита (Infectious bronchitis virus). Острая пневмония
Bulbul coronavirus HKU11	delta	Короткопалые дрозды	Пневмония
Sparrow coronavirus HKU17	То же	Воробьи	То же
Ea-HedCoV HKU31	beta	Амурские ежи	Бессимптомно. Коронавирус ежа <i>Erinaceus amurensis</i> HKU31 (<i>Erinaceus amurensis</i> hedgehog coronavirus HKU31), генетически тесно связан с MERS-CoV
CHN-JS-2017	delta	Свиньи	Тяжело протекающая диарея у поросят менее 2-недельного возраста

* За основу взята таблица из работы Yu. Chen с соавт. [7].

летучих мышей, использующим в качестве рецептора для связывания с клетками-мишенями

экзопептидазу – ангиотензинпревращающий фермент 2 (ACE2), имеющийся на поверхности

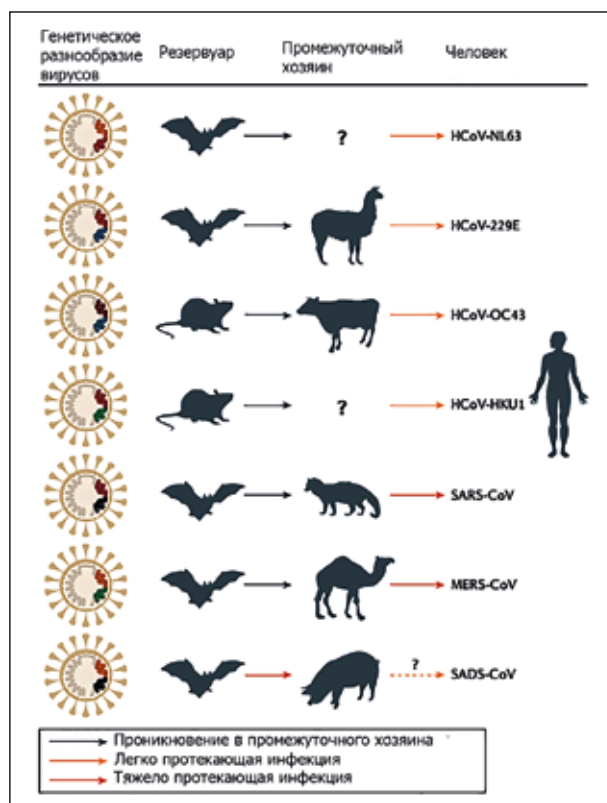


Рисунок 3 – Происхождение опасных для людей коронавирусов. SARS-CoV – новый коронавирус, появившийся в человеческих популяциях благодаря рекомбинации SARS-подобных коронавирусов, обитающих в летучих мышах (SARSr-CoVs). Вспышку атипичной пневмонии вызвал рекомбинантный вирус, инфицировавший циветт и людей и адаптировавшийся к этим хозяевам. MERS-CoV – вероятно, проник к однокорбым верблюдам почти 30 лет назад из резервуара, находящегося среди летучих мышей. HCoV-229E и HCoV-NL63 обычно вызывают легко протекающие инфекции у иммунокомпетентных людей. Предки этих вирусов обнаружены среди африканских летучих мышей. Верблюды играли роль промежуточных хозяев для HCoV-229E. Вирусы HCoV-OC43 и HKU1 поддерживаются среди грызунов, для людей опасности они не представляют. В 2017 г. от свиней был получен вирус, вызывающий синдром острой диареи у свиней (SADS). Его природным резервуаром считается подковообразная летучая мышь *Rhinolophus bat*. Пока доказательств его опасности для людей не получено. По Jie Cui с соавт. [6]

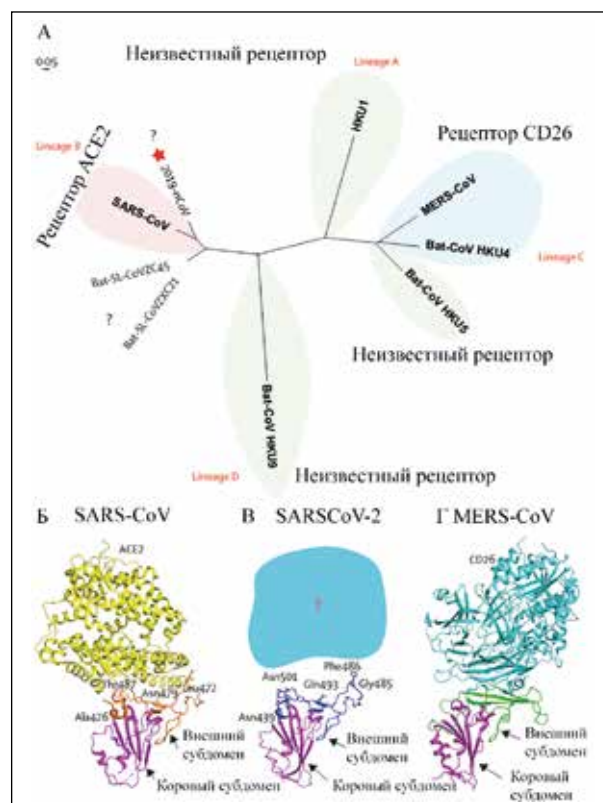


Рисунок 4 – Результаты филогенетического анализа (А) и молекулярного моделирования рецептор-связывающих доменов SARS-CoV (Б), SARS-CoV-2 (В) и MERS-CoV (Г). Звездочкой показан SARS-CoV-2. Внешний субдомен рецептор-связывающего домена SARS-CoV-2 более сходен с аналогичным SARS-CoV, что означает использование этим вирусом ACE2 как клеточного рецептора. Однако происхождение SARS-CoV-2 не выяснено, геномный анализ показывает, что, вероятно, он произошел от вируса летучих мышей. Потенциально усиливающий хозяин среди млекопитающих, промежуточный между летучими мышами и человеком, не известен. Поскольку мутации в исходном штамме могли напрямую вызвать вирулентность по отношению к людям, нет уверенности в том, что этот посредник существует [9]

эндотелиальных клеток капилляров легких у летучих мышей и у людей (рисунок 4)⁶.

В распространении таких коронавирусов доминирующую роль играют летучие мыши. Это многочисленная группа млекопитающих порядка Chiroptera, второй по величине отряд млекопитающих, на который приходится около пятой части

⁶ Ангиотензинпревращающий фермент 2 (angiotensin converting enzyme 2, ACE2; АПФ2; КФ:3.4.17.23) – экзопептидаза, аналог АПФ-трансмембранного белка. Катализирует превращение ангиотензина I в ангиотензин 1-9 и ангиотензина II в ангиотензин 1-7, пептида, оказывающего действие, противоположное действию АПФ. АПФ – центральный компонент системы ренин-ангиотензин, регулирующей артериальное давление. Ингибиторы АПФ (эналаприл, каптоприл, лизиноприл, периндоприл, моноприл и др.) широко используются в качестве гипотензивных препаратов.

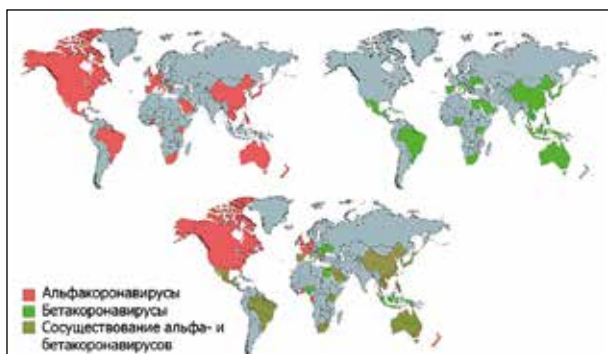


Рисунок 5 – Географическое распределение опасных для людей коронавирусов летучих мышей. Бетакоронавирусы территориально менее распространены, чем альфакоронавирусы.
По A. Wong с соавт. [8]

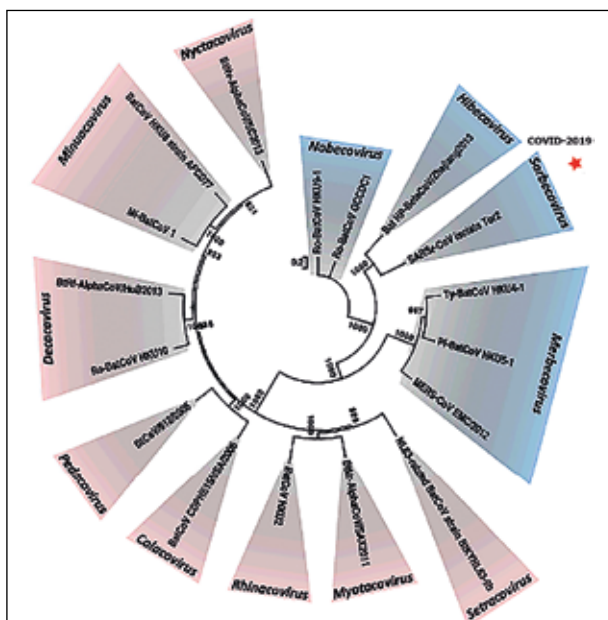


Рисунок 6 – Наиболее вероятная филогения альфа- и бетакоронавирусов летучих мышей. Составлена на основе анализа геномов 17 видов коронавирусов. Рода выделены различными цветами: розовый – Alphacoronavirus (подроды: Setracovirus, Myotacovirus, Rhinacovirus, Colacovirus, Pedacovirus, Decacovirus, Minunacovirus, Nyctacovirus); синий – Betacoronavirus (подроды: Nobecovirus, Hibecovirus, Sarbecovirus, Merbecovirus). ICTV Taxonomy History: Cornidovirineae (URL: https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=20186105). SARS-CoV-2 занимает нишу среди бетакоронавирусов в подроде Sarbecovirus, т.е. относится к SARS-подобным вирусам летучих мышей [9, 10]

всех видов млекопитающих⁷. Летучие мыши – единственная группа млекопитающих, способная к длительным перелетам, что позволяет им быть источником инфекции для других видов млекопитающих на огромных территориях. После установления в 2002 г. роли летучих мышей в распространении SARS-CoV, в различных регионах мира у них было обнаружено более 30 опасных для людей и животных вирусов, принадлежащих к родам альфа- и бетакоронавирусов (рисунок 5).

Разнообразие видов и высокая плотность поселений летучих мышей на юге Китая предопределяют разнообразие клеток и клеточных рецепторов, необходимых для размножения и рекомбинации вирусов, а также отбора их новых вариантов. Уникальные механизмы репликации вирусной РНК, сопровождающиеся высокой частотой вирусной рекомбинации, привели к большому генетическому разнообразию среди вирусов обоих родов, что, в свою очередь, потребовало их дальнейшего классифицирования на подроды (subgenus) (рисунок 6).

Опасные для людей инфекции у самих летучих мышей не приобретают острый характер. Причины такой устойчивости не ясны. P. Zhou с соавт. [19] считают, что летучие мыши вырабатывают α-интерферон в количествах, предотвращающих развитие у них вирусной инфекции. Поэтому летучие мыши – удобная экологическая ниша для поддержания в природе не только коронавирусов, но и вирусов других таксонов, например, филловирюсов (лихорадки Марбург и Эбола) [11–15], лиссаивирусов (бешенство) и др. [16]. Также они могут выполнять резервуарную роль в отношении нескольких вирусов одного семейства или нескольких видов из разных семейств. У летучих мышей рода *Rhinolophus* (подковоносы) обнаружены одновременно коронавирусы HKU2-CoVs (SADS-CoV) и SARSr-CoVs, вызывающие вспышки опасных болезней у свиней и у людей соответственно [17]. Установлено совместное существование в резервуарах, образуемых летучими мышами рода *Rousettus* (летучие собаки или ночные крыланы), коронавируса HKU9-CoVs, а также обнаруженного в 2019 г. обладающего широким видовым тропизмом филловирюса летучих мышей *Mengla virus* (MLAV), филогенетически связанного с вирусами – возбудителями лихорадки Эбола и Марбург [18]. Такое соседство в одной экологической нише предрасполагает к внутри- и межвидовому генетическому обмену среди вирусов и формированию опасных для людей реассортантов [8]. Коронавирусы можно выделить из носоглотки и фекалий летучих мышей. Заражение коронавирусами хищников (совы, ласки, ястребы, енотовидные собаки, ци-

⁷ Известно не менее 1,3 тыс. видов летучих мышей.



Рисунок 7 – Источники коронавируса, вызвавшего вспышку SARS в 2002–2003 гг. А. Большой подковонос (лат. *Rhinolophus ferrumequinum*). Распространен в Северной Африке, Малой и Передней Азии, Китае, на Корейском полуострове и Японии. На территории России обитает на Северном Кавказе – от Краснодарского края до Дагестана (URL: <https://1.bp.blogspot.com/-a0OT15OUfwk/WB0AccbCZcl/AAAAAAAAAjM/Bxs-WhcHJbw-NFtBVgQ4JeYYtml6M-mDACLcB/s1600/Rhinolophus%2Bferrumequinum.jpg>; дата обращения: 01.02.2020).

Б. Азиатская циветта (лат. *Viverra zibetha*). Ареал охватывает Лаос, Малайский полуостров, Таиланд, Вьетнам, Камбоджу, южный Китай, северо-восточную Индию, Мьянму, Непал, Бутан, Сингапур (URL: <https://zen.yandex.ru/media/jivotnyemira/civetta-zverek-poedaiuscii-daje-strihnin-5d82455079c26e00adf29583>; дата обращения: 01.02.2020).

ветты⁸ и др.) происходит в результате поедания инфицированных летучих мышей [5] (рисунок 7).

Скрининг более 5 тыс. насекомоядных летучих мышей из Ганы, Украины, Румынии, Германии и Нидерландов показал, что MERS-CoV-подобные вирусы встречаются у 24,9 % летучих мышей видов *Nycteris bats* (Щелеморды), обитающих в Африке, на Ближнем Востоке, в Юго-Восточной Азии; и у 14,7 % вида *Pipistrellus bats* (Нетопыри-карлики), обитающего на Европейском континенте [21]. Наиболее опасные бетакоронавирусы SARS-CoV и MERS-CoV попали в человеческие популяции от подковоносовых летучих мышей (рисунок 8).

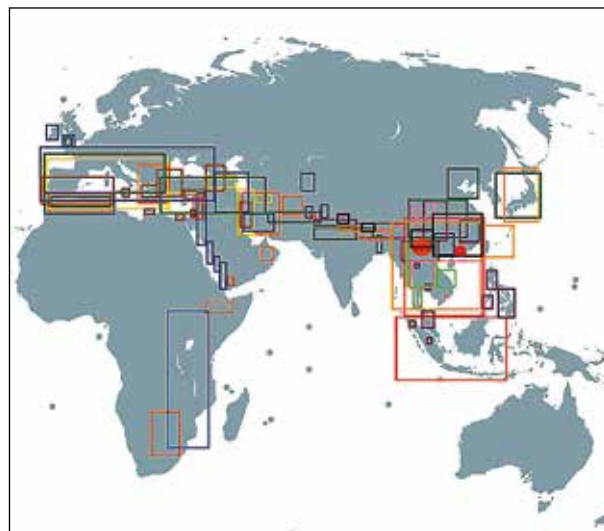


Рисунок 8 – Географическое распределение подковоносовых летучих мышей – носителей SARS-подобных коронавирусов. Окрашенный квадрат соответствует географическому распределению вида летучих мышей. Красный – *Rhinolophus affinis*; оранжевый – *Rhinolophus blasii*; желтый – *Rhinolophus euryale*; зеленый – *Rhinolophus ferrumequinum*; бирюзовый – *Rhinolophus hildebrandtii*; индиго (сине-фиолетовый) – *Rhinolophus hipposideros*; пурпурный – *Rhinolophus macrotis*; коричневый – *Rhinolophus mehelyi*; розовый – *Rhinolophus pearsonii*; золотистый – *Rhinolophus pusillus*; серо-голубой – *Rhinolophus rex*; черный – *Rhinolophus sinicus*; светло-зеленый – *Rhinolophus thomasi*. Оранжевым кругом показана провинция Юньань. Красный круг обозначает регион вспышек SARS и SADS [7]

Приведенные выше данные показывают, что коронавирусные инфекции среди людей не появляются внезапно и из ниоткуда. Обычно их вспышкам предшествует период распространения HCoV среди летучих мышей и животных других промежуточных резервуаров, пропущенных эпидемиологами из-за отсутствия необходимых знаний и эпидемической настороженности. За пять лет до вспышки ближневосточного респираторного синдрома в 2012 г. в Гонконге от летучих мышей были выделены бетакоронавирусы Ty-BatCoV HKU4-1 (летучая мышь *Tylonycteris pachypus*) и Pi-BatCoV HKU5-1 (летучая мышь *Pipistrellus abramus*), имеющие

⁸ Из-за развития промышленности в дельте Жемчужной реки в провинции Гуандун на юге Китая разведение циветт в последние годы увеличилось в 50 раз. Их покупают живыми и держат в подсобном помещении ресторанов с традиционной китайской кухней. И, видимо, они еще не раз станут источником новых коронавирусов для местного населения. URL: <https://www.lefigaro.fr/sciences/l-emergence-du-nouveau-coronavirus-un-phenomene-naturel-favorise-par-les-activites-humaines-20200324> (дата обращения: 25.03.2020).

тесную генетическую связь с MERS-CoV. Однако вспышка атипичной пневмонии, погубившая сотни людей на Ближнем Востоке, была воспринята, как неожиданная [20]. За год до появления SARS-CoV-2, в расположенной поблизости провинции Чжоушань (восточный Китай) были обнаружены почти идентичные ему (88 % идентичность) SARS-подобные вирусы летучих мышей bat-SL-CoVZC45 и bat-SL-CoVZXC21 [9].

Поиски более близкого вируса-предшественника SARS-CoV-2 ведутся в южных регионах Китая у животных, выращенных в больших количествах или пойманных в дикой природе для употребления в пищу человеком. По последним данным, опубликованным в марте Ч. Чанг с соавт.⁹, таким хозяином может быть панголин *Manis javanica* (индокитайский ящер). Эти животные часто становятся жертвами китайских браконьеров из-за их чешуи, якобы имеющей медицинскую ценность. Используя метагеномные образцы Ч. Чанг с соавт. реконструировали геном коронавируса пангалионов – Manis-CoV и сопоставили его с SARS-CoV-2. Ими установлено, что вирусы на 91,2 % идентичны. Кроме того, рецепторсвязывающий домен белка S1 Manis-CoV имел только пять аминокислотных отличий от SARS-CoV-2. Такой же белок вируса летучей мыши RaTG13 имел 19 отличий от SARS-CoV-2. Это сходство, по их мнению, достаточно высоко, чтобы подтвердить эволюционную связь между Manis-CoV и SARS-CoV-2, но недостаточно для того, чтобы считать их одним и тем же вирусом. В качестве примера они привели сходство геномов SARS-CoV и MERS-CoV и тех вирусов, которые были обнаружены у промежуточных хозяев, 99,8 % и 99,9 % соответственно. Следовательно, дальнейший поиск других потенциальных промежуточных хозяев должен быть продолжен. И совсем необязательно, что у SARS-CoV-2 будет один промежуточный хозяин, так как известно, что другие опасные для человека коронавирусы имеют несколько промежуточных хозяев. Например, SARS-CoV, для которых пальмовая цивета (*Paguma larvata*) является наиболее известным промежуточным хозяином, использует енотовидную собаку (*Nyctereutes procyonoides*) и барсука-хорька (*Melogale moschata*) в качестве промежуточных хозяев.

Автор данной работы не исключает, что первичным резервуаром коронавирусов являются почвенные простейшие и гидробионты. При целенаправленном изучении природных резервуаров исследователи обнаруживают не только известные среди животных, но и неklas-

сифицированные виды коронавирусов. Х-У. Ге с соавт. [22] в 2012–2013 гг. исследовали коронавирусы у летучих мышей, обитающих в заброшенной шахте в округе Мудзянь китайской провинции Юньнань. Все шесть видов летучих мышей (*Rhinolophus sinicus*, *Rhinolophus affinis*, *Hipposideros pomona*, *Miniopterus schreibersii*, *Miniopterus fuliginosus* и *Miniopterus fuscus*), обнаруженные в шахте, были инфицированы охарактеризованными видами альфакоронавирусов и двумя ранее неизвестными видами бетакоронавирусов, оказавшихся SARS-подобными.

При обследовании методами молекулярной диагностики пациентов с воспалительными заболеваниями дыхательных путей можно обнаружить скрыто протекающие вспышки коронавирусных инфекций. У. Zhu. с соавт. [23] в период с ноября 2014 г. по ноябрь 2016 г. обследовали в 13 больницах материкового Китая 2721 ребенка с признаками респираторной инфекции верхних дыхательных путей и пневмониями. У 42 из них (1,5 %) из носоглоточной области они выделили новый рекомбинант известного с 1960-х гг. бетакоронавируса HCoV-OC43.

На фоне провала мониторинга HCoV в Китае, произошедшего при серьезной эпидемической настороженности, удручающе выглядит изученность природных резервуаров коронавирусов на территории Российской Федерации. Летучие мыши, обитающие непосредственно у российско-китайской границы, а также их вирусы, изучены плохо [12]. На картах, приведенных на рисунках 5 и 8, Россия выглядит как «территория без летучих мышей». Не менее актуальным источником опасных для населения России коронавирусов являются ежи, обитающие на всей территории страны. Бетакоронавирусы из рода *Merbecovirus*, к которому принадлежит MERS-CoV, обнаружены в фекалиях европейских ежей *Erinaceus europaeus* в Германии [24], Франции [25], на Британских островах [25], т.е. везде, где искали. Для изучения возможного происхождения MERS-CoV в резервуарах, поддерживающихся среди млекопитающих в Китае, а также для понимания разнообразия хозяев и эволюционного пути видов, относящихся к мербековирусам, S.K. Lau с соавт. [27] были взяты образцы от различных млекопитающих, обитающих на территории Китая. От двух амурских ежей (*Erinaceus amurensis*), эндемичных для российского Дальнего Востока и северного Китая, им удалось выделить ранее неизвестный бетакоронавирус – Ea-HedCoV HKU31 (рисунок 9).

⁹ Zhang Ch. et al. Protein Structure and Sequence Reanalysis of 2019-nCoV Genome Refutes Snakes as Its Intermediate Host and the Unique Similarity between Its Spike Protein Insertions and HIV-1 // J. Proteome Res. 2020. 20 марта. URL: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jproteome.0c00129> (дата обращения: 30.03.2020).

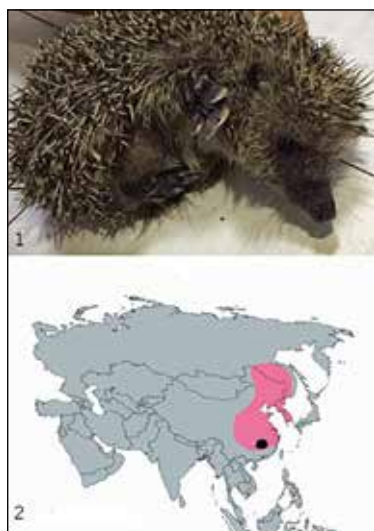


Рисунок 9 – Амурский еж.
1. *Erinaceus amurensis*, также известный как амурский еж или маньчжурский еж.
2. Географическое распространение *Erinaceus amurensis* в Азии. Цветная область представляет среду обитания *Erinaceus amurensis*. Обозначенная область соответствует местности, где был обнаружен Ea-HedCoV HKU31 [27]

Анализ генома Ea-HedCoV HKU31 показал принадлежность вируса к новому виду из рода *Merbecovirus*. Наиболее тесно он связан с коронавирусом европейского ежа EriCoV (с 79,6 % идентичностью последовательности генома), выделенного от ежей в Германии; и менее – с MERS-CoV (68,4 % идентичностью последовательности генома), выделенного от одногорбых верблюдов. Также показана его вовлеченность в естественную рекомбинацию с коронавирусами летучих мышей. S.K. Lau с соавт. [27] считают, что ежи в разных географических районах являются естественным резервуаром мербековиров. И хотя не получено экспериментальных доказательств использования спайк-белком Ea-BatCoV HKU31 в качестве рецептора hDPP4, благодаря чему MERS-CoV вызывает тяжелый инфекционный процесс у

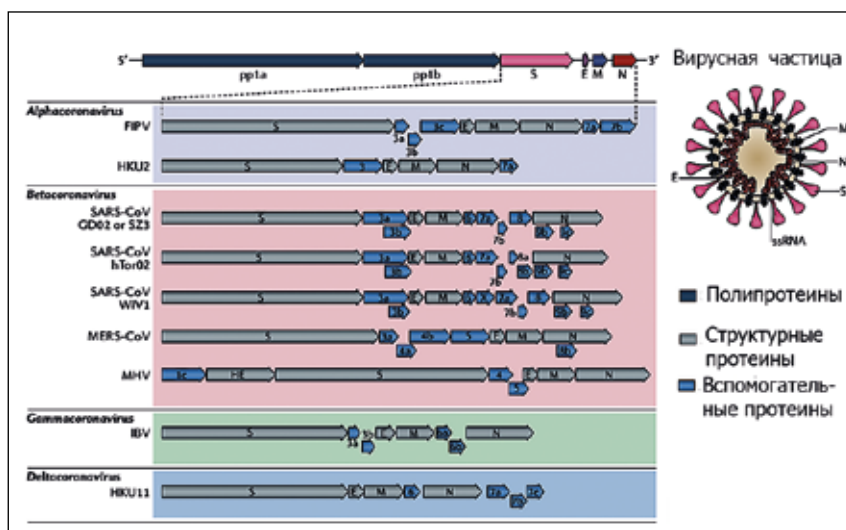


Рисунок 10 – Геномы коронавирусов типовых видов различных родов. Типовая структура генома CoV выстроена в направлении 5'-ORF1a-ORF1b-S-E-M-N-3'. Перекрывающиеся открытые рамки считывания ORF1a и ORF1b занимают две трети генома CoV со стороны 5'-конца и кодируют 16 высококонсервативных неструктурных белков (Nsp), необходимых для репликации вирусной РНК в клетке хозяина. Треть генома, расположенная в направлении 3'-конца РНК, кодирует наборы общих для всех CoV структурных белков (шипы, S; оболочка, E; мембрана, M; нуклеокапсид, N) и вспомогательные белки, индивидуальные у разных CoV. По Jie Cui с соавт. [6]

людей, способность коронавирусов ежей преодолевать межвидовой барьер еще предстоит выяснить, поскольку рецептор, используемый этими вирусами для проникновения в клетки, остается неизвестным.

Геном коронавируса. Представляет собой несегментированную одноцепочечную плюс-цепь РНК¹⁰, варьирующую от 27 до 32 т.п.н.¹¹ Это самый большой вирусный РНК-геном из известных на сегодняшний день. Коронавирусы имеют единый геном, кодирующий структурные, неструктурные и вспомогательные белки. Вспомогательные белки варьируют между коронавирусами даже в пределах одной клады. Геном и субгеномы типичного CoV содержат, по меньшей мере, 6 открытых рамок считывания¹². Участок, прилегающий к 5'-концу генома вируса, кодирует 16 неструктурных протеинов (non-

¹⁰ Позитивно-смысловая (positive-sense) РНК – вирусная РНК, имеющая ту же последовательность оснований, что и мРНК; во время репликации она функционирует как мРНК и служит шаблоном для синтеза белка.

¹¹ Размер генома SARS-CoV-2, выделенного в КНР от первых больных, находится в пределах 29,8 т.п.н.

¹² Открытая рамка считывания (open reading frames, ORF) – последовательность нуклеотидов в составе ДНК или РНК, потенциально способная кодировать белок. Основным признаком наличия ORF служит наличие стартового кодона (в подавляющем большинстве случаев – AUG) и отсутствие стоп-кодона на достаточно длинном для синтеза белка участке нуклеотидной последовательности.

Таблица 2 – Функции неструктурных протеинов коронавируса*

Неструктурный протеин	Функция	Неструктурный протеин	Функция
Nsp1 (гаммакоронавирусы ген nsp1 не содержат)	Деградация клеточной мРНК, блокирование интерферонов сигнала	Nsp9	Димеризация и связывание РНК
Nsp2	Не имеет известных или прогнозируемых функций	Nsp10	Каркасный белок (scaffold protein) для Nsp14 и Nsp16
Nsp3	PLP (протеаза), расщепление полипептидов, блокирование врожденного иммунного ответа хозяина, стимулирование экспрессии цитокинов	Nsp11	Неизвестна
Nsp4	Формирование двойной мембранной везикулы (DMV, double-membrane vesicles)	Nsp12	Праймер-зависимая RdRp (РНК- зависимая РНК полимераз; RNA- dependent RNA polymerase)
Nsp5	3CL ^{pro} , M ^{pro} , расщепление полипептидов, ингибирование интерферона	Nsp13	РНК-геликаза,
Nsp6	Антагонист интерферона. Ограничение аутофагосомной экспансии, т.е. доставки вируса внутри лизосом клетки и его последующей деградации, образование DMV	Nsp14	Экзорибонуклеаза, N7-MTase (гуанин-N7 метилтрансфераза – созревание и трансляция мРНК)
Nsp7	Кофактор для Nsp8 и Nsp12	Nsp15	Эндорибонуклеаза, Уклонение от сенсоров двухцепочечной РНК (дцРНК), в результате клетка не воспринимает РНК-вирус как чужой, тем самым предотвращается ранняя индукция интерферона
Nsp8	Кофактор для Nsp7 и Nsp12, праймаза (РНК-полимераза, которая создает праймер, необходимый для синтеза РНК)	Nsp16	2'-О-Мтаза (2'-O-methyltransferase); вирусная РНК избегает распознавания рецепторами типа MDA5 (англ. Melanoma Differentiation-Associated protein 5); снижает чувствительность вируса к интерферону

* По работе Yu. Chen с соавт. [7].

structural proteins, Nsp). Эти полипептиды процессируются¹³ вирусной химотрипсинподобной протеазой (chymotrypsin-like protease, 3CL^{pro}) или основной протеазой (main protease, M^{pro}), и одной или двумя папаин-подобными протеазами (papain-like protease, PLP). Участок генома, прилегающий к 3'-концу, кодирует структурные протеины, включающие оболочечные гликопротеиновые спайки, т.е. шипы (envelope glycoproteins spike, S), оболочку (E), мембрану (M) и нуклеокапсид (N). В дополнение к генам, кодирующим структурные протеины, в геноме вируса содержатся видоспецифичные гены-по-

мощники (accessory genes), такие как белок HE (hemagglutinin esterase protein; найдена только у бетакоронавирусов подрода *Embecovirus*), белок 3a/b и белок 4a/b. Репликаза¹⁴ коронавируса кодируется двумя большими перекрывающимися ORF (ORF1a и ORF1b), занимающими около двух третей генома, и напрямую транслируется из геномной РНК. Структурные и вспомогательные гены транслируются из субгеномных РНК (sgRNAs), генерируемых во время транскрипции/репликации генома (рисунк 10).

В таблице 2 приведены данные по известной функции 16 неструктурных протеинов, кодиру-

¹³ Процессинг или посттрансляционная модификация белков – превращение полипептида в активный белок.

¹⁴ РНК-зависимая РНК-полимераза (RdRP от англ. RNA-dependent RNA-polymerase) или РНК-репликаза – фермент, катализирующий репликацию РНК (синтез РНК по матрице РНК). РНК-зависимые РНК-полимеразы – важнейшие ферменты, закодированные в геноме всех РНК-содержащих вирусов, жизненный цикл которых протекает без стадии ДНК. Преимуществом данной схемы жизненного цикла вируса является отсутствие стадии вирусной ДНК, благодаря чему его репликация осуществляется быстрее.

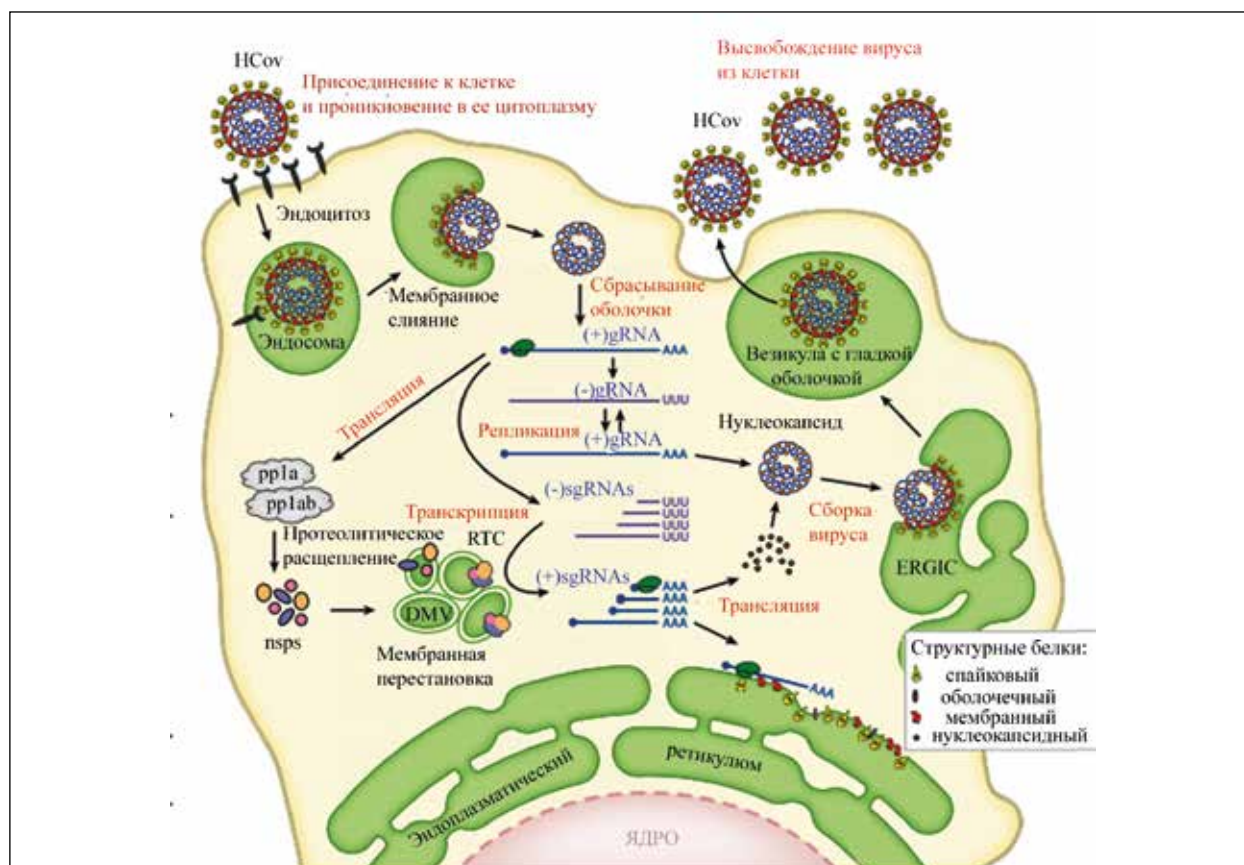


Рисунок 11 – Цикл репликации коронавирусов человека. Инфекционный процесс начинается с прикрепления HCoV к родственному рецептору на поверхности клетки-мишени, после чего запускается механизм рецепторного эндоцитоза и вирус поглощается эндосомой, затем происходит «разборка» вируса (левая верхняя часть рисунка). Оболочка вируса «сбрасывается» и геномная РНК (gRNA) высвобождается в цитоплазму клетки, где служит матрицей для трансляции РНК репликазой полипротеинов pp1a и pp1ab, которые расщепляются с образованием неструктурных белков (Nsps), индуцирующих образование в клетке двухмембранных везикул (double-membrane vesicles, DMVs), где формируются транскрипционные комплексы вирусной репликации (replication transcription complexes, RTCs). Полноразмерная геномная РНК [(+)gRNA] реплицируется через промежуточные отрицательно-смысловые РНК [(-)gRNA (negative-sense intermediate)], служащие матрицей для синтеза новой субгеномной РНК (sgRNAs) с положительной цепью (центр рисунка). Эти sgRNAs кодируют вирусные структурные и вспомогательные белки. Сборка вирусных частиц происходит в промежуточном компартменте эндоплазматического ретикула (ER-Golgi, ERGIC), скрывающего их в своем пространстве от внутриклеточных механизмов, распознающих и уничтожающих чужеродную РНК. Зрелые вирионы высвобождаются из клетки по секреторному пути (правая верхняя часть рисунка) [5]

емых участком генома, прилегающим к 5'-концу генома вируса.

Цикл репликации коронавируса происходит в несколько этапов: прикрепление и проникновение в клетку, трансляция вирусной РНК-репликазы, транскрипция и репликация генома, трансляция структурных белков, сборка и высвобождение вириона (рисунок 11).

Репликация коронавируса в клетке хозяина начинается со связывания его спайк-белка S с рецептор(ами) поверхности клетки. Белок S состоит из двух функциональных субъединиц: подверженной мутационным изме-

нениям S1 (bulb; луковица) для связывания с рецептором (receptor-binding subunit) и высококонсервативной S2 (stalk; ножка) для слияния вируса с мембраной (fusion subunit). Специфическое взаимодействие между S1 и родственным рецептором вызывает конформационное изменение в субъединице S2, приводящее к слиянию между вирусной оболочкой и клеточной мембраной и высвобождению нуклеокапсида в цитоплазму. Связывание с рецептором определяет для коронавируса возможный диапазон хозяина и тканевой тропизм. Расщепление S1/S2 S-белка коронавируса осуществляется

одной или несколькими эндопротеазами клетки-мишени.

