

БАКТЕРИОЛОГИЯ

Bacteriology



2021 • ТОМ 6 • №1

ISSN 2500-1027

БАКТЕРИОЛОГИЯ

Научно - практический журнал

Главный редактор

И.А.Дятлов, академик РАН, д.м.н., профессор
(Россия)

Ответственный секретарь

И.Г.Говорунов, к.б.н.
(Россия)

Редакционный совет

А.П.Анисимов, д.м.н., проф. (Россия)
С.В.Балахонов, д.м.н., проф. (Россия)
А.Н.Куличенко, член-корр. РАН, д.м.н., проф. (Россия)
В.В.Кутырев, академик РАН, д.м.н., проф. (Россия)
Н.В.Рудаков, д.м.н., проф. (Россия)
Сун Чжичжоу (Китай)

Редколлегия

Адьяасүрэн Зэвиймядагийн, к.м.н. (Монголия)	С.Г.Марданлы, д.м.н. (Россия)
И.А.Базиков, д.м.н., проф. (Россия)	Т.В.Мека-Меченко, д.м.н. (Казахстан)
В.А.Горбунов, к.м.н. (Белоруссия)	В.Л.Мотин, проф. (США)
С.В.Дентовская, д.м.н. (Россия)	Т.В.Припутневич, д.м.н. (Россия)
Л.В.Домотенко, к.х.н. (Россия)	А.Ракин (Германия)
Г.А.Каримова, к.б.н. (Франция)	Э.А.Светоч, д.в.н., проф. (Россия)
А.В.Карлышев, к.х.н., проф. (Англия)	В.Н.Царев, д.м.н., проф. (Россия)
Л.В.Коломбет, д.б.н. (Россия)	Л.Н.Черноусова, д.б.н., проф. (Россия)
М.Косой, к.б.н. (США)	К.Ю.Шаталин, к.б.н. (США)
Ш.Х.О.Курбанов, к.м.н. (Азербайджан)	И.Г.Шемякин, д.б.н., проф. (Россия)
И.Х.Маматкулов, д.м.н., проф. (Узбекистан)	А.П.Шепелин, д.б.н. (Россия)

Учредитель

© Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Адрес учредителя и редакции:

142279, Московская область,
г.о. Серпухов, р.п. Оболенск,
Территория «Квартал А», д. 24,
ФБУН ГНЦ ПМБ

Телефон: +7-4967-360003
+7-4967-360046
Факс: +7-4967-360010

E-mail: bacteriology@obolensk.org
info@obolensk.org

Издатель

© «Издательство «Династия»



www.phdynasty.ru

117218, Москва, ул. Кржижановского, д. 31, строение 1, эт. 3

Подписано в печать 30.06.2021 г.

Отпечатано: Мастерская печати Old School,
603105, Нижний Новгород, ул. Чачиной, 39а, оф. 5

Журнал зарегистрирован
Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных
технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

Регистрационный номер
ПИ №ФС 77-66792 от 15.08.2016 г.

Журнал «Бактериология»
является рецензируемым изданием.

Выходит четыре раза в год.
Основан в 2016 году.

Редакция не несет ответственности
за содержание рекламных материалов.

Тираж 1530 экз. Цена свободная.

Отдел рекламы:
Телефон: +7 495 660-6004
E-mail: reklama@phdynasty.ru

Подписной индекс по объединенному
каталогу «Пресса России»: 39920

Колонка главного редактора

- О механизме защиты бактериальной клетки, который может быть использован для борьбы с антибиотикорезистентностью. **5**

Экспериментальные статьи

- Elizabethkingia meningoseptica* – характеристика клинически значимого патогена
М.Е.Канашенко, И.П.Мицевич, Н.Н.Карцев, Е.И.Асташкин, Е.В.Детушева,
М.В.Храмов, Э.А.Светоч, Н.К.Фурсова **8**

- Мониторинг клещей – переносчиков возбудителей инфекций на территории Ульяновской области
И.Ю.Щит, Т.В.Решетняк, Е.В.Баранова, А.А.Нафеев, Е.В.Колемагина, П.Г.Вовкотеч,
А.В.Фольмер, И.Г.Говорунов, С.Ф.Бикетов **16**

- Носительство и молекулярно-генетические особенности
метициллинрезистентных *Staphylococcus aureus* среди студентов-медиков
О.Е.Хохлова, Я.Ивао, В.В.Камшилова, Н.К.Поткина, Д.Н.Акушева, Т.Ямамото **25**

- Алгоритм мониторинга соблюдения требований биологической безопасности
в лабораториях различного уровня защиты ветеринарной практики
Е.А.Тюрин, И.Е.Большан, Л.В.Чекан, К.Р.Гвазава, Е.В.Артеменко **32**

Обзорные статьи

- Геном *Helicobacter pylori* и патогенность
Г.Ш.Исаева, Р.А.Исаева **37**

- ИФА и РПГА как методы серологического мониторинга дифтерии
П.С.Колесников **48**

Проблемная статья

- Кадровое обеспечение – ключевая задача федеральной научно-технической программы
развития генетических технологий
М.В.Дулясова **54**

- Правила оформления статей (основные положения) **60**

BACTERIOLOGY

Scientific and Practical Journal

Editor-in-Chief

I.A.Dyatlov, academician of RAS
(Russia)

Executive Secretary

I.G.Govorunov, PhD
(Russia)

Editorial Council

A.P.Anisimov, Sc.D., prof. (Russia)
S.V.Balakhonov, Sc.D., prof. (Russia)
A.N.Kulichenko, corr. member of RAS, Sc.D., prof. (Russia)
V.V.Kutyrev, academician of RAS, Sc.D., prof. (Russia)
N.V.Rudakov, Sc.D., prof. (Russia)
Sun Chzhichzhou (China)

Editorial Board

Ad"yaasyren Zeviimyadagiin, PhD (Mongolia)	I.Kh.Mamatkulov, Sc.D., prof. (Uzbekistan)
I.A.Bazikov, Sc.D., prof. (Russia)	S.G.Mardanly, Sc.D. (Russia)
L.N.Chernousova, Sc.D., prof. (Russia)	T.V.Meka-Mechenko, Sc.D. (Kazakhstan)
S.V.Dentovskaya, Sc.D. (Russia)	V.L.Motin, prof. (USA)
L.V.Domotenko, PhD (Russia)	T.V.Priputnevich, ScD (Russia)
V.A.Gorbunov, PhD (Belarus)	A.Rakin (Germany)
G.A.Karimova, PhD (France)	K.Yu.Shatalin, PhD (USA)
A.V.Karlyshev, PhD, prof. (England)	I.G.Shemyakin, Sc.D., prof. (Russia)
L.V.Kolombet, Sc.D. (Russia)	A.P.Shepelin, Sc.D. (Russia)
M.Kosoi, PhD (USA)	E.A.Svetoch, Sc.D., prof. (Russia)
Sh.Kh.O.Kurbanov, PhD (Azerbaijan)	V.N.Tsarev, Sc.D., prof. (Russia)

