

Результаты обследования Приморского края на актуальные природно-очаговые инфекции

Н.В. Бренёва¹ (adm@chumin.irkutsk.ru), А.В. Алленов² (ppchsadm@mail.ru), М.Б. Шаракшанов¹, Е.Ю. Киселева¹, В.Н. Краснощеков² (ppchs_lab@mail.ru), Н.С. Гордейко², В.П. Борзов², В.Ю. Киряков², Т.В. Хоменко², А.В. Мазепа¹, Т.И. Борисова¹, А.В. Севостьянова¹, М.О. Горина¹, С.А. Борисов¹, С.Н. Синяговский³ (s_dalnyi@pkrpn.ru), Е.А. Решетняк³ (san_ohrana@pkrpn.ru), В.Ю. Ананьев⁴ (fguz@pkrpn.ru), А.А. Уманец⁵ (umanets_aa@primorsky.ru), Е.И. Андаев¹, С.В. Балахонов¹

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

²ФКУЗ «Приморская противочумная станция» Роспотребнадзора, г. Уссурийск

³Управление Роспотребнадзора по Приморскому краю, г. Владивосток

⁴ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае» Роспотребнадзора, г. Владивосток

⁵Государственная ветеринарная инспекция Приморского края, г. Владивосток

Резюме

Обследование Приморского края подтвердило наличие природных очагов туляремии, лептоспирозов, геморрагической лихорадки с почечным синдромом и инфекций, передающихся клещами. Иммунная прослойка населения ($n = 146$) не выражена за исключением туляремии – до 40,4% в Спасском районе. Отсутствие у крупного рогатого скота (КРС) противотуляремийных антител свидетельствует о низкой значимости переносчиков инфекции. Серопозитивность до 80% КРС ($n = 40$) к лептоспирам указывает на эффективность специфической профилактики. Показана инфицированность мелких млекопитающих ($n = 333$) франциселлами (34,1%), лептоспирами (38,4%) и хантавирусами (8,7%). Выделено две культуры патогенных лептоспир. Секвенирование 29 изолятов РНК хантавирусов по L-фрагменту генома обнаружило в Спасском районе два геноварианта Puumala и Hantaan, в Ханкайском – только Puumala.

Ключевые слова: природно-очаговые инфекции, Приморский край

Examination of Primorsk Territory for Current Natural Focal Infections

N.V. Breneva¹ (adm@chumin.irkutsk.ru), A.V. Allenov² (ppchsadm@mail.ru), M.B. Sharakshanov¹, E.Yu. Kiseleva¹, V.N. Krasnoshchekov² (ppchs_lab@mail.ru), N.S. Gordeyko², V.P. Borzov², V.Yu. Kiryakov², T.V. Khomenko², A.V. Mazepa¹, T.I. Borisova¹, A.V. Sevostyanova¹, M.O. Gorina¹, S.A. Borisov¹, S.N. Sinyagovsky³ (s_dalnyi@pkrpn.ru), E.A. Reshetnyak³ (san_ohrana@pkrpn.ru), V.Yu. Ananiev⁴ (fguz@pkrpn.ru), A.A. Umanets⁵ (umanets_aa@primorsky.ru), E.I. Andaev¹, S.V. Balakhonov¹

¹Federal State Institution of Public Health «Irkutsk Antiplague Research Institute» of Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-Being Surveillance, Irkutsk

²Federal State Institution of Public Health «Primorsk Plague Control Station» of Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-Being Surveillance, Ussuriysk

³Territorial Service on Customers' Rights Protection and Human Well-Being Surveillance of Primorsk Krai, Vladivostok

⁴Federal Budget Institution of Public Health «Center of Hygiene and Epidemiology in the Primorsk Territory» of Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-Being Surveillance, Vladivostok

⁵State Veterinary Inspectorate in Primorsk Krai, Vladivostok

Abstract

Territory of Primorsk is endemic for tularemia, leptospirosis, hemorrhagic fever with renal syndrome, and tick-borne infections. Human (146) and animal (373) samples were examined by bacteriological, serological and molecular-genetic methods. Seroprevalence in humans is weakly expressed except tularemia (14.0-40.4%). Lack of tularemia antibody in cattle ($n = 40$) indicates low significance of blood-sucking insects as the infection vectors. Small mammals ($n = 333$) were infected with Francisella (34.1%), Leptospira (38.4%) and Hantaviruses of Puumala and Hantaan genotypes (8.7%). Two cultures: *L. borgpetersenii* and *L. kirschneri* serogroups Javanica and Grippotyphosa were isolated.