После сбрасывания оболочки геномная РНК коронавируса служит транскриптом для трансляции ORF1a. Клеткой синтезируется полипротеин pp1a и благодаря сдвигу рамки считывания трансляция продолжается на ORF1b с образованием более длинного полипротеина pp1ab. При аутопротеолитическом расщеплении pp1a и pp1ab образуется 15–16 неструктурных белков (Nsps) с различными функциями. Все вместе они образуют гигантский репликационный комплекс, участвующий в репликации РНК-генома, процессинга субгеномной РНК и упаковки «зародышевых вирионов» (см. таблицу 2).

Активность РНК-зависимой РНК-полимеразы кодируется в nsp12, тогда как активность папаин-подобной протеазы (PLPro) и основной протеазы (Mpro) кодируется в nsp3 и nsp5 соответственно. Белки Nsp3, 4 и 6 также индуцируют перестройку клеточной мембраны с образованием двухмембранных везикул (double-membrane vesicles, DMV) или сферул (spherules), где собирается транскрипционный комплекс репликации коронавируса (replication transcription complexes, RTCs) [5, 28].

Используя геномную РНК в качестве матрицы, РНК-репликаза синтезирует полноразмерный отрицательно-смысловой антигеном (negativesense antigenome) коронавируса, который, в свою очередь, служит матрицей для синтеза новой геномной РНК. РНК-репликаза может переключать матрицу во время прерывистой транскрипции генома в специфических сайтах, называемых регулируемыми транскрипцией последовательностями. Большинство sgRNAs коронавируса являются функционально моноцистронными. Трансмембранные структурные белки (S, HE, M и E) и некоторые связанные с мембраной вспомогательные белки транслируются в эндоплазматическом ретикулуме (ER). Большинство структурных белков коронавируса подвергается посттрансляционным модификациям, определяющим их функции в жизненном цикле вируса [5].

Сборка частиц происходит в промежуточном компартменте ER-Golgi (ERGIC)¹⁵ и управляется белком М. Гомотипическое взаимодействие белка М обеспечивает основу для

морфогенеза вирионов, тогда как взаимодействия М–S и М–N облегчают рекрутирование структурных компонентов в место сборки. Белок Е способствует сборке частиц, взаимодействуя с белком М и вызывая изгиб мембраны. Наконец, частицы коронавируса, поступающие в ERGIC, транспортируются в везикулах с гладкой стенкой (smooth-walled vesicles) и переправляются по секреторному пути для высвобождения путем экзоцитоза [5].

Пластичность генома коронавирусов. Обеспечивается спонтанными мутациями, гомологичной рекомбинацией с другими геномами коронавирусов и искусственным путем. Скорость возникновения мутаций в геноме CoVs варьирует в тех же пределах, как и у других одноцепочечных РНК-вирусов $\sim 10^{-4}$ замен в год/сайт (substitutions per year per site)¹⁶ [29]. Наиболее гипервариабельным является ген белка S, отвечающего за межвидовую передачу, вирулентность и контагиозность HCoV. У разных видов CoVs скорость его мутирования различается. Для патогена птиц IBV гипервариабельность гена белка S оценивается в пределах $0,3\text{--}0,6 \times 10^{-2}$ замен в год/сайт [30]. Для гена белка S коронавируса 229E, вызывающего легко протекающие инфекции респираторного тракта у людей, 3×10^{-4} замен в год/сайт [29]. Такие мутации носят случайный характер и обеспечивают преимущество вирусу в экосистемах, если они будут «подхвачены» естественным отбором, что может произойти только при опять же случайном проникновении мутировавшего вируса в нового хозяина.

Наибольшую пластичность геному CoV, лежащую в основе проявления внутривидовой изменчивости, межвидового «прыжка хозяина» («host jump») и образования новых видов CoVs, создает возможность гомологичной рекомбинации¹⁷ с геномами других коронавирусов, циркулирующих в одних и тех же хозяевах. В основе такой рекомбинации лежит сложный жизненный цикл коронавирусов, осуществляющийся через образование набора субгеномных РНК (см. рисунок 11) и возможность переключения матриц разных коронавирусов. По этой причине геном циркулирующих в природных резервуарах коронавирусов всегда является мозаичным, а сами коронавирусы поддерживаются в виде квазивидовых пулов.

¹⁵ ER-Golgi-промежуточный компартмент (ER-Golgi intermediate compartment, ER-Golgi или ERGIC) – органелла в эукариотических клетках. Обеспечивает транспортировку белков между эндоплазматическим ретикулумом и комплексом Гольджи.

¹⁶ Имеются в виду точечные замены нуклеотидов. Сайт (в данном контексте) – местоположение точечной мутации.

¹⁷ Гомологичная рекомбинация – тип генетической рекомбинации (т.е. перераспределения генетического материала путем разрыва и соединения разных молекул, приводящее к появлению новых комбинаций генов или других нуклеотидных последовательностей), во время которой происходит обмен нуклеотидными последовательностями между двумя похожими или идентичными геномами.

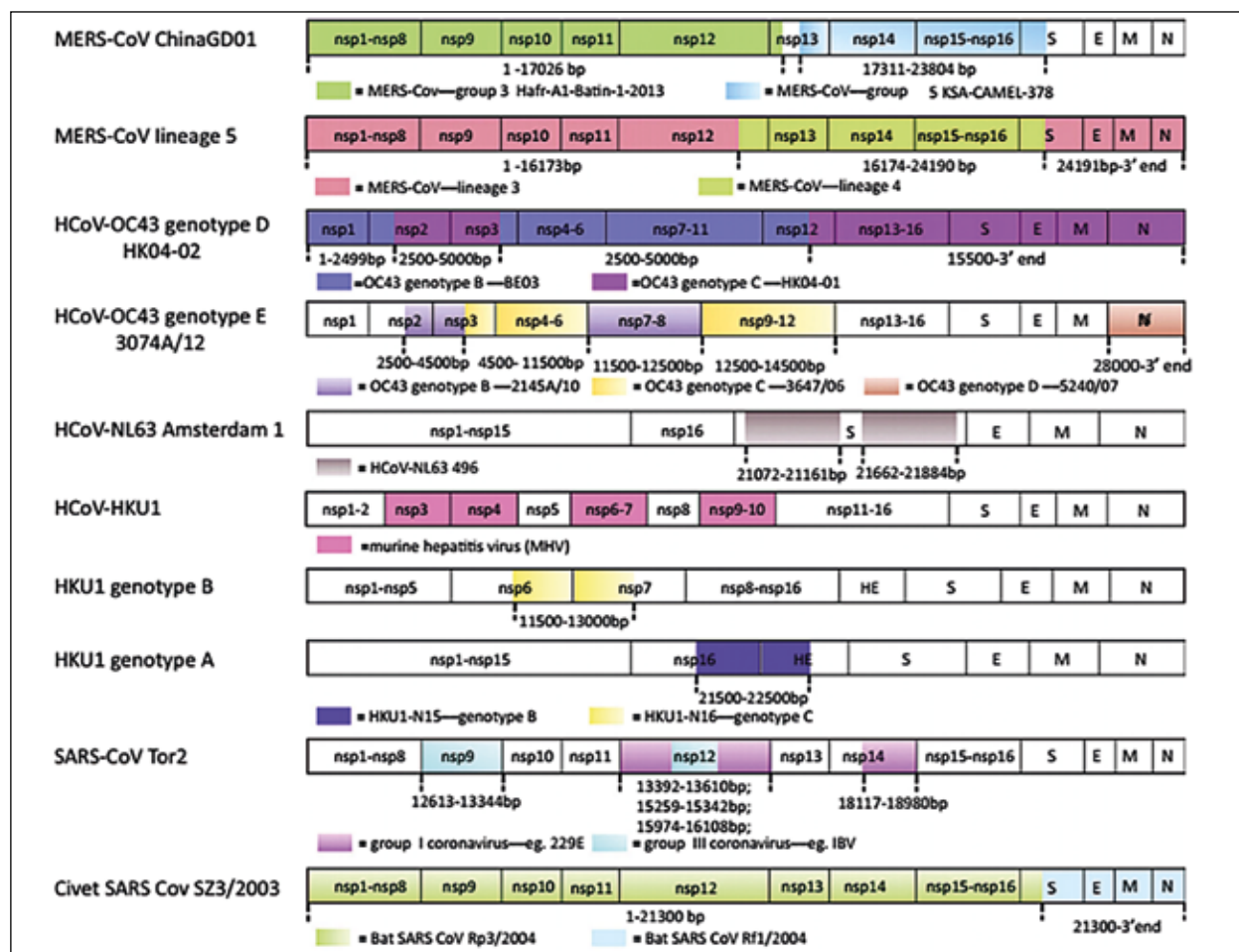


Рисунок 12 – Мозаичная структура генома коронавирусов, вызывающих заболевания у людей.

Окрашенные области каждого коронавируса указывают на генетическую рекомбинацию в рекомбинационных сайтах с коронавирусами зоонозного происхождения. Определенные положения нуклеотидов, где произошла рекомбинация, показаны пунктирными линиями.

Например, вирус NL63 является рекомбинантом. Рекомбинационные сайты находятся в двух участка гена белка S и заняты вставками из коронавируса Amsterdam 496.

Рекомбинационные события характерны для различных генотипов вируса HKU1.

Рекомбинационные сайты обнаружены у вирусов генотипов B и C в генах *nsp6-nsp7* и *nsp16-HE* соответственно. Также было показано, что HKU1 способен рекомбинировать в генах *nsp3*, *nsp4*, *nsp6*, *nsp7*, *nsp9* и *nsp10* с бетакоронавирусами животных, такими как MHV. SARS-CoV имеет рекомбинантную историю с линиями альфа- и гамма-CoV.

В РНК-зависимой РНК-полимеразе (RDRP, ген *nsp12*) были идентифицированы рекомбинационные сайты и большое количество рекомбинантных областей в следующих участках: нуклеотиды 13392–13610, 15259–15342 и 15974–16108 на основе последовательностей штамма SARS-CoV TOR2. Участки рекомбинации были также определены в генах *nsp9*, *nsp10* (в 12613–13344), *nsp14* (18117–18980). Другое исследование, анализирующее геном штамма SARS-CoV CV7, показало семь предполагаемых мест рекомбинации между SARS-CoV и шестью другими коронавирусами: PEDV, TGEV, BCV, 229E, MHV и IBV. Это наблюдение говорит о том, что SARS-CoV возник через последовательную горизонтальную передачу и генетическую рекомбинацию, усиливая процесс адаптации к своему новому хозяину [31, приведен фрагмент схемы]

Точный механизм генетической рекомбинации у CoVs остается неясным: рекомбинационные сайты («breakpoints» – точечный разрыв при рекомбинации) кажутся расположенными по геному случайным образом, так как у коронавирусов они различны [31] (рисунок 12).

Варианты коронавирусов, образующихся в результате случайно происходящих процессов гомологичной рекомбинации и возникновения спонтанных мутаций, не нацелены на межвидовой «прыжок» и закрепляются в новой экологической нише как случайное событие (рисунок 13).

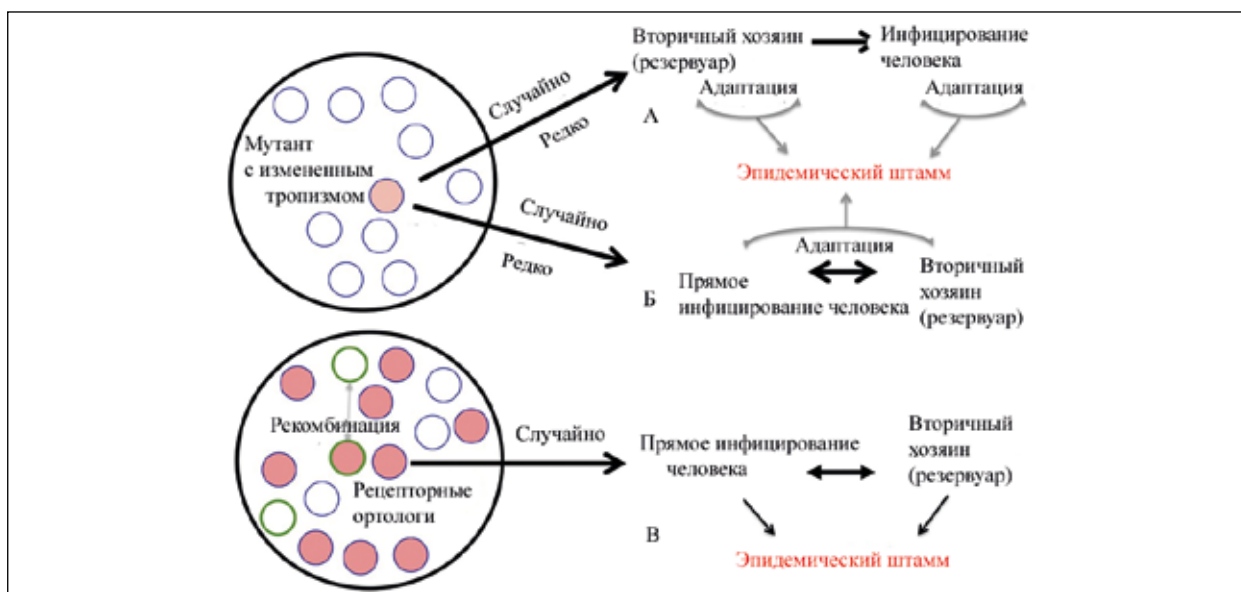


Рисунок 13 – Проникновение в человеческие популяции коронавирусов в результате случайных процессов и событий. Коронавирусы в популяциях летучих мышей циркулируют в виде квазивидовых пулов. (А и Б) Их мутанты, способные проникнуть в популяции других видов (красный круг), представлены редкими вариантами, случайно образовавшимися в результате спонтанных мутаций.

Облегчает проникновение в популяции людей заражение вирусом какого-то промежуточного вида (формируется вторичный резервуар), обитающего в непосредственном контакте с людьми, имеющего сходные с человеческими рецепторы-мишени и последующая адаптация в этом хозяине.

Либо передача вируса происходит между летучими мышами и людьми без предварительной адаптации к промежуточному хозяину. Вспышка болезни среди людей происходит в обоих случаях после формирования эпидемического штамма, т.е. после адаптации вируса к новому хозяину.

(В) Предполагается, что образование химерных SARS-подобных вирусов происходит тогда, когда в квазивидовых пулах, циркулирующих в сообществах летучих мышей, содержатся вирусы, способные заражать клетки человека (красные кружки), но для своего поддержания в природе не нуждающиеся в человеке. Возникновение эпидемии, вызванной «новыми вирусами», происходит в результате случайной адаптации во вторичных резервуарах или человеческих популяциях их рекомбинантов с вирулентными для летучих мышей вирусами (кружки с зелеными контурами), приобретшими, благодаря мутации в гене, кодирующем субъединицу белка шипа S1, способность узнавать рецепторы-мишени (их ортологи) у человека [32]

Ускорить внутривидовую изменчивость и при этом достигнуть межвидового «прыжка хозяина» не случайным образом, а в выбранный экспериментатором вид, возможно путем вмешательства в геном коронавируса, используя методологию обратной генетики¹⁸ [32].

В совместной американо-китайской работе¹⁹, имеющей, по утверждению авторов, цель «предсказать и подготовиться к будущим возникающим вирусам», были внесены точечные изменения в ген субъединицы S1, циркулирующего среди летучих мышей коронавируса SHC014 –

¹⁸ Обратная генетика – исследователи манипулируют последовательностями генов, изменяя или выключая тот или иной ген, и анализируют, к каким изменениям это приводит. Это путь обратной генетики: от гена к признаку/фенотипу, а не наоборот (прямая генетика).

¹⁹ Работа в конце 2015 г. вызвала дебаты по поводу безопасности описанных экспериментов. Саймон Уэйн-Хобсон (Simon Wain-Hobson), вирусолог из Института Пастера в Париже (Pasteur Institute in Paris), отметил, что исследователи создали новый вирус, который «замечательно хорошо растет» в клетках человека. «Если вирус вырвется, никто не сможет предсказать траекторию». См. URL: <https://www.nature.com/news/engineered-bat-virus-stirs-debate-over-risky-research-1.18787> (дата обращения: 01.03.2020). Еще менее надежно можно «предсказать траекторию», если не проводить такие эксперименты. Однако участие китайского вирусологического центра в Ухани в этих исследованиях породило в США конспирологическую теорию, что якобы SARS-CoV-2 создан китайскими учеными и распространился по миру, «вырвавшись» из лаборатории в Китае. Первый англоязычный твит, в котором изложена эта «теория», был опубликован в американских социальных сетях 20.01.2020 г. См. URL: <https://www.washingtonpost.com/outlook/2020/04/02/yes-russia-spreads-coronavirus-lies-they-were-made-america/> (дата обращения: 02.04.2020).

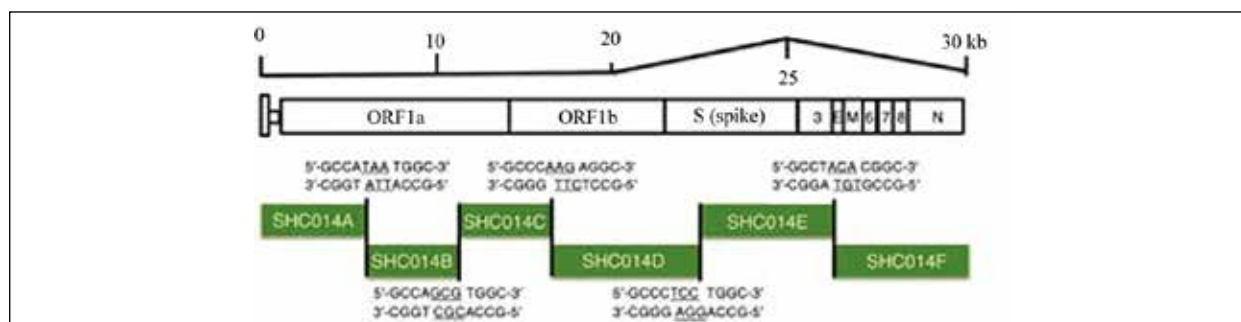


Рисунок 14 – Полная длина химерного вируса SHC014-CoV, способного к репликации в дыхательных путях человека и животных, имеющих рецептор ACE2 или его ортологи. Геномные последовательности и аминокислотные последовательности доменов S1 субъединицы шипа, репрезентативных CoV, были загружены из Genbank или Pathosystems Resource Integration Center (PATRIC). Синтезирован американскими (Северная Каролина) и китайскими (г. Ухань) исследователями путем последовательной сборки шести смежных кДНК, фланкированных уникальными сайтами BglI, обеспечивающих полноразмерную экспрессию кДНК SHC014-CoV [32]

ближайшего «родственника» SARS-CoV. Этот вирус не проявил себя в качестве патогена для людей из-за различия в 14 аминокислотных остатках в участке шипа, связывающегося с ACE2 рецептором человека. Из них пять являются критическими для изменения диапазона хозяев: Y442, L472, N479, T487 и Y491 [33]. Исследователи заменили нуклеотидную последовательность гена, кодирующего субъединицу S1 у SHC014, на аналогичную SARS-CoV. Остальные гены, т.е. те, которые определяют формирование транскрипционного комплекса вирусной репликации и сборку его частиц в клетке, изменениям не подвергались²⁰. Новый химерный SARS-подобный коронавирусы получил обозначение SHC014-MA15. Подобно SARS для инфицирования клеток легочного эпителия человека, цыганки и летучей мыши, он может использовать ACE2 в качестве рецептора-мишени и его ортологи²¹, и реплицироваться в них до высоких титров, сравнимых с таковыми у природного штамма SARS-CoV Urbani, оставаясь по остальным генам прежним SHC014. Эксперименты в условиях *in vivo* продемонстрировали репликацию химерного вируса в легких модельных мышей с выраженным патологическим процессом (рисунок 14).

Но на общности способности субъединиц S1 узнавать ACE2-рецептор человека сходство обоих вирусов закончилось²², проявился

собственный патогенный потенциал вируса SHC014, о котором до этих экспериментов не подозревали. Исследователи попытались в условиях *in vitro* определить нейтрализующую эффективность в отношении SHC014-MA15 моноклональных антител (mAb) широкого защитного спектра (109.8, SHC014-MA15, 230.15 и 227.14)²³, показавших хороший нейтрализующий эффект против SARS-CoV. Влияние этих антител на репликацию SHC014-MA15 оказалось незначительным, тогда как репликация SARS-CoV Urbani ими подавлялась при относительно низких концентрациях. Только использование высокой концентрации (10 мкг/мл) mAb 109.8 позволило в условиях *in vitro* достичь 50 % нейтрализации SHC014-MA15 [32].

Чтобы оценить эффективность существующих вакцин в отношении SHC014-MA15, исследователи вакцинировали мышей (Balb/cAnNHsD) кандидатной двойной инактивированной цельной SARS-CoV (DIV)-вакциной. Предыдущая работа показала, что вакцина DIV может защитить мышей от заражения гомологичным вирусом [35]. Однако вакцинация от SARS-CoV не только не защищала животных от заражения SHC014-MA15, но и утяжеляла течение вызванного им инфекционного процесса²⁴. Сыворотка крови, полученная от мышей, вакцинированных DIV, не смогла нейтрализовать SHC014-MA15 в условиях *in vitro* [32].

²⁰ Работы проводились в условиях уровня биобезопасности BSL3. Применяется для работы с микроорганизмами, которые могут вызвать потенциально смертельные заболевания при вдыхании аэрозоля. Более подробно об уровнях биобезопасности см. URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Biosafety_level#Biosafety_level_3 (дата обращения: 04.03.2020).

²¹ Гомологичные последовательности называют ортологичными, если к их разделению привел акт видообразования.

²² Более подробно о структуре, функции и эволюции белка S можно прочитать в работе F. Li [34].

²³ По уменьшению количества бляшек на клетках Vero E6 после совместного инкубирования mAb и вируса.

²⁴ Почему это происходит, рассмотрим в разделе «Особенности ответа иммунной системы на коронавирусную инфекцию».

**Таблица 3 – Коронавирусы, опасные для людей;
их клеточные рецепторы; способность инфицировать другие клетки***

Вирус	Рецептор	Год обнаружения/ дивергенции	Инфицируемые клетки	Инфекционный процесс
OC43	9-О-ацетилированная сиаловая кислота	Дивергировал от BCoV в 1890 г.	Клетки реснитчатого эпителия дыхательного пути, макрофаги в культуре, нейроны	Инфекция верхних дыхательных путей, инфекция желудочно-кишечного тракта, пневмония
229E	Аминопептидаза N	Расхождение с NL63 в XI в.	Не реснитчатый эпителий дыхательных путей, моноциты человека, нейроны	То же
NL63	ACE2	Расхождение между 1200 и 1500 гг. Открыт в 2004 г.	Клетки реснитчатого эпителия дыхательного пути	Инфекция верхних и нижних дыхательных путей, связанная с крупом у детей
HKU1	9-О-ацетилированная сиаловая кислота	Открыт в 2005 г.	То же	Инфекция верхних дыхательных путей и пневмония, кишечные симптомы
SARS	ACE2	Появился в 2002 г.	Эпителиальные клетки, реснитчатые клетки, пневмоциты второго типа	Инфекции нижних дыхательных путей, пневмония, диффузное повреждение альвеол (diffuse alveolar damage, DAD) и респираторный дистресс- синдром (respiratory distress syndrome, ARDS))
MERS	DPP4	Появился в 2012 г.	Эпителиальные клетки дыхательных путей, эпителиальные клетки почек, дендритные	
SARS-CoV-2**	ACE2	Появился в конце 2019 г.	Клетки легочного эпителия, клетки Vero E6 и Caco-II	Инфекция нижних дыхательных путей, пневмония

* L.E. Gralinski, R.S. Baric [32]; ** R. Lu, X. Zhao, J. Li с соавт. [9].

Попытка изготовить ослабленную живую вакцину на основе HC014-MA15 также оказалась неудачной. Ее использование давало незначительную перекрестную защиту от заражения SARS-CoV, что подтверждало наличие общих консервативных эпитопов, но возникли проблемы с безопасностью вакцинации. В тех дозах, которые обеспечивали некоторый защитный эффект от заражения SARS-CoV, вакцина сама вызывала патологический процесс у экспериментальных животных [32]. В целом эксперименты по получению из не представляющего опасности для людей ко-

ронавируса его генетически измененного варианта дали много эпидемиологической науке. Они позволили понять существующий в природе механизм межвидового «прыжка» коронавирусов от летучих мышей к людям. Пришлось избавиться и от иллюзии, что распространение в человеческих популяциях новых видов коронавирусов, образующихся в результате рекомбинаций, может быть сдержано вакцинами, созданными в отношении уже циркулирующих в природе²⁵.

Молекулярная патология коронавирусов. Инфекционный процесс у человека начинается с

²⁵ Интересен и состав исследовательских организаций: Departments of Epidemiology, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC (США); Microbiology and Immunology, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC (США); National Center for Toxicological Research, Food and Drug Administration, Jefferson, AR (США); Department of Cell Biology and Physiology, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC (США); Marsico Lung Institute/Cystic Fibrosis Center, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC (США); Institute for Research in Biomedicine, Bellinzona, Switzerland Institute of Microbiology, ETH Zurich, Zurich (Швейцария); Department of Cancer Immunology and AIDS, Dana-Farber Cancer Institute (США); Department of Medicine, Harvard Medical School, Boston Massachusetts (США); Key Laboratory of Special Pathogens and Biosafety, Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences (Юхань, КНР). Клетки Vero E6, использованные для конструирования химерного вируса SHC014-CoV, получены из USAMRIID (U.S. Army Medical Research Institute of Infectious Diseases, Форт Детрик, штат Мэриленд, США).

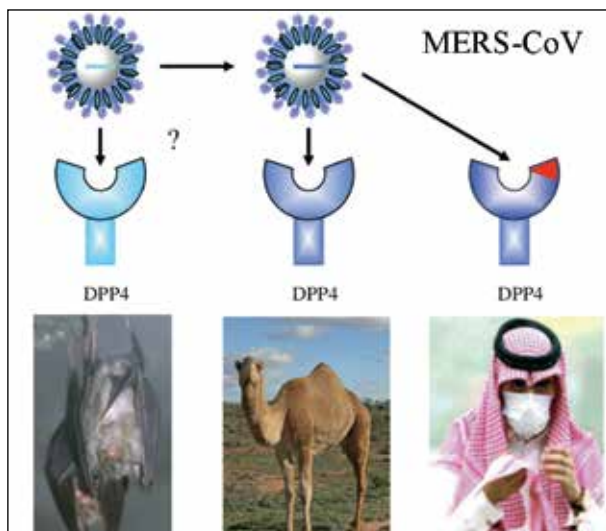


Рисунок 15 – Цепочка зоонозной передачи MERS-CoV от источника среди летучих мышей к людям. Облегчается наличием у летучих мышей, верблюдов и людей сходного рецептора (DPP4), используемого вирусом для проникновения в клетки [11]

прикрепления HCoV к родственному клеточному рецептору на поверхности клетки-мишени. Некоторые HCoV используют мембранные проте-

олитические ферменты клеточной поверхности в качестве рецепторов, такие как дипептидил-пептидаза 4 (DPP4) для MERS-CoV; аминопептидаза N (APN) для HCoV-229E; ангиотензинпревращающий фермент 2 (ACE2) для HCoV-NL63, SARS-CoV, NL 63, SHC014-MA15 и SARS-CoV-2. HCoV-OC43 и HCoV-HKU1 в качестве рецептора используют 9-О-ацетилированную сиаловую кислоту (таблица 3).

Для формирования цепочки зоонозной передачи HCoV от источника среди летучих мышей к людям необходимо, чтобы рецепторы-мишени у них и у промежуточных хозяев были общими. Клиника болезни зависит от локализации этих рецепторов. Проведенный W. Widagdo с соавт. [10] анализ последовательностей DPP4 летучих мышей и исследования инфекции *in vitro* с линиями клеток летучих мышей позволил предположить, что несколько видов летучих мышей чувствительны к MERS- и MERS-like-CoVs благодаря DPP4, имеющемуся и у людей (рисунок 15).

Этот рецептор по-разному распределяется в дыхательных путях человека и других восприимчивых домашних животных, включая однокорбых верблюдов. Экспрессия гена²⁶ DPP4 в носовом эпителии верблюда, ламы и свиньи позволяет развиваться инфекции верхних дыха-



Рисунок 16 – Различное распределение экспрессии DPP4 в слизистой оболочке дыхательных путей и кишечном эпителии летучих мышей, одногорбого верблюда и человека. У нетопырей и кожанов DPP4 ограничено обнаруживается в дыхательных путях и в основном экспрессируется в кишечном эпителии. У гамбийских и египетских фруктовых летучих мышей DPP4 обнаружен как в дыхательных путях, так и в кишечном эпителии. У одногорбого верблюда экспрессия DPP4 выражена в верхних дыхательных путях и эпителии тонкой кишки, что делает его распространителем MERS-CoVs воздушно-капельным путем, а также через воду и пищу, загрязненные фекалиями. У человека DPP4 преимущественно экспрессируется в нижних дыхательных путях и эпителии тонкой кишки. Его роль в распространении возбудителя инфекции чаще сводится к фекально-оральной передаче [10]

²⁶ Экспрессия гена – реализация генетической информации, закодированной в последовательности нуклеотидов молекулы ДНК.

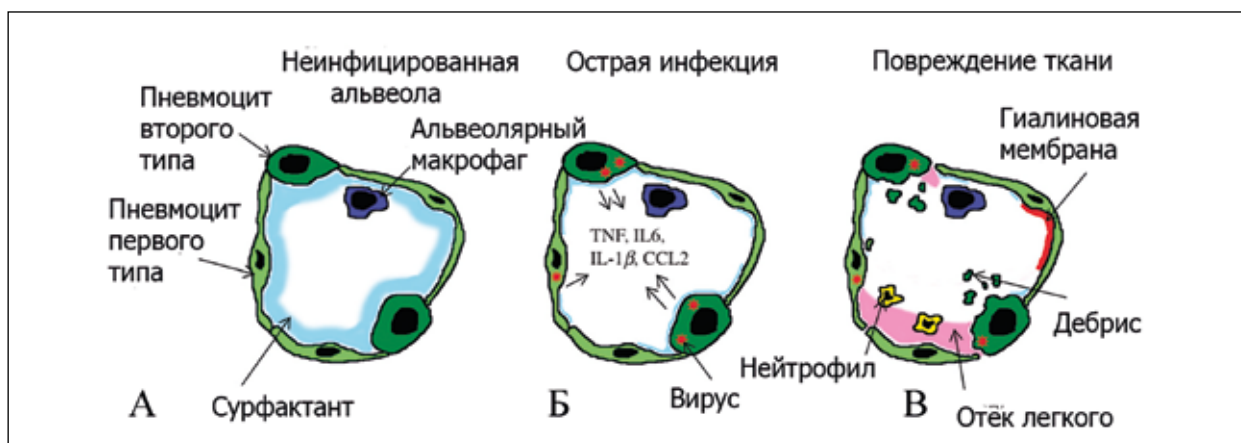


Рисунок 17 – Патологический процесс, вызванный SARS-CoVs в альвеолах легких. А. Пневмоциты типа I и типа II образуют альвеолярные стенки, в альвеолярном пространстве присутствуют альвеолярные макрофаги и легочные поверхностно-активные вещества (сурфактанты). Б. В острой фазе инфекции SARS-CoV пневмоциты типа I и типа II инфицируются и выделяют воспалительные цитокины, тогда как уровни сурфактанта снижаются. В. Во время поздней стадии инфекционного процесса на фоне снижения титров вируса нарастает повреждение паренхимы легких, развивается отек легких и в альвеолах формируются гиалиновые мембраны, нарастает дыхательная недостаточность [29]

тельных путей у животных при интраназальной инокуляции MERS-CoVs, делая их источником инфекции для людей. У человека DPP4 экспрессируется исключительно в эпителии нижних дыхательных путей, что приводит к тяжелой острой пневмонии в нижних отделах легких, являющейся основным клиническим исходом инфицирования MERS-CoV, но значение заболевших людей для эпидемического распространения вируса не было однозначно установлено (рисунок 16).

SARS-CoVs, включая и SARS-CoV-2, используют в качестве рецептора проникновения в клетку трансмембранную экзопептидазу ACE2, локализованную в небольшой популяции хорошо дифференцированных альвеолярных клеток (пневмоцитов) типа II (AT2) и энтероцитах – клетках эпителия тонкого кишечника (поэтому симптомы со стороны дыхательных путей не менее чем в одной трети случаев сопровождаются симптомами со стороны желудочно-кишечного тракта – тошнота, диарея и др.). S-белок MERS-CoV демонстрирует очень небольшую гомологию с гомологией SARS-CoV в домене RBD (PHK-связывающий домен, RNA-Binding Domain) из-за различий в мишенях связывания их S-белков (для MERS-CoV – белок DPP4). Штаммы SARS-CoV, выделенные из разных хозяев, различаются по сродству к связыванию с ACE2 человека и, следовательно, по их инфекционности для человека. Эпидемические штаммы обычно обладают высоким сродством к человеческому ACE2 и, следовательно, они обладают потенциалом для эффективной передачи между людьми [12, 14], однако механизм передачи далеко не в каждом

случае понятен. Для тех SARS-CoVs, для которых не установлена способность использовать ACE2 в качестве рецептора для проникновения в клетку, не установлена и патогенность для человека [13]. Так же, как и SARS-CoV, SARS-CoV-2 вызывает острый респираторный дистресс-синдром (acute respiratory distress syndrome, ARDS) и острую легочную недостаточность (acute respiratory failure, ARF), являющиеся основной причиной смерти пациентов [36].

Происходит это следующим образом²⁷. Через альвеолы легких осуществляется газообмен. Кислородом эритроциты крови насыщаются в капиллярах альвеолярной мембраны. Стенки альвеолы формируются пневмоцитами типа I и типа II и альвеолярными макрофагами. Пневмоциты типа I (AT1) покрывают 95 % площади альвеолярной поверхности и обеспечивают газообмен с кровью в капиллярах легкого. Пневмоциты типа II (AT2) – предшественники пневмоцитов типа I. Они ответственны за образование легочного сурфактанта (pulmonary surfactant) – смеси липидов и белков, выстилающей легочные альвеолы изнутри (то есть находящийся на границе «воздух-жидкость»). Легочный сурфактант препятствует слипанию стенок альвеол при дыхании за счет снижения поверхностного натяжения пленки тканевой жидкости, покрывающей альвеолярный эпителий [29].

SARS-CoVs (и, соответственно, SARS-CoV-2), инфицировав пневмоциты I и II типов, вызывают десквамацию (отслоение) пневмоцитов в альвеолах, способствуя альвеолярной дисфункции, отеку и кровотечению,

²⁷ MERS-CoV вызывает у людей ARDS по аналогичному механизму, но взаимодействуя с рецептором DPP4 [29].

нарушающим газообмен в альвеолах и приводящим к дыхательной недостаточности. Одновременно происходит снижение уровня сурфактанта в тканевой жидкости, покрывающей альвеолярный эпителий, ее поверхностное натяжение увеличивается. Соответственно, способность легких расширяться и сжиматься во время нормального акта дыхания снижается (пациент это состояние ощущает как "хруст легких" при каждом вдохе). Этот процесс может привести к коллапсу легких во время выдоха. По мере заполнения альвеол жидкостью, нарастает дыхательная недостаточность. Смертельный исход наступает при нарушении целостности альвеолярной мембраны, что приводит к накоплению жидких экссудатов в альвеолярных пространствах, механическая вентиляция легких оказывается бесполезной [29].

Прогрессирование ARDS от отека альвеол до диффузного альвеолярного повреждения (diffuse alveolar damage) не зависит от интенсивности репликации вируса и достижения им высоких титров. Инфекция приводит к пиковым вирусным титрам через 1–2 суток после заражения, наряду с денудацией дыхательных путей и образованием клеточного дебриса, закупоривающего мелкие бронхи (одна из причин, затрудняющая обнаружение вируса в верхних дыхательных путях). Тяжелые поражения паренхимы легких, в том числе инфильтраты, кровоизлияния, альвеолярный отек и образование гиалиновой мембраны²⁸, типичные для экссудативной стадии диффузного альвеолярного повреждения, появляются на 4–7 сутки после заражения, когда вирусные нагрузки в паренхиме легких быстро падают и/или становятся ниже предела обнаружения (рисунок 17) [29].

Тяжелое воспаление легких развивается из-за индукции SARS-CoVs интенсивного цитокинового ответа. Провоспалительные цитокины и хемокины, в том числе IL-6, TNF α , IL-1 β и CCL2, привлекают воспалительные клетки к месту инфекции. Нейтрофилы и цитотоксические Т-клетки, наряду с цитокинами, вызывают повреждение тканей легких, включая повышение проницаемости сосудов и стимулирование легочного фиброза. Профиброзные гены (pro-fibrotic genes) человека, включая Tgfb1, Ctgf и Pdgfa, а также и многочисленные транскрипты коллагена отвечают повышенной экспрессией на вторжение MA-SARS и накоплением экссудата, кровоизлияний и фибрина в альвеолярном пространстве. Активация каскада коагуляции приводит к накоплению сгустков фибрина в альвеолах – характерная особенность инфекции SARS-CoV у людей. Они ограничи-

вают обмен кислорода в альвеолах и ставят под угрозу выживание пациента. Экспрессия генов коллагена также увеличивается после заражения SARS-CoV. Накопление коллагена, фибрина и фибриновых сгустков в альвеолах способствует развитию фиброзного легкого, одновременно стимулируя инфицированного хозяина активировать фибринолитические пути. Нарушение регуляции этих коагуляционных/антикоагулянтных каскадов приводит к ухудшению состояния больного и к его смерти [29, 37, 38].