Founder and Publisher

© State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology

Editorial Office:

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Obolensk, Moscow region, 142279
Phone: +7-4967-360003, +7-4967-360046
Fax: +7-4967-360010
E-mail: bacteriology@obolensk.org
info@obolensk.org

Publisher

© «Dynasty» Publishing House



www.phdynasty.ru

Advertising Department:

Phone: +7 495 660 6004; e-mail: reklama@phdynasty.ru

Editor-in-Chief's Introduction

On the protective mechanism of a bacterial cell, which can be used to combat antibiotic resistance **5**

Experimental Articles

Elizabethkingia meningoseptica – characteristics of a significant clinical pathogen
M.E.Kanashenko, I.P.Mitsevich, N.N.Kartsev, E.I.Astashkin, E.V.Detusheva,
M.V.Khramov, E.A.Svetoch, N.K.Fursova **8**

Monitoring of pathogens-carrying ticks on the territory of the Ulyanovsk region
I.Yu.Shchit, T.V.Reshetnyak, E.V.Baranova, A.A.Nafeev, E.V.Kolemagina, P.G.Vovkotech,
A.V.Folmer, I.G.Govorunov, S.F.Biketov **16**

Carriage and molecular-genetic features of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* among medical students
O.E.Khokhlova, Y.Iwao, V.V.Kamshilova, N.K.Potkina, D.N.Akusheva, T.Yamamoto **25**

Algorithm for monitoring compliance with biological safety in laboratories with various levels of veterinary practice protection
E.A.Tyurin, I.E.Bolshan, L.V.Chekan, K.R.Gvazava, E.V.Artemenko **32**

Review Articles

The genome of *Helicobacter pylori* and the pathogenicity
G.Sh.Isaeva, R.A.Isaeva **37**

ELISA and RPGA as methods of serological monitoring of diphtheria
P.S.Kolesnikov **48**

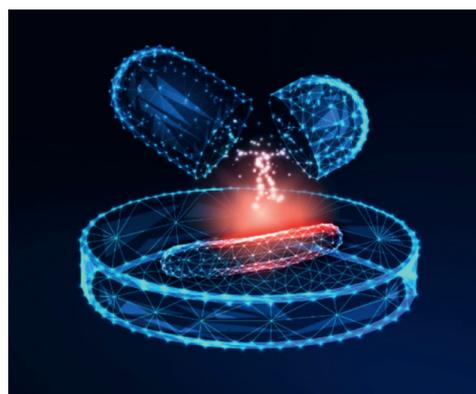
Problematic Article

Staffing is a key task of the federal scientific and technical program for the development of genetic technologies
M.V.Dulyasova **54**

Instructions for Authors **60**

О механизме защиты бактериальной клетки, который может быть использован для борьбы с антибиотикорезистентностью

Поиск мишеней в бактериальной клетке, воздействие на которые может приводить к повышению эффективности бактерицидного действия существующих антибиотиков, остается одной из главных научных задач в борьбе с лекарственной устойчивостью. В колонке главного редактора журнала (2018 г., Том 3, №2) был опубликован материал «О новых подходах к изучению антибиотикорезистентности и персистенции бактерий как основы для разработки эффективных средств лечения инфекций», в котором излагались основные направления исследований механизмов, обеспечивающих адаптацию клеток к присутствию антибиотиков и противодействие другим стрессорным факторам, а также позволяющих сохраняться всей или части популяции в таких условиях.



В последние несколько лет появились новые направления исследований в этой области. В частности, был разработан подход, который делает бактерии более восприимчивыми к антибиотикам, основанный на нарушении универсального защитного механизма бактерий, с помощью которого сероводород (H_2S) защищает их от токсического воздействия реактивных форм кислорода. Соответственно, при повреждении или отключении этого механизма бактерии становятся более восприимчивыми к антибиотикам. Кроме того, выработка бактериями летальных реактивных форм кислорода посредством реакции Фентона (реакция пероксида водорода с ионами железа, разрушающая многие органические вещества) является основным механизмом гибели клеток при воздействии бактерицидных антибиотиков. На основе этого было высказано предположение, что нарушение бактериальной антиоксидантной защиты при нейтрализации реактивных форм кислорода повышает восприимчивость бактерий к антибиотикам. Так, было выяснено, что бактериальная супероксиддисмутаза, расщепляющая реактивные формы кислорода, является основным фактором, обеспечивающим устойчивость к антибиотикам бактерий *Pseudomonas aeruginosa*.

Представляет значительный интерес защитный механизм против окислительного стресса, связанный с выработкой H_2S . Эндогенный H_2S защищает бактериальные клетки от окислительного стресса, вызванного воздействием бактерицидных антибиотиков. Нарушение выработки H_2S и, следовательно, последующей реакции на окислительный стресс приводит к повышению восприимчивости к антибиотикам. Предполагаемый механизм такой защиты заключается в секвестрации железа и последующем предотвращении в реакции Фентона.

С использованием мутантов *Staphylococcus aureus* и *P. aeruginosa* было выяснено, что цистатионин- γ -лиаза (CSE) является основным источником H_2S . Используя рентгеновские кристаллографические структуры CSE человека, CSE-подобных ферментов и структуру CSE *S. aureus*, был определен возможный сайт для связывания аллостерических ингибиторов, которые имеют гораздо меньшее сродство к CSE человека. С использованием метода виртуального скрининга на основе структуры для анализа ~3,2 млн коммерчески доступных малых молекул были выявлены три соединения с выраженным ингибирующим действием на продукцию H_2S в *S. aureus* и *P. aeruginosa*.

Все эти три соединения повышали чувствительность различных штаммов *S. aureus* и *P. aeruginosa* к бактерицидным, но не бактериостатическим антибиотикам из нескольких различных классов. Этого не происходило, когда в анализ включался хелатор железа, что подтверждает модель, согласно которой гибель клеток происходит в результате реакции Фентона. Одно из соединений улучшало выживаемость мышей, инфицированных *S. aureus* или *P. aeruginosa*, в сочетании с аминогликозидным антибиотиком гентамицином.

Более детально анализируя современные исследования в данной области, можно выделить несколько основных достижений.

1. CSE является основным источником H_2S у *S. aureus* и *P. aeruginosa*. В опытах гены были инактивированы с помощью транспозонных вставок, транспозонных замен или делеций. Отсутствие bCSE (бактериальная цистатионин- γ -лиаза) приводило к серьезному дефициту продукции H_2S у штаммов *S. aureus* и *P. aeruginosa* клинического происхождения, тогда как вклад бактериальной CBS (цистатионин- β -синтаза) при тех же условиях был незначительным. Рост мутантных штаммов на средах без антибиотиков не изменялся, а ингибирование одной только CSE было достаточным для существенного повышения чувствительности *S. aureus* и *P. aeruginosa* к низким дозам бактерицидных антибиотиков разных классов, включая гентамицин, норфлоксацин и ампициллин.