High activity of the infection natural foci requires appropriate preventive measures.

Key words: natural focal infections, Primorsk Krai

Введение

Дальний Восток называют «сухопутным мостом» между странами азиатско-тихоокеанского региона и Европой, а Приморский край вызывает все больший интерес как «новая экономическая зона» с большими перспективами развития международных отношений, производства и торговли. Поэтому обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения и мониторинг природно-очаговых инфекций (ПОИ) в Приморье приобретает все большую актуальность [1]. В Приморском крае существуют исторически сложившиеся природные очаги таких бактериальных и вирусных инфекционных болезней, как туляремия, лептоспирозы, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) и инфекции, передающиеся клещами (клещевой энцефалит – КЭ, клещевой риккетсиоз – КР, иксодовый клещевой боррелиоз – ИКБ). Такое многообразие обусловлено теплым и влажным климатом большинства районов края, наличием озер, заболоченных участков, лесных массивов и особенностями сельскохозяйственной деятельности с развитой ирригационной системой [2].

Основная часть населения Приморского края проживает в населенных пунктах, расположенных на прибрежной полосе и в Уссурийско-Ханкайской низменности, что необходимо учитывать при организации и проведении обследовательских работ по мониторингу природных очагов. Краевой центр – г. Владивосток – один из наиболее экономически развитых городов Дальнего Востока, крупнейший транспортный узел, через который проходят морские, железнодорожные, автомобильные и авиационные транспортные потоки [1].

Особое беспокойство вызывают природные очаги туляремии, расположенные вдоль берега озера Ханка (Спасский и Ханкайский районы), на территориях активного охотничьего промысла, рыбалки и рекреации с высокой внутренней миграцией населения. Последняя вспышка туляремии в Приморье зарегистрирована в 1994 году, последний случай заболевания – в 2015 году именно в Спасском районе. В этих же природных очагах наряду с тулярийным микробом неоднократно подтверждалась циркуляция возбудителей лептоспирозов и ГЛПС [2].

Цель данной работы – лабораторный скрининг актуальных природно-очаговых инфекций на эндемичных территориях Приморского края.

Материалы и методы

Сбор материала для исследований осуществлен с 29 сентября по 9 октября 2014 года. Сыворотки крови хранили при минус 20 °С до исследования. На наличие специфических антител (IgG и агглютинины) к возбудителям туляремии, лептоспирозов, ГЛПС, КЭ, ИКБ, лихорадки Западного Нила (ЛЗН), гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ), моноцитарного эрлихиоза человека (МЭЧ) исследована случайная выборка из 146 сывороток крови

жителей Приморского края, из них 52 пробы были взяты в КГБУЗ «Спасская городская больница» (Спасский район), 44 – в КГБУЗ «Ханкайская ЦРБ» (Ханкайский район), 50 – в лаборатории ООИ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае» (г. Владивосток).

На наличие специфических антител к возбудителям туляремии и лептоспирозов исследовано 40 сывороток крови крупного рогатого скота (КРС), полученных из Спасской и Хорольской ветеринарных СББЖ, по 20 проб из Спасского и Ханкайского районов.

Добытый в Спасском (218 особей) и Ханкайском (115 особей) районах материал от 333 мелких млекопитающих (почки, селезенки, легкие, головной мозг и кровь), исследовался на наличие антител к возбудителям туляремии, лептоспирозов, КЭ, тулярийного антигена, ДНК возбудителей лептоспирозов и РНК хантавирусов, а также частично бактериологическим методом. Кровь мелких млекопитающих забирали на фильтровальную бумагу, почки использовали для бактериологического анализа и замораживали.

Определение противотулярийных антител в сыворотках крови людей и в крови мелких млекопитающих осуществляли в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) с помощью диагностикума эритроцитарного тулярийного антигенного (РГКП «Казахский НЦКиЗИ им. М. Айкимбаева», Казахстан), в сыворотках крови КРС – в микро-реакции агглютинации на стекле (МРА) с помощью диагностикума тулярийного цветного.