Распознавание коронавируса иммунной системой запускает еще один патогенетический механизм, ухудшающий состояние инфицированного и трудный для понимания российскими врачами, изучавшими иммунологию по отечественным руководствам – феномен анти-тело-зависимого усиления инфекции. Он более подробно описан в разделе «Особенности иммунитета при коронавирусных инфекциях».

Устойчивость коронавирусов в окружающей среде и в аэрозолированном состоянии. Для разных HCoV устойчивость на объектах окружающей среды и в аэрозоле изучены с разной детализацией. Стабильность MERS-CoV в окружающей среде изучали путем помещения капли, содержащей вирус, на пластмассовые и металлические поверхности. Затем их помещали в соответствующие условия. Параллельно проводился сравнительный эксперимент в аналогичных условиях с вирусом гриппа A/Mexico/4108/2009 (H1N1). Выживаемость вирусов определяли при $t = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ и 40 % относительной влажности; $t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности 30 %; $t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности 80 %. MERS-CoV показал значительно большую устойчивость в окружающей среде чем вирус гриппа. В условиях низкой температуры/низкой влажности MERS-CoV сохранял инфекционность через 48 ч. Тогда как вирус гриппа A/Mexico/4108/2009 (H1N1) погибал через 4 ч. MERS-CoV также показал высокую стабильность в аэрозоле при $t = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ и 40 % относительной влажности (аэрозольный генератор AeroMP, производитель Biosa Technologies, США; дисперсность частиц не указана). Быстрое снижение жизнеспособности вируса наблюдалось при $t = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ и 70 % относительной влажности, что было сопоставимо с таковым у вируса гриппа A/Mexico/4108/2009 (H1N1) [40].

Аналогичные результаты получены и в отношении SARS-CoV. Высушенный вирус на гладких поверхностях сохранял свою жизнеспособность в течение более 5 сут при $t = 22\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности 40–50 %, т.е. в типичных

²⁸ Гиалин – это фибриллярный белок. При иммуногистохимическом исследовании в нем обнаруживают белки плазмы крови, фибрин, компоненты иммунных комплексов (иммуноглобулины, фракции комплемента), липиды.

кондиционированных помещениях. Однако жизнеспособность вируса быстро терялась при более высоких температурах и относительной влажности (например, $t = 38^\circ\text{C}$ и относительной влажности $>95\%$). Стабильность SARS-CoV при низкой температуре и низкой влажности окружающей среды может способствовать его эпидемической передаче в субтропической зоне (например, в Гонконге) весной и в кондиционированных средах. Это обстоятельство объясняет, почему в некоторых азиатских странах в тропической зоне (таких, как Малайзия, Индонезия или Таиланд) с высокой температурой и высокой относительной влажностью окружающей среды не было крупных вспышек MERS-CoV [41].

Во время эпидемии SARS в Гонконге установлено, что аэрозолированные капельки кала стали причиной 420 случаев заражения SARS-CoV [42]. Коронавирусы длительно сохраняются в продуктах питания и в сточных водах. L. Mullis с соавт. [43] экспериментально показали, что в обычных условиях хранения в домашнем холодильнике салат может сохранять жизнеспособный бычий коронавирус не менее 14 сут. Исследование выживаемости в окружающей среде вирусов трансмиссивного гастроэнтерита (transmissible gastroenteritis, TGEV) и гепатита мыши (MHV) позволило установить, что они оставались инфекционными в воде и сточных водах при $t = 27^\circ\text{C}$ в течение нескольких недель, а при $t = 4^\circ\text{C}$ – в течение года [44]. В отчете ВОЗ за 2008 г. SARS-CoV отнесен к вирусам, которые могут передаваться через пищу (viruses in food). Передача через пищу – это путь проникновения коронавирусов в человеческую популяцию и их последующего распространения посредством передачи от человека человеку. Долгосрочное выживание вируса особенно опасно, если загрязнение коронавирусами происходит в конце цепи обработки пищевых продуктов или в свежих продуктах [45].

Особенности ответа иммунной системы на коронавирусную инфекцию. Подходы к созданию вакцин в отношении таксономически и структурно сходных SARS-CoV и MERS-CoV в значительной степени похожи. И нет оснований считать, что при создании SARS-CoV-2-вакцины они будут чем-то отличаться. В целом кандидаты на вакцины против MERS-CoV и SARS-CoV ос-

нованы на использовании в качестве антигена белков S (его отдельных субъединиц и доменов, например, рецептор-связывающего домена, рекомбинантных тримеров и др.) и белка N, которые проявляют выраженный антигенный эффект²⁹ и способны вызывать кроме гуморальных еще и Т-клеточные ответы³⁰ [46]. Исследования в данном направлении также выполнялись с использованием в качестве антигенов белков оболочки (E) и неструктурного белка 16 (Nsp16), но без особого успеха [47]. Так как только белок S индуцирует нейтрализующие в условиях *in vitro* антитела, выбор антигенов у разработчиков вакцин не велик и не прост.

Потенциальные CoV-вакцины-кандидаты классифицированы на шесть типов: вакцина на основе вирусного вектора (обычно им являются аденовирус, вирус бешенства), ДНК-вакцина, субъединичная вакцина, вакцина на основе наночастиц, вакцина на основе инактивированного цельного вируса и вакцина на основе ослабленного штамма вируса. Среди них наибольшие надежды исследователи возлагают на вакцины на основе вирусного вектора и субъединичные вакцины [47].

Основным препятствием на пути создания CoV-вакцин, о котором их разработчики иногда стесняются упоминать, является феномен антитело-зависимого усиления инфекции (antibody-dependent enhancement, ADE), развивающийся в ответ на белок S коронавируса. Он заключается в усилении инфекционного процесса специфическими к возбудителю инфекционной болезни антителами. Такие антитела образуют комплексы с возбудителем инфекционной болезни посредством Fc-фрагмента антитела и взаимодействуют либо со специфическим к Fc-фрагменту рецептором (Fc-receptor, FcR), либо с рецептором комплемента (complement receptor, CR) на поверхности фагоцитирующих клеток. Происходит не только усиление инфекционного процесса в результате размножения микроорганизма в фагоцитирующих клетках, но и изменение тропности коронавируса. SARS-CoV на начальной стадии инфекционного процесса не инфицирует моноциты/макрофаги, связываясь с рецептором ACE2 в нижних отделах легких [32]. Но антитела к шипу (белок S) оболочки SARS-CoV, по-

²⁹ В работе не используется понятие «иммуногенный» применительно к антигенам коронавирусов из-за того, что термин «иммунитет» (лат. Immunitas – освобождение, избавление от чего-либо) означает невосприимчивость, сопротивляемость организма к инфекции. В данном случае ничего похожего в ответ на коронавирусную инфекцию не происходит.

³⁰ Т-клеточный ответ – иммунный ответ клеточного типа базируется на активности Т-лимфоцитов. Деструкцию и элиминацию чужеродного антигена осуществляют цитотоксические лимфоциты и активированные иммунной системой лейкоциты воспалительной реакции. В-клеточный ответ – гуморальный иммунный ответ, определяется участием сывороточных антител. Это два звена приобретенного иммунитета с разным составом участников и различным предназначением, но имеющие одну общую цель – устранение чужеродного антигена. Для противовирусных вакцин важно индуцировать оба звена иммунитета.

степенно вырабатываемые иммунной системой человека в ответ на инфекцию, способствуют проникновению SARS-CoV в моноциты и макрофаги через FcγRIIA-рецептор и утяжеляют течение болезни [48, 49].

Феномен ADE обнаружен M.S. Yip с соавт. [50] через 8 лет после идентификации SARS-CoV в 2003 г., когда исследования по созданию SARS-CoV-вакцин уже свелись к демонстрации «принципиальной возможности» их создания. Еще через год M. Jaume с соавт. [51] продемонстрировали, что «не нейтрализующие антитела» (nonneutralizing antibodies, как их тогда деликатно называли), индуцированные полноразмерным S-белком SARS-CoV, в низких концентрациях облегчают проникновение вируса в клетки-хозяева через FcγR-зависимый путь. Стало понятно, почему спешно созданные в 2004–2005 гг. на основе полноразмерного S-белка кандидатные вакцины против SARS-CoV индуцировали выработку антител, не предотвращавших заражение этим вирусом экспериментальных животных. Напротив, они вызывали у них развитие гепатита и утяжеляли инфекционный процесс [52–54].

Таким образом, феномен ADE является критической проблемой при разработке CoV-вакцин, в том числе и против SARS-CoV-2. В условиях эксперимента путем оптимально подобранной схемы вакцинации и в контролируемых условиях можно добиться на короткое время протективного эффекта даже такими антителами, если их концентрация в сыворотке крови позволит блокировать большинство спайк-белков CoV³¹. Однако при падении со временем концентрации антител до субнейтрализующих, неизбежно проявит себя ADE. И те остаточные количества антител к эпитопам белка S, которые будут присутствовать в сыворотке крови на протяжении десятилетий, станут своего рода триггером, запускающим тяжелый инфекционный процесс при повторной встрече иммунной системы человека с CoV.

Несмотря на то, что с 2004 г. было сообщено о многих многообещающих CoV-вакцинах-канди-

датах, на 2019 г. только три потенциальных кандидата на вакцины против MERS-CoV прошли I стадию клинических исследований³² [47].

Деление проблемы создания вакцины против SARS-CoV-2 на множество мелких проблем (подбор адъюванта для субъединичной вакцины на основе домена S1; подбор условий инаktivации вируса для создания цельновирионной инаktivированной вакцины или условий выращивания вируса для получения ослабленной вакцины; разработка очередной системы экспрессии для получения вирусоподобных частиц; варьирование длиной внеклеточного домена белка S1 при создании ДНК-вакцин; замена рекомбинантного человеческого аденовируса типа 5 на собачий парвовирус при создании вакцины на основе вирусного вектора и др.) позволит изобразить видимость бурной работы и освоить немало бюджетных средств, но вакцина, защищающая от SARS-CoV-2, создана не будет из-за особенностей иммунного ответа на вирус, о которых сказано выше.

Кроме того, при разработке любой вакцины основной движущей силой является финансирование. Многие вакцины, демонстрирующие многообещающие результаты на доклинической стадии, нанеи остаются³³ из-за нехватки финансирования на клинические исследования. SARS-CoV-2 – это не возбудитель туберкулеза, ВИЧ/СПИДа или сыпчатых гепатитов, объем рынка такой вакцины после окончания вспышки ограничится небольшим количеством пограничников, врачей и ученых-вирусологов. Поскольку на завершение полных клинических исследований вакцин уходит обычно 10 лет и более³⁴, они вряд ли будут коммерчески доступны в ближайшие 1,5 года, как об этом заявляют отдельные чиновники. Более целесообразно потратить эти деньги на изучение природной очаговости коронавирусов на территории Российской Федерации.

Эпидемиология. Первые случаи заражения SARS-CoV-2 людей в Китае произошли в ноябре 2019 г., но не были распознаны³⁵. Китайские врачи осознали, что имеют

³¹ Более подробно о зависимости феномена нейтрализации вирусов и усиления инфекции от концентрации специфических антител см. в работе A. Takada и Y. Kawaoka [55].

³² Клинические исследования I фазы для проверки профиля безопасности вакцины против MERS-CoV осуществлялись на людях-добровольцах в Научно-исследовательском институте армии США им. Уолтера Рида (Walter Reed Army Institute of Research, United States). См. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02670187?term=GLS-5300> (accessed February 25, 2019). Что не удивительно, так как из-за высокой летальности среди заболевших (до 37 %) он рассматривается как потенциальный поражающий агент биологического оружия [56].

³³ Для CoV-вакцин и этот этап очень дорогостоящий, но так как недорогих экспериментальных моделей (мыши, хомяки) не существует, его провести можно только на специально созданных трансгенных животных (например, имеющих рецепторы ACE2 у пневмоцитов I и II типов), а завершить – на макаках.

³⁴ Клинические исследования вакцин включают 4 фазы. Более подробно см. URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Clinical_trial и <https://yaprivit.ru/o-vaccinah/control-nad-proizvodstvom-vaccin/> (дата обращения: 20.02.2020).

³⁵ Руководство КНР считает, что вспышка коронавирусной инфекции началась еще летом 2019 г. в США, что подтверждает выступление главы американского Центра по предупреждению и контролю заболева-

дело с новой инфекционной болезнью только к концу декабря 2019 г. после того, как в госпиталь Цзинь Инь-Тан в Ухане (Jin Yin-tan Hospital of Wuhan) с 18 по 29 декабря 2019 г. поступили 5 пациентов, страдающих от лихорадки, кашля и одышки, сопровождающихся осложнениями острого респираторного дистресс-синдрома. Рентгенография грудной клетки показала диффузные помутнения и уплотнения в легочной ткани. Один из пациентов умер. Результаты исследования последовательностей РНК вируса, выделенных из бронхо-альвеолярного лаважа, показали наличие ранее не известного β -CoV у всех пяти пациентов с идентичностью нуклеотидов 99,8–99,9 %³⁶ [57].

Возбудитель таинственной пневмонии в Ухане по результатам секвенирования и этиологических исследований по крайней мере пятью независимыми лабораториями КНР³⁷ в начале января 2020 г. идентифицирован как новый коронавирус (SARS-CoV-2). Поскольку первые случаи болезни, вызванной SARS-CoV-2, были связаны с посещением оптового рынка морепродуктов Хуанань в Ухане, то передача вируса от человека к человеку не считалась основным механизмом распространения инфекции. Тем не менее, последующие случаи не были связаны с этим рынком. Поэтому китайскими эпидемиологами был сделан вывод о том, что вирус также может передаваться от человека к человеку, а люди с симптомами заболевания являются наиболее частым источником распространения SARS-CoV-2. Передачу вируса до появления симптомов можно только предполагать. Как и в случае с другими респираторными патогенами, включая грипп и риновирус, пере-

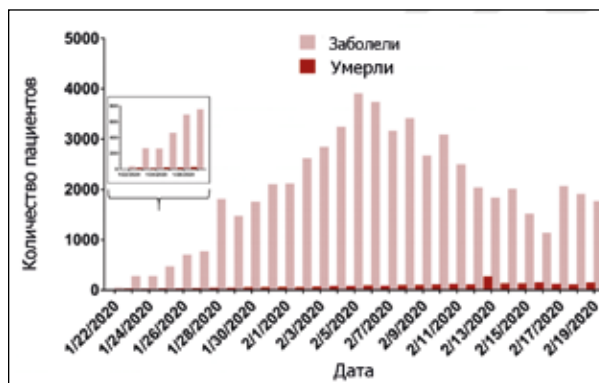


Рисунок 18 – Динамика вспышки COVID-19 в Китае за период с 22.01 по 19.02.2020 г.

Максимальное количество заболевших (05.02.2020) пришлось на один инкубационный период болезни, что говорит о заражении SARS-CoV-2 большого количества людей за очень непродолжительный период времени, но не о заражении их от «нулевого пациента». World Health Organization. Coronavirus Disease 2019(COVID-19). URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200219-sitrep-30-covid-19.pdf?sfvrsn=6e50645_2. Опубликовано 20 февраля 2020 г.

дача вируса происходит через капельки мокроты, возникающие при кашле и чихании в закрытых помещениях при тесном контакте между людьми. Его распространение в первую очередь ограничивается членами семьи, медицинскими работниками и другими близкими контактами. Инкубационный период – от 3 сут до 2 нед, самое длительное время от заражения до симптомов составляет 12,5 сут [58].

Перелом в распространении SARS-CoV-2 в Китае пришелся на начало февраля 2020 г.³⁸

ний Роберта Редфилда (Robert R. Redfield, 1951 г.р.) в Палате представителей Конгресса. Редфилд сообщил Конгрессу, что у нескольких умерших американцев, которым диагностировали грипп, при посмертном обследовании был обнаружен коронавирус. Видео см. URL: <https://twitter.com/zlj517/status/1238111898828066823?fbclid=IwAR1-J9ndyOxnxYer-RfnnLLqZbNUdzjd9qKLhd1cxMwBf9k3CmNzzsCN8A> (дата обращения: 20.03.2020). Однако доказательств того, что вспышки в США и Китае были вызваны одним вирусом, китайскими специалистами не было приведено.

³⁶ 31.12.2019 г. в региональное бюро ВОЗ в КНР было впервые сообщено об эпидемии случаев необъяснимых инфекций нижних дыхательных путей в Ухане. Поскольку китайские врачи не смогли сразу определить возбудителя, эти первые случаи были классифицированы как «пневмония неизвестной этиологии». Китайский центр по контролю и профилактике заболеваний (CDC) и местные CDC разработали программу интенсивного расследования вспышек.

³⁷ URL: <http://virological.org/> и <https://www.gisaid.org/> (дата обращения: 20.01.20).

³⁸ Первым днем, когда в Китае не было установлено ни одного нового заболевшего COVID-19, считается 18.03.2020 г. Новые заболевшие есть, но все они заразились за рубежом. Летальность зараженных снизилась до однозначных чисел. Общее число китайцев, заразившихся на эту дату SARS-CoV-2, составило 80 928 человек, более 70 тыс. выздоровели. China 'still at risk of second wave of coronavirus cases' despite first day with no domestic cases/South China Morning Post. 19.03.2020. URL: <https://www.scmp.com/news/china/society/article/3075872/zero-new-domestic-coronavirus-cases-china-first-time-epidemic> (дата обращения: 19.03.2020). Однако вирус уже проник через границы страны, и большое количество подтвержденных случаев в других странах подтолкнуло ВОЗ 11.03.2020 г. объявить распространение COVID-19 глобальной пандемией. По состоянию на 23 марта в мире насчитывалось не менее 332 930 пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19, из них 14 510 умерли (~4,2 %).

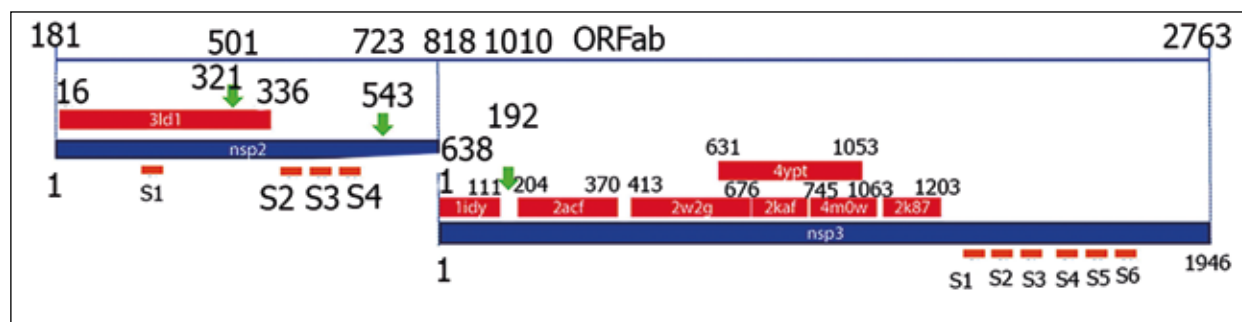


Рисунок 19 – Гомологичные и гетерологичные структуры на последовательности ORF1ab SARS-CoV-2. Гомологичные последовательности показаны синей линией. Нумерация над линией относится ко всей ORF. Красные полосы представляют гетерологичные структуры, образованные PDB; синие – последовательности nsp2 и nsp3 соответственно. Коды PDB указаны внутри соответствующих красных полос. Нумерация ниже синей линии относится к отдельному nsp. Оранжевые линии указывают приблизительное положение трансмембранных спиралей [60]

Количество новых случаев COVID-19 стало неуклонно снижаться (рисунок 18)³⁹.

Анализ первых 425 случаев, зарегистрированных в Ухане, показал, что средний возраст пациентов составлял 59 лет, в диапазоне от 15 до 89 лет. При большой выборке не обнаружено существенных гендерных различий (56 % мужчин). Бессимптомные случаи болезни составляли не более 1 % от всех, диагноз ставился при обнаружении вирусной РНК. Общий коэффициент летальности (по подтвержденным случаям) составил 2,3 %. Смертельными исходами болезнь завершилась в основном у пожилых пациентов, в частности, тех, кто был старше 80 лет (около 15 % от умерших) и от 70 до 79 лет (8,0 %). Приблизительно половина (49,0 %) тяжелых пациентов страдали диабетом, хроническими респираторными, сердечно-сосудистыми и онкологическими болезнями. Около 1 % пациентов были в возрасте 9 лет или моложе, смертельных случаев в этой группе не было [58].

Само появление SARS-CoV-2 как результат мутаций в белке шипа вируса (S1) летучей мыши, придающих ему тропность к ACE2 в качестве рецептора-мишени и обеспечивающих его «перескок» в популяции людей [9, 59], объяснимо на основе уже имеющихся данных по генетической изменчивости коронавирусов (см. совместную американо-китайскую работу [32]). Построенное филогенетическое древо показало, что SARS-CoV-2 достоверно кластеризовался с

SARS-подобным коронавирусом летучей мыши, выделенным в 2015 г., но не был ему идентичен⁴⁰. Также были обнаружены мутации поверхностных белков, таких как белок S (шип) и белок N (нуклеокапсид), придающие устойчивость вирусной частице к факторам окружающей среды и способность заражать людей, проявляя при этом пониженную вирулентность в сравнении с SARS-CoV и MERS-CoV. Эти особенности могут объяснить зоонозную передачу SARS-CoV-2 [9, 59]. Но на их основе гораздо сложнее оказалось дать ответы на вопросы, почему контагиозность SARS-CoV-2 оказалась выше, чем у SARS-CoV и MERS-CoV, и почему вспышка болезни на ее начальном этапе проявила себя столь тяжелыми клиническими формами у китайского населения в сравнении с европейским.

Для ответа на первый вопрос S. Angeletti с соавт. [60] был проанализирован белок, кодируемый в пределах открытой рамки считывания ORF1ab SARS-CoV-2 (см. рисунок 10). Он обратил на себя внимание тем, что отличался от такого же у наиболее похожего на SARS-CoV-2 коронавируса летучей мыши SARS Bat (QHR63299) на 103 аминокислотных остатка, 64 из которых являются консервативными⁴¹. Исследователями было показано наличие аминокислотных изменений в Nsp2 и Nsp3, участвующих в механизме проникновения вируса в клетку и его размножении (репликации). Неструктурный белок 2 (Nsp2)⁴² SARS-CoV-2 отличается от такого у SARS Bat на

³⁹ См. Coronavirus COVID-19 Global Cases by Johns Hopkins CSSE. URL: <https://gisanddata.maps.arcgis.com/apps/opsdashboard/index.html#/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6> (дата обращения: 29.02.2020).

⁴⁰ См. раздел «Таксономия и происхождение коронавирусов».

⁴¹ Все Nsp являются высококонсервативными белками [6].

⁴² Nsp2 – белок с ММ 65 кДа, имеет минимальную идентичность или сходство последовательностей среди различных групп коронавирусов. Функция не понятна, но варианты SARS-CoV с нефункционирующим мутантным геном nsp2 демонстрируют снижение пикового титра на 90 % и снижение синтеза вирусной РНК на 50 % [61].

11 остатков, тогда как Nsp3 на 64 остатков, из которых 44 консервативные⁴³. Ими установлено, что внутри областей nsp2 и nsp3 имеется негомологичный ORF1ab сегмент, который они идентифицировали как соответствующий такому же участку из вируса птичьего бронхита (avian infectious bronchitis virus, PDB 3ld1) (рисунок 19).

В положении 501 (положение 321 белка Nsp2), в соответствующем сайте в SARS-подобного коронавируса летучих мышей (т.е. возможного предка SARS-CoV-2), находится неполярная аминокислота треонин; SARS-CoV – полярная аминокислота аланин; у SARS-CoV-2 – полярная аминокислота глутамин (Gly). Благодаря большей, чем у аланина, длине боковой цепи, полярности и способности образовывать водородные связи, аминокислота глутамин повышает стабильность белка и эффективность проникновения вируса в эндосомы клетки и, соответственно, ее инфицирование⁴⁴.

Что касается положения 723 (543 в белке Nsp3), то у SARS-CoV-2 имеется сериновый остаток (Ser), но у коронавирусов SARS-like и SARS Bat, глициновый. Благодаря этому усилена локальная жесткость полипептидной цепи как для стерического эффекта, так и для способности образовывать водородные связи. Более того, Ser может действовать как нуклеофил⁴⁵ в определенных структурных средах, таких как среды активных сайтов фермента.

Аминокислота в положении 1010 (соответствующей положению 192 белка Nsp3) у SARS-CoV-2 представлена пролином; в гомологичной области Bat SARS-подобного коронавируса находится гистидин; у SARS-CoV – изолейцин. Из-за стерической выпуклости (steric bulge) и жесткости (stiffness) пролина молекулярная структура SARS-CoV-2 может подвергаться большему локальному конформационному изменению в сравнении с аналогичными белками двух других вирусов. В Nsp3 мутация находится рядом с фосфатазоподобным белком (similar to a phosphatase), характерным для SARS-CoV и играющим ключевую роль в процессе размножения (репликации) вируса.

Таким образом, большая контагиозность (заразность) SARS-CoV-2 для людей, чем отмечена у SARS-CoV, может быть объяснена более стабильной структурой Nsp2, обеспечивающей эффективное проникновение вируса в эндосомы клетки; а также более эффективной работой репликационно-транскрипционного комплекса и системы противодействия врожденному защитному ответу клетки, обеспечиваемым белком Nsp3, совместно обеспечивающих высокое воспроизводства вируса клеткой.

Тяжесть течения инфекции у жителей Ухани, вызванной SARS-CoV-2, стала тем фактором, который обратил на нее внимание врачей в начале эпидемии, когда летальные исходы составляли 15 % от количества заболевших [14]. То, что вирус взаимодействует с рецептором ACE2 на поверхности пневмоцитов I и II типов человека, было установлено почти сразу, однако одновременно обнаружили и то, что сила связывания между SARS-CoV-2 и ACE2 была слабее, чем между SARS-CoV и ACE2, и она лишь немного превышала пороговое значение, требуемое для инфицирования клетки [64].

Чтобы лучше понять, что лежит в основе тяжелого течения COVID-19 у местных жителей, Y. Zhao с соавт. [14] с использованием технологии секвенирования РНК одной клетки (single-cell RNA sequencing technology, scRNA-Seq) проанализировали экспрессию ACE2 в 43 тыс. клеток 8 доноров разных рас и национальностей. Исследовались пневмоциты I (AT1) и II типов (AT2), эпителиальные клетки дыхательных путей, фибробласты, эндотелиальные клетки и макрофаги. Было установлено, что у всех доноров ACE2 экспрессируется в 0,64 % клеток легкого человека. Большинство клеток, экспрессирующих ACE2 (в среднем 83 %), являются клетками AT2. Экспрессия ACE2 сконцентрирована в особой популяции AT2, экспрессирующей многие другие гены, благоприятствующие процессу распространения вируса (приведены в рассматриваемой статье), т.е. вирус управляет этими клетками для своего размножения. AT1, эпителиальные клетки дыхательных путей, фибробласты, эндо-

⁴³ Nsp 3 – самый крупный белок, кодируемый геном CoV. Средняя ММ ~200 кД, состоит из 1922 аминокислот, формирует восемь независимых доменов. Организация доменов различна для разных родов CoV [62]. Nsp3 является ключевым компонентом репликационно-транскрипционного комплекса; из мембран эндоплазматического ретикулума он формирует двухмембранные везикулы, противодействующие врожденному защитному ответу хозяина; высвобождает Nsp1, Nsp2 и др. Более подробно см. в работе J. Lei с соавт. [63].

⁴⁴ Аминокислоты, содержащие полярные группы, сильно взаимодействующие с водой, называют гидрофильными аминокислотами (Asp, Gly, Lis, His, Arg, Gly, Ser, Thr). Такие аминокислотные звенья обычно располагаются на поверхности частиц белка. Аминокислоты, имеющие неполярные боковые заместители, не несут парциальных зарядов и не сольватируются заметно водой (проявление гидрофобности) – глицин и аланин. Они преимущественно располагаются внутри белковой молекулы, сводя тем самым к минимуму их соприкосновение с водой. То есть замена полярной (гидрофильной) аминокислоты на неполярную (гидрофобную) серьезно сказывается на конформации белковой молекулы.

⁴⁵ Нуклеофил – реагент, образующий химическую связь с партнером по реакции (электрофилом) по донорно-акцепторному механизму, предоставляя электронную пару, образующую новую связь.

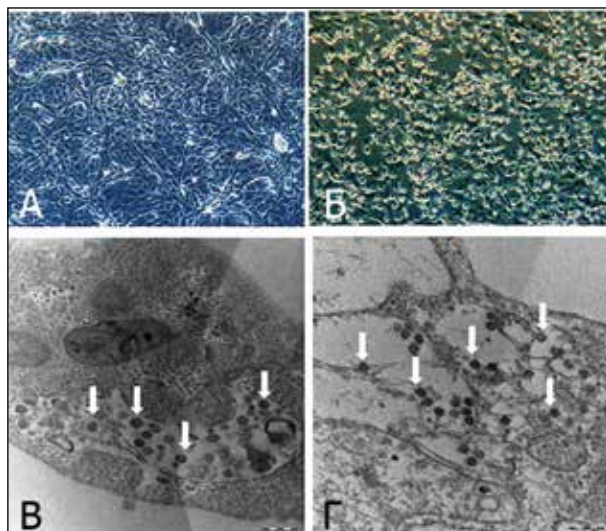


Рисунок 20 – Клетки Vero инфицированные SARS-CoV-2 под оптическим и электронным микроскопом. А. Исходная культура клеток Vero. Б. Цитопатические эффекты клеток Vero, вызванные SARS-CoV-2 (3-и сутки после инокуляции) В и Г. Электронные микрофотографии тонких срезов клеток Vero, инфицированных SARS-CoV-2. Блочное окрашивание с использованием 0,5 % уранилацетата. Срезы толщиной 70 нм. Белые стрелки указывают на агрегаты внутриклеточных вирионов. Вирус наблюдается в широком диапазоне внутриклеточных органелл, особенно в везикулах. Размер частиц варьирует от 70 до 90 нм [68]

телиальные клетки и макрофаги экспрессируют ACE2, но в значительно меньшем количестве. Обильная экспрессия ACE2 в популяции AT2 объясняет тяжелое альвеолярное повреждение при инфицировании легких SARS-CoV-2⁴⁶. Кроме того, было установлено, что ACE2 более широко распространен у мужчин-доноров, чем у женщин: по крайней мере 5 различных типов клеток в мужском легком экспрессируют этот рецептор, в то время как в женском легком только 2–4 типа клеток экспрессируют этот рецептор. Этот результат согласуется с данными эпидемиологического исследования, показывающего, что боль-

шинство подтвержденных пациентов, инфицированных на начальной стадии эпидемии в 2019 г. SARS-CoV-2, были мужчинами (30 против 11 на 2 января 2020 г.). Y. Zhao с соавт. [14] установлено, что донор-азиат (мужчина) имеет гораздо более высокое соотношение клеток, экспрессирующих ACE2, чем доноры белых и афроамериканцев (2,50 % против 0,47 % всех клеток, т.е. в 5,3 раза). Это объясняет сделанное наблюдение, что новая пандемия коронавируса и предыдущая пандемия SARS-CoV сконцентрированы в азиатском регионе и почему вспышка болезни проявила себя столь тяжелыми клиническими формами у местного китайского населения⁴⁷.

Выделение SARS-CoV-2. Для выделения SARS-CoV-2 использовали образцы секрета верхних и нижних дыхательных путей от предполагаемых больных COVID-19 (тяжело протекающая рентгенологически подтвержденная пневмония, кашель, лихорадка). Их инокулировали в клетки Vero E6 или Caco-2 и наблюдали с 24-часовыми интервалами. Цитопатические эффекты проявлялись через 3 суток после инокуляции. Инокулированные клетки собирали на 4-е сутки, когда более 80 % клеток проявляли цитопатические эффекты. Репликация вируса подтверждалась использованием обратной-транскриптазной полимеразной цепной реакции в реальном времени (real-time reverse transcriptase, RT-PCR)⁴⁸ с РНК, выделенной из среды для культивирования клеток (рисунок 20).

Идентификацию вируса проводили с использованием RT-PCR, полного секвенирования генома и электронной микроскопии. Работа с культурами SARS-CoV-2 осуществлялась в учреждениях, обеспечивающих уровень биобезопасности BSL3 [68].

Клиника COVID-19 и установление диагноза. Симптомы не характерны. Наиболее часто встречающимися симптомами были температура (91,7 %), затем кашель (75 %) и ощущение усталости (75 %). Более чем у 1/3 пациентов наблюдались стеснение в груди или одышка, а также желудочно-кишечные симптомы – тошнота, диарея и анорексия.

⁴⁶ Выборка Y. Zhao с соавт. [14] недостаточна для обнаружения связи между количеством клеток, экспрессирующих ACE2, и возрастом пациента. Возможно, что такая связь существует и более тяжелое течение инфекции SARS-CoV-2 у пожилых людей обусловлено большим количеством экспрессируемых в популяции AT2 рецепторов ACE2.

⁴⁷ Параллельно с Китаем, с 19.01.2020 г. злокачественная эпидемия коронавирусной инфекции развивается в Италии. В этой стране, особенно в ее северной части и в Сардинии, несколько лет назад были выявлены инфицированные коронавирусами летучие мыши: *Rhinolophus ferrumequinum*, *Plecotus auritus* и *Tadarida teniotis*. Филогенетические анализы, основанные на последовательностях РНК-зависимой РНК-полимеразы (RdRp), связывают обнаруженных CoV с SARS-подобными CoV летучих мышей [65]. Обнаружено и совместное сосуществование в летучих мышах Италии *P. pipistrellus* CoV и парамиксовирусов [66, 67]. Поэтому можно предположить, что причиной этой вспышки на Апеннинском полуострове и Сардинии могли стать собственные природные очаги коронавирусов.

⁴⁸ Детальное описание применения RT-PCR для диагностики SARS-CoV-2 см. в работе V.M. Corman с соавт. [69].

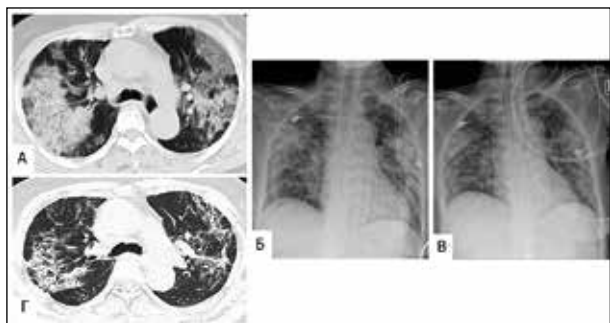


Рисунок 21 – Рентгенограмма и компьютерная томограмма (КТ) грудной клетки выздоровевшей пациентки. Женщина, 67 лет, поступила в больницу № 7 г. Ухань 01.01.2020 г с кашлем с мокротой и прогрессирующей одышкой. А. Изображение поперечной компьютерной томографии от 9 января, показывающее множественные лобулярные и сегментарные затемнения в сочетании с непрозрачностью типа «матовое стекло», диффузно распределенными в двухстороннем легочном поле. Б. Рентген грудной клетки от 12 января, показывающий расширенную двустороннюю консолидацию. В. Уменьшение консолидации на рентгенограмме грудной клетки от 17 января. Г. КТ от 22 января, показывающая рассасывание двусторонней консолидации, рассеянные фиброзные изменения. Состояние пациентки улучшилось, она была выписана 24 января [70]

Наиболее информативными оказалось рентгенологическое исследование (рентгенография грудной клетки и компьютерная томография). У 99,3 % при рентгенологическом исследовании поступивших в госпиталь лихорадящих пациентов обнаруживали двусторонние множественные лобулярные и сегментарные затемнения в сочетании с непрозрачностью типа «матовое стекло» (ground-glass opacities)⁴⁹ и двухсторонней консолидацией⁵⁰. Нарастание количества очагов затемнений, появление картины «белого легкого» обычно говорят о приближении летального исхода болезни (рисунки 21 и 22).

Возможно относительно бессимптомное состояние. Пожилые мужчины с сопутствующими заболеваниями чаще страдают дыхательной недостаточностью из-за тяжелого альвеолярного

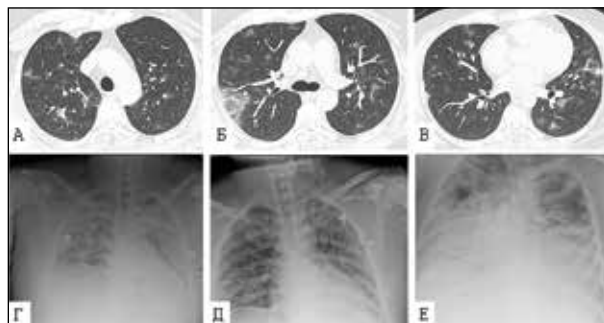


Рисунок 22 – Рентгенография грудной клетки и компьютерная томография 36-летнего некурящего мужчины, умершего после непродолжительного улучшения состояния. У пациента при поступлении 06.01.2020 г. в стационар были температура, кашель и диарея. А–В. Поперечные КТ-изображения от 9 января. А. Двусторонние множественные затемнения по типу «матового стекла», большинство из которых представляют собой нерегулярные небольшие круглые образования, рассеянные в верхней области легких. Б. Двусторонние множественные нерегулярные затемнения по типу «матового стекла» и затемнение в форме клина, расположенное в правой верхней доле под плеврой. В. Двустороннее множественное нерегулярное затемнение по типу «матового стекла» и небольшое узловатое затемнение, расположенное в левой нижней верхней доле под плеврой. Г. Состояние пациента ухудшилось 12 января. Рентгенография грудной клетки показала двустороннее диффузное затемнение и так называемое «белое легкое». Д. Рентгенография грудной клетки после интубации и искусственной вентиляции легких 13 января, затемнения уменьшились. Е. 20 января, двусторонние поражения легких увеличились, плевральный выпот. Больной умер 21 января [70]

повреждения. Начавшись, болезнь может быстро прогрессировать вплоть до развития шока, острого респираторного дистресс-синдрома, сердечной и почечной недостаточности, приводящих к смерти [68].