2. Применение современного виртуального скрининга на основе структуры аллостерических ингибиторов bCSE предполагает определение потенциальных сайтов связывания лекарств посредством изучения конформации CSE и родственных ферментов, определение рентгеновских кристаллографических структур SaCSE в различных состояниях. В результате исследования выявили две потенциальные области связывания в ферменте SaCSE, на основе чего были выбраны вещества, связывающие SaCSE, имеющие химические и конформационные различия: NL1, NL2 и NL3.

3. Ингибиторы bCSE потенцируют действие различных типов бактерицидных антибиотиков, что было показано на метициллин-чувствительных и метициллин-резистентных *S. aureus*, а также на *P. aeruginosa*. Была проведена оценка усиления влияния ингибиторов NL1, NL2 и NL3 фермента bCSE на представителей различных классов бактерицидных и бактериостатических антибиотиков. Все три выбранных ингибитора CSE потенцировали действие основных бактерицидных классов антибиотиков, включая фторхинолоны (ципрофлоксацин и норфлоксацин), β -лактамы (ампициллин) и аминогликозиды (гентамицин и канамицин). Потенцирование ингибиторами bCSE не наблюдалось в отношении бактериостатических антибиотиков тетрациклина и хлорамфеникола.

4. Ингибиторы bCSE были способны повышать терапевтическую эффективность антибиотиков на мышиных моделях инфекции, причем выявлен синергизм между NL1, NL2 и NL3 и антибиотиками, наблюдаемый при септическом развитии инфекции *S. aureus* и инфицировании легких *P. aeruginosa*. При септической модели наблюдалось выживание 50% животных при лечении NL1 и гентамицином, когда отдельно лечение этими препаратами эффекта не оказывало. Это же наблюдалось и на легочной модели.

5. Инактивация bCSE уменьшает количество персистеров и нарушает формирование биопленок. В экспериментах было выяснено, что популяция персистеров в культурах *S. aureus* и *P. aeruginosa* была примерно на два порядка меньше у мутантов, лишенных bCSE, что говорит о том, что эндогенная продукция H_2S является критической для формирования популяции персистеров. Обработка клеток NL1 устраняла примерно такое же количество персистеров, как и генетическая инактивация оперона cse. Было высказано предположение, что клетки персистеров могут иметь более высокие уровни H_2S , чем остальная популяция, что приводит к «самоотравлению» и, следовательно, медленному метаболизму и высокой толерантности. Это подтверждено тем, что персистеры (клетки, выжившие после воздействия ципрофлоксацина в течение 3 часов) вырабатывали значительно больше H_2S , чем персистеры.

P. aeruginosa, растущие в стационарной фазе роста синтезируют и выделяют вторичный метаболит пиоцианин, который функционирует как сигнальная молекула и фактор вирулентности. Пиоцианин также связан с образованием биопленок *P. aeruginosa*. Было установлено, что генетическая и химическая инактивация bCSE приводит к одинаково выраженному изменению морфологии колоний на агаре и значительному снижению образования биопленки. Генетическая или химическая инактивация bCSE также подавляла формирование биопленки у штаммов *S. aureus*.

Исследователи, работающие в данном направлении поиска путей преодоления антибиотикорезистентности клинических штаммов возбудителей инфекции, указывают на несколько

направлений изучения комбинаций ингибиторов bCSE с антибиотиками. Такие комбинации могут оказаться полезными против штаммов с промежуточным уровнем резистентности, или доза антибиотика может быть снижена при сохранении той же эффективности с меньшей токсичностью. Используя способность ингибиторов bCSE нарушать толерантность бактерий, можно применять комбинации антибиотиков и ингибиторов bCSE для уменьшения количества неудачных результатов лечения острых инфекционных заболеваний, уменьшения колонизации, перехода в хроническую форму и рецидивов, а также сокращения курса лечения. Ингибиторы bCSE также могут сыграть свою роль в лечении хронических заболеваний, включая те, которые связаны с биопленками. Кроме того, антибиотики, используемые в сочетании с ингибиторами bCSE, могут снизить вероятность появления или распространения устойчивости к антибиотикам.

Таким образом, это новое направление, связанное с ингибированием образования в бактериальных клетках патогенов H_2S , несущего защитные функции, является одним из наиболее перспективных и имеющих выраженное прикладное значение. Хотелось бы отметить, что одним из основных разработчиков описанного направления является бывший сотрудник ГНЦ ПМБ (ранее ВНИИ ПМ) Константин Шаталин, работающий ныне за рубежом и опубликовавший недавно обобщающую рейтинговую статью по данной проблеме (Inhibitors of bacterial H_2S biogenesis targeting antibiotic resistance and tolerance. Science. 2021 Jun 11;372(6547):1169-1175. DOI: 10.1126/science.abd8377), материалы которой были использованы при написании данного сообщения.

*Директор ФБУН «Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии»
Роспотребнадзора, академик РАН
И.А.Дятлов*

Elizabethkingia meningoseptica – характеристика клинически значимого патогена

М.Е.Канашенко, И.П.Мицевич, Н.Н.Карцев, Е.И.Асташкин, Е.В.Детушева,
М.В.Храмов, Э.А.Светоч, Н.К.Фурсова

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора,
Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Elizabethkingia meningoseptica является относительно новым и малоизученным патогеном, представляющим собой внутрибольничную угрозу с высоким риском осложнений и смертности для недоношенных новорожденных и иммунокомпрометированных больных. К сожалению, в нашей стране этиологическая роль данного микроорганизма изучена слабо, а учет выявления данного возбудителя в клинической практике не ведется. В связи с этим изучение данного возбудителя представляется весьма актуальным для практикующих врачей-бактериологов и исследователей. Анализ литературных данных, а также полученные нами результаты свидетельствуют, что *E. meningoseptica* следует рассматривать как потенциальный патоген, для которого характерен уникальный характер восприимчивости к антимикробным препаратам. В статье представлены данные исследования вспышки заболеваемости в одном из перинатальных центров Российской Федерации, где в январе–феврале 2016 г. было зарегистрировано три случая сепсиса с летальным исходом у недоношенных новорожденных, вызванного сочетанной инфекцией *Acinetobacter baumannii* и *E. meningoseptica*. Также приводятся результаты изучения культуральных, микроскопических, биохимических, фенотипических и генетических свойств *E. meningoseptica*, включающих характеристику роста на различных коммерческих питательных средах, определение биохимического профиля, определение способности формирования биопленок, RAPD-генотипирование и секвенирование гена 16S рРНК.