Выявление у людей антител к возбудителям ГЛПС, КЭ, ЛЗН, ИКБ, ГАЧ, МЭЧ проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью тест-систем «Вектор-Ханта-IgG», «Вектор-ВКЭ-IgG» (ЗАО «ВЕКТОР-БЕСТ», Новосибирск), «Биоскрин ВЗН комплект G» (ЗАО БТК «Биосервис», Москва), для обнаружения иммуноглобулинов класса G к возбудителям ИКБ, ГАЧ, МЭЧ (ООО «Омникс», Санкт-Петербург).

Противолептоспирозные антитела во всех сыворотках и в крови мелких млекопитающих выявляли методом РМА (реакция микроагглютинации) с набором из 11 референтных штаммов лептоспир. РМА и бактериологические исследования на лептоспироз осуществляли в соответствии с действующими методическими указаниями. Корковое вещество почек мелких млекопитающих засеивали в пробирки со средами Ферворта-Вольфа и Элленгаузена-МакКалоба в модификации Джонсона-Харриса – ЕМЖН (Becton Dickinson, США). Посевы инкубировали при 28 °С и микроскопировали один раз в неделю в течение двух месяцев. Выделенные культуры лептоспир идентифицировали до вида методом мультилокусного секвенирования [3] и до серогруппы – методом РМА с «Набором сывороток групповых агглютинирующих лептоспирозных» (ФГУП «Армавирская биофабрика»).

Органы мелких млекопитающих размораживали непосредственно перед исследованием и го-

Таблица 1.
Результаты серологического скрининга сывороток крови населения
на актуальные природно-очаговые инфекции (% положительных проб)

ПОИ	Территория обследования		
	Спасский р-н (n = 51)	Ханкайский р-н (n = 44)	Владивосток (n = 50)
Туляремия	40,4 ± 6,8*	15,9 ± 5,5	14,0 ± 4,9
Лептоспирозы	5,9 ± 3,3	4,5 ± 3,1	2,0 ± 1,9
ГЛПС	3,9 ± 2,7	6,8 ± 3,8	8,0 ± 3,8
КЭ	3,9 ± 2,7	0	12,0 ± 4,6
ЛЗН	0	0	0
ГАЧ	3,9 ± 2,7	0	0
МЭЧ	5,9 ± 3,3	0	0
ИКБ	2,0 ± 1,9	0	2,0 ± 1,9

Примечание: *исследовано 52 сыворотки крови.

товили суспензии на гомогенизаторе Tissue Lyser LT (Qiagen, Германия). Антигены туляремиального микроба в селезенках выявляли в РНГА с диагностиком эритроцитарным туляремиальным иммуноглобулиновым (Казахстан), вирусов КЭ и ЗН в головном мозге – в ИФА с тест-системами «БиоСкрин-КЭ» и «БиоСкрин ВЗН». Экстракцию нуклеиновых кислот (НК) осуществляли с помощью набора «РИБО-преп», детекцию НК патогенных лептоспир – методом ПЦР в реальном времени с тест-системой «Амплиценс® *Leptospira*-FL» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва) на амплификаторе Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия). Получение кДНК хантавирусов на матрице РНК осуществляли набором реагентов «Реверта-L» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва), ПЦР проводили с использованием набора коммерческих праймеров, кодирующих L-фрагмент генома хантавирусов [4], результаты учитывали методом электрофоретической детекции в агарозном геле. Положительные образцы для установления генотипа хантавирусов секвенировали на приборе «ABIPrism» 3500 XL (Applied Biosystems, Hitachi, Япония) с использованием набора «Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit v1.1» (Applied Biosystems, США).