Результаты анализа клеток крови пациентов в день госпитализации обычно показывали норму у большинства пациентов. Лимфо-

⁴⁹ Симптом «матового стекла» – неспецифический радиологический симптом, отражающий различные патологические изменения в легочной ткани на уровне альвеол. Визуализируется при компьютерной томографии как туманное, матовое снижение прозрачности легочной ткани с дифференцируемым рисунком сосудов и бронхов на этом фоне. Может быть обусловлен частичным снижением воздушности легочных альвеол (транссудативной, экссудативной или иной природы), их частичным спадением (гиповентиляцией) или утолщением их стенок.

⁵⁰ Легочная консолидация (легочное опеченение) – уплотнение легочной ткани за счет заполнения воздушных в норме альвеол жидкостями (экссудатом, транссудатом, кровью, водой и т.д.). При рентгенографии, или компьютерной томографии легочная консолидация представляет собой участки легких, непроницаемые для рентгеновских лучей, на фоне которых не прослеживаются сосудистый рисунок легочной ткани (в отличие от менее выраженного снижения воздушности по типу «матового стекла»). Консолидация наиболее типична для сформировавшейся зоны пневмонического очага.



Рисунок 23 – Временная шкала развития основных симптомов COVID-19. Первые симптомы неспецифичны, в среднем от их начала до помещения пациента в госпиталь проходит 7 сут, состояние пациента стремительно ухудшается, нарастает одышка, на 8-е сутки у части пациентов может развиваться острый респираторный дистресс-синдром, требующий механической вентиляции легких и помещения в реанимационную палату [70]

пения была распространена у 5,4 % пациентов. Было отмечено, что более половины этих па-

циентов страдало эозинопенией. Другие лабораторные данные включали более высокую концентрацию С-реактивного белка (91,9 %), сыровоточного амилоида А (90,2 %) и D-димера (продукт распада фибрина) (43,2 %), в то время как повышенная концентрация сыровоточного прокальцитонина (34,7 %) и креатинкиназы (6,7 %) встречались реже [67]. Постоянное снижение количества лимфоцитов крови (нарастание лимфопении), увеличение концентраций D-димера, амилазы являются негативными прогностическими признаками [58].

С. Huang с соавт. [69] на основе своих наблюдений за течением COVID-19 у 41 пациента составили временную шкалу развития основных симптомов болезни (рисунок 23).

Степень тяжести COVID-19 определяли на основании дыхательных функций при поступлении пациента по одному из следующих критериев: частота дыхания ≥ 30 /мин, насыщение кислородом ≤ 93 % в покое и индекс оксигенации ≤ 300 мм рт. ст.⁵¹ [70] (таблица 4).

Национальная комиссия здравоохранения КНР на основе рекомендаций ВОЗ⁵² разработала Программу выявления случаев COVID-19 (таблица 5)

⁵¹ Индекс оксигенации (oxygenation index, OI; респираторный индекс, PaO_2/FiO_2) – параметр, используемый в анестезиологии-реаниматологии и интенсивной терапии для оценки функции обмена кислорода в легких. Расчет OI производят по формуле – как соотношение PaO_2/FiO_2 (отношение парциального напряжения кислорода в артериальной крови к фракции кислорода на вдохе). Является качественным признаком для определения степени острой дыхательной недостаточности. В норме OI равен примерно 500. Снижение OI считается одним из главных критериев острого респираторного дистресс-синдрома.

⁵² World Health Organization. Clinical management of severe acute respiratory infection when novel coronavirus (2019-nCoV) infection is suspected. 2019. URL: https://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/InterimGuidance_ClinicalManagement_NovelCoronavirus_11Feb13u.pdf?ua=1&ua=1. Accessed February 11, 2020.

Таблица 4 – Критерии определения тяжести клинического течения COVID-19 (при подтверждении этиологии болезни RT-PCR)

Степень тяжести	Основные признаки
Легкая (Mild)	Легкие клинические симптомы (лихорадка < 38 °C (без лечения), с кашлем или без кашля, без одышки, без удушья, без хронических заболеваний). Нет рентгенологического подтверждения пневмонии
Умеренная (Moderate)	Лихорадка, респираторные симптомы, рентгенологическое обнаружение пневмонии
Тяжелая (Severe)	Любой из следующих признаков: А. Респираторный дистресс, частота дыхания ≥ 30 раз/мин. Б. SpO_2 (насыщение кислородом) < 93 % в состоянии покоя. В. $PaO_2/FiO_2 \leq 300$ мм рт. ст. (парциальное давление кислорода/фракция вдыхаемого кислорода) Пациентов с быстрым прогрессированием болезни (> 50 %) на КТ в течение 24–48 ч следует считать тяжелыми
Критическая (Critical)	Любой из следующих признаков: А. Дыхательная недостаточность, требующая механической вентиляции легких. Б. Шок В. Внелегочная органная недостаточность, требующая помещения в блок интенсивной терапии
Примечание. По Z. Zu с соавт. [71].	

Таблица 5 – Программа выявления случаев COVID-19, принятая в КНР*

Тип диагноза	Условия для постановки диагноза
Предполагаемый	Для предположения диагноза должны совпасть по крайней мере два условия из перечисленных: i. Лихорадка и/или симптомы со стороны респираторного тракта (например, кашель, тошнота, миалгия). ii. Рентгенологические признаки вирусной пневмонии. iii. Нормальное или низкое количество лейкоцитов в крови или сниженное количество лимфоцитов (на ранней стадии болезни) И один или более симптомов, которые развились в течение 14 сут после предполагаемого контакта с инфицированным: 1. В анамнезе – пребывание в Ухани или других регионах, где отмечено распространение COVID-19, или общение с пациентом, у которого уже установлен COVID-19. 2. Тесный контакт с пациентом с лабораторно подтвержденным диагнозом COVID-19 (положительный тест на нуклеиновую кислоту вируса). 3. Тесный контакт с людьми с лихорадкой и респираторными симптомами, прибывшими из Ухани, его региона или населенных пунктов. 4. Весь блок (Cluster onset) Пациенты без возможной экспозиции в анамнезе должны отвечать условиям, перечисленным i, ii и iii
Клинически подтвержденный случай (убран из 6 издания)	Типичная рентгенологическая картина пневмонии (только для пациентов из провинции Хубэй)
Подтвержденный случай	Имеется по крайней мере одно из следующих доказательств этиологии болезни: i. Положительный тест RT-PCR на нуклеиновую кислоту SARS-CoV-2 в пробе крови или выделениях из респираторного тракта. ii. Нуклеотидная последовательность вируса, выделенного из пробы крови или выделений из респираторного тракта, высоко гомологична SARS-CoV-2
Примечание. По Z. Zu с соавт. [71].	

Таблица 6 – Дифференциальная диагностика COVID-19 от других инфекций легких

Болезнь	Респираторные симптомы	Общие симптомы	Рентгенологические находки
Обычная простуда (Common cold)	Заложенный нос, насморк, чиханье	Нет выраженного дискомфорта	Нет
Грипп (Influenza)	Заложенный нос, насморк, боль в горле и сухой кашель	Высокая температура, боли в мышцах, недомогание	Небольшие области с непрозрачностью типа «матовое стекло» и затемнения, распределенные субплеврально или перибронхиально
SARS	Кашель, одышка	Лихорадка, озноб, боли в мышцах, головная боль	Субплевральная непрозрачность типа «матовое стекло», затемнения нижней доли легкого, интерлобулярные и интралобулярные септальные утолщения
MERS	Боль в горле, сухой кашель, одышка	Лихорадка, озноб, оцепенение	Билатеральное, базиллярное и субплевральное снижение прозрачности по типу «матовое стекло», редкие септальные утолщения и плевральные выпоты
COVID-19 легкой степени тяжести	Возможен кашель, боли в горле	Лихорадка	Мультифокальные затемнения типа «матовое стекло» с субплевральным распределением
COVID-19 в тяжелом проявлении	Пациент задыхается, респираторная недостаточность	Лихорадка, ломота в мышцах, головная боль, спутанность сознания	Диффузное гетерогенное затемнение по типу «матовое стекло»
Примечание. По Z. Zu с соавт. [71].			

Пневмонию COVID-19 могут имитировать пневмонии другой этиологии. В таблице 6 приведены их типичные клинические и рентгенологические признаки.

General Office of National Health Committee. Office of State Administration of Traditional Chinese Medicine. Notice on the issuance of a program for the diagnosis and treatment of novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (trial sixth edition) (дата обращения: 19.02.20).

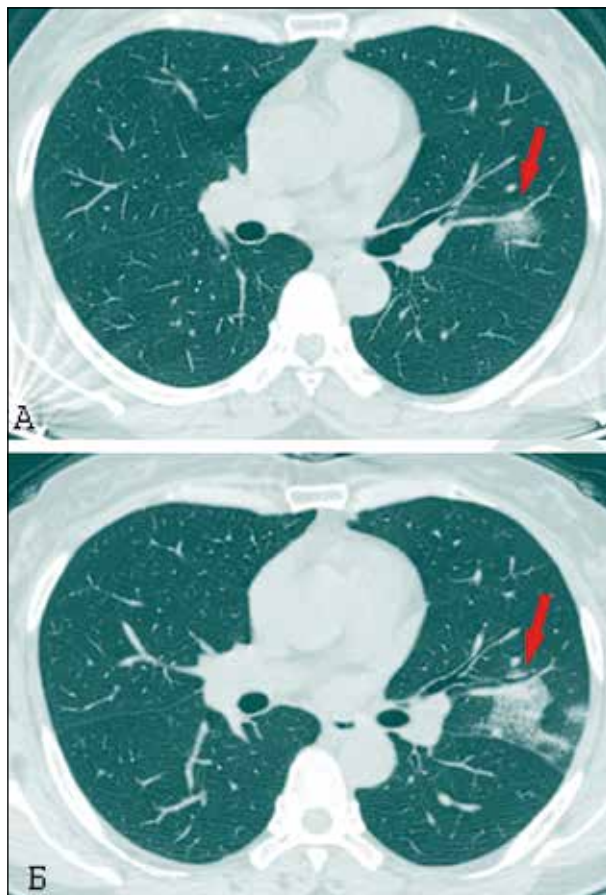


Рисунок 24 – Результаты КТ, подтвердившей пневмонию у 51-летней женщины без лихорадки, находившейся в контакте с пациентами с подтвержденным лабораторным путем диагнозом COVID-19. На верхней фотографии (А) единственный очаг типа «матовое стекло» (верхняя доля левого легкого – стрелка). КТ грудной клетки сделана за 6 сут до того, как был получен первый положительный тест RT-PCR. Внизу – контрольная КТ через 4 сут (Б) показала увеличение размера пневмонического очага (стрелка) [71]

По опыту китайских врачей рентгенография грудной клетки на ранней стадии инфекции не столь чувствительна к обнаружению очагов типа «матовое стекло», как КТ. Пневмония COVID-19 не имеет специфических особенностей при КТ грудной клетки. Обычно КТ грудной клетки обнаруживает мультифокальные двусторонние очаги типа «матовое стекло» с выраженным периферическим субплевральным распределением и склонностью располагаться в частях легких, близких к спине или в нижней доле. КТ позволяет обнаружить пневмонический очаг раньше, чем с помощью RT-PCR будет установлена этиология болезни и ярко проявятся клинические признаки болезни, однако без подтверждения RT-PCR диагноз COVID-19 не ставится (рисунок 24 и 25).

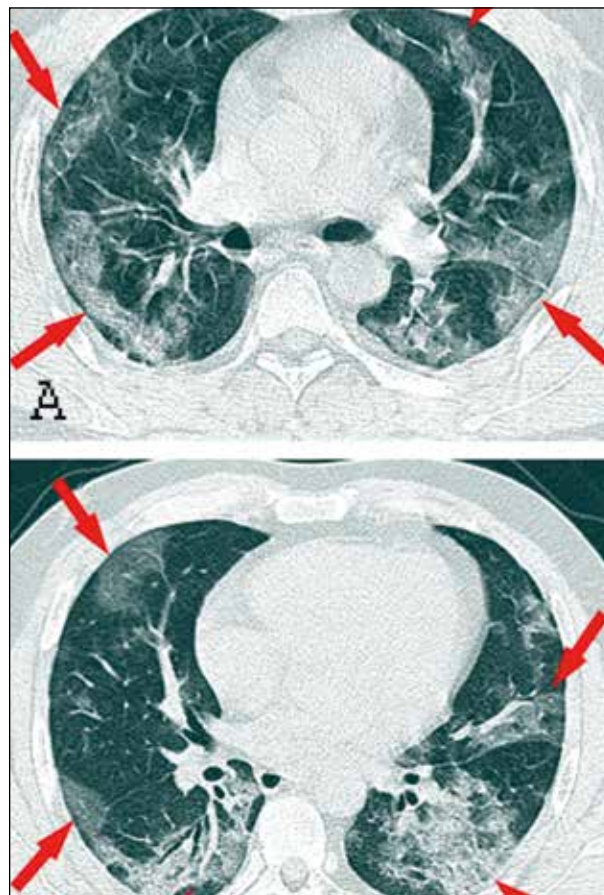


Рисунок 25 – Результат КТ, подтвердивший пневмонию одновременно с RT-PCR у 43-летнего мужчины, не имевшего лихорадки и не бывшего в Ухани. Осевая неусиленная КТ грудной клетки. А и Б. На двух тонких срезах аксиальной неусиленной компьютерной томографии грудной клетки показаны диффузно субплеврально распределенные затемнения типа «матовое стекло» (стрелки) [71]

Хотя результаты КТ грудной клетки неспецифичны для выявления COVID-19, этот метод диагностики был рекомендован Национальной комиссией по здравоохранению и здравоохранению Китая в качестве основного подтверждения клинического диагноза в провинции Хубэй. RT-PCR, положительная для COVID-19, остается эталонным стандартом этиологической диагностики, но на результаты RT-PCR могут влиять ошибки выборки и низкая вирусная нагрузка, недостаток чувствительности в течение первых пяти суток болезни. Опыт диагностики COVID-19 показал, что КТ грудной клетки обнаруживает пневмонию тогда, когда RT-PCR мазков из носоглотки или мазков из горла дают отрицательный результат. Тонкослойная КТ грудной клетки проста в исполнении и выявляет раннюю пневмонию COVID-19 с высокой чувствительностью, предо-

ставляя ценную информацию для дальнейшей диагностики, помогая при профилактике и контроле COVID-19 [71].

Лечение. Лечение симптоматическое. Кислородная терапия представляет собой основное терапевтическое средство для пациентов с тяжелым течением COVID-19. Системные кортикостероиды для лечения вирусной пневмонии или острого респираторного дистресс-синдрома не рекомендуются. Кроме того, рекомендовано избегать неселективного или ненадлежащего применения антибиотиков. Хотя противовирусное лечение не было одобрено, была предложена комбинация из альфа-интерферона (например, 5 млн единиц при вдыхании аэрозоля два раза в день) и лопинавир/ритонавира (ингибитор ВИЧ-1 и ВИЧ-2 протеазы/ингибитор аспартилпротеаз ВИЧ-1 и ВИЧ-2). Доклинические исследования также показали, что нуклеозидный аналог ремдесивир (GS5734) – ингибитор РНК-полимеразы с активностью *in vitro* может быть эффективным как для профилактики, так и для терапии инфекций HCoV. Этот препарат был протестирован на модели макаки-резуса с инфекцией MERS-CoV с положительным результатом [58].

Остается только сожалеть об отсутствии в прошлом внимания у российских ученых к столь важному и интересному направлению в эпидемиологии, вирусологии и иммунологии, каким является изучение возбудителей корона-вирусных инфекций и вмещающих их на территории России экосистем. Внезапная вспышка COVID-19 в КНР, где уже не менее 15 лет велся

мониторинг резервуаров таких инфекций, показывает довольно хрупкое благополучие в нашей стране по подобным инфекциям, SARS-CoV-2 – не последний вирус семейства Coronaviridae, который нам может подбросить природа. Однако неожиданность пандемического распространения SARS-CoV-2 – это индикатор более опасного явления – несоответствия существовавших до этой пандемии знаний о природных резервуарах возбудителей инфекционных болезней и представлений об эпидемических процессах, накопленному в природе эпидемическому потенциалу. Такой сигнал не первый. Уже не менее 50 лет развивается ВИЧ/СПИД-пандемия, и пока ей нечего противопоставить, кроме молчания. Эпидемическая ситуация для населения России ухудшается тем, что пандемия SARS-CoV-2 развивается на фоне ВИЧ/СПИД-пандемии, возможно, как ее часть. Вслед за ВИЧ/СПИД-пандемией по тем же механизмам передачи тянется пандемия Т-клеточного лейкоза, не отстают от них латентные герпетические инфекции, проявляющиеся патологией, воспринимаемой врачами как неинфекционная. Налицо не просто пандемия SARS-CoV-2, а кризис современной эпидемиологии. И этот кризис необходимо преодолеть, начиная с пересмотра многих представлений о причинах эпидемий и борьбе с ними, считающихся незыблемыми весь XX в. Что касается Российской Федерации, то уже по принятым правительством мерам ясно, что новая пандемия стала той встряской, которая сделала страну более сильной в противоэпидемическом отношении. Опыт и знания специалистов Министерства обороны Российской Федерации сыграли в этом далеко не последнюю роль.

Информация о конфликте интересов

Автор заявляет, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

1. Berry D.M., Cruicktank J.G., Chu H.P., Dells R.H.J. The structure of infectious bronchitis virus // *Virology*. 1964. V. 23. P. 403–408.
2. Tyrrell D.A.J., Almeida J.D. Direct electron microscopy of organ cultures for the detection and characterization of viruses // *Arch. Gesamte Virusforsch.* 1967. V.22. P. 417–425.
3. Siddell S.G., Wege H., ter Meulen V. The biology of coronaviruses // *J. Gen. Virol.* 1983. V. 64. P. 761–776.
4. Sturman L.S., Holmes K.V. The molecular biology of coronaviruses // *Adv. Virus Res.* 1983. V. 28. P. 35–112.
5. Fung S., Liu L.H. Human Coronavirus: Host-Pathogen Interaction // *Annu. Rev. Microbiol.* 2019. V. 73. P. 529–557. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-020518-115759>.
6. Cui J., Li F., Shi Zheng-Li. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses // *Nature Reviews. Microbiology*. 2019. V. 17. P. 181–192.
7. Chen Yu., Liu O., Guo D. Emerging coronaviruses:

genome structure, replication, and pathogenesis. 2020, 22 January. <https://doi.org/10.1002/jmv.25681>

8. Wong A.C.P., Li X., Lau S.K.P. et al. Global Epidemiology of Bat Coronaviruses // *Viruses*. 2019. V. 11. P. 174. <https://doi.org/10.3390/v11020174>

9. Lu R., Zhao X., Li J. et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding // Published online January 29, 2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)

10. Widagdo W., Begeman L., Schipper D. et al. Tissue distribution of the MERS coronavirus receptor in bats // *Sci. Reports*. 2017. 1193. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01290-6>

11. van den Brand J., Smits S.L., Haagmans B.L. Pathogenesis of Middle East respiratory syndrome coronavirus // *J. Pathol*. 2015. V. 235. P. 175–184. <https://doi.org/10.1002/path.4458>

12. Kuba K., Imai Y., Rao S. et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury // *Nature Medicine*. 2005. V. 11. P. 875–879.

13. Fan Y., Zhao K., Shi Z.-L., Zhou P. Bat coronaviruses in China // *Viruses*. 2019. V. 11. 210. <https://doi.org/10.3390/v11030210>

14. Zhao Y., Zhao Z., Wang Y. et al. Single-cell RNA expression profiling of ACE2, the putative receptor of Wuhan 2019-nCoV // *BioRxiv*. 2020. Jan. 26. <https://doi.org/10.1101/2020.01.26.919985>

15. Towner J.S., Amman B.R., Sealy T.K. et al. Isolation of genetically diverse Marburg viruses from Egyptian fruit bats // *PLoS Pathog*. 2009. V. 5. № 7. e1000536. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000536>

16. Wang L.F., Cowled C. Bats and Viruses: A New Frontier of Emerging Infectious Diseases; John Wiley Sons Inc.: Hoboken, NJ, USA. 2015.

17. Lau S.K., Li K.S., Huang Y. et al. Ecoepidemiology and complete genome comparison of different strains of severe acute respiratory syndrome-related Rhinolophus bat coronavirus in China reveal bats as a reservoir for acute, self-limiting infection that allows recombination events // *J. Virol*. 2010. V. 84. P. 2808–2819.

18. Yang X.L., Tan C.W., Anderson D.E. et al. Characterization of a filovirus (Měnglà virus) from Rousettus bats in China // *Nature Microbiology*. 2019. V. 4. P. 390–395. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0328-y>

19. Zhou P., Tachedjian M., Wynne J.W. et al. Contraction of the type I IFN locus and unusual constitutive expression of IFN- α in bats // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2016. V. 113. P. 2696–2701.

20. Woo P.C., Lau S.K., Li K.S. et al. Genetic relatedness of the novel human group c betacoronavirus to tytonycteris bat coronavirus HKU4 and pipistrellus bat coronavirus HKU5 // *Emerg. Microbes Infect.* 2012. V. 1. <https://doi.org/10.1038/emi.2012.45>

21. Annan A., Baldwin H., Corman V.M. et al. Human Betacoronavirus 2c EMC/2012 – related Viruses

in Bats, Ghana and Europe // *Emerging Infectious Diseases*. 2013. V. 19. № 3. P. 2456–2459. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1903.121503>

22. Ge X.-Y., Wang N., Zhang W. et al. Coexistence of multiple coronaviruses in several bat colonies in an abandoned mineshaft // *Virologica Sinica*. 2016. V. 31, № 1. P. 31–40. <https://doi.org/10.1007/s12250-016-3713-9>

23. Zhu Y., Li Ch., Chen L. et al. A novel human coronavirus OC43 genotype detected in mainland China // *Emerging Microbes & Infections*. 2018. V. 7. 173. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0171-5>

24. Corman V.M., Kallies R., Philipps H. et al. Characterization of a novel betacoronavirus related to middle East respiratory syndrome coronavirus in European hedgehogs // *J. Virol*. 2014. V. 88. P. 717–724.

25. Monchatre-Leroy E., Boue F., Boucher J.M. et al. Identification of alpha and beta coronavirus in wildlife species in France: Bats, rodents, rabbits, and hedgehogs // *Viruses*. 2017. V. 9. № 12. 364. <https://doi.org/10.3390/v9120364>

26. Saldanha I.F., Lawson B., Goharriz H. et al. Extension of the known distribution of a novel clade C betacoronavirus in a wildlife host // *Epidemiology and Infection*. 2019. V. 147, e169. P. 1–8. <https://doi.org/10.1017/S0950268819000207>

27. Lau S.K.R., Luk H., Wong A.S.P. et al. Wong Identification of a Novel Betacoronavirus (Merbecovirus) in Amur Hedgehogs from China // *Viruses*. 2019. V. 11. 980. <https://doi.org/10.3390/v11110980>

28. Subissia L., Posthumab C.C., Collet A. et al. One severe acute respiratory syndrome coronavirus protein complex integrates processive RNA polymerase and exonuclease activities // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014. Published online. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1323705111.

29. Pyrc K., Dijkman R., Deng L. et al. Mosaic structure of human coronavirus NL63, one thousand years of evolution // *J. Mol. Biol*. 2006. V. 364. P. 964–973. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.09.074>

30. Cavanagh D. Mawditt K., Adzharet A. al. Does IBV change slowly despite the capacity of the spike protein to vary greatly? // *Adv. Exp. Med. Biol*. 1998. V. 440. P. 729–734.

31. Su S., Wong G., Shi W. et al. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses // *Trends in Microbiology*. 2016. V. 24, № 6. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.003>

29. Gralinski L.E., Baric R.S. Molecular pathology of emerging coronavirus infections // *J. Pathol*. 2015. V. 235. P. 185–195. <https://doi.org/10.1002/path.4454>

30. Zhao J., Li K., Wohlford-Lenane C. et al. Rapid generation of a mouse model for Middle East respiratory syndrome // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014. V. 111. P. 4970–4975. <https://doi.org/10.1073/pnas.1323279111>

31. Su S., Wong G., Shi W. et al. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses // *Trends in Microbiology*. 2016. V. 24, № 6. P. 490–502. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.003>

32. Menachery V.D., Yount B.L., Debbink K. et al.

SARS-like cluster of circulating bat coronavirus pose threat for human emergence // *Nat. Med.* 2015. V. 21, № 12. P. 1508–1513. <https://doi.org/10.1038/nm.3985/>

33. Sheahan T. Rockx B., Donaldson E. et al. Mechanisms of zoonotic severe acute respiratory syndrome coronavirus host range expansion in human airway epithelium // *J. Virol.* 2008. V. 82. P. 2274–2285. <https://doi.org/10.1128/JVI.02041-07>

34. Li F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins // *Annu Rev Virol.* 2016. V. 29; P. 237–261. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-110615-042301>

35. Bolles M., Deming D., Long K. et al. A double-inactivated severe acute respiratory syndrome coronavirus vaccine provides incomplete protection in mice and induces increased eosinophilic proinflammatory pulmonary response upon challenge // *J. Virol.* 2011. V. 85. P. 12201–12215. <https://doi.org/10.1128/JVI.06048-11>

36. Chen N., Zhou M., Dong X. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study // *www.thelancet.com* Published online January 29, 2020 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7)

37. Fehrenbach H. Alveolar epithelial type II cell: defender of the alveolus revisited // *Respir. Res.* 2001. V. 2, № 1. P. 33–46. <https://doi.org/10.1186/rr36>

38. Chambers R.C., Scotton C.J. Coagulation cascade proteinases in lung injury and fibrosis // *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2012. V. 9. P. 96–101.

39. Smits S.L., van den Brand J.M., de Lang A. et al. Distinct severe acute respiratory syndrome coronavirus-induced acute lung injury pathways in two different nonhuman primate species // *J. Virol.* 2011. V. 85. P. 4234–4245. <https://doi.org/10.1128/JVI.02395-10>

40. van Doremalen N., Bushmaker T., Munster V.J. Stability of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) under different environmental conditions // *Euro Surveill.* 2013. V. 18, № 38. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2013.18.38.20590>

41. Chan K.H., Peiris J.S.M., Lam S.V. et al. The Effects of Temperature and Relative Humidity on the Viability of the SARS Coronavirus // *Adv. Virol.* 2011. Published online 2011/ Oct 1. <https://doi.org/10.1155/2011/734690>

42. McKinney K.R., Gong Y.Y., Lewis T.G. Environmental transmission of SARS at Amoy Gardens // *J. Environ. Health.* 2006. V. 68, № 9. P. 26–30.

43. Mullis L, Saif L.J., Zhang Y. et al. Stability of Bovine Coronavirus on Lettuce Surfaces Under Household Refrigeration Conditions // *Food Microbiol.* 2012. V. 30, № 1. P. 180–186. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.12.009>

44. Casanova L., Rutala W.A., Weber D.J., Sobsey M.D. Survival of surrogate coronaviruses in water // *Water Res.* 2009. V. 43, № 7. P. 1893–1898. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.02.002>

45. FAO/WHO. Viruses in food: scientific advice

to support risk management activities: Meeting Report. 2008.

46. Muthumani K., Falzarano D., Reuschel E.L. et al. A synthetic consensus anti-spike protein DNA vaccine induces protective immunity against middle east respiratory syndrome coronavirus in nonhuman primates // *Sci. Trans. Med.* 2015. V. 7. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aac7462>

47. Yong C.Y., Ong H.K., Yeapetal. Recent S.K. et al. Advances in the Vaccine Development Against Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus // *Front Microbiol.* 2019. V. 10. 1781. Published online 2019. Aug 2. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01781>

48. Yip M.S., Leung N.H.L., Cheung C.Y. et al. Antibody-dependent infection of human macrophages by severe acute respiratory syndrome coronavirus // *J. Virol.* 2014. V. 11. 82 p. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-11-82>

49. Jaume M., Yip M.S., Cheung C.Y. et al. Anti-Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Antibodies Trigger Infection of Human Immune Cells via a pH- and Cysteine Protease-Independent FcR Pathway // *J. Virol.* 2011. V. 85, № 20. P. 10582–10597. <https://doi.org/doi:10.1128/JVI.00671-11>

50. Yip M.S., Cheung C.Y., Li P.H. et al. Investigation of antibody-dependent enhancement (ADE) of SARS coronavirus infection and its role in pathogenesis of SARS // *BMC Proc.* 2011. V. 5 (Suppl. 1). P. 80.

51. Jaume M., Yip M.S., Kam Y.W. et al. SARS CoV subunit vaccine: antibody-mediated neutralisation and enhancement // *Hong Kong Med. J.* 2012. V. 18 (Suppl. 2). P. 31–36.

52. Weingartl H., Czub M., Czub S. et al. Immunization with modified vaccinia virus ankara-based recombinant vaccine against severe acute respiratory syndrome is associated with enhanced hepatitis in ferrets // *J. Virol.* 2004. V. 78. P. 12672–12676. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.22.12672-12676>

53. Czub M., Weingartl H., Czub S. et al. Evaluation of modified vaccinia virus ankara based recombinant SARS vaccine in ferrets // *Vaccine.* 2005. V. 23. P. 2273–2279. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.01.033>

54. Wang S.F., Tseng S.P., Yen C.H. et al. Antibody-dependent SARS coronavirus infection is mediated by antibodies against spike proteins // *Biochem Biophys Res Commun.* 2014. V. 451. P. 208–214. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.07.090>

55. Takada A., Kawaoka Y. Antibody-dependent enhancement of viral infection: molecular mechanisms and in vivo implications // *Reviews in medical virology.* 2003. V. 13, № 6. P. 387–398. <https://doi.org/10.1002/rmv.405>

56. Kuba K., Imai Y., Rao S. et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury // *Nature Medicine.* 2005. V. 11. P. 875–879.

57. Ren L.L., Wang Y.M., Wu Z.Q. et al. Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study // *Chin.*

Med. J. (Engl). 2020. V. 30. <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000000722> [Epub ahead of print]

58. Cascella M., Rajnik M., Cuomo A. et al. Features, Evaluation and Treatment Coronavirus (COVID-19) [Updated 2020 Mar 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>.

59. Benvenuto D., Giovanetti M., Ciccozzi A. et al. The 2019-new coronavirus epidemic: evidence for virus evolution // J. Med. Virol. 2020. V. 92, № 4. P. 455-459. <https://doi.org/10.1002/jmv.25688>

60. Angeletti S., Benvenuto D., Bianchi M. et al. COVID-2019: The role of the nsp2 and nsp3 in its pathogenesis // J. Med Virol. 2020. 1–5. <https://doi.org/10.1002/jmv.25719>

61. Gadlage M.J., Graham R.L., Denison M.R. Murine Coronaviruses Encoding nsp2 at Different Genomic Loci Have Altered Replication, Protein Expression, and Localization // J. Virol. 2008 V. 82. P. 11964–11969. <https://doi.org/10.1128/JVI.01126-07>

62. Saikatendu K., Joseph J., Subramanian V. et al. Structural Basis of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus ADP-ribose-1"-phosphate Dephosphorylation by a Conserved Domain of nsP3 // Structure. 2005. V. 13. № 11. P. 1665–1675. <https://doi.org/10.1016/j.str.2005.07.022>

63. Lei J., Kusov Y., Hilgenfeld R. Nsp3 of Coronaviruses: Structures and Functions of a Large Multi-Domain Protein // Antiviral Res. 2018. V. 149. P. 58–74. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2017.11.001>

64. Xu. X.-T., Chen P., Wang J. et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission // Science China Life Sciences. 2020. V. 63. № 3. P. 457–460. <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1637-5>

65. Molecular Identification of Betacoronavirus in Bats From Sardinia (Italy): First Detection and Phylogeny // Virus Genes. 2019. V. 55. P. 60–67. <https://doi.org/10.1007/s11262-018-1614-8>

66. Rizzo F., Edenborough K.M., Toffoli R. et al. Coronavirus and Paramyxovirus in Bats From Northwest Italy // BMC Vet Res. 2017. V. 13, № 1. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1307-x>

67. Giovanetti M., Benvenuto D., Angeletti S., Ciccozzi M. The First Two Cases of 2019-nCoV in Italy: Where They Come From? // J. Med. Virol. 2020. V. 92, № 5. P. 518–521. <https://doi.org/10.1002/jmv.25699>

68. Kim J.-M., Chung Y.-S., Jo H.J. et al. Identification of Coronavirus Isolated from a Patient in Korea with COVID-19 // Osong Public Health and Research Perspectives. 2020. V. 11. № 1. P. 3–7. <https://doi.org/10.24171/j.phrp.2020.11.1.02>

69. Corman V.M., Landt O., Kaiser M. et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020. V.25. № 3;pii=2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>

70. Zhang J.-J., Dong X., Cao Y.-Y. et al. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China // Allergy. 2020. 00. P. 1–12 (17 Februar). <https://doi.org/10.1111/all.14238>

71. Zu Z., Jiang M.-D., Xu P=P. et al. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Perspective From China // Radiology. 2020. Feb 21 [Online ahead of print]. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200490>

72 Huang C., Wang Y, Li X. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China // www.thelancet.com. Published online 2020. January 24. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)

Об авторе

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации, 105005, Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13.

Супотницкий Михаил Васильевич. Главный специалист, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.

Контактное лицо: Супотницкий Михаил Васильевич; 27nc_1@mil.ru

Novel coronavirus SARS-CoV-2 in the context of global epidemiology of coronavirus infections

M.V. Supotnitskiy

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation

The seemingly unexpected appearance of SARS-CoV-2 in China and its subsequent rapid spread throughout the world make us think seriously about the coronavirus threat emanating from natural foci in the territory of our country. The aim of this work is to study SARS-CoV-2 in the context of real global epidemiology of coronavirus infections. The data of Chinese scientists, published in English-language scientific journals, has been used during the preparation of the article. Their analysis showed the vast spread of viruses of this taxon among bats and hedgehogs in the natural ecosystems of Europe as well. To date the host of SARS-CoV-2 virus, intermediate between bats and humans, as well as the intermediate coronavirus, the direct predecessor of SARS-CoV-2, have not been detected. The bulk of the coronavirus genome is conservative, but it appears to be extremely prone to genetic recombination in vivo, so the virus can be redirected both in natural and artificial conditions from wild animals to humans by changing the structure of the S1 protein. The pathogenesis of coronavirus infections in humans that causes severe acute respiratory syndrome (SARS), include the specific recognition of receptors on target cells in the lower parts of human lungs, the penetration of the virus into the target cells, viral replication, generation of cytokine responses, that destroy the lower parts of the lungs, and the appearance of the phenomenon of antibody-dependent enhancement of the infection, that results in generalized spread of the virus. The virulence of SARS-CoV-2 for humans is significantly lower than that of the coronaviruses that caused SARS in 2002–2003 in China and the Middle East respiratory syndrome in the Middle East in 2012. However, due to the higher stability of the virus when penetrating the endosomes of the cell and the effectiveness of the replication/transcription complex, the virus replicates to large enough numbers to transmit easily from ill people to healthy. Different ethnic groups have different sensitivity to SARS-CoV-2 because of the different amounts of ACE2 receptors on the surface of type II pneumocytes. The article also sketches certain clinical observations made by Chinese researchers during an outbreak of coronavirus infection caused by SARS-CoV-2. The author states, that effective and timely diagnosis of COVID-19 is possible only by the combination of molecular diagnostics of SARS-CoV-2 and the detection of characteristic pneumonic foci by computed tomography.

Key words: *Alphacoronavirus; atypical pneumonia; Betacoronavirus; respiratory tract; zoonoses; computer tomography; coronavirus; interspecies transmission; pathogenesis; COVID-19; SARS-CoV-2.*

For citation: *Supotnitskiy M.V. Novel coronavirus SARS-CoV-2 in the context of global epidemiology of coronavirus infections // Journal of NBC Protection Corps. 2019. V. 4. № 1. P. 32–65. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-4-1-32-65>*

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

References

See P. 61–64.

Authors

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation.

Mikhail Vasilyevich Supotnitskiy. Senior Researcher. Chief Specialist. Candidate of Biological Sciences.

Contact person: Mikhail Vasilievich Supotnitskiy; 27nc_1@mil.ru

Эволюция средств и принципов оспопрививания

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

УДК 614.2:616.912-085.371

<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-4-1-66-85>

С.В. Борисевич¹, В.Н. Подкуйко¹, А.П. Пирожков¹, А.И. Тереньтев¹,

В.П. Краснянский¹, Е.В. Рождественский¹, С.В. Назаров¹, С.Л. Кузнецов²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение
«48 Центральный научно-исследовательский институт»
Министерства обороны Российской Федерации,
141306, Московская область, г. Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д. 11

²Управление начальника войск радиационной, химической и биологической защиты
Вооруженных Сил Российской Федерации, 119160, Москва, Фрунзенская наб., д. 22/2

Поступила 10.09.2019 г. Принята к публикации 29.03.2020 г.