Ключевые слова: *Elizabethkingia meningoseptica*, нозокомиальные инфекции, идентификация микроорганизмов, секвенирование 16S рРНК

Для цитирования: Канашенко М.Е., Мицевич И.П., Карцев Н.Н., Асташкин Е.И., Детушева Е.В., Храмов М.В., Светоч Э.А., Фурсова Н.К. *Elizabethkingia meningoseptica* – характеристика клинически значимого патогена. Бактериология. 2021; 6(1): 8–15. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-8-15

Elizabethkingia meningoseptica – characteristics of a significant clinical pathogen

М.Е.Kanashenko, I.P.Mitsevich, N.N.Kartsev, E.I.Astashkin, E.V.Detusheva,
M.V.Khramov, E.A.Svetoch, N.K.Fursova

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

Elizabethkingia meningoseptica is a relatively new and little-studied pathogen that may represent a nosocomial threat with a high risk of complications and mortality for premature infants and immunocompromised patients. Unfortunately, in our country the etiological role of this microorganism is poorly studied and little attention is paid for the identification of this pathogen in clinical practice. In this regard, the study of this pathogen seems to be relevant for practicing bacteriologists and researchers. An analysis of the literature data, as well as our results indicate that *E. meningoseptica* should be considered as a potential pathogen, which is characterized by a unique nature of susceptibility to antimicrobial agents. The article presents data of investigation of an infectious outbreak in one of prenatal centers of the Russian Federation, where three cases of fatal sepsis in premature neonates caused by co-infection of *Acinetobacter baumannii* and *E. meningoseptica* were reported in the period from January to February 2016. The article also presents the data of further cultural, microscopic, biochemical, genetic and phenotypic studies of *E. meningoseptica*, including the characterization of growth on various commercial nutrient media, determination of the biochemical profile, biofilm formation, RAPD analysis and 16S rRNA gene sequence.

Key words: *Elizabethkingia meningoseptica*, nosocomial infections, identification of microorganisms, 16S rRNA sequence

For citation: Kanashenko M.E., Mitsevich I.P., Kartsev N.N., Astashkin E.I., Detusheva E.V., Khramov M.V., Svetoch E.A., Fursova N.K. *Elizabethkingia meningoseptica* – characteristics of a significant clinical pathogen. Bacteriology. 2021; 6(1): 8–15. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-8-15

Для корреспонденции:

Канашенко Мария Евгеньевна, младший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: Kanashenko@obolensk.org

Статья поступила 05.04.2021 г., принята к печати 30.06.2021 г.

For correspondence:

Maria E. Kanashenko, junior researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology

Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: kanashenko@obolensk.org

The article was received 05.04.2021, accepted for publication 30.06.2021

Род *Elizabethkingia* назван в честь Элизабет О. Кинг, впервые описавшей эти бактерии, ставшие причиной менингита у новорожденных в 1959 г. и назвавшей их [*Flavobacterium*] *meningosepticum*. В 1994 г. была произведена реклассификация возбудителя, и его отнесли к семейству *Flavobacteriaceae*, роду *Chryseobacterium*, виду *Chryseobacterium meningosepticum*. В 2005 г. на основании анализа 16S рНК было принято решение выделить в семействе *Flavobacteriaceae* новый род *Elizabethkingia*, к которому на данный момент принадлежат четыре вида возбудителя: *E. meningoseptica*, *E. miricola*, *E. anopheles* и *E. endophytica* [1].

E. meningoseptica встречается повсеместно в почве и воде. Внутрибольничные вспышки могут возникать при использовании загрязненной возбудителем воды или медицинских устройств и инструментария [2–4].

Морфологически *E. meningoseptica* представляет собой тонкие, слегка изогнутые одиночные палочки с закругленными концами, грамотрицательные и неподвижные. Они не образуют эндоспоры и являются облигатными аэробами [1]. О наличии капсулы сообщалось у некоторых штаммов *E. meningoseptica* после постановки биопробы на мышах [5].

E. meningoseptica хорошо растет на обычных питательных средах и не требует дополнительных факторов роста [6]. По некоторым данным, на кровяном агаре гемолиз отсутствует, но у некоторых штаммов среда может иметь зеленое или сероватое обесцвечивание вокруг колоний из-за протеаз и желатиназы. Однако более поздние исследования сообщают о наличии альфа-гемолиза, подтверждаемого обнаружением генов, кодирующих гемолизины [7].

Отличительной чертой *E. meningoseptica* является медленный и слабый рост или его отсутствие на агаре МакКонки. Аэробные условия культивирования при температуре 22–37°C являются оптимальными [8]. Виды *Elizabethkingia* являются галотолерантными – особенность, наблюдаемая у представителей большинства видов семейства *Chryseobacterium* [9].

Данный возбудитель относится к группе неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОб), однако его биохимические свойства весьма вариабельны, что делает идентификацию микроорганизма на основании биохимических реакций ненадежной. Так, по некоторым литературным данным, при постановке теста на автоматическом микробиологическом анализаторе Vitek 2 Compact (BioMérieux, Франция) *E. meningoseptica* ошибочно принималась за *Sphingobacterium* spp. (микроорганизм, также принадлежащий к семейству *Flavobacteriaceae*) [10].

Elizabethkingia являются типичными условно-патогенными микроорганизмами, которые вызывают инфекционный процесс только у иммунокомпрометированных людей [11]. У новорожденных менингит является наиболее распространенной клинической формой заболевания, вызываемого этим микроорганизмом. Бактериемия и пневмония – другие частые проявления этой инфекции у новорожденных. Ассоциированная с *E. meningoseptica* инфекция обычно возникает у недоношенных детей и часто проходит в виде вспышек болезни [2, 12].

Штаммы *E. meningoseptica* являются природно устойчивыми к полимиксинам, аминогликозидам (например, гента-

мицину, стрептомицину), хлорамфениколу и большинству β-лактамовых антибиотиков, включая пенициллин и ампициллин [13].

В связи с таким широким спектром естественной множественной антибактериальной устойчивости трудно определить наиболее эффективные антимикробные препараты (АМП) для лечения заболеваний, ассоциированных с *E. meningoseptica*. Ранее исследователи рекомендовали ванкомицин, особенно в случаях менингита у новорожденных детей, но впоследствии его эффективность многими исследователями была поставлена под сомнение ввиду высоких минимальных подавляющих концентраций препарата для данного патогена [14–16]. В этой связи появились сообщения об эффективности сочетанного применения ванкомицина и рифампицина при лечении *E. meningoseptica*-инфекции у детей [17].

Согласно некоторым исследованиям, были отмечены несоответствия в паттернах чувствительности *E. meningoseptica* к антибиотикам при постановке тестов диско-диффузионным методом и методом серийных разведений в бульоне, поэтому определение чувствительности диско-диффузионным методом, как правило, не рекомендуется [18, 19].

Цель исследования: изучение культурально-морфологических, фено- и генотипических свойств изолятов *E. meningoseptica*, выделенных от трех погибших недоношенных новорожденных детей.

Материалы и методы

Из Перинатального центра РФ для исследования во ФБУН ГНЦ ПМБ поступили образцы клинического и секционного материала от трех умерших недоношенных детей с предварительным диагнозом «сепсис».

Взвесь паренхиматозных органов (в 0,9%-м водном растворе хлорида натрия), бронхоальвеолярный лаваж и смывы из носоглотки высевали на следующие питательные среды производства ФБУН ГНЦ ПМБ: ГРМ-агар; лактозный ТТХ-агар с тергитолом 7; шоколадный агар на основе FT; бруцелла-агар с 5% бараньей крови; менингококковый агар; легионеллезный агар; стафилококк-агар с эмульсией яичного желтка; агар Эндо; среда накопления – тиогликолевый бульон. Посевы инкубировали в аэробных условиях и при повышенном содержании CO₂ при температуре 37°C.