Статистическая обработка результатов проводилась стандартными методами непараметрической статистики с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В сыворотках крови жителей Приморского края обнаружены специфические антитела ко всем возбудителям (туляремии, лептоспирозов, ГЛПС, КЭ, КЭ, ИКБ, ГАЧ, МЭЧ) за исключением вируса ЛЗН (табл. 1). В Спасском районе отмечено в 2,5 раза больше серопозитивных на туляремию проб, чем на двух других территориях ($p < 0,01$). В пробах из г. Владивостока обнаружены агглютинины

к лептоспирам серогруппы *Icterohaemorrhagiae*, тогда как в Спасском районе – *Canicola* и *Australis*, Ханкайском – *Canicola* и *Autumnalis*. В Ханкайском районе, свободном от лесных массивов, антитела к возбудителям «клещевых» инфекций в крови населения не выявлены. В крови жителей г. Владивостока наличие антител к вирусу КЭ может быть связано как с вакцинацией, так и естественным проэпидемичиванием населения, проживающего в зоне активного природного очага КЭ. Выявление антител к хантавирусам подтверждает циркуляцию возбудителя в данном регионе.

Отрицательные результаты обследования КРС на туляремию свидетельствует об отсутствии контакта с инфицированными переносчиками [5]. У большинства КРС выявлены ретроспективные титры антител к лептоспирам преимущественно вакцинных серогрупп (табл. 2), отсутствие достоверных отличий в результатах обследования КРС изучаемых территорий ($p > 0,05$) можно объяснить поголовной вакцинацией скота. Обнаружение у КРС животноводческого хозяйства Ханкайского района групповых антител *Icterohaemorrhagiae*, *Bataviae*, *Hebdomadis*, *Javanica* может указывать на возможное случайное инфицирование скота на пастбищах и водопое, где обитают мелкие млекопитающие – носители лептоспир. Наличие у частного скота Спасского района антител к серогруппам *Canicola*, *Autumnalis*, *Icterohaemorrhagiae*, *Hebdomadis*, *Javanica* дает основание предполагать, что инфицирование КРС могло происходить как на пастбищах, так и в частных хозяйствах от собак, свиней и других животных.

Среди изученных мелких млекопитающих доля полевой мыши составила $54,4 \pm 2,7$, серой полевки – $29,1 \pm 2,7$, белозубок – $6,3 \pm 1,3$, бурозубок – $3,3 \pm 1,0$, ондатры – $4,2 \pm 1,1\%$. Инфицированность мелких млекопитающих лептоспирами достоверно ($p < 0,05$) выше в Спасском районе (табл. 3).

Таблица 2.
Результаты серологического скрининга сывороток крови КРС на лептоспирозы

Серогруппы лептоспир	Спасский район (n = 20) % (титр антител)	Ханкайский район (n = 20) % (титр антител)
Всего	80,0 ± 8,9 (1:20 – 1:100)	65,0 ± 10,7 (1:20 – 1:100)
<i>Grippotyphosa</i> *	15,0 ± 8,0 (1:20)	15,0 ± 8,0 (1:20)
<i>Sejroe</i> *	25,0 ± 9,7 (1:20 – 1:100)	20,0 ± 9,0 (1:20 – 1:100)
<i>Tarassovi</i> *	30,0 ± 10,2 (1:20 – 1:100)	20,0 ± 9,0 (1:20)
<i>Pomona</i> *	60,0 ± 11,0 (1:20 – 1:100)	20,0 ± 9,0 (1:20)
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	30,0 ± 10,2 (1:20 – 1:100)	10,0 ± 6,7 (1:20)
<i>Hebdomadis</i>	40,0 ± 11,0 (1:20 – 1:100)	55,0 ± 11,1 (1:20 – 1:100)
<i>Javanica</i>	25,0 ± 9,7 (1:20 – 1:100)	5,0 ± 4,9 (1:100)
<i>Bataviae</i>	0	10,0 ± 6,7 (1:20)
<i>Canicola</i>	5,0 ± 4,9 (1:20)	0
<i>Autumnalis</i>	5,0 ± 4,9 (1:20)	0
<i>Australis</i>	0	0

Примечание: *входят в состав вакцины для иммунизации КРС.

По туляремии количество положительных находок выше в Спасском районе, а по хантавирусам – в Ханкайском, но статистически различия недостоверны ($p > 0,05$).