Существуют несколько возможных причин возврата натуральной оспы как эндемического заболевания. Например, возможность сохранения вируса натуральной оспы в активном состоянии в трупах больных, захороненных в районах вечной мерзлоты или эволюционные изменения ортопоксвирусов с появлением более вирулентных штаммов. С момента ликвидации натуральной оспы изменились требования к оспенным вакцинам, что привело к смене принципов оспопрививания. Цель исследования – изучение эволюции средств и принципов оспопрививания для определения дальнейшего направления совершенствования противооспепных средств иммунопрофилактики. Всего за весь более чем 200-летний период использования человечеством активной иммунопрофилактики ортопоксвирусных инфекций было разработано четыре поколения вакцинных препаратов. Первое – дермовакцины, представляющие собой вирусосодержащий детрит кожи телят. Второе – в качестве субстрата накопления вируса использовались культуры клеток или куриных эмбрионов. Третье – вакцины, полученные на основе аттенуированных различными способами штаммов вируса вакцины. Четвертое – ДНК-вакцины и субъединичные рекомбинантные вакцины. Среди современных принципов оспопрививания доминирует безопасность (ограничение применения вакцин первого и второго поколений, разработка следующих поколений вакцин, средств и схем безопасного оспопрививания) при сохранении требований эффективности, равной апробированным вакцинам. Замена эпидемически апробированных вакцин препаратами третьего и четвертого поколений обусловила необходимость сравнительной оценки защитной эффективности и безопасности разрабатываемых вакцин. Целесообразно проведение двухэтапного оспопрививания с использованием на первом этапе инактивированных или новых безопасных нереплицирующихся вакцин третьего или четвертого поколений.

Ключевые слова: аттенуированные и рекомбинантные штаммы; вакцинация; вирус вакцины; орто-поксвирусы; оспенная вакцина; оспопрививание; противооспенная иммунизация.

Библиографическое описание: Борисевич С.В., Подкуйко В.Н., Пирожков А.П., Тереньтев А.И., Краснянский В.П., Рождественский Е.В., Назаров С.В., Кузнецов С.Л. Эволюция средств и принципов оспопрививания // Вестник войск РХБ защиты. 2020. Т. 4. № 1. С. 66–85. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-4-1-66-85>

Натуральная оспа является одной из древнейших инфекционных болезней человека, которая оставила в истории человечества печальную память о себе многочисленными жертвами. Летальность при натуральной оспе, вызываемой изолятами вируса *variola major*, в

условиях отсутствия поствакцинального иммунитета составляла от 20 до 40 %, что, в совокупности с высокой контагиозностью и восприимчивостью человека, приводило к очень большому количеству погибших. Выжившие после натуральной оспы люди практически всегда имели на

коже многочисленные рубцы, могли частично или полностью потерять зрение [1–4].

В настоящее время натуральная оспа является единственной инфекционной болезнью человека, которая была полностью ликвидирована во всем мире путем проведения всеобщей кампании массовой вакцинации населения. Прекращение оспопрививания в 1980 г. привело к тому, что у следующих поколений людей иммунитет против ортопоксвирусов отсутствует, а люди старшего возраста имеют низкий остаточный иммунитет. Следовательно, население, при отсутствии оспопрививания, стало чувствительным к патогенным для человека ортопоксвирусам, о чем свидетельствует появление многочисленных вспышек среди людей оспы обезьян и оспы буйволов [5–9]. Озабоченность специалистов вызывает также вопрос о возможности как случайного, так и искусственного возврата вируса натуральной оспы, источником которого могут быть нелегальные лаборатории на территории некоторых стран или тела людей, погибших от натуральной оспы и захороненных в зоне вечной мерзлоты. Поэтому, несмотря на полную ликвидацию натуральной оспы, разработка средств защиты против данного заболевания и поддержание их запаса является одной из актуальных задач [1, 10, 11].

Общепризнанным является тот факт, что в течение двух веков основным эффективным средством борьбы с натуральной оспой и родственными ей заболеваниями остается противооспенная вакцинация, а в течение 4 тысячелетий – оспопрививание¹. Понимая опасность, которая стоит за натуральной оспой, специалисты в области вакцинологии до настоящего времени активно применяют термин оспопрививание (отдавая дань уважения этой грозной инфекции)². За этот период требования к проведению вакцинации и сами средства оспопрививания претерпели значительные изменения. Учитывая необходимость дальнейшего совершенствования способов и средств защиты от ортопоксвирусных инфекций, представляется целесообразным провести анализ эволюции принципиальных подходов, способов и средств проведения противооспенной иммунизации.

Цель исследования – изучение эволюции средств и принципов оспопрививания для определения дальнейшего направления совершенствования противооспенных средств иммунопрофилактики.



Рисунок 1 – Вирионы вируса натуральной оспы (электронная микроскопия, увел. 370000)¹

¹ URL: https://ru.wikipedia.org/wiki/Натуральная_оспа (дата обращения: 03.04.2019).

Этиология, происхождение и распространение натуральной оспы

Возбудитель натуральной оспы (*variola virus*), согласно международному комитету по таксономии вирусов, относится к семейству *Poxviridae*, подсемейству *Chordopoxviridae* и роду *Orthopoxvirus*³. Филогенетически различают два класта вируса натуральной оспы – *variola major* и *variola minor*. В первую группу входят штаммы, вызывающие непосредственно классическую форму натуральной оспы, а во вторую – штаммы, вызывающие клинически более мягкую форму заболевания с летальностью около 1 % (аластрим). Считалось, что разделение *variola virus* на два класта произошло приблизительно между XV в. до н.э. и VII в. н.э. [10, 12–14], но последние данные указывают на более поздний период – между IX и XV веками н.э. [15, 16]. Все поксвирусы являются крупными ДНК-содержащими возбудителями. Размеры поксвирусов позволили выявить возбудитель методом световой микроскопии уже в 1886 г. английским исследователем Д. Бьюстом. Однако свое название элементарные тельца (вирионы вируса натуральной оспы), выявляемые с помощью микроскопии в материале из pustul больных натуральной оспой, получили в честь немецкого ученого Э. Пашена, который опубликовал свою работу в 1906 г. [2]. Вирионы возбудителя натуральной оспы представляют собой кирпичеобразные частицы размером 250–300×200×250 нм (рисунок 1).

¹ Оспопрививание – общепринятый термин, означающий активную иммунизацию против натуральной оспы с использованием оспенной вакцины, широко применяется для защиты от ортопоксвирусных инфекций уже более 200 лет.

² МУ 3.3.1.2044-06 Проведение вакцинопрофилактики натуральной оспы. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006.

³ Virus taxonomy: The classification and nomenclature of viruses. Ninth Report of the International Committee on taxonomy of viruses. 2012.



Рисунок 2 – Натуральная оспа в стадии пустул¹

¹ URL: https://ru.wikipedia.org/wiki/Натуральная_оспа (дата обращения: 03.04.2019).

Вирус натуральной оспы вызывает крайне опасное заболевание, характеризующееся в типичных случаях тяжелым течением, интоксикацией, лихорадкой и характерной сыпью на коже и слизистых, последовательно проходящих стадии пятна, папулы, пузырька, пустулы, корочки и рубца [4, 15–17] (рисунок 2).

Натуральная оспа является строгой антропонозной инфекцией. Основным путем передачи – воздушно-капельный, но возможно также заражение воздушно-пылевым путем при соприкосновении с пораженной кожей больного или инфицированными предметами.

Происхождение вируса натуральной оспы остается неизвестным. Предполагали, что возбудитель натуральной оспы произошел от вируса оспы коров, обезьян или грызунов [12–14], но в настоящее время существует другая гипотеза, которая получила экспериментальное подтверждение методом филогенетического анализа наиболее консервативных генов ортопоксвирусов. Согласно последней, вирус натуральной оспы наиболее близок к вирусу оспы верблюдов и, возможно, данные вирусы имели общего предшественника с более широким кругом хозяев. Сравнение генома вируса натуральной оспы с геномами наиболее близкородственных ортопоксвирусов и изучение ареалов обитания их естественных хозяев позволяют предположить, что

натуральная оспа возникла 3000–4000 лет назад на востоке Африканского континента. Предположительно, появление верблюдов в Африке и сопутствующие изменения климата были факторами, которые вызвали эволюционные изменения вируса предшественника, что привело к появлению вируса натуральной оспы [18, 19].

Так или иначе, выйдя из первичных очагов, натуральная оспа начала распространяться по всему миру. Первые письменные упоминания о масштабной эпидемии натуральной оспы в Китае относятся к IV в., откуда возбудитель распространился в Корею и Японию. В последней стране только за один 737 г. умерло более 30 % населения, при этом в густонаселенных городах уровень смертности доходил до 70 %. В Европе первое достоверное указание о натуральной оспе датировано 514 г. во Франции. В России, согласно летописям, эпидемия натуральной оспы поразила многие города в 1426–1427 гг. В начале XVI в. оспа была завезена испанцами в Центральную Америку, что вызвало широкое распространение заболевания. Имеются сведения, что в 1520 г. в Мексике от натуральной оспы погибло более 3,5 млн человек. В Бразилии эпидемия натуральной оспы была отмечена впервые в 1563 г. В начале XVII в. натуральная оспа проникла в Северную Америку. В Австралию инфекция была завезена, по-видимому, в конце XVIII в., поскольку в 1789 г. эпидемии уже отмечались среди аборигенов этого континента [12, 14, 17].

Вариоляция

В XVIII в. распространение натуральной оспы в Европе достигло своего наивысшего расцвета. Предположительно, за этот период умерли от данной инфекции более 3,6 млн человек. С целью борьбы с натуральной оспой, начиная с XVII в., предпринимался ряд мероприятий (изоляция больных, быстрое погребение трупов, дезинфекция жилищ, где находились больные, создание карантинных и кордонов), которые проводились ранее при эпидемиях чумы. Отсутствие заметного эффекта и почти полная безуспешность этих мер заставляли искать другие методы борьбы с этой инфекцией. В XVIII в. в Европе стали использовать вариоляцию, которая издавна практиковалась в Индии и Китае. Она представляла собой искусственное заражение натуральной оспой путем нанесения на скарифицированную кожу здорового человека гнойного материала из созревших пустул больного нетяжелой формой заболевания. Известно, что в Китае и других странах Азии процедура вариоляции имела существенные отличия. Гнойное отделяемое кожных пустул больных натуральной оспы высушивали и измельчали. Затем полученный порошок вдвухли через трубку в носовые ходы

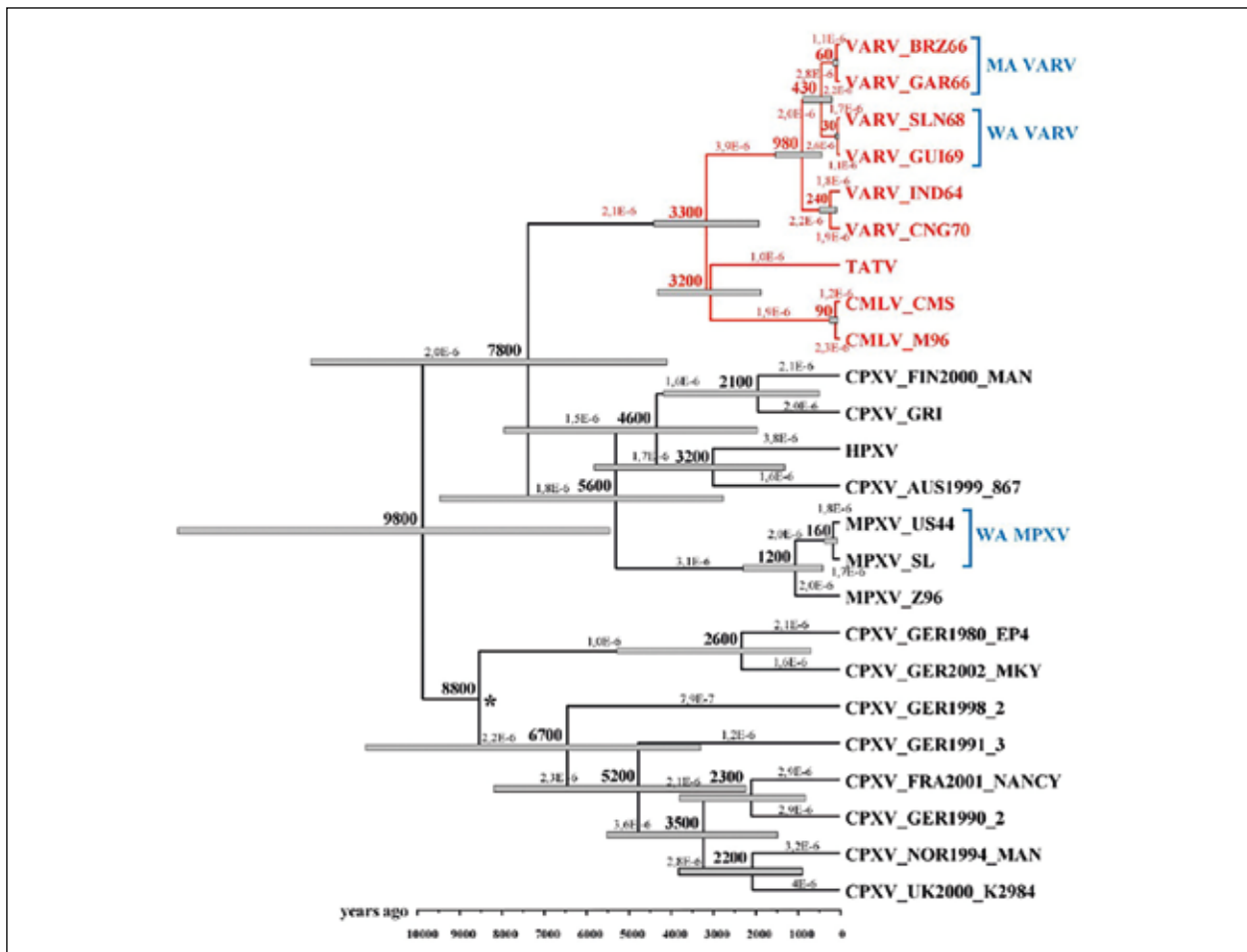


Рисунок 3 – Филогенетическое дерево ортопоксвирусов [19]

(серые полосы представляют доверительный интервал I_{95} ; скорость накопления мутаций показана на соответствующей ветви; числа на разветвлениях указывают количество лет до расхождения с последним общим предком; VARV – вирус натуральной оспы; TATV – татера-поксвирус; CMLV – вирус верблюжьей оспы; CPXV – вирус коровьей оспы; HPXV – вирус оспы лошадей; MPXV – вирус оспы обезьян; MA VARV – штаммы аластрима натуральной оспы *variola minor*; WA VARV – штаммы вируса натуральной оспы *variola major*; WA MPXV – штаммы вируса оспы Западной Африки)

человека, у которого после легкой формы заболевания вырабатывался иммунитет к инфекции (рисунок 4).

В России первая вариоляция была проведена в 1768 г. специально приглашенным английским врачом Т. Димсдейлом. Среди первых привитых была сама императрица Екатерина II, которая таким образом подала личный пример своим подданным [20].

Вариоляция, однако, не оказала никакого влияния на уровень заболеваемости и смертности при натуральной оспе. К тому же вариоляция была небезопасна и иногда сопровождалась летальностью до 10–15 %, хотя обычно составляла 1–2 %. Так как натуральная оспа приводила к смертности в 10–20 раз больше, то вариоляция сначала пользовалась широкой популярностью. Однако она иногда способствовала распространению инфекции и не всегда предохраняла пере-

несших ее от последующего заражения. Поэтому постепенно вариоляция вышла из употребления. Во Франции вариоляция была запрещена в 1762 г., а в Англии – в 1840 г. Одной из причин послужило исследование смертности больных натуральной оспой в Лондоне за 40-летний период с начала вариоляции. Было установлено, что по сравнению с таким же периодом до введения вариоляции уровень летальности среди больных стал даже выше. Нельзя, однако, отрицать, что вариоляция, с одной стороны, была единственным, хотя и небезопасным методом предупреждения заболевания натуральной оспой, а с другой – она подготовила почву для вакцинации [4, 15, 16].

Вакцинация

Решающим, поворотным пунктом в борьбе с натуральной оспой явилась вакцинация, открытая в 1796 г. английским врачом Эдвардом



Рисунок 4 – Процедура вариоляции в древнем Китае¹

¹ URL: <https://www.labroots.com/trending/microbiology/4928/variolation-vaccination> (дата обращения: 03.04.2019)

Дженнером (англ. Edward Anthony Jenner; 1749–1823), которая основывалась на многолетних наблюдениях о том, что человек, переболевший оспой коров, является невосприимчивым к этой инфекции. Вакцинация по методу Дженнера начала широко распространяться в различных странах Западной Европы. Через 10–15 лет после открытия Дженнера число прививок уже исчислялось миллионами. В России вакцинация по методу Дженнера была начата в октябре 1801 г. на базе Императорского воспитательного дома профессором Е.О. Мухиным (1766–1850) в Москве [15, 20, 21].

Вакцинация проводилась далеко не всем родившимся детям. Так, во Франции с 1660 г. по 1869 г. привитые среди родившихся детей составляли 59 %. Еще в меньших размерах осуществлялась ревакцинация. Даже в передовых странах Европы повторно привитые составляли только 15–20 % населения. Во второй половине XIX века было установлено, что первичная прививка не приводит к пожизненному иммунитету. В Великобритании, например, во время ряда крупных эпидемий натуральной оспы в конце XIX века подавляющее большинство заболевших составляли вакцинированные. Крупные эпидемии натуральной оспы наблюдались в Шеффилде в 1887 г. и в Варрингтоне в 1892 г., где привитые составляли 97,6 и 99,2 % населения соответственно. Во время эпидемии в одном из городов Великобритании в 1892 г., где 98,0 % населения было привито против натуральной оспы, 66 % всех случаев заболевания составляли вакцинированные. При этом натуральная оспа перестала быть типичной «детской» инфекцией. Она стала чаще отмечаться у лиц старшего возраста, не охваченных прививками или утративших вакцинальный иммунитет [14, 16].

В XIX в. был введен ряд усовершенствований в дело вакцинации. По методу Э. Дженнера прививка проводилась содержимым пустул коровьей

оспы или содержимым пустул детей, привитых коровьей оспой, путем переноса вакцинального материала от руки одного привитого на руку другому. Такой метод был мало пригоден для массовой вакцинации. Кроме того, при большом числе последовательных прививок вакцина «вырождалась» и становилась неактивной. Введение в 1842 г. пассирования вируса на скарифицированной коже телят или коров позволило получать препарат в значительно больших количествах, а предложенное несколько позднее использование глицерина в качестве стабилизатора – сохранять ее активность. Сухая оспенная вакцина впервые была получена в 1919 г., но жидкая дермовакцина продолжала применяться, особенно в эндемических странах, в течение длительного периода времени. Массовое производство сублимационно высушенных препаратов вакцины началось в 1950-е гг. с целью увеличения срока годности препарата и возможности массового применения в местности, удаленной от стационарных медицинских пунктов. Последующее изобретение бифуркационной иглы позволило существенно повысить эффективность оспопрививания. Данный инструмент, способный удерживать необходимый объем вакцины между двумя зубчиками, позволял любому добровольцу и сельским жителям безопасно и с высокой эффективностью проводить вакцинацию. Бифуркационная игла также позволяла, что было не менее важным, крайне экономно дозировать вакцину [19].

Внимание к широкой вакцинации и ревакцинации населения привлекла пандемия натуральной оспы, возникшая в результате миграции населения во время франко-прусской войны 1870–1871 гг. Во время этой пандемии, охватившей ряд стран Европы, во Франции умерло 90 тыс., а в Пруссии – 125 тыс. человек. Впервые в Европе закон об обязательном оспопрививании был введен в Германии в 1875 г. Вскоре он был принят и в других странах Европы. В результате значительных пробелов в оспопрививании, ослабления мер профилактики и миграции населения эпидемиологическая обстановка резко обострилась в годы Первой мировой войны. Так, в 1915–1919 гг. в Австрии было зарегистрировано более 52 тыс., в Италии – свыше 17 тыс., в России – 535 тыс. заболеваний натуральной оспой, закончившихся летальным исходом. В Германии, где до войны заболеваемость натуральной оспой составляла лишь несколько десятков случаев в год, в 1917–1920 гг. заболело 10,6 тыс. человек. Только после 1922–1928 гг. заболеваемость натуральной оспой в большинстве стран Европы резко пошла на убыль. Исключением являлись Испания, Португалия и Турция, где эпидемическая ситуация оставалась довольно сложной [4, 15–17].

В годы Второй мировой войны в ряде стран вновь наблюдались эпидемии натуральной оспы. Так, например, в Турции в 1942–1944 гг. было зарегистрировано более 20 тыс. случаев заболевания, в Египте в 1943–1944 годах – более 15 тыс., в Италии в 1944–1945 гг. от натуральной оспы умерло 5994 человека, в Греции в 1943–1944 гг. – 1160 человек. Последние местные случаи этой инфекции в Европе были зарегистрированы в Италии в 1946 году, в Испании в 1947 г. и Португалии в 1953 г. С этого времени во всех странах Европы наблюдались только заносные вспышки натуральной оспы [4, 15, 17].

После ликвидации натуральной оспы в Советском Союзе в 1936 г. неоднократно возникали заносные вспышки. Так, с 1950 г. по 1960 г. в результате заносов было официально зарегистрировано более 600 случаев заболевания. Эти заносные вспышки, в основном, наблюдались в республиках Средней Азии, по одной вспышке было зарегистрировано в Азербайджане и в Москве. В последние годы наблюдались еще две заносные вспышки натуральной оспы в Казахстане и Таджикистане. С декабря 1958 г. по февраль 1973 г. наблюдалось 34 случая заноса натуральной оспы в страны Европы – в основном авиатранспортом из стран Юго-Восточной Азии, реже – из стран Африки. В результате этого в странах, куда была занесена инфекция, заболело 539 человек, то есть в среднем один заносной случай вызвал заболевание 16 человек. Следует отметить, что эти заносные вспышки натуральной оспы возникали при настороженности органов здравоохранения в отношении заноса этого заболевания, их нормальной работе и обязательном требовании от прибывших из эндемических районов наличия сертификата о прививках против натуральной оспы, действительного в течение 3 лет после иммунизации [2, 10].

Благодаря проведению противоэпидемических мероприятий (изоляция больных и контактировавших с ними, массовая иммунизация населения и т.д.) заносные вспышки натуральной оспы удавалось достаточно быстро ликвидировать. При этом противоэпидемические мероприятия принимали особо крупные масштабы при заносных вспышках в крупных городах или распространении инфекции в различные районы страны, что можно проиллюстрировать на примерах заносных вспышек натуральной оспы в Москве в 1960 г. и в Югославии в 1972 г. В Москве было изолировано 1496 контактировавших с больными, а в проведении иммунизации участвовало 26963 медицинских работника, которые привили более 6,5 млн человек. В Югославии было иммунизировано 18 млн жителей, причем оспенная вакцина, кроме югославской, была получена из ВОЗ и 13 стран мира [15].

Программа глобальной ликвидации натуральной оспы

Широкое распространение натуральной оспы во многих странах Азии, Африки и Южной Америки в середине XX в. представляло серьезную потенциальную угрозу для возникновения эпидемий в странах, где она была искоренена массовой иммунизацией населения. Становилась все более очевидной необходимость борьбы с этой инфекцией на новой основе – путем совместных, согласованных действий всех стран мира.

Вопрос об искоренении натуральной оспы на земном шаре неоднократно поднимался отечественными учеными. Наиболее точно это положение высказал академик АМН СССР Михаил Николаевич Соловьев (1886–1980) в 1947 г.: «Естественно возникает вопрос, можно ли ликвидировать оспу во всем мире. Принимая во внимание блестящий пример СССР, можно ответить на этот вопрос положительно. Необходимо только осуществить это мероприятие не разрозненно, а по единому плану, путем международного объединения в борьбе с этой болезнью». 30 мая 1956 г. на XI сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения (ВАЗ) глава советской делегации В.М. Жданов внес предложение о повсеместной ликвидации натуральной оспы. После тщательного изучения и обсуждения этого предложения 12 июня 1956 г. на VII пленарном заседании ВАЗ была единогласно принята резолюция, предусматривающая глобальную ликвидацию натуральной оспы [1, 4].

В ходе реализации программы ликвидации натуральной оспы менялись основные направления проводимых мероприятий. На первом этапе работы основу программы составляла стратегия массовой иммунизации населения в эпидемических районах. В этот период считалось, что ликвидация инфекции может быть достигнута путем прививок 60 % населения данной страны в течение 4–5 лет. Однако ход выполнения программы на первом этапе, наряду с определенными успехами, характеризовался и серьезными недостатками. Так, например, национальная программа ликвидации натуральной оспы, начатая в Индии в 1962 г., предусматривавшая массовую иммунизацию с целью охвата 80 % населения в течение 3 лет, к 1967 г. не привела к существенному снижению заболеваемости. На о. Ява (Индонезия), где охват населения прививками превышал 90 %, трансмиссия натуральной оспы продолжалась. В северных штатах Индии с высокой плотностью населения крупные эпидемии продолжались, несмотря на охват прививками 70–80 % населения вакцинацией и ревакцинацией с последующим поддержанием коллективного иммунитета. В штате Западная Бенгалия, где охват населения

прививками составлял 86 %, натуральная оспа в 1971 г. распространялась по всему штату. В 1974 г. в штате Бихар, в наиболее пораженных натуральной оспой районах которого имелось до 20 % непривитых, заболели 126,9 тыс. человек. Следовательно, при высокой плотности населения наличие 80–86 % иммунизированных недостаточно для предотвращения развития крупных эпидемий, которые сохраняют эпидемиологические закономерности, характерные для натуральной оспы.

Наиболее существенной причиной этого явления являлось отсутствие строгого контроля за ходом прививочной компании, в результате чего прививки проводились ежегодно наиболее доступным группам населения (школьники, рабочие предприятий, плантаций и т.д.), в то время как остальные контингенты часто оставались непривитыми. Кроме того, имелась недооценка эпидемиологического надзора как важнейшего инструмента в борьбе с натуральной оспой. На значение этого фактора обращалось серьезное внимание рядом ученых, в том числе Ш.Д. Мошковским в его выступлении на XIII сессии ВОЗ в 1960 г.

Второй этап программы начался в 1967 г., когда была принята интенсифицированная программа ликвидации оспы. На данном этапе натуральная оспа оставалась эндемичной еще в 33 странах. В то время официально регистрировалось и сообщалось в ВОЗ только около 10 % всех случаев заболевания натуральной оспой в странах Африки и Азии. На фоне проведенной массовой вакцинации населения в последующие годы осуществлялся активный поиск очагов заболевания с проведением противоэпидемических мероприятий, в том числе иммунизация в очагах инфекции. При активном поиске очагов натуральной оспы в странах Азии было установлено, что официальные данные даже непосредственно перед ликвидацией инфекции являлись заниженными. Так, в Афганистане, где натуральная оспа была ликвидирована в 1973 г., в 1969–1972 гг. число официально сообщенных случаев заболевания составило в среднем только 24,3 %, что было выявлено бригадой эпидемиологического надзора. В Индии, где последний случай этого заболевания был зарегистрирован в мае 1975 г., бригадой эпидемиологического надзора в 1973 г. только в трех штатах в течение недели было выявлено более двух тысяч не сообщенных случаев заболевания натуральной оспой, а число зарегистрированных случаев по сравнению с сообщенными органами здравоохранения за неделю, предшествующую поиску, возросло почти в 20 раз.

Последний случай натуральной оспы был зарегистрирован в Сомали 26 октября 1977 г. и в декабре 1979 г. Глобальная комиссия по удо-

стоверению ликвидации оспы подтвердила факт ее полного искоренения на нашей планете. 8 мая 1980 г. 155 государств-членов ВОЗ, представленными делегациями на XXXIII сессии ВОЗ, единодушно одобрили выводы этой комиссии и в своей декларации торжественно провозгласили, что «мир и все народы одержали победу над оспой, бывшей одной из самых опустошительных болезней, которая с самых ранних времен охватывала эпидемиями многие страны, оставляя после себя смерть, слепоту и уродство, и которая всего лишь десятилетие назад свирепствовала в Африке, Азии и Америке» [1, 15, 20].

Таким образом, основные принципы, сформулированные в ходе выполнения программы глобальной ликвидации оспы, заключались в необходимости проведения массовой вакцинации населения с охватом более 90 % в сочетании с мероприятиями строгого эпидемиологического контроля. Только такие мероприятия позволили ограничить распространение натуральной оспы в густонаселенных районах, сократить число случаев заболевания и привести к полной ликвидации заболевания.

Современное состояние разработки противоспешенных вакцин

За весь период использования человечеством активной иммунопрофилактики ортопоксвирусных инфекций было разработано четыре поколения вакцинных препаратов (таблица 1). Накожные дермовакцины, представляющие собой вируссодержащий детрит кожи телят, представляют первое поколение живых вакцин. Они являлись единственными препаратами вплоть до начала 1960-х гг. прошлого века.

Вакцины, полученные с помощью более безопасного субстрата накопления (культуры клеток или куриных эмбрионов), относятся ко второму поколению. К третьему поколению препаратов, которые активно стали разрабатывать в 1960–1970-х гг. прошлого столетия, относят вакцины, полученные на основе аттенуированных различными способами штаммов вируса вакцины. ДНК-вакцины и субъединичные рекомбинантные вакцины являются четвертым поколением [22–25].

Традиционные накожные оспенные живые дермовакцины первого поколения имеют биотехнологические недостатки: их нарабатывают на коже телят не только по устаревшей технологии без соблюдения правил GMP, но и с риском возможной контаминации инфекционными патогенами [26]. Дермовакцина вызывает реакции у 40 % привитых (лихорадка, миалгия, недомогание, головная боль и др.) и серьезные осложнения с частотой от 40 до 400 на 10⁶ иммунизированных (поствакцинальный энцефалит,

Таблица 1 – Примеры основных оспенных вакцин, их характеристики и факторы эволюции, преимущества и недостатки

Вакцина		История получения, особенность штаммов, технология вакцины, способ селекции или генетической инженерии штамма	Фактор ¹		Преимущества и недостатки
поколение	название (штамм)		Б	И	
Первое	Сухая оспенная вакцина (ЛИВП, Б-51)	Дермальная вакцина на основе дермы телят, получена в РФ на основе модифицированного штамма Elstree, частота осложнений у детей - 1:42 000			Подтверждена эффективность в эпидемических очагах, большое количество осложнений, производство не соответствует GMP
	Dryvax, Aventis	Дермальная вакцина, получена в США, частота реакций и осложнений у привитых до 40%, в 2003 г. противопоказана 50% населения			
	(NYCBH)	Дермальная вакцина, получена в Великобритании, применялась повсеместно в период ликвидации натуральной оспы			
Второе	CV-2 (NYCBH)	Тканевая вакцина, получена в 1939 г. в США (штамм NYCBH) путем 235 пассажей в ткани куриных эмбрионов и через яичко кроликов	+		Эффективность соответствует 1 поколению, биотехнологически безопасны, но сохраняется риск развития тяжелых реакций и осложнений
	Acam2000 (NYCBH)	Культуральная вакцина, получена в 1991 г. в США пассажем штамма NYCBH в культуре клеток Vero. Иммуногенность сравнима с Dryvax	+		
	Elstree-BN (Lister)	Культуральная вакцина, получена в 1988 г. в Нидерландах пассажем штамма Lister в культуре клеток куриных фибробластов. Иммуногенность равна с Dryvax	+		
Третье	MVA3000 и Imvamune (MVA)	Культуральная аттенуированная вакцина, получена в 1964 г. в ФРГ пассированием штамма Анкара (свыше 570) в куриных фибробластах. Использовалась двухэтапным способом вакцинации с дермальной вакциной	++		Вакцины безопаснее 1 поколения, но по иммуногенности ниже, но эпидемиологическая эффективность, за исключением ТЭОВак, не изучена и необходимы полевые испытания
	ТЭОВак и сухая оспенная вакцина (Б-51БМ)	Таблетированные эмбриональные вакцины ² и дермовакцина, получены в РФ (1971 г) и в БССР для массовой иммунизации взрослых и вакцинации детей клонированным (белым модифицированным) штаммом Б-51 БМ	++	+	
	LC16m8 (Lister)	Культуральная аттенуированная вакцина, получена 1973 г. в Японии пассажирами в клетках почек кроликов и селекции на куриных эмбрионах	++		
	G-9 (Небесный Храм)	Получена в 1988 г. в Китае клонированием штамма	++		
Четвертое	NYVAC (Copenhagen)	Аттенуированная вакцина, получена в 1992 г. делецией 18 генов	+++	+	Вакцины биотехнологически безопасны или неинфекционны, но необходимы сравнительные и полевые испытания эффективности
	Ревакс ВТ	Мукозальная таблетированная рекомбинантная эмбриональная бивакцина против гепатита В, рекомбинантный штамм получен на основе ЛИВП ³	+++	+	
Нет	ДНК-вакцины и субъединичные вакцины	Плазмиды генов VACV IMV (A27, D8L, F9L, H3L, L1R), EEV (A33R, A56R, B5R) и белки продукция генов VACV IMV (A27, H3L, L1R) и EEV (A33R, B5R)	+++		

Примечания.
 1 – Факторы повышения безопасности (эволюции) вакцин обозначены: Б – биотехнологические, И – иммунологические, «+» и «+++» – наличие и выраженность влияния фактора на безопасность (+ – технологический, ++ – аттенуация или селекция, +++ – генная инженерия),
 2 – Вакцина ТЭОВак апробирована в условиях вакцинации и ревакцинации в РФ, иммуногенность и протективная эффективность не ниже 1 поколения и успешно апробирована в эпидемическом очаге (Эфиопия, 1973 год) во 2 периоде глобальной ликвидации натуральной оспы,
 3 – Генно-инженерная инактивация гена тимидинкиназы повысила аттенуацию векторного штамма.



Рисунок 5 – Вакцина Dryvax с бифуркационной иглой¹

¹ URL: <https://vaxopedia.org/2016/10/26/discontinued-vaccines> (дата обращения: 03.04.2019).

генерализованные и прогрессирующие вакцины, вакцинальная экзема и др.) [27–29].

В современных условиях дермовакцины опасны тяжелыми кожными, аллергическими и неврологическими осложнениями, прогнозируемая частота развития которых увеличится примерно в 1000 раз [15]. В 2002 г. при оспопрививании дермовакциной Dryvax (рисунок 5) в США зарегистрировали 3 летальных исхода и высокую частоту осложнений со стороны сердца (86 на 10⁵ привитых) [25, 30]. Следовательно, хотя дермовакцины имеют доказанную эпидефективность, технология их производства имеет существенные недостатки, в том числе практическую невозможность получения стерильного парентерального препарата, высокую трудоемкость при их производстве, прионную опасность, высокую реактогенность используемых штаммов и риск развития тяжелых осложнений, выделение вируса вакцины в окружающую среду с опасностью трансмиссии вируса среди высокочувствительных лиц.

Инактивированные вакцины, разработанные в период с 1959 г. по 1974 г., не вызывают продолжительного иммунного ответа и исполь-

зуются только для профилактики осложнений первичного оспопрививания дермовакциной. В Российской Федерации инактивированная гамма-излучением дермальная вакцина ОспаВир используется в двухэтапной вакцинации с сухой накожной оспенной вакциной (рисунок 6) и является практически ареактогенной [31, 32]. Неврологические осложнения в двухэтапном оспопрививании были снижены в 7 раз, что позволило применять данный метод для лиц с противопоказаниями при нормальной иммунореактивности. ОспаВир обеспечивает умеренную реактогенность, безвредность и высокую иммуногенность дермовакцины. В Германии с целью снижения аллергических осложнений при двухэтапной вакцинации разработали культуральную формовакцину, при введении которой 120 тыс. детям старше 5 лет и ревакцинированным пожилым, наблюдали снижение реактогенности и летальности в 8–10 раз [33].

С целью устранения технологических недостатков накожных оспенных вакцин были разработаны вакцины второго поколения, в качестве сырья для получения которых используют куриные эмбрионы или культуру клеток. В 1958 году в Бразилии дермовакцину заменили эмбриональной и использовали при ликвидации натуральной оспы [22, 34, 35]. В СССР (1970 г.) на 500 тыс. взрослых лицах установили, что аналогичная вакцина была иммуногена, безопасна и менее реактогенна, чем дермовакцина [2, 27]. Культуральную вакцину клинически испытывали в 1973 г. в Индонезии, но ее эффективность и безопасность были аналогичны дермовакцине [22]. Вакцина Асам2000 на основе штамма NYCBH, полученная на основе культуры клеток Vero, менее нейровирулентна, чем дермовакцина, однако она вызывает отдельные побочные эффекты (дискомфорт в грудной клетке, миокардиты), аналогичные вакцине Dryvax [30, 31].

Зарегистрированная в Российской Федерации живая таблетированная эмбриональная оспенная вакцина ТЭОВак (рисунок 7) на основе



А



Б

Рисунок 6 – Инактивированная (А) и живая (Б) оспенные вакцины, разрешенные к применению в Российской Федерации для первичного оспопрививания



Рисунок 7 – Вакцина оспенная эмбриональная живая таблетированная в блистерной упаковке



Рисунок 8 – Вакцина Imvamune (Bavarian-Nordic)¹

¹ URL: <http://bavarian.manaosoftware.com/investor/downloads/images.aspx> (дата обращения: 03.04.2019).