Выделенные культуры микроскопировали и идентифицировали с помощью автоматической системы MALDI-TOF-Biotyper (Bruker, США). Биохимическую идентификацию проводили на автоматическом микробиологическом анализаторе Vitek 2 Compact (BioMérieux, Франция) с помощью карт GN.

В дальнейшем ходе исследования характер роста культуры *E. meningoseptica* был изучен на 13 различных коммерческих питательных средах (табл. 1) производства ФБУН ГНЦ ПМБ (Оболонск) и среде URISelectAgar (Bio-Rad, США) при культивировании в аэробных условиях при температуре 37°C. Учет роста культур производился через 24 и 48 ч.

Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с RAPD-праймерами (RAPD-ПЦР) с использованием праймеров 1247, OPA11, Wil2 проведено генетическое типирование трех изолятов *E. meningoseptica*, выделенных от трех умерших новорожденных детей.

Методом ПЦР со специфичными праймерами 16s 27F (5'-agagtttgatcctggctcag-3') и 16S 1492R (5'-acggctactctgttacgact-3') производили наработку участка гена 16S рННК. В качестве матрицы для проведения ПЦР использовали клеточный термоллизат штамма. Секвенирование по Сэнгеру проводили в компании «Синтол» (Москва). Полученную последовательность гена 16S рННК сравнивали с последовательностями, размещенными в базе данных GenBank, с помощью инструмента BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Определение способности к образованию биопленки проводили при помощи метода, основанного на способности красителя кристаллического фиолетового связываться с клетками и матриксом биопленок [20, 21]. Для получения биопленок использовали 96-луночные плоскодонные культуральные планшеты, в которые засеивали по 200 мкл суточной бактериальной культуры в концентрации 10⁶ КОЕ/мл и культивировали 20–24 ч при температуре 37°C. Затем из

лунок планшета осторожно отбирали среду с планктонными клетками. Для удаления оставшихся планктонных клеток лунки с биопленками промывали в течение 2–3 мин стерильным буфером PBS в том же объеме, в котором проходило культивирование, после чего буфер полностью удаляли пипетированием. Далее в каждую лунку вносили по 200 мкл отфильтрованного 0,1%-го раствора генциана фиолетового, инкубировали биопленки с красителем в течение 10–15 мин при комнатной температуре, после чего краситель пипетированием полностью удаляли из лунки. Несвязавшийся краситель тщательно смывали PBS-буфером, планшеты переворачивали на фильтровальную бумагу и высушивали. После полного высыхания поверхности в лунки добавляли смесь этанола-изопропанола (1:1) в объеме 200 мкл, смывали краситель с поверхности лунок, отбирали и помещали в чистые плоскодонные планшеты. Оптическую плотность полученной суспензии измеряли при длине волны 590 нм.

Таблица 1. Характер роста *E. meningoseptica* на различных питательных средах

Наименование питательной среды	Наличие роста (аэробные условия, 37°C, 24 ч)	Характер роста через 24 ч культивирования	Характер роста через 48 ч культивирования
Питательный агар для культивирования микроорганизмов ГРМ №1	+	Мелкие, 1–2 мм в диаметре, прозрачные, округлой формы колонии с ровными краями	Увеличение размера колоний на 0,5–1 мм
Питательный агар для культивирования микроорганизмов ТСА с 7% бараньей крови	+	Мелкие, 1–2 мм в диаметре, сероватые, округлой формы колонии с ровными краями с незначительной зоной гемолиза	2–4 мм в диаметре, серовато-желтые, округлые колонии с ровными краями с более выраженной зоной альфа-гемолиза
Шоколадный агар	+	Мелкие, 1–2 мм в диаметре, сероватые, округлой формы колонии с ровными краями без зоны гемолиза	Увеличение размера колоний 0,5–1 мм
URI Select Agar	+	Мелкие, 1–2 мм в диаметре, цвета среды или с легким красно-коричневым оттенком, округлой формы колонии с ровными краями	2–4 мм в диаметре, с выраженным коричневатым центром и ободком цвета среды, шероховатые колонии с неровным краем
Питательная среда с эозин-метиленовым синим (среда Левина)	-/+	Очень мелкие, едва различимые, до 1 мм в диаметре, прозрачные, округлой формы колонии с ровными краями	2–3 мм в диаметре, ярко-розовые, округлые колонии с ровными краями
Питательная среда для выделения энтеробактерий (агар Эндо)	+	Мелкие, 1–2 мм в диаметре, цвета среды, округлой формы колонии с ровными краями	2–4 мм в диаметре, с выраженным розового цвета центром и прозрачным ободком, округлые колонии с ровными краями
Сабуро агар с мальтозой	+	Мелкие, 1–2 мм в диаметре, цвета среды, округлой формы колонии с ровными краями	Увеличение размера колоний на 0,5–1 мм
Сорбитол <i>E.coli</i> O157:H7 агар	+	Мелкие, 1–2 мм в диаметре, цвета среды с более темным центром, округлой формы колонии с ровными краями	2–4 мм в диаметре, со светло-розовым центром и прозрачным ободком, округлые колонии с ровными краями
Питательная среда для обнаружения и выделения колиформных бактерий и кишечных палочек (МакКонки агар)			Рост отсутствует
Питательная среда для выделения и дифференциации патогенных энтеробактерий (XLD-агар)			Рост отсутствует
Питательный агар для обнаружения и учета <i>E. coli</i> и колиформных бактерий (лактозный ТТХ-агар с тергитолом 7)			Рост отсутствует
Питательный агар с бриллиантовым зеленым, феноловым красным, лактозой, сахарозой (БФЛС ГРМ агар)			Рост отсутствует
Питательная среда для выделения энтерококков (энтерококк-агар)			Рост отсутствует
Питательная среда для выделения стафилококков (стафилококк-агар)			Рост отсутствует

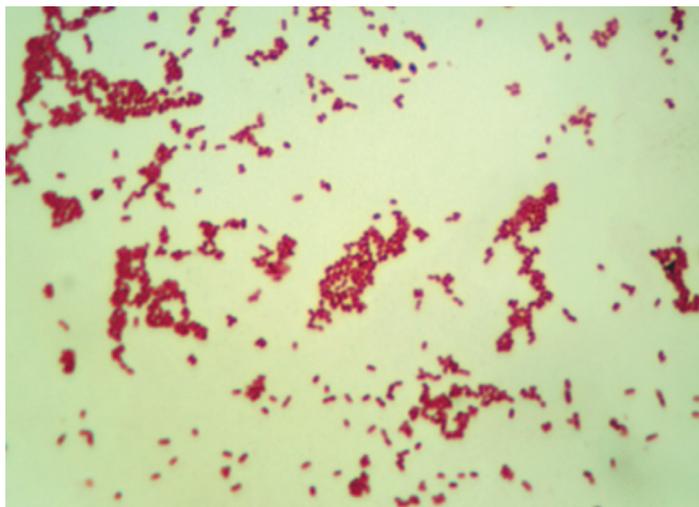


Рис. 1. Мазок *E. meningoseptica*, окраска по Граму, увеличение $\times 100$.