В Спасском районе частота обнаружения НК патогенных лептоспир у мелких млекопитающих

снижается ($p < 0,01$) по мере удаления от озера Ханка и смены природных биотопов: в пойменно-болотном биотопе в окрестностях сёл Степное и Новосельское – $55,4 \pm 5,0$ ($n = 101$), в заболоченном лугополевым биотопе с. Татьянавка – $36,8 \pm 5,0$ ($n = 95$), на границе лугополево-

Таблица 3.
Результаты исследования проб, взятых от мелких млекопитающих

ПОИ	Метод	Всего исследовано/положительные пробы в %		
		Спасский р-н	Ханкайский р-н	Всего
Лептоспирозы	ПЦР	216/42,6 ± 3,8	112/30,4 ± 4,3	328/38,4
	Бак.м-д	38/5,3 ± 3,6	6/0	44/4,5
	РМА	139/11,5 ± 2,7	66/3,0 ± 2,1	205/8,8
Туляремия	РНГАат	218/17,9 ± 2,6	115/12,2 ± 3,1	333/15,9
	РНГАаг	56*/39,3 ± 6,5	26*/23,1 ± 8,3	82*/34,1
ГЛПС	ПЦР	218/7,8 ± 1,8	115/10,4 ± 2,8	333/8,7
КЭ	ИФАаг	171/0,6 ± 0,6	52/0	223/0,4
ЛЗН	ИФАаг	171/0	52/0	223/0

Примечание: *объединенные пробы.

го и лесного биотопов в предгорьях Синего перевала – $5,0 \pm 4,9\%$ ($n = 20$). Антитела к патогенным лептоспирам серогрупп *Grippityphosa*, *Hebdomadis*, *Autumnalis*, *Javanica*, *Sejroe* выявлялись только в очагах пойменно-болотного типа. От полевой мыши и большой полевки в окрестностях с. Степное выделены две культуры лептоспир, их потенциальная патогенность подтверждена методом ПЦР и в РМА с типовыми сыворотками установлена принадлежность к серогруппам *Javanica* и *Grippityphosa*, путем мультилокусного секвенирования – к видам *Leptospira borgpetersenii* и *L. kirschneri* соответственно.

Антитела к возбудителю туляремии выявлены в 53 образцах крови мелких млекопитающих из 333 в титрах 1:20 – 1:80, из них 39 образцов из Спасского района, в том числе семь – от ондатр ($50,0 \pm 13,4\%$). Антиген возбудителя туляремии обнаружен в 29 объединенных пробах селезенки, из них 22 – из Спасского района, в том числе в двух из четырех проб от ондатр.

Известно, что на территории Приморского края циркулируют геноварианты вирусов *Hantaan* (Far East), *Seoul* (VDV), *Puumala* (Shkotovo) и самостоятельные генотипы *Amur* и *Vladivostok* (VLAV) [6]. Спасский и Ханкайский районы являются зонами активного землепользования, здесь располагаются степные и лесостепные очаги хантавирусной инфекции, которые ежегодно вносят значительный вклад в суммарную заболеваемость ГЛПС в Приморском крае [7].

Установлена инфицированность хантавирусами трех видов мелких млекопитающих (мышь полевая, большая полевка, ондатра) – РНК возбудителя выявлена в 29 пробах легких из 333.

Результаты секвенирования 29 изолятов РНК хантавирусов по L-фрагменту генома (317 п.н.) показали, что пять образцов таксономически принадлежат к вирусу *Hantaan*, 24 – *Puumala*. В Ханкайском районе инфицированность вирусом

Puumala полевой мыши составила $4,5 \pm 2,2$, большой полевки – $44,0 \pm 11,7\%$. В Спасском районе инфицированность вирусом *Hantaan* полевой мыши составила $5,3 \pm 2,3$, вирусом *Puumala* большой полевки и ондатры – $17,1 \pm 4,7$ и $7,1 \pm 6,9\%$ соответственно.