штамма Б-51, разработанная в 1967–1973 гг., является альтернативой накожным по своей эпидемиологической эффективности и безвредности [28, 36–41]. Помимо эффективности, которая подтверждена опытом противоэпидемического применения в Эфиопии, преимуществами ТЭОВак являются простота применения при массовой иммунизации населения, отсутствие кожных и аллергических реакций, исключение распространения гемоконтактных и прионных заболеваний. Доклинические данные о большей безопасности ТЭОВак по сравнению с накожными вакцинами в отягощенных условиях (облучение, операция, аллергияция) [38], результаты ее применения для ревакцинации [40] и итоги клинических испытаний при первичной вакцинации взрослых лиц [39], свидетельствуют о том, что данная вакцина не уступает по безопасности препаратам третьего поколения (таблица 1).

Несмотря на то, что эффективность ряда вакцин второго поколения была подтверждена в эпидемических очагах, они также опасны серьезными побочными эффектами, хотя их использование исключает ряд проблем, связанных с применением дермовакцин. Поэтому в 1960-е гг. XX в. начали разработку более безопасных вакцин третьего поколения.

Культуральные вакцины на основе аттенуированных штаммов, полученных путем пассирования в культурах клеток, отнесли к третьему поколению вакцин. LC16m8 – репликационно-компетентная вакцина, разработана в Японии в 1960 г. путем 53 серийных пассажей штамма Lister в первично-трипсионизированных клетках почек кроликов в условиях пониженной температуры для снижения нейровирулентности. В 1970 гг. ее применили в Японии для безопасной вакцинации населения на завершающем, втором этапе ликвидации натуральной оспы. Накожная вакцина на основе штамма LC16m8 может вызвать легкие осложнения и в три раза меньше поствакцинальных

реакций, чем дермовакцина на основе штамма Lister [42]. Японская вакцина обеспечивает защиту иммуноослабленных мышей, кроликов и обезьян от поксвирусной инфекции. Доклинически доказано, что вакцина на основе LC16m8 индуцирует, наравне с вакциной Dryvax, сильный гуморальный иммунитет и защиту против летальной поксвирусной инфекции. Она лицензирована в Японии и США для медицинского использования в чрезвычайных ситуациях [2].

Модифицированный вакцинный штамм Ankara (MVA) получен в Германии путем пассирования (572 раз) в фибробластах куриных эмбрионов, что привело к утрате 15 % генома и неспособности реплицироваться в клетках млекопитающих, включая человека [43, 44]. Создатели вакцины на основе штамма MVA сообщили об отсутствии осложнений у новорожденных животных (мышей, кроликов, кур) и у людей с ослабленным иммунитетом (облучение, ятрогенная иммунная супрессия) [24, 45, 46]. Исследования на здоровых и иммуноослабленных мышках и обезьянах продемонстрировали защитное действие единичных или множественных введений вакцин на основе штаммов MVA к штамму Lister. Иммуноослабленные животные с селективным истощением (В-лимфоциты, CD4⁺ или CD8⁺ Т-лимфоциты) были защищены, в отличие от обезьян, инфицированных вирусом иммунодефицита, или с комбинированным иммунодефицитом [23, 45, 47]. В связи с отсутствием вспышек натуральной оспы на момент разработки вакцины на основе штамма MVA, ее эпидефективность не была изучена в эпидочагах [43], но более 100 тыс. военнослужащих в Германии были ею вакцинированы. В настоящее время вакцину на основе штамма MVA разрабатывают компании Acambis PLC (MVA3000) и Bavarian-Nordic (Imvamune) (рисунок 8). Последняя защищает лабораторных животных от оспы обезьян, как и традиционные вакцины. Две последовательные

дозы Imvamune были безопасными при введении здоровым неиммунным людям, страдающим атопическим дерматитом в легкой форме и аллергическим ринитом. Сероконверсия составила 100 % [48]. Вакцины третьего поколения не вызывают осложнений при первичной вакцинации. Однако для экстренного массового оспопрививания при вспышке натуральной оспы вакцина на основе штамма MVA не пригодна, поскольку ее однократное введение не обеспечивает необходимую иммунную защиту.

Современные методы генетической инженерии позволяют селективно блокировать факторы вирулентности вируса вакцины для получения аттенуированных иммуногенных живых вакцин, которые также относятся к третьему поколению. В ГНЦ ВБ «Вектор» разработаны несколько экспериментальных образцов оспенных вакцин третьего поколения с помощью генной инженерии. Экспериментальная эмбриональная таблетированная векторная бивакцина Ревакс ВТ против натуральной оспы и гепатита В на основе модифицированного штамма ЛИВП получена путем выключения гена тимидинкиназы вируса вакцины за счет встройки фрагмента ДНК вируса гепатита В, кодирующего синтез pre-S2-S-белка [49, 50]. Для получения рекомбинантного штамма 1421ABJCN использовали делецию или нарушение функции 5 генов вирулентности штамма ЛИВП вируса вакцины, кодирующих гемагглютинин (A56R), тимидинкиназу (J2R), комплемент-связывающий белок (C3L), γ -интерферонсвязывающий белок (B8R) и Bcl-2-подобный ингибитор апоптоза (N1L) [51].

Аттенуированную рекомбинантную вакцину NYVAC на основе высокоректогенного штамма Copenhagen получили делецией генов B13R и B14R (гены геморрагического района), A26L (кодирующий белок включения типа А), A56R (гемагглютинин), 14L (рибонуклеотид-редуктаза) и J2R (тимидинкиназа) в геноме с протяженной делецией кассеты из 12 генов от C7L до R1L (район «генов круга хозяев»). NYVAC безопасна для иммунодефицитных макак, но не защищает от летальной для них вакцинальной инфекции [52].

К вакцинам четвертого поколения относят неинфекционные ДНК-вакцины и рекомбинантные субъединичные вакцины. ДНК-вакцины представляют собой гибридную плазмиду, содержащую гены протективного антигена. Внутриклеточный синтез антигенов, направляемый ДНК-вакциной, имитирует инфекцию и индуцирует сбалансированный гуморальный и клеточный иммунный ответ. ДНК-вакцина безопаснее живой вакцины, ее эффективность зависит от выбранного антигена, плазмиды, промотора, способа, дозы и количества иммунизаций. Протективность, равная традиционной

вакцине, обеспечивается поливалентностью. ДНК-вакцины актуальны для людей с иммунодефицитными состояниями при первичной иммунизации с возможной ревакцинацией живой вакциной [2, 53–56]. Для создания ДНК вакцин используют комбинации генов внутриклеточного вируса вакцины IMV (A27, D8L, F9L, H3L, L1R) и внеклеточного оболочечного вириона EEV (A33R, A56R, B5R), которые обеспечивают защитный иммунитет у обезьян и мышей. При этом комбинация ДНК с введением белка более эффективна [54]. Субъединичные вакцины представляют собой очищенные рекомбинантные белки H3L A27L, L1R, D8L и EEVA33R, B5R, ключевым из них для индукции протективного иммунитета является белок D8L внешней мембраны вируса, обеспечивающий связывание вируса с клеткой. Белок B5R отвечает за морфогенез оболочки вирионов и их высвобождение, иммунизация мышей этим белком защищала их от летальной инфекции [24, 25, 34, 35, 57]. Изучены кандидатные поливалентные ДНК и субъединичные вакцины, обеспечивающие высокие уровни вируснейтрализующих антител и полную защиту мышей и низших приматов от инфицирования вирусом вакцины или оспы обезьян [22, 58]. Для изучения нереплицирующихся рекомбинантных вакцин используют маркеры иммунитета и защиты (реакции специфических антител в иммуноферментном анализе, В-клеток памяти, Т-клеток в IFNY-ELISPOT или окрашивание цитокинов, коррелирующих с защитой), однако для клинической оценки безопасности и эффективности необходимы крупномасштабные исследования [59].

Отдельным направлением совершенствования оспенных вакцин является использование вируса вакцины в качестве вектора для создания би- и поливакцин против социально значимых инфекций, позволяющих также формировать у населения иммунитет к ортопоксвирусам [60, 61]. Преимуществом вектора на основе вируса вакцины является возможность включения в геном от 10 до 20 протективных генов. К 2000 г. было получено около 100 рекомбинантных штаммов на основе штаммов NYVAC, Lister, MVA и LC16m8 против более 50 возбудителей социально значимых инфекций. В то же время остается вероятность проявления остаточной вирулентности вектора, которую можно снизить встройкой генов лимфокинов (интерлейкин-2, γ -интерферон). Актуальность данного направления подтверждается активной разработкой с 1996 г. в США, Канаде и Франции эффективных мукозальных рекомбинантных вакцин против бешенства, безопасных для 45 видов птиц и млекопитающих, широкое применение которых может остановить трансмиссию ортопоксвирусов среди животных [15, 24, 60].

Проблема оспопрививания после ликвидации оспы

После ликвидации натуральной оспы все страны мира отменили вакцинацию населения против этой инфекции. Вакцинация населения СССР была полностью прекращена в 1980 г. По состоянию на 2018 г. доля населения Земли, не имеющая противооспенного иммунитета, составляет более 60 %. При этом другая половина человечества, старше 40 лет, в условиях отсутствия ревакцинации по уровню защитного иммунитета незначительно отличается от первой. Условно можно считать, что уровень популяционного противооспенного иммунитета в мире соответствует таковому в Америке в конце XV в, когда население континента впервые столкнулось с натуральной оспой. К 1800 г. коренное население континента уменьшилось на 99 %, при этом ведущую роль в гибели цивилизации американских индейцев ряд специалистов отводит именно натуральной оспе. Поэтому возможность возврата натуральной оспы после ее полной ликвидации по-прежнему является значительной угрозой всему человечеству [1, 10].

По мнению специалистов, существуют несколько возможных причин временного возврата натуральной оспы как эндемического заболевания. Например, возможность сохранения вируса натуральной оспы в активном состоянии в трупах больных, захороненных в районах вечной мерзлоты, или эволюционные изменения ортопоксвирусов с появлением более вирулентных штаммов [5, 7, 10, 12]. Например, вирус оспы обезьян способен вызывать крупные вспышки заболевания среди людей. Кроме того, в условиях снижения противооспенного коллективного иммунитета имеется тенденция к увеличению заболеваемости и количества генераций передачи данного вируса от человека к человеку [6]. Однако результаты проведенных исследований стабильности вируса натуральной оспы в естественных условиях при низких температурах не подтверждают возможность сохранения его жизнеспособного состояния более 10 лет. Эволюционные изменения ортопоксвирусов происходят в течение длительного времени и регулярный мониторинг вспышек зоонозных ортопоксвирусных инфекций, изучение генетической структуры и биологических свойств новых изолятов патогенных для человека поксвирусов позволят своевременно предпринять необходимые противоэпидемические меры [10, 12].

В связи с этим можно сделать вывод о том, что единственной причиной возврата натуральной оспы может быть только преступное применение террористическими организациями ее возбудителя в качестве биологического поражающего агента.

В США после известных событий 2001 г. была утверждена Программа по вакцинации 10,5 млн военнослужащих, медицинских работников и служб спасения. Однако попытки возврата к традиционной накожной вакцинации в 2002–2003 гг. в США оказались неудачными в связи с развитием у взрослого населения и военнослужащих тяжелых, в том числе смертельных, осложнений. Серьезные поствакцинальные осложнения были зафиксированы с частотой от 1:7937 (у военнослужащих) до 1:1652 (у гражданских лиц) с тремя летальными исходами. После охвата 500 тыс. человек, 70 % из которых были первично иммунизированы, примерно через 3–4 месяца программа была остановлена. По итогам накожного оспопрививания вакциной Dryvax воинского контингента и медицинского персонала в США было установлено, что дермовакцина противопоказана для более 50 % населения (лицам с иммунодефицитами, аллергией и др.). По этим причинам использование дермальных оспенных вакцин в США было приостановлено и в 2008 г. запасы дермальной вакцины Dryvax были уничтожены [22, 30].

В Вооруженных Силах Советского Союза иммунизация против натуральной оспы в связи с продолжением прививок в армиях основных стран Западной Европы была возобновлена после 1983 г. В 1990 г. вакцинация против натуральной оспы личного состава армии и флота была окончательно отменена. В настоящее время для первичной иммунизации населения Российской Федерации разрешена для плановой иммунизации одна сухая оспенная накожная вакцина, однако фактически ее нельзя использовать для лиц старше 3 лет из-за высокого риска тяжелых поствакцинальных осложнений. В период плановой вакцинации с 1950 по 1970 гг. прошлого столетия первично иммунизировали детей в возрасте от 1 до 3 лет, а ревакцинировали – в 8 и 16 лет. У вакцинированных 1–3-летних детей местные реакции составляли до 100 %, лимфаденит – 22 % от всех привитых. Общие поствакцинальные осложнения развивались с частотой 1:42000, при этом летальность от тяжелых осложнений составляла от 25 до 30 %. С увеличением возраста первично вакцинируемых существенно, примерно на один порядок, возрастает частота развития поствакцинальных осложнений, в том числе энцефалитов [15, 33].

Считается, что даже при возникновении единичных случаев заболевания натуральной оспы при случайном заражении в лаборатории, противоэпидемические мероприятия по выявлению и изоляции больных и запас вакцины позволяют эффективно взять вспышку под контроль в условиях отсутствия популяционного иммунитета [1, 15].

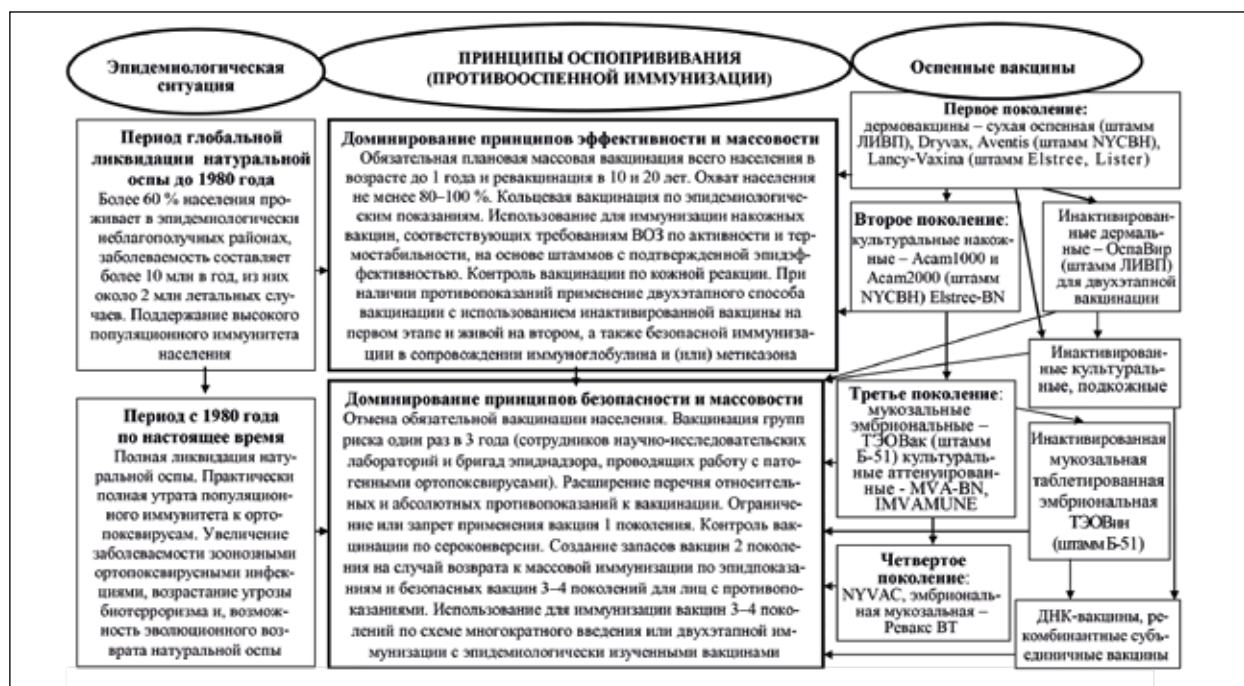


Рисунок 9 – Эволюция принципов противооспенной иммунизации (оспопрививания) от вариоляции до вакцинации. Составлена авторами

В ряде ведущих стран мира (США, Франция, Германия, Швейцария и др.) продолжают хранить на случай чрезвычайной ситуации необходимый для защиты населения запас оспенной вакцин 1 и 2 поколения. Чрезвычайный запас оспенной вакцины ВОЗ в настоящий момент составляет 305 млн доз и будет храниться, предположительно, до уничтожения всех живых образцов вируса натуральной оспы.

Таким образом, в современных условиях, когда наблюдается увеличение до 50 % доли населения с наличием противопоказаний к оспопрививанию, а также после получения на основе современных достижений генной инженерии и биотехнологии безопасных оспенных вакцин 3–4 поколений, позволяющих создать стойкий противовирусный иммунитет, произошел пересмотр критериев эффективности и безопасности оспенной вакцинации (рисунок 9).

Среди современных принципов оспопрививания превалирует безопасность, для обеспечения которой при накожной вакцинации проводят тщательное обследование вакцинируемых лиц на наличие противопоказаний и изоляцию после иммунизации на срок до 2 недель для предотвращения заражения не иммунных лиц. В ряде стран происходит планомерный отказ от применения вакцин первого поколения и накожного введения вируса вакцины, разрабатываются и внедряются вакцины третьего и четвертого поколений и другие лекарственные средства сопровождения оспопрививания, используются индивидуальные

схемы иммунизации с учетом наличия противопоказаний.

Заключение

Подводя итог, необходимо отметить, что, несмотря на искоренение натуральной оспы, актуальность этой инфекции, как и других ортопоксвирусных заболеваний человека, сохраняется. Падение популяционного иммунитета населения после глобальной ликвидации натуральной оспы, рост заболеваемости оспой обезьян и другими зоонозными ортопоксвирусными инфекциями создают необходимость поддержания готовности системы здравоохранения к возврату массового оспопрививания населения. Учитывая возможность огромного социально-экономического ущерба в случае возникновения вспышки ортопоксвирусной инфекции, во многих странах развернута широкая программа мер противодействия. Создаются запасы оспенных вакцин, разрабатываются новые образцы противооспенной вакцины, рассматривается вопрос возврата всеобщего оспопрививания.

В Российской Федерации в настоящее время существует понимание необходимости отказа от использования дермальных вакцин первого поколения и продолжения работ по созданию оспенных вакцин второго поколения, безопасных для первичного оспопрививания взрослого населения, на основе штаммов, подтвердивших свою эпидемическую эффективность, а также новых вакцин третьего и

четвертого поколений, в том числе векторных поливакцин, пригодных для иммунизации лиц с противопоказаниями к оспопрививанию живыми вакцинами. Однако защитная эффективность новых оспенных вакцин не может быть полностью подтверждена эпидемиологически. Поэтому в случае возврата в Российской Федерации плановой вакцинопро-

филактики против натуральной оспы представляется целесообразным избирательно, с учетом противопоказаний, использовать для первичной иммунизации безопасные вакцины третьего и четвертого поколений для лиц с ограничениями, а также живые вакцины первого и второго поколений – при отсутствии противопоказаний.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

1. Львов Д.К., Зверев В.В., Гинзбург А.Л. и др. Натуральная оспа – дремлющий вулкан // *Вопр. вирусол.* 2008. № 4. С. 36–41.
2. Маренникова С.С., Щелкунов С.Н. Патогенные для человека орто-поксвирусы. М.: KMK Scientific Press Ltd., 1998.
3. Щелкунов С.Н., Щелкунова Г.А. Нужно быть готовыми к возврату оспы // *Вопр. вирусол.* 2019. № 5. С. 206–214. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-5-206-214>
4. Fenner F. Smallpox and its eradication. Geneva: World Health Organization, 1988.
5. Борисевич С.В., Маренникова С.С., Махлай А.А. и др. Оспа коров: особенности распространения после отмены обязательного оспопрививания // *Журн. микробиол.* 2012. № 3. С. 103–107.
6. Борисевич С.В., Маренникова С.С., Стомба Л.Ф. и др. Оспа обезьян: особенности распространения после отмены обязательного оспопрививания // *Журн. микробиол.* 2012. № 2. С. 69–73.
7. Борисевич С.В., Маренникова С.С., Махлай А.А. и др. Вакциноподобные вирусы: особенности циркуляции в Южной Америке // *Вопр. вирусол.* 2014. № 2. С. 10–14.
8. Nalca A., Rimo A.W., Bavari S., Whitehouse C.A. Reemergence of monkeypox: prevalence, diagnostics, and countermeasures // *Clin. Infect. Dis.* 2005. V. 41. P. 1765–1771. <https://doi.org/10.1086/498155>
9. Vorou R.M., Papavassiliou V.G., Pierroutsakos I.N. Cowpox virus infection: an emerging health threat // *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2008. V. 21. P. 153–156. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e3282f44c74>
10. Щелкунов С.Н. Возможен ли возврат оспы? // *Молекулярная медицина.* 2011. № 4. С. 36–41.
11. Pennington H. Smallpox and bioterrorism // *Bull. WHO.* 2003. V. 81. P. 762–767.
12. Бабкин И.В., Щелкунов С.Н. Молекулярная эволюция поксвирусов // *Генетика.* 2008. № 8. С. 1029–1044.
13. Esposito J.J., Sammons S.A., France A.M., et al. Genom sequence diversity and clues to the evolution of variola (smallpox) virus // *Science.* 2006. V. 313 (5788). P. 807–812. <https://doi.org/10.1126/science.1125134>
14. Li Y., Carroll D.S., Gardner S.N., et al. On the origin of smallpox: correlating variola phylogenics with historical smallpox records // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. V. 104 (40) P. 15787–15792. <https://doi.org/10.1073/pnas.0609268104>
15. Маренникова С.С. К 30-летию юбилею ликвидации натуральной оспы в мире // *Журн. микробиол.* 2011. № 3. С. 121–124.
16. Fogg C., Lustig S., Whitbeck J.C., et al. Protective immunity to vaccinia virus induced by vaccination with multiple recombinant outer membrane proteins of intracellular and extracellular virions // *J. Virol.* 2004. V. 78(19). P. 10230–10237. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.19.10230-10237.2004>
17. Henderson D.A. Smallpox: the death of a disease. New York, 2009.
18. Babkin I.V., Babkina I.N. The origin of the variola virus // *Viruses.* 2015. V. 7(3). P. 1100–1112. <https://doi.org/10.3390/v7031100>
19. Babkin I.V., Babkina I.N. A retrospective study of the orthopoxvirus molecular evolution // *Infect. Genet. Evol.* 2012. V. 12. P. 1597–1604. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.07.011>
20. Васильев В.С. Иммунизация против натуральной оспы: история и перспективы // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета.* 2009. №3 (27). С. 20–22.
21. Петров Б.Д. Трехсотлетие указа об оспе (Страницы истории эпидемиологии) // *Журн. микробиол.* 1981. № 6. С. 117–118.
22. Максютин Р.А., Гаврилова Е.В., Щелкунов С.Н. Разработка современных противооспепных вакцин // *Вопр. вирусол.* 2011. № 6. С. 5–8.
23. Voigt E.A., Kennedy R.B., Poland G.A. Defending against smallpox: a focus on vaccines //

Expert Rev Vaccines. 2016. V. 15(9). P. 1197–1211. <https://doi.org/10.1080/14760584.2016.1175305>

24. Verardi P.H., Titong A., Hagen C.J. A vaccinia virus renaissance // Human vaccines and immunotherapeutic. 2012. V. 8. P. 961–970. <https://doi.org/10.4161/hv.21080>

25. Wizer I., Balicer R., Cohen D. An update on smallpox vaccine candidates and their role in bioterrorism related vaccination strategies // Vaccine. 2007. V. 25. P. 976–984. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.09.046>

26. Amara R.R., Nigam P., Sharma S., et al. Long-lived poxvirus immunity, robust CD4 help, and better persistence of CD4 than CD8 T cells // J. Virol. 2004. V. 78(8). P. 3811–3816.

27. Анджапаридзе О.Г., Чернонос В.И. Исследования по совершенствованию оспенной вакцины – вклад в ликвидацию оспы в мире // Вопр. вирусол. 1982. № 4. С. 4–10.

28. Babkin I.V., Babkina I.N. A retrospective study of the orthopoxvirus molecular evolution // Infect. Genet. Evol. 2012. V. 12. P. 1597–1604. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.07.011>

29. Онищенко Г.Г., Максимов В.А., Воробьев А.А. и др. Актуальность возврата к оспопрививанию: проблемы и перспективы // Вестник РАМН. 2006. № 7. С. 32–38.

30. Frey S.E., Newman F.K., Kennedy J.S., et al. Comparison of the safety and immunogenicity of ACAM1000, ACAM2000 and Dryvax® in healthy vaccinia-naïve adults // Vaccine. 2009. V. 27 (10). P. 1637–1644. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.11.079>

31. Мацевич Г.Р. Инактивированная оспенная вакцина. Вопросы профилактических прививок и роль аллергии в вакцинальном процессе. Л. 1969. С. 69–71.

32. Мацевич Г.Р., Свет-Молдавская И.А. Оспенная вакцина, инактивированная γ -лучами, антигенные и иммуногенные свойства // Вопр. вирусол. 1970. № 3. С. 316–322.

33. Перекрест В.В., Мовсесянц А.А., Мухачева А.В. и др. Препараты для специфической профилактики натуральной оспы, зарегистрированные в Российской Федерации // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2013. № 2. С. 4–13.

34. Fogg C.N., Americo J.L., Lustig S. Adjuvant-enhanced antibody response to recombinant proteins correlates with protection of mice and monkeys to orthopoxvirus challenges // Vaccine. 2007. V. 25. P. 2787–2799. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.12.037>

35. Fogg C., Lustig S., Whitbeck J.C., et al. Protective immunity to vaccinia virus induced by vaccination with multiple recombinant outer membrane proteins of intracellular and extracellular virions // J. Virol. 2004. V. 78(19). P. 10230–10237. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.19.10230-10237.2004>

36. Воробьев А.А., Подкуйко В.Н., Михайлов В.В., Махлай А.А. Непарентеральные методы им-

мунизации против оспы // Журн. микробиол. 1996. № 5. С. 117–121.

37. Воробьев А.А., Подкуйко В.Н., Михайлов В.В. Итоги фундаментальных и прикладных исследований по пероральной иммунизации против натуральной оспы // Журн. микробиол. 2002. № 1. С. 12–18.

38. Воробьев А.А., Подкуйко В.Н., Максимов В.А. Пероральная вакцинация против оспы (к вопросу о возврате оспопрививания) // Вестн. РАМН. 2003. № 1. С. 5–10.

39. Максимов В.А., Мельников С.А., Бектимиров Т.А. и др. Выбор и оценка иммуногенности и реактогенности оптимальной иммунизирующей дозы ТЭОВак для первичной иммунизации при испытании вакцины на ограниченной группе взрослых людей // Материалы VI Межгосударственной научно-практической конференции «Санитарная охрана территории государств-участников содружества независимых государств: проблемы биологической безопасности и противодействия терроризму в современных условиях». Волгоград. 2005. С. 257–258.

40. Мельников С.А., Подкуйко В.Н., Хамитов Р.А. и др. Клинические исследования вакцины ТЭОВак в условиях отдаленной ревакцинации // Журн. микробиол. 2005. № 6. С. 29–33.

41. Подкуйко В.Н., Краснянский В.П., Воробьев А.А. и др. Пероральная иммунизация – способ повышения безопасности рекомбинантного вектора (вируса вакцины) // Вестник РАМН. 1993. № 2. С. 39–45.

42. Kidokoro M., Tashiro M., Shida H. Genetically stable and fully effective smallpox vaccine strain constructed from highly attenuated vaccinia LC16m8 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. V. 102(11). P. 4152–4157. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406671102>

43. Drexler I., Heller K., Wahren B., et al. Highly attenuated modified vaccinia virus Ankara replicates in baby hamster kidney cells, a potential host for virus propagation, but not in various human transformed and primary cells // J. Gen Virol. 1998. V. 79(Pt 2). P. 347–352. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-79-2-347>

44. Empig C., Kenner J.R., Perret-Gentil M. Highly attenuated smallpox vaccine protects rabbits and mice against pathogenic orthopoxvirus challenge // Vaccine. 2006. V. 24. P. 3686–3690. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.03.029>

45. Vollmar J., Arndt N., Eckl K.M. Safety and immunogenicity of «IMVAMUNE», a promising candidate as a third generation smallpox vaccine // Vaccine. 2006. V. 24 (12). P. 2065–2070. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.11.022>

46. Vollmar J., Pokorny R., Rapp P. A randomized, double-blind, dose-finding phase II study to evaluate immunogenicity and safety of the third generation smallpox vaccine candidate «Imvamune» // Vaccine. 2010. V. 28. P. 1209–1216.

47. Amara R.R., Nigam P., Sharma S., et al. Long-lived poxvirus immunity, robust CD4 help, and better persistence of CD4 than CD8 T cells // J. Virol. 2004. V. 78(8). P. 3811–3816.

48. Wyatt L.S., Earl P.L., Eller L.A., Moss B. Highly attenuated smallpox vaccine protects mice with and without immune deficiencies against pathogenic vaccinia virus challenge // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. V. 101(13). P. 4590–4595. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401165101>
49. Сергеев А.А., Сергеев А.Н., Петрищенко В.А. и др. Реактогенность, безопасность, иммуногенность рекомбинантной бивакцины против оспы и гепатита В в ограниченных клинических испытаниях // Вопр. вирусол. 2004. № 5. С. 22–26.
50. Maksytov R.A., Yakubitskiy S.N., Kolosova I.V., Shchelkunov S.N. Comparing new-generation candidate vaccines against human orthopoxvirus infections // Acta naturae. 2017. V. 9. P. 88–93.
51. Yakubitskiy S.N., Kolosova I.V., Maksytov R.A., Shchelkunov S.N. Attenuation of vaccinia virus // Acta naturae. 2015. V. 7. P. 113–121.
52. Tartaglia J., Perkus M.E., Taylor J., et al. NYVAC: a highly attenuated strain of vaccinia virus // Virology. 1992. V. 188. P. 217–232.
53. Doria-Rose N.A., Haigwood N.L. DNA vaccine strategies: candidates for immune modulation and immunization regimens. // Methods. 2003. V. 31. P. 207–216.
54. Hooper J.W., Custer D.M., Thompson E. Four-gene-combination DNA vaccine protects mice against a lethal vaccinia virus challenge and elicit appropriate antibody responses in nonhuman primates // Virology. 2003. V. 306. P. 181–195.
55. Otero M., Calarota S.A., Dai A., et al. Efficacy of novel plasmid DNA encoding vaccinia antigens in improving current smallpox vaccination strategy // Vaccine. 2006. V. 24(21). P. 4461–4470. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.08.010>
56. Pulford D.J., Gates A., Bridge S.H., et al. Differential efficacy of vaccinia virus envelope proteins administered by DNA: minimisation in protection of BALB/c mice from a lethal intranasal poxvirus challenge // Vaccine. 2004. V. 22(25–26). P. 3358–3366. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2004.02.034>
57. Phelps A., Gates A.J., Hillier M., et al. Comparative efficacy of replicating smallpox vaccine strains in a murine challenge model // Vaccine. 2005. V. 23(27). P. 3500–3507. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.02.005>
58. Berhanu A., Wilson R.L., Kirkwood-Watts D.L. Vaccination of BALB/mice with Escherichia coli – expressed vaccinia virus proteins A27L, B5R, and D8L protects mice from lethal vaccinia virus challenge // J. Virol. 2008. V. 82. P. 3517–3529. <https://doi.org/10.1128/JVI.01854-07>
59. Crotty S., Feigner P., Davies H., et al. Cutting edge: long-term B cell memory in humans after smallpox vaccination // J. Immunol. 2003. V. 171(10). P. 4969–4973.
60. Борисевич С.В., Михайлов В.В., Бектимиров Т.А. и др. Оценка возможности использования штаммов вируса вакцины для конструирования на их основе рекомбинантной вакцины против СПИДа // ВИЧ СПИД и родственные проблемы. 2001. № 2. С. 72–87.
61. Плясунов И.В., Сергеев А.Н., Сергеев А.А. и др. Клинические исследования рекомбинантной бивакцины «Ревакс ВТ» против оспы и гепатита В в условиях двукратной оральной вакцинации // Вопр. вирусол. 2006. № 2. С. 31–35.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, 141306, Российская Федерация, г. Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д.11.

Борисевич Сергей Владимирович. Начальник Федерального государственного бюджетного учреждения «48 ЦНИИ» Минобороны России, д-р биол. наук, проф., чл.-корр. РАН.

Подкуйко Валерий Николаевич. Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского испытательного отдела ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, д-р мед. наук, ст. науч. сотр.

Пирожков Алексей Петрович. Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского управления ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, канд. мед. наук.

Терентьев Александр Иванович. Старший научный сотрудник научно-исследовательского испытательного отдела ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, д-р биол. наук, ст. науч. сотр.

Краснянский Владимир Павлович. Старший научный сотрудник научно-исследовательского испытательного отдела ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, канд. мед. наук, ст. науч. сотр.

Рождественский Евгений Всеволодович. Начальник научно-исследовательского отдела ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, канд. мед. наук.

Назаров Станислав Викторович. Старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России.

Управление начальника войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации, 119160, Москва, Фрунзенская наб., д. 22/2.

Кузнецов Сергей Леонидович. Начальник отдела, д-р мед. наук, ст. науч. сотр.

Контактная информация для всех авторов: 48cnii@mil.ru
Контактное лицо: Борисевич Сергей Владимирович, 48cnii@mil.ru

Evolution of means and principles of smallpox vaccination

S.V. Borisevich¹, V.N. Podkuyko¹, A.P. Pirozhkov¹, A.I. Terent'ev¹,

V.P. Krasnyansky¹, E.V. Rozhdestvensky¹, S.V. Nazarov¹, S.L. Kuznecov²

¹ *Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 141306, Moscow region, Sergiev Posad-6, Oktyabrskaya Street 11*

² *Department of the Head of the Nuclear, Biological and Chemical Protection Troops of the Russian Armed Forces, 141306, Moscow, Frunzenskay Emb. 22/2*

There are several possible reasons for the return of smallpox as an endemic disease. For example, the possibility of maintaining smallpox virus in an active state in the corpses of the dead, buried in permafrost regions, or the evolutionary changes of orthopoxviruses with the appearance of more virulent strains. Since the eradication of smallpox, the requirements for smallpox vaccines have changed, leading to a change in the principles of smallpox vaccination. The purpose of the study is to review the evolution of means and principles of smallpox vaccination. For almost 200 years four generations of vaccine preparations have been developed. The first ones were the dermovaccines, i.e. the virus-containing detritus of calfskin. Then, chicken-embryo-skin cell cultures were used as a substrate for virus accumulation. The third generation were the vaccines based on vaccine strains at-tenuated by various methods. Fourth, DNA vaccines and subunit recombinant vaccines. One of the main contemporary principles of smallpox vaccination is safety (limited use of the vaccines of first and second generations, the development of next generations of vaccines, means and schemes of safe vaccination) while maintaining the requirements of efficiency equal to the existing vaccines. The replacement of epidemiologically tested vaccines with the third and fourth- generation drugs necessitated a comparative assessment of the protective efficacy and safety of new vaccines. It may be useful to carry out two-stage vaccination using inactivated or new safe non-replicating the third and fourth generation vaccines at the first stage.

Keywords: *attenuated and recombinant strains; vaccination; vaccinia virus; orthopoxviruses; smallpox vaccine; smallpox immunization.*

For citation: Borisevich S.V., Podkuyko V.N., Pirozhkov A.P., Terent'ev A.I., Krasnyansky V.P., Rozhdestvensky E.V., Nazarov S.V., Kuznecov S.L. Evolution of means and principles of smallpox vaccination // *Journal of NBC Protection Corps*. 2020. V. 4. № 1. P. 66–85. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-4-1-66-85>

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

References

1. L'vov D.K., Zverev V.V., Ginzburg A.L. et al. Smallpox is a dormant volcano // *Vopr. Virusol.* 2008. № 4. P. 36–41 (in Russian).
2. Marennikova S.S., Shchelkunov S.N. Pathogenic for humans poxviruses. M. 1998. 386 p. (in Russian).
3. Shchelkunov S.N., Shchelkunova G.A. We should be prepared to smallpox re-emergence // *Vopr. Virusol.* 2019. № 5. C. 206–214. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-5-206-214> (in Russian).
4. Fenner F. Smallpox and its eradication. Geneva: World Health Organization, 1988. 1460 p.
5. Borisevich S.V., Marennikova S.S., Makhlai A.A.