Результаты и обсуждение

Из всех проанализированных образцов от трех умерших новорожденных детей были выделены чистые культуры микроорганизмов, идентифицированные на приборе MALDI-TOF Biotyper как *A. baumannii* и *E. meningoseptica* (табл. 2).

При микроскопическом исследовании суточных культур трех выделенных изолятов *E. meningoseptica*, выращенных на питательной среде ГМ №1 в аэробных условиях при 37°C, были обнаружены короткие грамтрицательные одиночные палочки с закругленными концами (рис. 1).

На автоматическом анализаторе VITEK 2 Compact (bioMérieux, Франция) с помощью карт GN все три выделенных штамма были идентифицированы как *Sphingobacterium spiritivorum* с вероятностью 89% (табл. 3).

По результатам посева чистых культур трех выделенных изолятов *E. meningoseptica* на 7 средах рост отмечали уже

через 24 ч (ГМ №1, ТСА с 7% бараньей крови, шоколадный агар, URISelect Agar, агар Эндо, Сабуро агар с мальтозой, сорбитол *E. coli* O157:H7 агар). На питательной среде с эозин-метиленовым синим (среда Левина) отмечали замедленный рост едва различимых прозрачных колоний менее 1 мм в диаметре. На 6 питательных средах рост полностью отсутствовал через 24 и 48 ч (МакКонки агар, XLD-агар, лактозный ТТХ-агар с тергитолом 7, БФЛС ГМ агар, энтерококк-агар, стафилококк-агар).

Через 48 ч на 5 питательных средах отмечали изменение характера роста. На питательном агаре ТСА с 7% бараньей крови, помимо увеличения в размере, колонии приобрели желтоватый оттенок в центре, а зона альфа-гемолиза увеличилась и приобрела зеленоватый оттенок. На среде URISelect Agar колонии увеличились в размере до 2–4 мм в диаметре, приобрели выраженную коричневатую окраску центральной части, в то время как зона периферии осталась цвета среды, а поверхность колонии поменялась с гладкой на шероховатую с неровным краем. На среде Левина колонии значительно увеличились в размерах (до 2–3 мм в диаметре) и стали отчетливо визуализироваться, а также приобрели ярко-розовую окраску. На средах агар Эндо и Сорбитол *E. coli* O157:H7 агар цвет центральной части колоний приобрел более интенсивное розовое окрашивание, в то время как периферическая часть осталась прозрачной. На остальных средах характер роста значительно не изменился. Результаты изучения культуральных свойств *E. meningoseptica* представлены в табл. 2 и на рис. 2.

По результатам RAPD-ПЦР все три изолята были отнесены к одной генетической линии.

Полученная последовательность гена 16S рНК изолята *E. meningoseptica* OR-1 продемонстрировала 100%-ю гомологию со штаммами *Elizabethkingia anophelis* O422 (ID: CP016370.1) и *Ch. meningosepticum* ATCC 13254 (ID: AJ704541.1) и была депонирована в GenBank (ID: MW092769).

Используемый метод позволил получить относительные показатели плотности всей биопленки, сформировавшейся на поверхности лунки культурального планшета. Результаты интерпретировали согласно оптической плотности чистого растворителя без добавления красителя. В результате математических расчетов было определено, что все изоляты *E. meningoseptica* обладали способностью к образованию биопленки высокой плотности.

Заключение

Инфекция, вызываемая *E. meningoseptica*, нередко диагностируется в Европе, Азии и других странах, особенно среди новорожденных детей и иммунокомпрометированных людей [2–4, 10–12, 14, 16, 17]. Однако в Российской Федерации этот возбудитель мало известен специалистам, занимающимся диагностикой бактериальных патогенов.

Для данного возбудителя характерен исключительно широкий спектр природной резистентности к АМП различных классов: большинству β -лактамов антибиотиков, включая пенициллин и ампициллин, полимиксином, аминогликозидам, цефалоспорином и амфениколам [11–13, 17]. Это существенно отличает данный патоген от других грамтрицательных бактерий, в том числе группы НГОБ. Множественная

Таблица 2. Результаты MALDI-TOF-идентификации культур микроорганизмов, выделенных из образцов от трех умерших детей

Образец	Объект исследования	Определяемые показатели	Результат исследования
Or-1 (Культуры микроорганизмов, выделенные из носоглотки)	Культура №1	Патогенные и условно патогенные бактерии	<i>E. meningoseptica</i> Score Value 2.262
	Культура №2		<i>A. baumannii</i> Score Value 2.385
Or-2 (Культуры микроорганизмов, выделенные из носоглотки)	Культура №1	Патогенные и условно патогенные бактерии	<i>E. meningoseptica</i> Score Value 2.152
	Культура №2		<i>A. baumannii</i> Score Value 2.585
Or-2 (Культуры микроорганизмов, выделенные из бронхоальвеолярного лаважа)	Культура №1	Патогенные и условно патогенные бактерии	<i>E. meningoseptica</i> Score Value 2.152
	Культура №2		<i>A. baumannii</i> Score Value 2.523
Or-3 (Культуры микроорганизмов, выделенные из носоглотки)	Культура №1	Патогенные и условно патогенные бактерии	<i>E. meningoseptica</i> Score Value 2.232
	Культура №2		<i>A. baumannii</i> Score Value 2.474

Таблица 3. Биохимическая идентификация культур *E. meningoseptica* на автоматическом анализаторе Vitek 2 Compact (карта GN, BioMérieux, Франция)

Биохимический тест	Фермент	Изолят		
		Or-1	Or-2	Or-3
APPA	Ариламидаза	+	+	+
ADO	Адонитол	–	–	–
PyrA	L-пирролидонариламидаза	+	+	+
IARL	L-арабит	–	–	–
dCEL	D-целлобиоза	+	+	+
BGAL	β-галактозидаза	+	+	+
H2 S	Продукция H2S	–	–	–
BNAG	β-N-ацетилглюкозаминидаза	+	+	+
AGLTp	Глютаминариламидаза	+	+	+
dGLU	D-глюкоза	+	+	+
GGT	γ-глутамилтрансфераза	+	+	+
OFF	Сбраживание глюкозы	–	–	–
BGLU	β-глюкозидаза	+	+	+
dMAL	D-мальтоза	+	+	+
dMAN	D-маннит	+	+	+
dMNE	D-манноза	+	+	+
BXYL	β-ксилозидаза	–	–	–
BAlap	β-аланинариламидаза	–	–	–
ProA	L-пролинариламидаза	+	+	+
LIP	Липаза	–	–	–
PLE	Палатиноза	–	–	–
TyrA	Тирозинариламидаза	+	+	+
URE	Уреаза	+	+	+
dSOR	D-сорбит	+	+	+
SAC	Сахароза	+	(–)	+
dTAG	D-тагатоза	–	–	–
dTRE	D-трегалоза	+	+	+
CIT	Цитрат натрия	–	–	–
MNT	Малонат	–	–	–
5KG	5-кето-D-глюконат	–	–	–
ILATk	L-лактат	–	–	–
AGLU	α-глюкозидаза	+	+	+
SUCT	Сукцинат	–	–	–
NAGA	β-N-ацетилгалактозаминидаза	+	+	+
AGAL	α-галактозидаза	+	+	+
PHOS	Фосфотаза	+	+	+
GLyA	Глицинариламидаза	+	+	+
ODC	Орнитиндекарбоксилаза	–	–	–
LDC	Лизиндекарбоксилаза	–	–	–
IHISa	Декарбоксилаза (контроль роста)	–	–	–
CMT	Кумарат	–	–	–
BGUR	β-глюкуронидаза	–	–	–
O129R	Устойчивость к вибриостатическому агенту O/12	–	–	–
GGAA	Glu-Gly-Arg-ариламидаза	+	+	+
IMLTa	L-малат	–	–	–
ELLM	Элман	–	(–)	(–)
ILATa	L-лактат	–	–	–
Интерпретация		<i>Sphingobacterium spiritivorum</i> (89%)	<i>Sphingobacterium spiritivorum</i> (89%)	<i>Sphingobacterium spiritivorum</i> (89%)