Выводы

1. Результаты лабораторного скрининга подтверждают наличие в Приморском крае природных очагов туляремии, лептоспирозов, ГЛПС, КЭ, ГАЧ, МЭЧ, ИКБ. Циркуляция патогенных лептоспир, франциселл и хантавирусов поддерживается за счет мелких млекопитающих – основных хозяев возбудителей: полевая мышь, большая полевка и ондатра.
2. При лептоспирозах в эпизоотический процесс вовлекаются сельскохозяйственные животные, отсутствие у них манифестных форм заболевания, связано, по-видимому с эффективной специфической профилактикой.
3. При туляремии обследованный КРС оказался не вовлеченным в эпизоотический процесс, что может косвенно свидетельствовать о низкой значимости кровососущих насекомых как переносчиков инфекции. Риск заражения туляремией в Спасском районе исторически связан с промыслом ондатры, которая продолжает оставаться основным источником инфекции.
4. В Спасском районе у мелких млекопитающих обнаружены два генотипа хантавирусов (*Puumala* и *Hantaan*), а в Ханкайском районе только генотип *Puumala*.
5. В исторически неблагополучных по туляремии, лептоспирозам и ГЛПС Спасском и Ханкайском районах сохраняется высокая инфицированность мелких млекопитающих возбудителями ПОИ, что требует проведения усиленных профилактических мероприятий.

Литература

1. Балахонov С.В., Чеснокова М.В., Андаев Е.И., Косилко С.А., Никитин А.Я. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки и проведения саммита АТЭС-2012. Г.Г. Онищенко, ред. Новосибирск: Наука-Центр. 2013.
2. Алленов А.В., Борзов В.П., Краснощеков В.Н., Боровская Н.А., Кушнарева Т.В., Киряков В.Ю. Сочетанность природных очагов туляремии, лептоспироза и хантавирусной инфекции в экосистемах Приморского края. Тихоокеанский мед. журнал. 2008; 2: 40 – 43.
3. Boonsilp S., Thaipadungpanit J., Amornchai P., Wuthiekanun P.V., Bailey M.S., Holden M.T.G. et al. A Single Multilocus Sequence Typing (MLST) Scheme for Seven Pathogenic *Leptospira* Species. PLoS Negl. Trop. Dis. 2013; 7 (1): 10. e1954. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001954.
4. Arai S., Bennett S.N., Sumibcay L., Cook J.A., Song J.W., Hope A. et al. Short Report: Phylogenetically Distinct Hantaviruses in the Masked Shrew (*Sorex cinereus*) and Dusky Shrew (*Sorex monticolus*) in the United States. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2008; 78 (2): 348 – 351.
5. Олсуфьев Н.Г., Дунаева Т.Н. Природная очаговость, эпидемиология и профилактика туляремии. Москва. Медицина. 1970: 272.
6. Слонова Р.А., Кушнарева Т.В., Компанец Г.Г. Современный взгляд на природную очаговость хантавирусной инфекции. Бюлл. СО РАМН. 2011; 31 (4): 13 – 19.
7. Слонова Р.А., Кушнарева Т.В., Максема И.Г., Компанец Г.Г., Иунихина О.В. Сопряженность эпидемического процесса хантавирусной инфекции с активностью эпизоотического процесса в популяциях мышей рода *Apodemus*. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2012; 3: 18 – 22.

References

1. Balakhonov S.V., Chesnokova M.V., Andaev E.I., Kosilko S.A., Nikitin A.Ya. Ed.: G.G. Onishchenko. Support of sanitary-epidemiologic well-being during preparation and holding of APEC-2012 summit. Novosibirsk: Nauka-Center, 2013 (in Russian).
2. Allenov A.V., Borzov V.P., Krasnoshechokov V.N., Borovskaja N.A., Kushnareva T.V., Kiryakov V.Yu. Coincidence of the natural reservoirs of the tularemia, leptospirosis and the hantaviral infection in the ecologic systems of the Primorski krai. Tihookeanskij meditsinskij zhurnal. [Pacific Medical Journal], 2008; 2: 40 – 43 (in Russian).
3. Boonsilp S., Thaipadungpanit J., Amornchai P., Wuthiekanun P.V., Bailey M.S., Holden M.T.G. et al. A Single Multilocus Sequence Typing (MLST) Scheme for Seven Pathogenic *Leptospira* Species. PLoS Negl. Trop. Dis. 2013; 7 (1): 10.e1954. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001954.
4. Arai S., Bennett S.N., Sumibcay L., Cook J.A., Song J.W., Hope A. et al. Short Report: Phylogenetically Distinct Hantaviruses in the Masked Shrew (*Sorex cinereus*) and Dusky Shrew (*Sorex monticolus*) in the United States. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2008; 78 (2): 348 – 351.