- et al. Cowpox: features of spread after cancellation of mandatory pox immunization // *Zhurn. Mikrobiol.* 2012. № 3. P. 103–107 (in Russian).
6. Borisevich S.V., Marennikova S.S., Stovba L.F. et al. Monkeypox: features of spread after cancellation of mandatory pox immunization // *Zhurn. Mikrobiol.* 2012. № 2. P. 69–73 (in Russian).
7. Borisevich S.V., Marennikova S.S., Makhlai A.A. et al. Vaccine-like viruses: peculiarities of circulation in South America // *Vopr. Virusol.* 2014. № 2. P. 10–14 (in Russian).
8. Nalca A., Rimoin A.W., Bavari S., Whitehouse C.A. Reemergence of monkeypox: prevalence, diagnostics, and countermeasures // *Clin. Infect. Dis.* 2005. V. 41. P. 1765–1771. <https://doi.org/10.1086/498155>
9. Vorou R.M., Papavassiliou V.G., Pierroutsakos I.N. Cowpox virus infection: an emerging health threat // *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2008. V. 21. P. 153–156. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e3282f44c74>
10. Shchelkunov S.N. Is it possible to return smallpox? // *Molekulyarnaya Meditsina.* 2011. № 4. P. 36–41 (in Russian).
11. Pennington H. Smallpox and bioterrorism // *Bull. WHO.* 2003. V. 81. P. 762–767.
12. Babkin I.V., Shchelkunov S.N. Molecular evolution poxviruses. // *Genetika.* 2008. № 8. P. 1029–1044 (in Russian).
13. Esposito J.J., Sammons S.A., France A.M. et al. Genom sequence diversity and clues to the evolution of variola (smallpox) virus // *Science.* 2006. V. 313 (5788). P. 807–812. <https://doi.org/10.1126/science.1125134>
14. Li Y., Carroll D.S., Gardner S.N., Walsh M.C. et al. On the origin of smallpox: correlating variola phylogenics with historical smallpox records // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. V.104 (40). P. 15787–15792. <https://doi.org/10.1073/pnas.0609268104>
15. Marennikova S.S. To the 30th anniversary of the global smallpox eradication // *Zhurn. Mikrobiol.* 2011. № 3. P. 121–124 (in Russian).
16. Henderson D.A. Smallpox: the death of a disease. New York, 2009. 500 p.
17. Hopkins D.R. The greatest killer. Smallpox in history. Chicago, 2002. 550 p.
18. Babkin I.V., Babkina I.N. The origin of the variola virus // *Viruses.* 2015. V. 7 (3). P. 1100–1112. <https://doi.org/10.3390/v7031100>
19. Babkin I.V., Babkina I.N. A retrospective study of the orthopoxvirus molecular evolution // *Infect. Genet. Evol.* 2012. V. 12. P. 1597–1604. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.07.011>
20. Vasil'ev V.S. Immunization against smallpox: history and prospects // *Zh. Grod. Med. Univer.* 2009. № 3 (27). P. 20–22 (in Russian).
21. Petrov B.D. Tercentenary of the decree on smallpox (a page from the history of epidemiology) // *Zhurn. Mikrobiol.* 1981. № 6. P. 117–118 (in Russian).
22. Maksyutov R.A., Gavrilova E.V., Shchelkunov S.N. Development of current smallpox vaccines // *Voprosy Virusol.* 2011. № 6. P. 5–8 (in Russian).
23. Voigt E.A., Kennedy R.B., Poland G.A. Defending against smallpox: a focus on vaccines // *Expert Rev Vaccines.* 2016. V. 15(9). P. 1197–1211. <https://doi.org/10.1080/14760584.2016.1175305>
24. Verardi P.H., Titong A., Hagen C.J. A vaccinia virus renaissance // *Human Vaccines and Immunotherapeutic.* 2012. V. 8. P. 961–970. <https://doi.org/10.4161/hv.21080>
25. Wizer I., Balicer R., Cohen D. An update on smallpox vaccine candidates and their role in bioterrorism related vaccination strategies // *Vaccine.* 2007. V. 25. P. 976–984. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.09.046>
26. Murphy F.A., Osburn B.I. Adventitious agents and smallpox vaccine in strategic national stockpile // *Emerg. Infect. Dis.* 2005. V. 11. P. 1086–1089. <https://doi.org/10.3201/eid1107.050277>
27. Andzhaparidze O.G., Chernos V.I. Research to improve smallpox vaccine: the contribution to the elimination of smallpox in the world // *Vopr. Virusol.* 1982. № 4. P. 4–10 (in Russian).
28. Babkin I.V., Babkina I.N. A retrospective study of the orthopoxvirus molecular evolution // *Infect. Genet. Evol.* 2012. V. 12. P. 1597–1604. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.07.011>
29. Onishchenko G.G., Maksimov V.A., Vorob'ev A.A., Podkuiko V.N., Mel'nikov S.A. The relevance of the return to smallpox, problems and prospects // *Vestnik RAMN.* 2006. № 7. P. 32–38 (in Russian).
30. Frey S. E., Newman F. K., Kennedy J. S. et al. Comparison of the safety and immunogenicity of ACAM1000, ACAM2000 and Dryvax® in healthy vaccinia-naïve adults // *Vaccine.* 2009. V. 27 (10). P. 1637–1644. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.11.079>
31. Matsevich G.R. Inactivated smallpox vaccine. Vaccination issue and role of allergies in the vaccination process. Leningrad: 1969, P. 69–71 (in Russian).
32. Matsevich G.R., Svet-Moldavskaya I.A. Smallpox vaccine inactivated by gamma-rays: its antigenic and immunogenic properties // *Vopr. Virusol.* 1970. № 3. P. 316–322 (in Russian).
33. Perekrest V.V., Movsesyants A.A., Mukhacheva A.V. et al. Preparations for the specific prevention of smallpox registered in Russian Federation // *Biopreparaty.* 2013. № 2. P. 4–13 (in Russian).
34. Fogg C.N., Americo J.L., Lustig S. Adjuvant-enhanced antibody response to recombinant proteins correlates with protection of mice and monkeys to orthopoxvirus challenges // *Vaccine.* 2007. V. 25. P. 2787–2799. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.12.037>
35. Fogg C., Lustig S., Whitbeck J.C. et al. Protective immunity to vaccinia virus induced by vaccination with multiple recombinant outer membrane proteins of intracellular and extracellular virions // *J. Virol.* 2004. V. 78(19). P. 10230–10237. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.19.10230-10237.2004>
36. Vorob'ev A.A., Podkuiko V.N., Mikhailov V.V., Makhlai A.A. Nonparenteral immunization methods against smallpox // *Zhurn. Mikrobiol.* 1996. № 5. P. 117–121 (in Russian).

37. Vorob'ev A.A., Podkuiko V.N., Mikhailov V.V. Results of basic and applied investigations on oral immunization against smallpox // *Zhurn. Mikrobiol.* 2002. № 1. P. 12–18 (in Russian).
38. Vorob'ev A.A., Podkuiko V.N., Maksimov V.A. Oral vaccination against smallpox (on the return of smallpox vaccination) // *Vestn. RAMN.* 2003. № 1. P. 5–10 (in Russian).
39. Maksimov V.A., Mel'nikov S.A., Bektimirov T.A. et al. Selection and evaluation of immunogenicity and reactogenicity of the optimal immunizing dose TEOVak for primary immunization when testing vaccine in limited group of adults // Materials of the 6th interstate scientific-practical conference «Sanitary protection of the territory of the states-participants SNG: Problems of biological security and countering terrorism in modern conditions». Volgograd. 2005. P. 257–258 (in Russian).
40. Mel'nikov S.A., Podkuiko V.N., Khamitov R.A. et al. Clinical studies of vaccine TEOVak under the conditions of remote revaccination // *Zhurn. Mikrobiol.* 2005. № 6. P. 29–33 (in Russian).
41. Podkuiko V.N., Krasnyanskii V.P., Vorob'ev A.A. et al. Peroral immunization – a method for enhancing the safety of recombinant vector (the vaccinia virus) // *Vestnik RAMN.* 1993. № 2. P. 39–45 (in Russian).
42. Kidokoro M., Tashiro M., Shida H. Genetically stable and fully effective smallpox vaccine strain constructed from highly attenuated vaccinia LC16m8 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. V. 102(11). P. 4152–4157. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406671102>
43. Drexler I., Heller K., Wahren B., Erfle V., Sutter G. Highly attenuated modified vaccinia virus Ankara replicates in baby hamster kidney cells, a potential host for virus propagation, but not in various human transformed and primary cells // *J. Gen. Virol.* 1998. V. 79(Pt 2). P. 347–352. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-79-2-347>.
44. Empig C., Kenner J.R., Perret-Gentil M. Highly attenuated smallpox vaccine protects rabbits and mice against pathogenic orthopoxvirus challenge // *Vaccine.* 2006. V. 24. P. 3686–3690. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.03.029>
45. Vollmar J., Arndtz N., Eckl K.M. Safety and immunogenicity of «IMVAMUNE», a promising candidate as a third generation smallpox vaccine // *Vaccine.* 2006. V. 24 (12). P. 2065–2070. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.11.022>
46. Vollmar J., Pokorny R., Rapp P. A randomized, double-blind, dose-finding phase II study to evaluate immunogenicity and safety of the third generation smallpox vaccine candidate «Imvamune» // *Vaccine.* 2010. V. 28. P. 1209–1216.
47. Amara R.R., Nigam P., Sharma S. et al. Long-lived poxvirus immunity, robust CD4 help, and better persistence of CD4 than CD8 T cells // *J. Virol.* 2004. V. 78(8). P. 3811–3816.
48. Wyatt L.S., Earl P.L., Eller L.A., Moss B. Highly attenuated smallpox vaccine protects mice with and without immune deficiencies against pathogenic vaccinia virus challenge // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101(13). P. 4590–4595. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401165101>
49. Sergeev A.A., Sergeev A.N. et al. Reactogenicity, safety and immunogenicity of a recombinant bivalent vaccine against smallpox and hepatitis B in limited clinical trials // *Vopr. Virusol.* 2004. № 5. P. 22–26 (in Russian).
50. Maksytov R.A., Yakubitskiy S.N., Kolosova I.V., Shchelkunov S.N. Comparing new-generation candidate vaccines against human orthopoxvirus infections // *Acta Naturae.* 2017. V. 9. P. 88–93.
51. Yakubitskiy S.N., Kolosova I.V., Maksytov R.A., Shchelkunov S.N. Attenuation of vaccinia virus // *Acta Naturae.* 2015. V. 7. P. 113–121.
52. Tartaglia J., Perkus M.E., Taylor J. et al. NYVAC: a highly attenuated strain of vaccinia virus // *Virology.* 1992. V. 188. P. 217–232.
53. Doria-Rose N.A., Haigwood N.L. DNA vaccine strategies: candidates for immune modulation and immunization regimens. // *Methods.* 2003. V. 31. P. 207–216.
54. Hooper J.W., Custer D.M., Thompson E. Four-gene-combination DNA vaccine protects mice against a lethal vaccinia virus challenge and elicit appropriate antibody responses in nonhuman primates // *Virology.* 2003. V. 306. P. 181–195.
55. Otero M., Calarota S.A., Dai A. et al. Efficacy of novel plasmid DNA encoding vaccinia antigens in improving current smallpox vaccination strategy // *Vaccine.* 2006. V. 24(21). P. 4461–4470. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.08.010>
56. Pulford D.J., Gates A., Bridge S.H. et al. Differential efficacy of vaccinia virus envelope proteins administered by DNA: minimisation in protection of BALB/c mice from a lethal intranasal poxvirus challenge // *Vaccine.* 2004. V. 22(25–26). P. 3358–3366. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2004.02.034>
57. Phelps A., Gates A.J., Hillier M. et al. Comparative efficacy of replicating smallpox vaccine strains in a murine challenge model // *Vaccine.* 2005. V. 23(27). P. 3500–3507. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.02.005>
58. Berhanu A., Wilson R.L., Kirkwood-Watts D.L. Vaccination of BALB/mice with Escherichia coli – expressed vaccinia virus proteins A27L, B5R, and D8L protects mice from lethal vaccinia virus challenge // *J. Virol.* 2008. V. 82. P. 3517–3529. <https://doi.org/10.1128/JVI.01854-07>
59. Crotty S., Feigner P., Davies H. et al. Cutting edge: long-term B cell memory in humans after smallpox vaccination // *J. Immunol.* 2003. V. 171(10). P. 4969–4973.
60. Borisevich S.V., Mikhailov V.V., Bektimirov T.A., Perekrest V.V., Makhlai A.A., Podkuiko V.N. Assessment of the possibility of using vaccine virus strains to construct a recombinant AIDS vaccine on their basis // *Russkii zhurnal «VICH SPID i rodstvennye problemy».* 2001. № 2. P. 72–87 (in Russian).
61. Plyasunov I.V., Sergeev A.N., Sergeev A.A. et al. Clinical trials of oral recombinant bivalent vaccine against variola and hepatitis B during double vaccination // *Vopr. Virusol.* 2006. № 2. P. 31–35 (in Russian).

Authors

Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Oktyabrskiy Street 11, Sergiev Posad 141306, Russian Federation.

Sergey Vladimirovich Borisevich. Head of the FSBE «48 Central Scientific Research Institute». Doctor of Biological Sciences, Corresponding Member of RAS.

Valery Nikolayevich Podkuyko. Leading Researcher. Doctor of Medical Science.

Aleksei Petrovich Pirozhkov. Leading Researcher. Candidate of Medical Sciences.

Aleksandr Ivanovich Terent'ev. Leading Researcher. Doctor of Biological Sciences.

Vladimir Pavlovich Krasnyansky. Leading Researcher. Doctor of Biological Sciences.

Evgenii Vsevolodovich Rozhdestvensky. Head of the Scientific Research Department. Candidate of Medical Sciences.

Stanislav Viktorovich Nazarov. Senior Researcher.

Department of the Head of the Nuclear, Biological and Chemical Protection Troops of the Russian Armed Forces. 141306, Moscow, Frunzenskay Emb. 22/2.

Stanislav Viktorovich Kuznecov. Head of the Department. Doctor of Medical Sciences.

Contact information for all authors: 48cnii@mil.ru

Contact person: Sergey Vladimirovich Borisevich; 48cnii@mil.ru

Российские специалисты войск РХБ защиты и военные врачи оказывают помощь Италии и Сербии в борьбе со вспышкой коронавирусной инфекции

В связи со сложной эпидемической обстановкой в Итальянской Республике 22 марта 2020 г. по поручению Верховного Главнокомандующего Вооруженными Силами Российской Федерации Владимира Путина Министром обороны Российской Федерации генералом армии Сергеем Шойгу были даны указания о создании авиационной группировки для оперативной доставки помощи Италии в борьбе со вспышкой инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2. Самолеты военно-транспортной авиации ВКС России доставили в республику 8 мобильных бригад российских военных специалистов-вирусологов и медиков, автомобильные комплексы аэрозольной дезинфекции транспорта и территории, спецтехнику, медицинское оборудование и лекарственные препараты.

Начальник войск РХБ защиты ВС РФ генерал-лейтенант Игорь Кириллов в интервью телеканалу «Звезда» выразил уверенность в том, что «...военнослужащие получают большой опыт при ликвидации последствий в другом населенном пункте, другой местности в интересах целого государства». Он подчеркнул, что миссия в Италии «...никак не повлияет на боеготовность и способность войск РХБ защиты выполнять задачи».

Группу специалистов возглавил заместитель начальника войск РХБ защиты ВС РФ по вооружению и НИР генерал-майор Сергей Кикоть – ведущий специалист в области применения новейших систем специальной обработки.

После консультаций с итальянскими властями было определено, что российские специалисты приступят к выполнению задач в городе Бергамо в области Ломбардия.

В Бергамо для российских специалистов были определены первоочередные задачи. Врачебно-сестринские бригады направлялись для лечения больных, находящихся в пансионатах, приспособленных для изоляции и оказания помощи пожилым людям, заразившимся коронавирусной инфекцией. Особое внимание уделялось проведению масштабной санитарной обработки и дезинфекции всех объектов здравоохранения и городской инфраструктуры. На территории авиабазы ВВС Италии в пригороде Бергамо наши специалисты развернули лабораторию ПЦР-анализа, пункты специальной обработки задействованной техники.



*Российские военные специалисты осматривают лечебное учреждение в Бергамо.
Фото – Министерство обороны РФ*

Бригада российских врачей-эпидемиологов и специалистов войск РХБ защиты совместно с итальянскими военными провели полную дезинфекционную обработку помещений и подъездных дорог пансионатов для пожилых людей «Мартино Занки» в пригороде Бергамо, «Каса Рипозо» в городе Немуро, «Хунейгер» в городе Альбино, и еще 13 пансионатов и других объектов в различных городах Ломбардия.

Нашими врачами-эпидемиологами выработаны рекомендации для руководства и медицинского персонала пансионатов по поддержанию противоэпидемического режима и недопущения распространения инфекции.

Российские и итальянские специалисты-анестезиологи и реаниматологи обменялись опытом и ознакомились с алгоритмами работы в полевом госпитале в Бергамо. После завершения всех подготовительных мероприятий российские специалисты в круглосуточном режиме в три смены начали вести прием, диагностику и лечение заболевших в двух отделениях интенсивной терапии и реанимационном отделении полевого госпиталя. С российской стороны в госпитале круглосуточно дежурят и лечат больных 8 врачебно-сестринских бригад медицинской службы, которые работают во всех отделениях интенсивной терапии и отделениях для лечения больных легкой и средней степени. Всего задействовано 32 российских военных врачей и медицинские сестры.

20 апреля подразделения войск РХБ защиты ВС РФ завершили специальную обработку

лечебных учреждений в Бергамо. Проведена дезинфекция 73 лечебных учреждений в более 60 населенных пунктах Ломбардии. Российские врачи в составе интернациональных бригад продолжают оказывать помощь больным корона-вирусной инфекцией в отделениях интенсивной терапии и терапевтическом отделении полевого госпиталя Бергамо.

Тем временем специалисты войск РХБ защиты, по просьбе итальянских властей, перемещаются в провинцию Брешиа. Там расположено около 100 учреждений здравоохранения, которые требуют санитарной обработки. После согласования первоочередных задач российские и итальянские военнослужащие с 22 апреля приступают к дезинфекции лечебных учреждений в провинции Брешиа.

Россия оказала помощь не только Италии.

2 апреля в ходе телефонного разговора Президента Российской Федерации Владимира Путина и Президента Республики Сербия Александра Вучича было принято решение оказать помощь республике. К переброске самолетами Ил-76 ВКС России в Серию было подготовлено 8 врачебно-сестринских бригад, оснащенных современным медицинским оборудованием, а также отряд специалистов РХБ защиты, предназначенный для проведения дезинфекционных мероприятий, с комплексами анализа патогенных материалов, аэрозольной дезинфекции и запасом дезинфектантов.

В Серию было доставлено 87 военнослужащих, включая военных медиков, специалистов-вирусологов войск РХБ защиты, специальное медицинское оборудование, средства защиты и 16 единиц военной техники. Сводным отрядом Министерства обороны Российской Федерации в Сербии руководит генерал-майор Михаил Чернышов – начальник войск РХБ защиты Западного военного округа.

На авиабазе российских специалистов встречали премьер-министр Ана Брнабич и глава Минобороны Александр Вулин. По согласованию с сербской стороной было решено использовать российские врачебно-сестринские бригады в тех населенных пунктах, где сложилась наиболее тяжелая обстановка – Белград, Чуприя, Валево, Нови Сад, Ниш, Крагуевац, Кикинда. Две бригады медиков были оставлены работать в Белграде.

Первым объектом дезинфекционных работ в сербской столице стала клиника акушерства и гинекологии «Народный фронт», считающаяся одним из крупнейших роддомов в Сербии, где ежегодно появляются на свет около 7 тыс. новорожденных. Там зараженными оказались 46 медицинских работников. Следующим объектом, где российские специалисты провели дезинфекцию, был медицинский клинический



Премьер-министр Сербии Ана Брнабич на встрече сводного отряда Министерства обороны России на аэродроме Батайница, Сербия. Фото – пресс-службы посольства России в Сербии/ТАСС

центр им. Драгина Мишевича, где изолированы и проходят лечение пациенты с тяжелой и средней тяжестью заболевания. После проведения дезинфекции к приему в центре приступили две группы российских специалистов. Они проводят комплексную диагностику пациентов, собирают анамнез, вырабатывают тактику лечения на основе международных стандартов оказания медицинской помощи.

Специалисты из России провели дезинфекцию в Военно-медицинской академии (ВМА) ВС Сербии в Белграде – крупнейшем на Балканах медицинском научном центре, а также обработку специализированных помещений, больничных палат и парка автомобилей скорой медицинской помощи. На территории ВМА был развернут временный автопарк и пункты специальной обработки техники.

Пять врачебно-сестринских бригад были направлены для оценки эпидемической ситуации в городах Чуприя, Нови Пазар, Чачак, Лесковац и Крагуевац. Они консультировали сербских коллег по вопросам организации карантинных и дезинфекционных мероприятий, делились опытом лечения опасных инфекционных заболеваний.

Одна бригада медиков была оставлена в резерве для реагирования на экстренные изменения эпидемической обстановки, а также контроля состояния здоровья российских военнослужащих.

В Белграде подразделения РХБ защиты и специальная военная техника провели санитарную обработку: Белградской инфекционной больницы и клинического центра «Земун», куда доставляют большую часть пациентов с подозрением на COVID-19 для первичной диагностики, а в дальнейшем распределяют в соответствии со степенью сложности протекания



Проведение дезинфекции городской больницы города Валево, 6 апреля 2020 г.

Фото – Министерство обороны РФ

болезни по другим медицинским учреждениям; белградских клинических центров «Дедине» и «Звездара», где изолированы и проходят лечение пациенты с диагностированным заболеванием коронавирусной инфекцией; белградского института онкологии и радиологии, где проходят лечение онкобольные со всей страны; научно-исследовательского института вирусологии, вакцин и сывороток «Торлак», специализирующегося на профилактике, лечении и мониторинге инфекционных заболеваний и на производстве вакцин.

Также российские военные медики в Белграде проконсультировали руководство и специалистов военной академии Министерства обороны Республики Сербия, где развернут центр приема пациентов, зараженных коронавирусной инфекцией. Подобные COVID-центры были открыты и в других городах.

Эпицентром распространения заболевания в Сербии оказался город Валево. На 90 тыс. жителей и почти 130 врачей, находящихся в изоляции, до прибытия российской помощи сербские медики располагали только 50 тестами на коронавирус и девятью аппаратами искусственной вентиляции легких. Российские специалисты помогли сербским врачам стабилизировать ситуацию с распространением инфекции.

Российские врачебно-сестринские бригады провели прием и осмотр пациентов городской больницы города Чуприя, а также в медицинских учреждениях населенных пунктов Кралево, Самбар, Панчево, Крушевац. В медицинских клиниках в городах Ниш и Крушевац российскими специалистами проведена дезинфекция.

15 апреля российские эпидемиологи провели консультации с руководством и специалистами республиканского института общественного здоровья «Милан Йованович Батут» в Белграде. Это ведущий научный центр, занимающийся

вопросами анализа, планирования и развития системы здравоохранения в Сербии. На базе института развернут кризисный штаб, координирующий деятельность медучреждений страны по борьбе с коронавирусной инфекцией.

21 апреля 2020 г. российские и сербские специалисты РХБ защиты провели дезинфекционные мероприятия в военном учебном центре им. генерала Павла Юриша Штурма в городе Пожаревац. Оценить проведение совместных работ и поблагодарить российских военнослужащих специально приехал министр обороны Сербии Александр Вулин.

Всего, по данным Минобороны России, российским сводным отрядом по состоянию на 16 апреля проведен комплекс дезинфекционных мероприятий на 75 объектах в 13 городах (Белград, Ниш, Валево, Бачка-Топола, Крушевац, Чуприя, Палич, Нови-Сад, Панчево, Блаце, Пожаревац, Смедерево, Нови-Пазар). Обработано около 145 зданий и сооружений общей площадью более 740 тыс. м², участков дорог с твердым покрытием – 48 общей площадью около 370 тыс. м². Военные медики провели осмотр и приняли участие в лечении 471 пациентов, инфицированных COVID-19.

Помощь была оказана и другим странам. На первом месте в мире по числу зараженных коронавирусной инфекцией оказались Соединенные Штаты Америки. Россия предложила помощь, после чего 1 апреля в Нью-Йорк был направлен самолет российских ВКС Ан-124 «Руслан» с грузом гуманитарной помощи на борту. Оказала Россия помощь также Ирану, Азербайджану, Узбекистану, Таджикистану, Туркмении, Монголии, КНДР и другим странам, куда были направлены тест-системы для выявления вируса SARS-CoV-2, разработанные Роспотребнадзором.

В ходе выполнения задач по оказанию помощи Италии и Сербии российские военные специалисты приобрели ценный практический опыт в вопросах сбора оперативных групп в предельно короткие сроки, развертывания групп на незнакомой местности, их действий по ликвидации сложной эпидемической обстановки, организации дезинфекции зданий, сооружений, систем водозабора и других объектов, соблюдения личным составом мер безопасности при действиях в условиях реального заражения. Практическая отработка этих вопросов является тем ценным приобретенным багажом, который может понадобиться в дальнейшем при возникновении аналогичных ситуаций на территории России.

(По материалам Министерства обороны Российской Федерации)

Правила направления и соблюдения этических норм при опубликовании научных статей в журнале «Вестник войск РХБ защиты»¹

Журнал «Вестник войск РХБ защиты» – рецензируемый научно-практический журнал, специализирующийся на освещении химических и биологических угроз Российской Федерации, научных достижений по основным направлениям деятельности и задачам войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных сил Российской Федерации (далее – войска РХБ защиты), повышении профессионального уровня специалистов войск РХБ защиты, возрождении интереса к их истории и привлечении молодых ученых к работе в НИО войск РХБ защиты.

Редакция журнала при приеме и оформлении статей руководствуется требованиями Министерства образования и науки Российской Федерации к рецензируемым научным изданиям, утвержденными приказом Минобрнауки России от 25.07.2014 г. № 793², и разработанными этим же министерством «Методическими рекомендациями по подготовке и оформлению научных статей в журналах, индексируемых в международных наукометрических базах данных» (под общ. ред. О.В. Кирилловой. М., 2017)³. Правовую основу обеспечения публикационной этики журнала составляют международные стандарты: положения, принятые на 2-ой Всемирной конференции по вопросам соблюдения добросовестности научных исследований (Сингапур, 22–24 июля 2010 г.)⁴; положения, разработанные в 2011 г. Комитетом по этике научных публикаций (англ. The Committee on Publication Ethics, COPE)⁵, и нормы главы 70 «Авторское право» Гражданского кодекса Российской Федерации (ГК РФ)⁶. К публикации принимаются обзорные и оригинальные статьи на русском и английском языках.

Основные рубрики журнала:

Общие вопросы РХБ защиты войск и населения.

Проблемы соблюдения Конвенций по запрещению химического и биологического оружия.

Химическая безопасность и защита от химического терроризма.

Биологическая безопасность и защита от биологического терроризма.

Химическое и биологическое оружие в войнах и конфликтах.

Вооружение войск РХБ защиты и средства РХБ защиты.

Лекции по ключевым вопросам РХБ-безопасности.

Повседневная деятельность войск РХБ защиты.

Противостояние информационной войне в области оружия массового поражения.

Охрана результатов интеллектуальной деятельности войск РХБ защиты.

Исторический архив.

Обзор важных международных событий в области РХБ-безопасности.

Рекламные материалы будут публиковаться в соответствии с законодательством Российской Федерации о рекламе.

Преимуществом в очередности опубликования пользуются статьи по научным специальностям: 20.02.23; 20.02.14; 14.03.04.

Плата за публикацию статьи и рецензирование рукописей не взимается, ускоренная публикация не допускается. Труды заочных конференций не публикуются. Гонорары не выплачиваются.

Решение о публикации статьи принимается главным редактором (или уполномоченным им заместителем главного редактора) исключительно на основе ее научной значимости и с учетом мнения рецензентов. Если рецензии положительны, но содержат замечания и пожелания рецензента, редакция направляет их авторам. В случае отклонения статьи редакция направляет авторам статьи текст рецензии или аргументированное письмо редактора. Работы, оформленные не по правилам или не соответствующие профилю издания, могут быть отклонены редакцией журнала без рецензирования. Редакция не вступает в дискуссию с авторами отклоненных статей, за исключением случаев явного недоразумения. Рукописи не возвращаются.

¹ Выложены на сайте издания. URL: <http://journal.ofhim.ru/index.php/vestnik/issue/archive>

² URL: <http://legalacts.ru/doc/prikaz-minobrnauki-rossii-ot-25072014-n-793/> (дата обращения: 30.05.2017).

³ URL: <http://academy.rasep.ru/all-materials/556-metodicheskie-rekomendatsii-po-podgotovke-i-oformleniyu-nauchnykh-statej-v-zhurnalakhindeksiruemyykh-v-mezhdunarodnykh-naukometriceskikh-bazakh-dannykh> (дата обращения: 30.05.2017).

⁴ URL: <http://academy.rasep.ru/all-materials/556-metodicheskie-rekomendatsii-po-podgotovke-i-oformleniyu-nauchnykh-statej-v-zhurnalakhindeksiruemyykh-v-mezhdunarodnykh-naukometriceskikh-bazakh-dannykh> (дата обращения: 30.05.2017).

⁵ URL: <http://rasep.ru/sovet-po-etike/kodeksy-i-knigi/136-otvetstvennyj-podkhod-k-publikatsii-nauchno-issledovatel'skikh-rabotmezhdunarodnye-standarty-dlya-avtorov> (дата обращения: 30.05.2017).

⁶ URL: <http://legalacts.ru/kodeks/GK-RF-chast-4/razdel-vii/glava-70/> (дата обращения: 30.05.2017).

1. *Общие требования к статьям.* Статьи предоставляются в виде бумажной версии (в 1 экземпляре) и электронной версии, идентичной распечатанному на бумаге экземпляру. Электронная версия представляется в одном из форматов MS Word (*.doc, *.docx или *.rtf) на съемных носителях или по электронной почте, адрес которой указан ниже. Статья должна иметь направление от учреждения, в котором она выполнена. Организации, имеющие лицензии ФСБ на осуществление работ с использованием сведений, составляющих государственную тайну, должны представить заключение об отсутствии в статье сведений, составляющих государственную тайну.

В рукописи должны отсутствовать неправомерные заимствования (плагиат). При использовании материалов из работ других авторов (схемы, рисунки, фотографии, таблицы, фрагменты текста), автор должен руководствоваться ст. 1274 IV части ГК РФ, допускающей свободное использование произведения в информационных, научных, учебных или культурных целях, но с обязательным указанием имени автора, произведение которого используется, и источника заимствования.

Если в работе представлены результаты собственных исследований с участием животных или людей как объектов исследования, в рукописи статьи авторы должны указать, что все стадии соответствуют законодательству и нормативным документам исследовательских организаций, а также одобрены соответствующими комитетами (с указанием названия, номера и даты документа).

Названия документов, упоминаемых в тексте, должны приводиться полностью. Например, не «Конвенция о запрещении химического оружия», а «Конвенция о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении».

Для *оригинальных статей* (результатов собственных исследований авторов) в журнале принят формат IMRAD (introduction, methods, results and discussion; введение, методы, результаты и обсуждение).

Для *обзорных статей* (результатов анализа литературы) редколлегия рекомендует излагать материал в следующей последовательности:

- введение, отражающее актуальность проблемы и заканчивающееся формулировкой цели работы и ее задач;

- основная часть, при необходимости разбитая на подразделы и содержащая результаты работы и их обсуждение;

- выводы (или заключение).

Названия разделов в рукописях обзорного характера определяются автором. Статья, не имеющая деления на разделы, набранная сплошным текстом без заголовков, не может быть отнесена к научной статье. Требования к структуре оригинальной статьи приведены на схеме (рисунок 1).

Требования по типу публикации предполагают следующие форматы:

оригинальная научная статья – развернутый формат представления результатов логически завершенного научного исследования – около 40 тыс. знаков, 5–8 рисунков, 25–40 ссылок;

краткое сообщение – краткий формат представления отдельных результатов логически завершенного научного исследования – не более 2500 слов, не более двух рисунков или таблиц, минимум восемь ссылок.

обзорная статья – основной целью написания обзорной статьи для журнала «Вестник войск РХБ защиты» должно быть обсуждение накопленного материала и представление нового взгляда автора на ранее описанные явления, переосмысление и поиск новых подходов к их трактовке и использованию. Простое перечисление фактов и констатация современного состояния вопроса не допускаются. От пяти и более рисунков, от 70 ссылок. Размер обзорной статьи нужно согласовывать с редакцией.

Шрифт Times New Roman, размер 14. Текст должен располагаться на одной стороне листа с полуторным интервалом между строками, с полями на левой стороне листа (не менее 3,5 см) и на правой стороне листа (не менее 1 см).

Сокращения слов и аббревиатуры допускаются по тексту статьи, если первоначально приведено полное название. Фамилии иностранных авторов приводятся в оригинальной транскрипции. Не допускаются сокращения простых слов. Дозы лекарственных средств, единицы измерения и другие численные величины указываются в системе СИ.

В левом верхнем углу статьи приводится шифр УДК. Статью может сопровождать *словарь терминов* (неясных, способных вызвать у читателя затруднения при прочтении); словарь размещается в конце статьи.

Латинские названия биологических объектов исследований в названии статьи и в тексте пишутся с соблюдением общепринятых правил таксономической номенклатуры: бинарные видовые – курсивом (*Bacillus anthracis*, *Valeriana officinalis* L.), таксонов более высокого ранга – прямым шрифтом (род *Bacillus* или семейство *Bacillaceae*). При первом упоминании в тексте родовые и видовые названия приводятся без сокращений, далее по тексту родовое название обозначается одной прописной (первой) буквой, а видовое указывается полностью (*B. anthracis*).

Названия и символы генов набираются курсивом, а названия их продуктов – с прописной буквы прямым шрифтом. Например: гены *fos*, *c-myc*, *ATM*; белки Fos, c-Myc, ATM. Курсивом выделяются обозначения мобильных элементов, например, *hobo*-элемент, а также три первых буквы названий сайтов рестрикции, например, *HindIII*. Названия фагов и вирусов пишутся в латинской транскрипции прямым шрифтом.

В тексте статьи и аннотации следует избегать лишних вводных слов и бессодержательных фраз

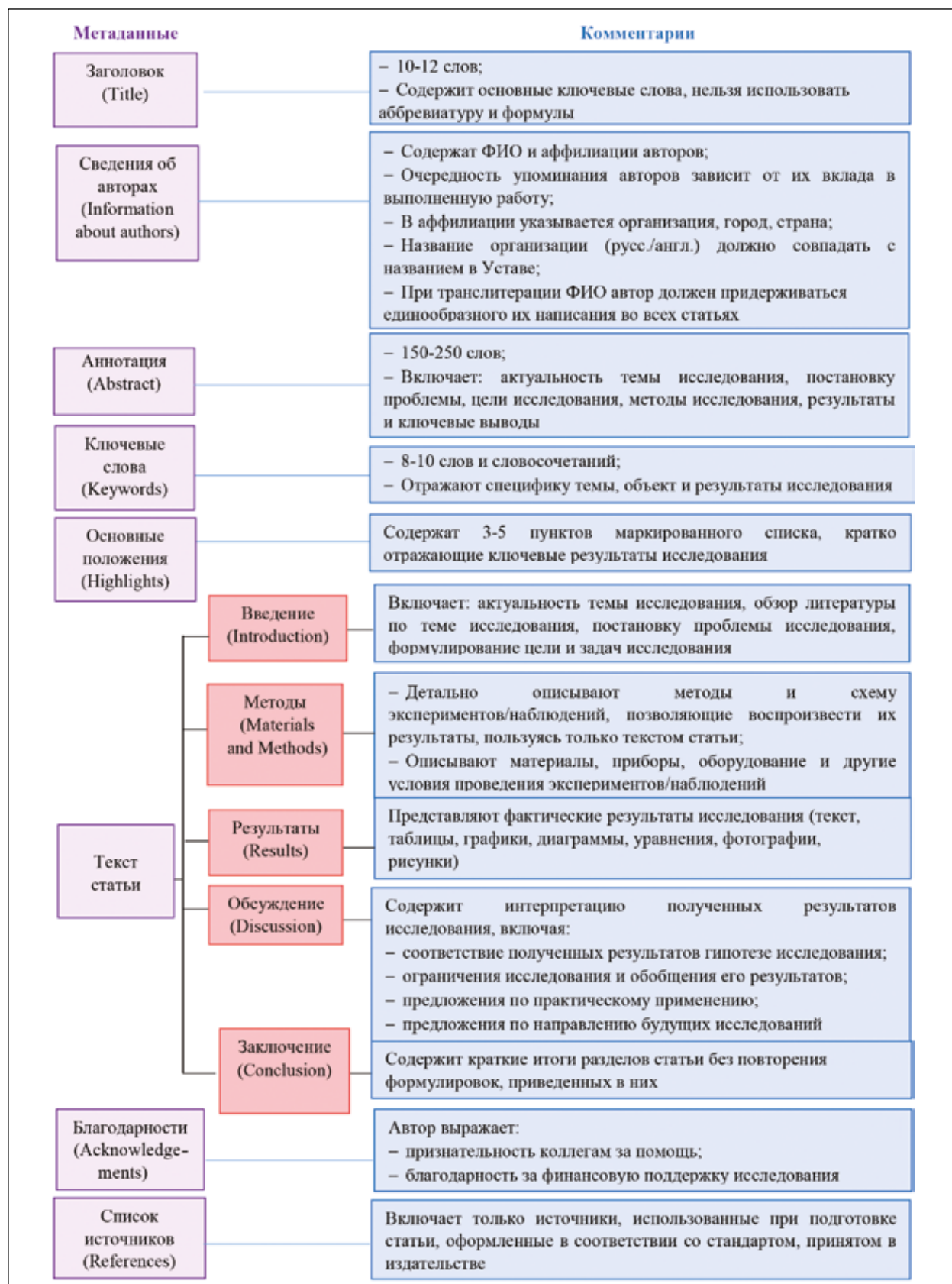


Рисунок 1 – Схема построения оригинальной научной статьи
 (Краткие рекомендации для авторов по подготовке и оформлению научных статей в журналах, индексируемых в международных наукометрических базах данных. М., 2017)

типа «автор статьи рассматривает...», «общеизвестно...», «как известно», «в наши дни», «в последнее время», «в установленном порядке», «все большее внимание», «можно сказать», «многочисленные исследования показывают», «несколько», «незначительно», «так как видно», «безусловно», «существенно более высокий уровень...», «обладает выраженной способностью...», «исследование посвящено актуальным вопросам...», «в целом результаты...», «эффективность... довольно низка», «зарубежные ученые считают...», «полученные за рубежом данные...», «по зарубежной оценке» и др. Должны приводиться конкретные факты, цифры и ссылки на источники, откуда взята информация.