«+» – наличие ферментативной реакции; «–» – отсутствие ферментативной реакции; «(–)» – большей частью отсутствие ферментативной реакции.

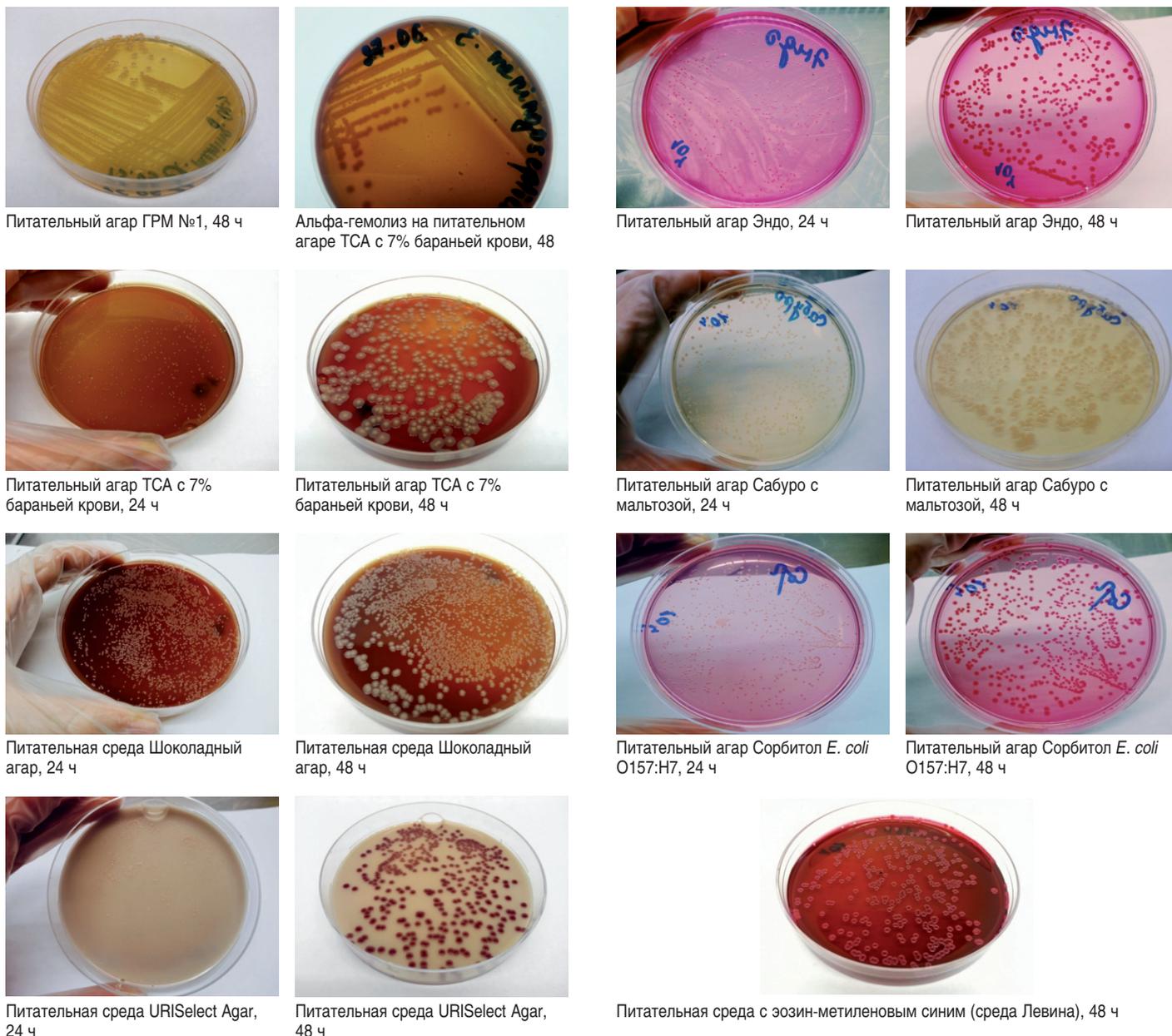


Рис. 2. Характер роста *E. meningoseptica* на различных питательных средах через 24 и 48 ч культивирования.

лекарственная устойчивость *E. meningoseptica* к АМП существенно осложняет выбор эффективных этиотропных средств лечения.

В настоящей работе мы представляем данные о выделении, идентификации и свойствах клинических штаммов *E. meningoseptica*, изолированных от трех новорожденных недоношенных детей, умерших от смешанной инфекции, обусловленной *A. baumannii* и *E. meningoseptica*.

Первой задачей работы явился подбор оптимального метода быстрой и достоверной идентификации *E. meningoseptica*. Было установлено, что результаты биохимической идентификации с помощью автоматического анализатора Vitek 2 Compact (карта GN, bioMérieux, Франция) соответствовали известным литературным данным, согласно которым *E. meningoseptica* зачастую ошибочно типировается как *S. spiritivorum* (микроорганизм из семейства *Flavobacterium*) [10].

Кроме того, по характеру роста на различных коммерческих питательных средах было показано, что возможность четко дифференцировать данный микроорганизм от других возбудителей, входящих в группу НГОБ, представляется маловероятной. Однако, принимая во внимание отсутствие роста на таких дифференциальных питательных средах, как МакКонки агар, XLD-агар, лактозный ТТХ-агар с тергитолом 7, БФЛС ГПМ агар, энтерококк-агар, стафилококк-агар, замедленный рост на среде Левина, характерный рост на среде URISelect Agar и наличие альфа-гемолиза на среде ТСА с 7% бараньей крови, можно провести первичную дифференциацию *E. meningoseptica* от бактерий кишечной группы и кокковой микрофлоры.