Название (заглавие) статьи должно быть информативным и не содержать сокращений, за исключением общепринятых. Его не следует начинать с неопределенных слов, например, таких как «некоторые вопросы», «изучение», «исследование» и т.п., которые заведомо не дают представления, о чем конкретно идет речь в содержании работы. Максимальная длина названия статьи – 10–12 слов.

Сведения об авторах включают их ФИО и аффилиацию (наименования организаций, представивших статью, город, адреса авторов). При указании организации необходимо привести ее полный почтовый адрес с указанием индекса города, названия улицы, номера дома; для университетов – название факультета или института. Если авторы из разных организаций, то следует поставить одинаковые значки около фамилии автора и названия соответствующей организации. Можно не указывать улицу, но привести почтовый индекс. Для авторов важно придерживаться указания одного места работы.

Аннотация и ключевые слова – см. п. 3.

Библиографическое описание – приводится полное библиографическое описание статьи, облегчающее ее правильное цитирование другими авторами и работу поисковых систем, индексирующих журнал – см. п. 9.

Основные положения статьи (необязательный элемент) – отражают ключевые результаты исследования, основное содержание статьи, изложенные тезисно и оформленные в виде 3–5 пунктов маркированного списка.

При работе с версткой статьи, присланной редакцией авторам для проверки и согласования, целесообразно для внесения правок использовать инструмент «Разметка текста» программы Foxit Reader для Windows (распространяется бесплатно)⁷.

2. При подготовке оригинальных статей следует придерживаться следующего плана написания:

а) раздел «Введение» – краткая оценка современного состояния проблемы, обоснование ее актуальности. Приводятся наиболее известные и авторитетные публикации по изучаемой теме, обозначаются

нерешенные проблемы. Формулируются цели и задачи работы. Информация во Введении должна быть организована по принципу «от общего к частному». Цель работы должна соответствовать названию статьи. Объем этого раздела не должен превышать 20 % от объема основного текста;

б) раздел «Материалы и методы» должен содержать сведения о методах исследования, достаточные для воспроизведения. Автору необходимо пояснить, почему данные методы выбраны для исследования, в чем их преимущества перед другими для решения этой же задачи. Необходимо указать условия и последовательность операций при постановке экспериментов. Если описывается известный метод, то достаточно дать ссылку на соответствующий источник литературы. Необходимо указывать квалификацию и происхождение реактивов, фирмы и страны-производители приборов и оборудования, задействованных в экспериментах. Название компаний-производителей указывать в оригинальной транскрипции. Штаммы микроорганизмов и линии культур клеток, использованных при проведении исследований, должны быть депонированы в национальной коллекции. Необходимо указать название коллекции и регистрационный номер штамма. Если выполняется макро- или микрофотосъемка, указывать увеличение и название прибора, с помощью которого она проводится. Статистические методы приводятся настолько детально, чтобы читатель смог проверить представленные в статье результаты. По возможности следует подвергать полученные данные количественной оценке и представлять с соответствующими показателями ошибок измерения и неопределенности (такими, как доверительные интервалы). Не следует полагаться исключительно на статистическую проверку гипотез, например, на использование значений p , которые не отражают полноты информации. Выбор экспериментальных объектов необходимо обосновать. Следует приводить детали процесса рандомизации и методы, использованные для обеспечения «слепого» контроля. При описании статистических методов ссылки должны приводиться на известные руководства и учебники;

в) раздел «Результаты». В этом разделе должны быть представлены экспериментальные или теоретические данные, полученные в ходе исследования. Результаты даются в обработанном варианте: в виде таблиц, графиков, организационных или структурных диаграмм, уравнений, фотографий, рисунков. Приводятся только факты. Их интерпретацию, сопоставление с данными других исследователей следует помещать в раздел «Обсуждение». Если было получено много похожих зависимостей, представляемых в виде графиков, приводится только один типичный график, а данные об имеющихся количественных отличиях между ними представляются в таблице.

⁷ Краткая инструкция Foxit Reader для Windows. URL: cdn01.foxitsoftware.com/pub/foxit/manual/reader/ru_ru/FoxitReaderQuickGuide_9.2.pdf (дата обращения: 05.03.2019).

Существует три способа представления результатов: текст (вербальное представление); таблицы (полувербальное представление); рисунки: диаграммы, графики, изображения (визуальное представление). Все три способа представления результатов количественного исследования (текст, таблицы и рисунки) должны дополнять, а не повторять друг друга. Каждый график, каждая таблица должны быть представлены и описаны в тексте. Их текстовое описание также состоит из трех элементов. Первый указывает, что именно представлено, и где это можно найти в статье. Второй описывает наиболее важные черты этого графика или таблицы, а третий уже комментирует. Результаты рекомендуется излагать в прошедшем времени и утвердительными предложениями;

г) раздел «Обсуждение» содержит интерпретацию полученных результатов исследования, предположения о полученных фактах, сравнение полученных собственных результатов с результатами других авторов. В «Обсуждении» следует перейти от специфической информации разделов «Методы» и «Результаты» к более общей интерпретации результатов;

д) раздел «Заключение» содержит главные идеи основного текста статьи. Эту часть раздела надо тщательно отредактировать, чтобы не повторять формулировок, приведенных в предыдущих разделах. Желательно сравнить полученные результаты с теми, которые планировалось получить, а также показать их новизну и практическую значимость, прописать ограничения, возникшие в ходе работы. В конце раздела приводятся выводы и рекомендации, определяются основные направления дальнейших исследований. Выводы должны соответствовать цели исследования и быть основаны на полученных результатах. Основной вывод должен содержать ответ на вопрос, поставленный во вводной части статьи. Выводов не должно быть больше 3–5. При большем количестве теряется значимость основного (основных) вывода;

е) раздел «Благодарности» – в этом разделе следует упоминать людей, которые помогали при работе над статьей и источники финансирования;

ж) раздел «Информация о конфликте интересов». Авторы должны сообщить о наличии финансовых или каких-либо других существенных конфликтов интересов, которые могут быть расценены как повлиявшие на результаты исследования или их интерпретацию. Должны быть указаны формы стороннего финансирования работы (гранты, субсидии, пожертвования), если они были. Если нет конфликтов интересов, авторы должны заявить: «Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов»;

и) раздел «Сведения о рецензировании статьи». Указывается модель рецензирования (двойное слепое или открытое рецензирование), количество рецензентов и местонахождение рецензий. Например: «Проведено двойное слепое рецензирование статьи

двумя рецензентами. Рецензии находятся в редакции журнала»;

к) раздел «Список источников» сообщает читателю, откуда заимствованы материалы или отдельные результаты (см. п. 9);

л) *англоязычный блок*. Переводятся на английский язык название статьи, сведения по аффилиации авторов, аннотация, ключевые слова и список источников. В отношении организации(ий) важно, чтобы указывался официально принятый английский вариант наименования. Например: Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation; Kuban State University, Stavropolskaya Street 149, 350040 Krasnodar, Russian Federation; M.V. Lomonosov Moscow Academy of Fine Chemical Technology, Vernadskogo Ave. 86, Moscow 119571, Russian Federation; Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Petrovsky Boulevard 8, bld. 2, Moscow 127051, Russian Federation. Транслитерация ФИО авторов осуществляется по системе BGN (Board of Geographic Names, см. сайт <http://www.translit.ru>). Аннотация на английском языке на статью на русском языке по объему может быть больше аннотации на русском языке (см. п. 3), так как за ней не идет полный текст на этом же языке. В переводе аннотаций и ключевых слов на английский язык не должно быть транслитераций с русского языка, кроме непереводаемых названий собственных имен, приборов и других объектов, имеющих собственные названия; также не должен использоваться непереводаемый сленг, известный только русскоговорящим специалистам. Должна применяться англоязычная специальная терминология. Следует избегать употребления терминов, являющихся прямой калькой русскоязычных терминов. Необходимо соблюдать единство терминологии в пределах резюме. Текст должен быть связным, с использованием слов «следовательно», «более того», «например», «в результате» и т.д. («consequently», «for example», «the benefits of this study», «as a result» etc.). Излагаемые положения должны логично вытекать одно из другого. Необходимо использовать активный, а не пассивный залог, т.е. «The study tested», но не «It was tested in this study» (часто встречающаяся ошибка в российских аннотациях).

В списке источников (References) на английский язык переводятся названия статей на русском языке. Транслитерируются ФИО авторов и выходные данные периодических и непериодических изданий. В скобках указывается язык статьи (in Russian). Если в списке есть ссылки на иностранные публикации, они оставляются без изменений;

3. *Аннотация и ключевые слова* – основной источник информации о статье в отечественных и зарубежных информационных системах и базах данных, индексирующих журнал. Поэтому аннотация

должна быть информативной (не содержать общих слов о статье, например, таких: «В работе приведены результаты исследования по оценке ...» или «Показана возможность получения рабочих образцов сравнения с хорошими препаративными выходами ...», и т.п.), содержательной (отражать основное содержание статьи), структурированной (следовать логике описания результатов в статье). Ключевые слова должны отражать дисциплину (область науки, в рамках которой написана статья), тему, цель и объект исследования и использоваться читателем для быстрого и приоритетного обнаружения статьи поисковиками в электронных базах различного типа. Одним из проверенных вариантов аннотации является краткое повторение структуры статьи, включающей введение, цели и задачи, методы, результаты, заключение. Предмет, тема, цель работы указываются в том случае, если не ясны из заглавия статьи. Метод или методологию проведения работы в аннотации целесообразно описывать в том случае, если они отличаются новизной или представляют интерес с точки зрения публикуемой работы. Результаты работы описывают предельно точно и информативно. Приводятся основные теоретические и экспериментальные результаты, фактические данные, обнаруженные взаимосвязи и закономерности. При этом отдается предпочтение новым результатам и данным долгосрочного значения; открытиям, выводам, опровергающим существующие теории представления; а также данным, имеющим практическое значение. Выводы могут сопровождаться рекомендациями, оценками, предложениями, гипотезами, описанными в статье. В любом случае аннотация должна быть выстроена логически и условно включать разделы: обоснование проводимого исследования, методы (для экспериментальных статей), результаты, заключение (включающее подтверждение научной новизны статьи).

Сведения, содержащиеся в названии статьи, не должны повторяться в тексте аннотации. Следует избегать лишних вводных слов и бессодержательных фраз (см. выше). Исторические справки, если они не составляют основное содержание документа, описание ранее опубликованных работ и общеизвестные положения в аннотации не приводятся. В тексте аннотации следует употреблять синтаксические конструкции, свойственные языку научных и технических документов, избегать сложных грамматических конструкций. В качестве помощи для написания аннотаций можно использовать ГОСТ 7.9-95 «Реферат и аннотация. Общие требования». Аннотация составляется на заключительной стадии подготовки рукописи статьи.

Ключевые слова приводятся через точку с запятой, что облегчает классификацию работы в компьютерных поисковых системах. В качестве ключевых слов могут использоваться как одиночные слова, так и словосочетания в единственном числе и именительном падеже. Не следует использовать слишком сложные слова, слова в кавычках, слова с запятыми.

4. **Таблицы** помещают по тексту статьи после первого упоминания. Таблицы должны иметь номер и заголовок. Точка после заголовка таблицы не ставится. Заголовки выравниваются по левому краю. Номер таблицы ставится слева от заголовка.

Таблицы необходимо формировать, используя опцию Word «таблица» без абзаца в графе. Сокращения слов в таблицах не допускаются. Цифры в таблицах должны соответствовать цифрам в тексте. В тексте статьи необходимо привести ссылку на таблицу. Таблицы должны быть компактными, иметь порядковый номер; графы, колонки необходимо выверить логически и графически. Названия граф выделяются полужирным шрифтом. Пустые ячейки в таблице не допускаются. Материал таблиц (как и рисунков) должен быть понятным и не дублировать текст статьи. В случае необходимости использования сокращений их расшифровка приводится в примечаниях к таблице. Все данные, представленные в таблицах, должны соответствовать таковым в тексте рукописи.

5. **Графики** целесообразно представлять в программе Microsoft Excel с цифровыми данными. Каждый график в отдельном файле.

6. **Математические формулы и уравнения** следует выделять из текста в отдельную строку. Выше и ниже каждой формулы и уравнения должно быть оставлено не менее одной свободной строки. Если уравнение не умещается в одну строку, то оно должно быть перенесено после знака равенства (=) или после знаков плюс (+) или минус (-), умножения (×) или деления (:) или других математических знаков, причем знак в начале следующей строки повторяют. При переносе формулы на знаке, символизирующем операцию умножения, используют знак «×». Пояснение значений символов и числовых коэффициентов следует приводить непосредственно под формулой (уравнением) в той же последовательности, в которой они даны в формуле (уравнении). Формулы и уравнения в статье нумеруются порядковой нумерацией в пределах статьи арабскими цифрами в круглых скобках и крайнем правом положении на строке. Одну формулу (уравнение) обозначают – (1). Ссылки в тексте на порядковые номера формул и уравнений дают в скобках арабскими цифрами.

7. **Рисунки и фотографии.** Рисунки и фотографии размещаются в тексте статьи после первого упоминания, представлять их на отдельных листах нет необходимости. Рисунки могут быть черно-белыми и цветными. Количество обозначений на рисунке или фотографии необходимо свести к минимуму, объяснения следует давать в подрисунковой подписи. Под рисунком должны находиться название рисунка с номером рисунка и поясняющая подрисунковая надпись. Рисунки и фотографии должны представляться в электронном варианте. В подписях к микрофотографиям указываются увеличение, метод окрашивания. Электронные варианты рисунков и фотографий должны быть размером не менее чем 9–12 см, 300 точек/дюйм, формат tif, цветовая платформа

СМУК. Обязательно наличие распечатанного рисунка, представленного в электронном виде.

8. *Ученые степени и звания* приводятся в сокращенном виде, как указано в таблице 1.

9. *Список источников* (Библиографический список). На него обращается основное внимание при приеме рукописей. Готовится на русском и английском языках. Библиографический список позволяет:

- признавать и использовать идеи других авторов, избежав обвинений в плагиате;
- быстро найти источники материалов, на которые ссылается автор, ознакомиться с ними и убедиться в достоверности данных из этих источников;
- продемонстрировать масштаб и глубину исследования.

В список источников включаются только индексируемые наукометрических системах источники (статьи из научных журналов и монографии). Если цитируемая статья имеет уникальный идентификатор цифрового объекта DOI (англ. Digital Object Identifier), необходимо указывать его после описания цитируемой статьи. При проведении анализа научной проблемы необходимо показать знакомство с классическими трудами, сославшись в работе на соответствующие источники. Если необходимо сослаться на статью в общественно-политической газете, текст на сайте или в блоге, следует поместить информацию об источнике в подстрочную сноску. Нежелательно включать в библиографические списки нормативные документы (постановления, законы, инструкции и т.д.) и труднодоступные источники, которые никогда не будут проиндексированы в наукометрических системах. Предпочтительно их цитировать непосредственно в тексте или в сносках при первом упоминании (см. ниже «Сноски»). Также необходимо минимизировать цитирование учебников,

учебных пособий, справочников, словарей, сборников статей, диссертаций, других малотиражных изданий, которые, с одной стороны, не могут быть основанием для серьезных научных исследований, и с другой стороны, могут быть недоступны.

Ссылки в тексте должны даваться номерами в квадратных скобках в порядке их цитирования. При цитировании источников следует отражать работы не только российских, но и зарубежных коллег. Не следует прибегать к избыточному (не более трех ссылок по каждому утверждению) и ложному цитированию. Редакция оставляет за собой право выборочно проверять соответствие ссылок цитируемым сведениям. При обнаружении ложного цитирования статья не публикуется и с ее автором (авторами) редакция в дальнейшем не работает. Следует избегать цитирования ретрагированных статей и статей из неиндексируемых и «хищнических» журналов.

Библиографические списки составляются в соответствии с ГОСТ Р 7.0.5-2008 «Библиографическая ссылка. Общие требования и правила составления», введенном в действие с 01.01.2009 г. Для цитирования научной литературы в журнале используются затекстовые библиографические ссылки (см. раздел 7 и примеры ссылок в приложении А ГОСТ Р 7.0.5-2008). Электронные ресурсы локального и удаленного доступа цитируются в соответствии с правилами, приведенными в разделе 10 ГОСТ Р 7.0.5-2008. Примеры ссылок на электронные ресурсы приведены в приложении А этого же ГОСТа. Правильное описание используемых источников в *Список источников* – залог того, что цитируемая публикация будет учтена Российским индексом научного цитирования (РИНЦ) при оценке научной деятельности ее авторов и организаций, где они работают. Ссылки на неопубликованные

Таблица 1 — Сокращения ученых степеней и званий

Полное наименование	Сокращенное наименование	Наименование (англ.)
доктор биологических наук	д-р биол. наук	Doctor of Biological Sciences
доктор ветеринарных наук	д-р ветеринар. наук	Doctor of Veterinary Sciences
доктор военных наук	д-р воен. наук	Doctor of Military Sciences
доктор медицинских наук	д-р мед. наук	Doctor of Medical Sciences
доктор технических наук	д-р техн. наук	Doctor of Technical Sciences
доктор физико-математических наук	д-р физ.-мат. наук	Doctor of Physico-Mathematical Sciences
доктор химических наук	д-р хим. наук	Doctor of Chemical Sciences
кандидат биологических наук	канд. биол. наук	Candidate of Biological Sciences
кандидат ветеринарных наук	канд. ветеринар. наук	Candidate of Veterinary Sciences
кандидат военных наук	канд. воен. наук	Candidate of Military Sciences
кандидат медицинских наук	канд. мед. наук	Candidate of Medical Sciences
кандидат технических наук	канд. техн. наук	Candidate of Technical Sciences
кандидат химических наук	канд. хим. наук	Candidate of Chemical Sciences
доцент	доц.	Associate Professor
профессор	проф.	Professor
старший научный сотрудник	ст. науч. сотр.	Senior Researcher
академик	акад.	Academician

ванные работы не допускаются. В ссылках на статьи, принятые в печать, но еще не опубликованные, нужно указать: «в печати». Информация из рукописей, представленных, но еще не принятых в печать, должна обозначаться в тексте как «неопубликованные наблюдения» (наличие согласия автора). Неполные ссылки, например, не содержащие название статьи, недопустимы. Обязательно должны быть приведены DOI цитируемых статей (если они были указаны авторами).

Сноски. Такие источники как авторефераты диссертаций, диссертации, препринты, нормативно-правовые документы (в том числе фармакопейные статьи), ГОСТы, СНИПы, информация с сайтов, статистическая и научно-техническая документация (в том числе отчеты о НИР) в *Список источников* не включаются. Цитирование этих источников следует оформлять в виде подстрочных ссылок (инструмент MS Word «Вставить сноску»). Наряду с неиндексируемыми источниками в подстрочных ссылках могут быть размещены комментарии авторов к тексту.

10. Печатный вариант необходимо подписать всем авторам. Указываются фамилия, имя, отчество, место работы, телефон, почтовый и электронный адреса автора, с которым редакция будет вести переписку.

11. Подпись автора(ов) под статьей, переданной в редакцию, подразумевает, что он(и):

- гарантируют, что размещение научной статьи в журнале «Вестник войск РХБ защиты» не нарушает ничьих авторских прав;

- статья содержит все предусмотренные действующим законодательством об авторском праве ссылки на цитируемых авторов и издания, а также используемые в статье результаты и факты, полученные другими авторами или организациями. Автор(ы) несет(ут) ответственность за научное содержание статьи и гарантирует оригинальность представляемого материала;

- статья не включает материалы, не подлежащие опубликованию в открытой печати, в соответствии с действующими нормативными актами;

- автор(ы) подтверждает(ют), что им был заключен с учредителем журнала в устной форме договор о предоставлении права использования научной статьи в журнале «Вестник войск РХБ защиты» на условиях простой (неисключительной) лицензии (на безвозмездной основе, на весь срок действия исключительного права, на территории всего мира), в частности, на использование научной статьи путем ее воспроизведения, права использования научной статьи целиком или фрагментарно в сочетании с любым текстом, фотографиями или рисунками, в том числе путем размещения полнотекстовых сетевых версий-номеров на интернет-сайтах (ГК, Ч. IV, ст. 1236);

- автор(ы) согласен(сны) на обработку в соответствии со ст. 6 Федерального закона «О персональных данных» от 27.07.2006 г. № 152-ФЗ своих персональных данных, а именно: фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность,

место(а) работы и/или обучения, контактная информация по месту работы и/или обучения, в целях опубликования представленной статьи в журнале «Вестник войск РХБ защиты»;

- автор(ы) подтверждает(ют), что направляемая статья нигде ранее не была опубликована, не направлялась и не будет направляться для опубликования в другие научные издания без уведомления об этом редакции журнала «Вестник войск РХБ защиты»;

- автор(ы) научной статьи ознакомлен(ы) и согласен(сны) с правилами подготовки рукописи к изданию, утвержденными главным редактором журнала «Вестник войск РХБ защиты».

12. Редакция рекомендует авторам в ходе подготовки статей проверять синтаксис предложений и убирать «словесный мусор» из текста с помощью сервиса «Главред» (<https://glvrud.ru>).

13. Для установления соответствия статьи требованиям журнала она проходит «двойное слепое рецензирование» двумя рецензентами. Готовые рецензии от авторов не принимаются. Минимальный срок рецензирования – 2–3 недели. Автор(ы) при желании и согласии рецензентов, подтвержденными письменно, могут перейти на модель открытого рецензирования. Рецензии постоянно хранятся в редакции журнала и направляются в НЭБ. При слепом рецензировании фамилии рецензентов в НЭБ не разглашаются. Если рецензии положительны, но содержат замечания и пожелания, редакция направляет их авторам. Автор должен ответить рецензентам по всем пунктам их рецензий. В случае отклонения статьи редакция направляет авторам статьи текст рецензии либо аргументированное письмо редактора. Редакция не вступает в дискуссию с авторами отклоненных статей, за исключением случаев явного недоразумения. Рукописи не возвращаются.

14. Редакция оставляет за собой право сокращать принятые рукописи или вносить в них изменения, без изменения смысла статьи. Статьи, отправленные авторам для исправления, должны быть возвращены в редакцию не позднее, чем через две недели после получения. Если статья возвращена в более поздний срок, то сроки опубликования отодвигаются.

15. Редакция приветствует размещение уже опубликованных в журнале статей на интернет-сайтах, если приведено их полное библиографическое описание.

16. Неправильно оформленные статьи не рассматриваются. Статьи проверяются с помощью программы «Антиплагиат». Статьи недооформленные, а также с машинным переводом на английский язык аннотаций, возвращаются авторам на доработку.

17. Печатный вариант статьи и сопроводительные документы следует направлять по адресу: 105005, Москва, Бригадирский переулок, д. 13. ФГБУ «27 Научный центр» Минобороны России, редакция «Вестник войск РХБ защиты». Электронный вариант статьи представляется на CD-диске или по электронной почте (E-mail: 27nc_1@mail.ru).

18. Типовые ошибки авторов. Три года редак-

торской работы позволили нам составить перечень типовых ошибок, допускаемых авторами в представленных в редакцию рукописях. Поэтому перед отправкой рукописи статьи в редакцию журнала рекомендуем проверить:

- аннотацию – обычно они формальны, в основном рассказывают о намерениях авторов, но не отражают основного содержания работы. Авторам надо понять, что аннотация – это отдельное научное произведение. Она должна отражать актуальность работы, ее цель, использованные методы и полученные результаты. Объем аннотации – до 2 тыс. знаков, используйте же их полностью таким образом, что читатель вашей статьи мог ее процитировать, не обращаясь к ее основному тексту;
- русское и английское название организации (должны быть таким, как записано в уставе организации), расположение по алфавиту ключевых слов, посчитать таблицы и рисунки и проверить их номера и содержание, они должны соответствовать тексту, все иметь отсылки в тексте, и быть вставлены в текст непосредственно после отсылки в тексте;
- имена, отчества авторов в разделе «Об авторах» – должны быть приведены полностью;
- адрес электронной почты – для организаций МО РФ он должен соответствовать официальному адресу электронной почты организации, представившей статью, а не личному адресу автора;
- таблицы и рисунки должны идти сразу после упоминания в тексте рукописи;
- если статья биологическая, обратить внимание на курсивное написание генов (пишутся прописными буквами) и видовых названий микроорганизмов;
- цифры и сокращения в верхнем и нижнем регистрах, например, $\text{Cl}_3\text{-NO}_2$, а не Cl3-NO2 ;
- нумерацию формул;
- правильность употребления дефисов и тире (часто вместо тире стоит дефис);
- раскрытие аббревиатур – при первом упоминании;

- указания авторами источников, откуда взяты рисунки, схемы, фотографии;

- написание процентов – % пишется сразу после цифры (без пробела) – 15%, 15%-й раствор, 20%-го раствора;

- соответствие названия статьи и авторского коллектива в русской и английской версиях библиографического описания, названию и авторскому коллективу, вынесенным в заголовок статьи;

- интервалы значений между числами в цифровой форме – можно через тире, например, длиной 5–6 м, но в технических и научных текстах предпочтительнее через многоточие – 5...6 м. Важно, чтобы интервалы цифровых значений в тексте статьи были единообразными;

- знак градуса ставится перед °C без пробела, между знаком градуса и цифровой величиной ставится пробел 30 °C, температура обозначается курсивным t , например, температура плавления $t_{\text{пл}}$ минус 39 °C;

- правильность написание сокращений. Прежде всего обратить внимание на то, где ставятся и где не ставятся точки: год (г.), годы (гг.), века (вв.), месяц (мес.), неделя (нед.), час (ч), минута (мин), секунда (с), тысяча (тыс.), миллион (млн), метр (м), сантиметр (см), миллиметр (мм), тонна (т), килограмм (кг), миллиграмм (мг), экземпляры (экз.) и т.д. – если слово употребляется сразу после цифры. Если между цифрой и сокращаемым словом есть еще слово (или слова), то писать полностью: «перемешивали 18 ч», «прошло 18 долгих часов». Проверить единообразие сокращений по тексту;

- имена и инициалы в тексте статьи – пишутся перед фамилией;

- правильность и полноту написания библиографических ссылок, приведение DOI цитируемых статей (если они были). Характерной ошибкой в ссылках на интернет-источники является отсутствие даты обращения к этим источникам.

Порядок и этика рецензирования статей в журнале «Вестник войск РХБ защиты»

Редакция придерживается принципа, что рецензирование является основным механизмом оценки качества публикуемых в журнале материалов исследования.

1. Автор статьи представляет в редакцию рукопись, оформленную в соответствии с Правилами направления и соблюдения этических норм при опубликовании научных статей в журнале «Вестник войск РХБ защиты».

2. Поступившую рукопись ответственный секретарь редакции регистрирует в специальном журнале в день получения редакцией ее бумажной или электронной версии (дата регистрации) и ей присваивается идентификационный номер, где первая цифра означает номер по порядку в текущем году, вторая – год поступления. Например, статья под № 23–20 означает, что она поступила 23-й по счету в 2020 г. На статью ответственным секретарем редакции заводится учетная карточка, отражающая ход рассмотрения статьи в редакции и содержащая окончательный вывод главного редактора (заместителя главного редактора) о возможности опубликования.

3. Все научные статьи подлежат обязательно рецензированию. Используются две модели рецензирования – двойное слепое и открытое (по выбору авторов). *Рецензии на опубликованные статьи направляются в РИНЦ.*

4. Главный редактор (заместитель главного редактора) в течение двух недель определяет соответствие статьи профилю журнала. Привлекаемые рецензенты должны быть признанными специалистами по тематике рецензируемых материалов и иметь в течение последних 3 лет публикации по тематике рецензируемой статьи. Предпочтительно привлечение к рецензированию специалистов из сторонних организаций. Рецензии постоянно хранятся в редакции журнала.

Рецензенту ответственным секретарем редакции (научным редактором) направляется уведомление (приложение 1), в котором указывается название статьи и срок представление рецензии, рукопись статьи, а также типовая форма рецензии (приложение 2).

5. Срок рецензирования – три недели. При необходимости повторное рецензирование проводится в такие же сроки. Если статья подготовлена не в соответствии с Правилами направления и соблюдения этических норм при опубликовании научных статей в журнале «Вестник войск РХБ защиты», рецензенту она не направляется и реколлегии не рассматривается.

6. Замечания и пожелания рецензента должны

быть объективными и принципиальными, направленными на повышение научно-методического уровня рукописи. Рецензент должен быть готов к тому, что рецензия будет направлена в ВАК (в случае двойного слепого рецензирования статьи), доступна другим исследователям через РИНЦ или опубликована на сайте журнала. Рецензент имеет определенные обязательства в отношении авторов и редактора.

7. Обязательства рецензента перед автором:

- беспристрастно оценивать научные достоинства и ценность рецензируемой работы;
- уклоняться от личных комментариев и критики;
- не использовать данные или идеи, приведенные в рецензируемой статье, в собственных публикациях без согласия автора(ов) и ссылки на данную работу;
- поддерживать конфиденциальность процесса рецензирования;

- не выходить за рамки Правил направления и соблюдения этических норм при опубликовании научных статей в журнале «Вестник войск РХБ защиты».

8. Обязательства рецензента перед редактором:

- соблюдать правила рецензирования, изложенные в данном документе;
- предупреждать редактора о конфликте интересов с авторами статьи, отказ от рецензирования, если такой конфликт возможен;
- рассматривать рукопись статьи как конфиденциальную информацию (не показывать рукопись кому-либо, не передавать ее на рецензирование другим лицам без согласования с главным редактором или его заместителем);
- предупреждать главного редактора (его заместителя) о невозможности завершить рецензию в определенный срок;
- сообщать главному редактору о любых этических сомнениях в отношении рецензируемой статьи.

9. В рецензии рецензентом как минимум даются ответы на вопросы, изложенные в типовой форме рецензии (приложение 2). По желанию рецензента дополнительно может быть подготовлена развернутая рецензия с подробным критическим разбором или комплексным анализом рукописи. В заключительной части рецензии должны содержаться выводы о рукописи в целом и одно из следующих решений:

- рекомендовать принять рукопись к публикации в журнале «Вестник войск РХБ защиты»;
- рекомендовать принять рукопись к публикации в журнале «Вестник войск РХБ защиты» с внесением технической правки редакцией без повторного рецензирования статьи;
- рекомендовать направить на повторное ре-

цензирование тому же рецензенту после устранения автором замечаний рецензента, с последующим принятием рукописи к публикации в журнале «Вестник войск РХБ защиты»;

- рекомендовать направить на повторное рецензирование другому рецензенту;
- рекомендовать отказать в публикации статьи в журнале «Вестник войск РХБ защиты».

10. В случае двух отрицательных рецензий статья направляется на дополнительное рецензирование другому рецензенту решением главного редактора (его заместителя) или по рекомендации редколлегии журнала.

11. Статья, принятая к публикации, но нуждающаяся в доработке, направляется автору с соответствующими замечаниями рецензентов и (или) главного редактора. Автор обязан реализовать замечания и вернуть в редакцию исправленный вариант рукописи (по электронной почте) не позднее, чем через две недели со дня ее получения. Возвращение статьи в более поздние сроки сдвигает дату ее опубликования.

12. Редакция журнала представляет рецензии на

рукописи по запросам соответствующего экспертного совета ВАК. Открытые рецензии могут быть размещены на сайте журнала.

13. В случае несогласия с мнением рецензента, автор статьи имеет право обратиться в редакцию журнала с аргументированной просьбой, в письменном виде, о направлении его рукописи на рецензирование другому рецензенту с приведением в обращении соответствующих аргументов. В этом случае редакционная коллегия журнала направляет рукопись на повторное (дополнительное) рецензирование, либо предоставляет автору новый мотивированный отказ. Окончательное решение принимает главный редактор журнала (или исполняющий его обязанности заместитель главного редактора).

14. Окончательное решение о целесообразности и сроках публикации рукописи после рецензирования принимает главный редактор журнала (или исполняющий его обязанности заместитель главного редактора) исключительно на основе ее научной значимости.



Приложение 1

Уведомление редакции журнала «Вестник войск РХБ защиты»

Уважаемый _____!

Направляем Вам на рецензирование рукопись _____

Модель рецензирования: двойное слепое; открытое (подчеркнуть)

Просим представить рецензию не позднее _____ 202_ г.

Заместитель главного редактора
_____ 2020 г.

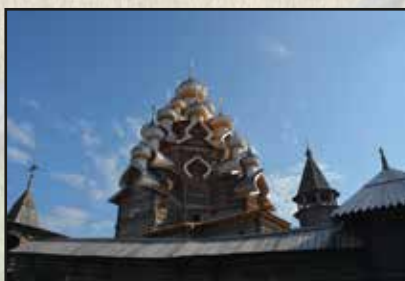
Д. Колесников

Типовая форма рецензии

Название статьи	
Соответствует ли содержание представляемой в редакцию рукописи статьи тематике (научному профилю) журнала?	
Соответствует ли название рукописи статьи ее содержанию?	
Сформулированы ли четко актуальность, цель и задачи исследования?	
Способствует ли достижению цели представленная совокупность задач?	
Содержит ли раздел «Материалы и методы» сведения о методах исследования, достаточные для их воспроизведения (если применимо)?	
Правильно ли применены методы статистического анализа и интерпретированы их результаты (если применимо)?	
Разъяснены ли в тексте рукописи статьи при первом упоминании аббревиатуры и другие условные буквенные сокращения?	
Отражено ли в выводах достижение цели исследования?	
Все ли выводы основываются на приведенных в статье данных?	
Отражает ли аннотация основное содержание работы и полученные результаты?	
Отражают ли приведенные ключевые слова специфику темы, объект и результаты исследования?	
Соответствуют ли библиографические описания цитируемой литературы современному состоянию проблемы, рассматриваемой автором?	
Достоверен ли список источников, приведенный автором?	
Соответствует ли рукопись статьи современным достижениям в той области знания, к которой она относится?	
Доступна ли рукопись статьи читателям, на которых она рассчитана, с точки зрения языка, стиля, расположения материала, наглядности таблиц, диаграмм, рисунков и формул?	
Есть ли признаки плагиата – заимствования частей чужого текста, цитат, таблиц, формул, графиков и т.п. без ссылки на автора и первоисточники?	
Есть ли признаки фальсификации или фабрикации научных данных?	
Целесообразна ли публикация рукописи статьи с учетом ранее выпущенной по данному вопросу литературы?	
В чем конкретно заключаются положительные стороны, а также недостатки рукописи статьи, какие исправления и дополнения должны быть внесены автором?	
Есть ли в рукописи статьи объекты интеллектуальной собственности, которые могут получить правовую охрану в России и за рубежом (вещество, способ, устройство)?	
Содержатся ли в рукописи статьи сведения рекламного характера?	
В чем заключается научный вклад данной рукописи статьи в ту область знания, к которой она относится?	
В каком направлении надо развивать эти исследования в будущем?	
Выводы о рукописи в целом (подчеркнуть нужное): 1) рекомендовать принять рукопись к публикации в журнале «Вестник войск РХБ защиты»; 2) рекомендовать принять рукопись к публикации в журнале «Вестник войск РХБ защиты» с внесением технической правки редакцией без повторного рецензирования статьи; 3) рекомендовать направить на повторное рецензирование тому же рецензенту после устранения автором замечаний рецензента, с последующим принятием рукописи к публикации в журнале «Вестник войск РХБ защиты»; 4) рекомендовать направить на повторное рецензирование к другому рецензенту; 5) рекомендовать отказать в публикации в журнале «Вестник войск РХБ защиты». (см. п. 9 Порядка рецензирования статей в журнале «Вестник войск РХБ защиты»)	

Наша замечательная Россия

Сказка куполов на острове Кижі (Карелия)



Остров Кижі находится в Онежском озере, в 68 км от Петрозаводска. Его длина – около 5,5 км, ширина достигает 1,4 км. С XI в. по XV в. история поселений острова была частью истории Новгорода. В 1478 г. новгородские владения вошли в состав Московского государства. В настоящее время на его территории находится государственный историко-архитектурный и этнографический музей-заповедник «Кижі». Этот уникальный архитектурный комплекс создавался более двухсот пятидесяти лет. На фотографии вверху – основные сооружения музея и когда-то существовавшего на этом месте древнего Кижского погоста. В центре – летний Храм Преображения Господня. Построен в 1714 г., увенчан двадцатью двумя главами. Высота от основания до креста центральной главы – 37 м. Относится к типу деревянных восьмериковых ярусных церквей. Слева – шатровая колокольня Кижского погоста, построена в 1862 г. Справа – десятиглавая зимняя Церковь Покрова Пресвятой Богородицы, высота – 26 м, построена в 1694 г., перестроена в 1764 г. На фотографии внизу слева – выступление мужского хора Храма Преображения Господня. В центре – мощная 300 метровая стена, возведенная в 50-е гг. XIX в. Фотографии внизу справа – демонстрация туристам изготовления элемента конструкции куполов – лемеха (русская черепица из осины). Изначально все деревянные постройки Кижей сооружались при помощи одного инструмента – топора. Свежевырубленный осиновый лемех придает главам храмов золотистый цвет. Со временем он становится серебристым.

Фотографии М.В. Супотницкого



Сайт журнала



РИНЦ