Наиболее достоверными методами родовой и видовой идентификации данного микроорганизма явились масс-спектрометрический анализ (на примере прибора MALDI-TOF, Biotyper Bruker, США) и секвенирование гена 16S рПНК.

Также было установлено, что изоляты *E. meningoseptica* обладают высокой способностью к образованию биопленок, что может существенно сказываться на чувствительности к антибактериальным препаратам у представителей госпитальных патогенов и требует углубленного анализа, включая моделирование бактериальных биопленок для оценки реальной чувствительности к антисептикам и дезинфектантам.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Financial support

The work was carried out within the framework of the sectorial program of Rosпотребнадзор.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература / References

- Krieg NR, Ludwig W, Whitman W, Hedlund BP, Paster BJ, Staley JT, et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 4: The *Bacteroidetes*, *Spirochaetes*, *Tenericutes (Mollicutes)*, *Acidobacteria*, *Fibrobacteres*, *Fusobacteria*, *Dictyoglomi*, *Gemmatimonadetes*, *Lentisphaerae*, *Verrucomicrobia*, *Chlamydiae*, and *Planctomycetes*, Second edition. Springer-Verlag, 2011; pp. 202-10.
- Ceyhan M, Yildirim I, Tekeli A, Yurdakok M, Us E, Altun B, et al. A *Chryseobacterium meningosepticum* outbreak observed in 3 clusters involving both neonatal and non-neonatal pediatric patients. *Am J Infect Control*. 2008 Aug;36(6):453-7. DOI: 10.1016/j.ajic.2007.09.008
- Bloch KC, Nadarajah R, Jacobs R. *Chryseobacterium meningosepticum*: an emerging pathogen among immunocompromised adults. Report of 6 cases and literature review. *Medicine (Baltimore)*. 1997 Jan;76(1):30-41. DOI: 10.1097/00005792-199701000-00003
- Hoque SN, Graham J, Kaufmann ME, Tabaqchali S. *Chryseobacterium (Flavobacterium) meningosepticum* outbreak associated with colonization of water taps in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect*. 2001 Mar;47(3):188-92. DOI: 10.1053/jhin.2000.0908
- Holmes B, Owen RJ, McMeekin TA. Genus *Flavobacterium*. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 1. Baltimore, Williams&Wilkins Co.; 1984; pp. 353-61.
- Kim KK, Bae HS, Schumann P, Lee ST. *Chryseobacterium daecheongense* sp. nov., isolated from freshwater lake sediment. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2005 Jan;55(Pt 1):133-138. DOI: 10.1099/ijs.0.02931-0
- Chen S, Soehnl M, Downes FP, Walker ED. Insights from the draft genome into the pathogenicity of a clinical isolate of *Elizabethkingia meningoseptica* Em3. *Stand Genomic Sci*. 2017 Sep 16;12:56. DOI: 10.1186/s40793-017-0269-8
- Bruun B, Ursing J. Phenotypic characterization of *Flavobacterium meningosepticum* strains identified by DNA-DNA hybridization. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand B*. 1987 Feb;95(1):41-7. DOI: 10.1111/j.1699-0463.1987.tb03085.x
- Bernardet JF, Vancanneyt M, Matte-Tailliez O, Grisez L, Tailliez P, Bizet C, Nowakowski M, Kerouault B, Swings J. Polyphasic study of *Chryseobacterium* strains isolated from diseased aquatic animals. *Syst Appl Microbiol*. 2005 Sep;28(7):640-60. DOI: 10.1016/j.syapm.2005.03.016
- Tuon FF, Campos L, Duboc de Almeida G, Gryscek RC. *Chryseobacterium meningosepticum* as a cause of cellulitis and sepsis in an immunocompetent patient. *J Med Microbiol*. 2007 Aug;56(Pt 8):1116-1117. DOI: 10.1099/jmm.0.47111-0
- Hsu MS, Liao CH, Huang YT, Liu CY, Yang CJ, Kao KL, Hsueh PR. Clinical features, antimicrobial susceptibilities, and outcomes of *Elizabethkingia meningoseptica (Chryseobacterium meningosepticum)* bacteremia at a medical center in Taiwan, 1999-2006. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011 Oct;30(10):1271-8. DOI: 10.1007/s10096-011-1223-0
- Hawley HB, Gump DW. Vancomycin therapy of bacterial meningitis. *Am J Dis Child*. 1973 Aug;126(2):261-4. DOI: 10.1001/archpedi.1973.02110190231025
- Rossolini GM, Franceschini N, Riccio ML, Mercuri PS, Perilli M, Galleni M, Frere JM, Amicosante G. Characterization and sequence of the *Chryseobacterium (Flavobacterium) meningosepticum* carbapenemase: a new molecular class B beta-lactamase showing a broad substrate profile. *Biochem J*. 1998 May 15;332 (Pt 1):145-52. DOI: 10.1042/bj3320145
- Lin PY, Chen HL, Huang CT, Su LH, Chiu CH. Biofilm production, use of intravascular indwelling catheters and inappropriate antimicrobial therapy as predictors of fatality in *Chryseobacterium meningosepticum* bacteraemia. *Int J Antimicrob Agents*. 2010 Nov;36(5):436-40. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2010.06.033
- Fraser SL, Jorgensen JH. Reappraisal of the antimicrobial susceptibilities of *Chryseobacterium* and *Flavobacterium* species and methods for reliable susceptibility testing. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997 Dec;41(12):2738-41. DOI: 10.1128/AAC.41.12.2738
- Chang JC, Hsueh PR, Wu JJ, Ho SW, Hsieh WC, Luh KT. Antimicrobial susceptibility of flavobacteria as determined by agar dilution and disk diffusion methods. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997 Jun;41(6):1301-6. DOI: 10.1128/AAC.41.6.1301
- Issack MI, Neetoo Y. An outbreak of *Elizabethkingia meningoseptica* neonatal meningitis in Mauritius. *J Infect Dev Ctries*. 2011 Dec 13;5(12):834-9. DOI: 10.3855/jidc.1885
- Aber RC, Wennersten C, Moellering RC Jr. Antimicrobial susceptibility of flavobacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 1978 Sep;14(3):483-7. DOI: 10.1128/aac.14.3.483
- Johny M, Khuffash FA, Elhag KM. Antimicrobial treatment of *Flavobacterium meningosepticum* infection. *Ann Trop Paediatr*. 1983 Sep;3(3):125-8. DOI: 10.1080/02724936.1983.11748282
- Suzuki K, Sasaki J, Uramoto M, Nakase T, Komagata K. *Agromyces mediolanus* sp. nov., nom. rev., comb. nov., a species for "*Corynebacterium mediolanum*" Mamoli 1939 and for some aniline-assimilating bacteria which contain 2,4-diaminobutyric acid in the cell wall peptidoglycan. *Int J Syst Bacteriol*. 1996 Jan;46(1):88-93. DOI: 10.1099/00207713-46-1-88
- O'Toole GA, Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. *Mol Microbiol*. 1998 May;28(3):449-61. DOI: 10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x

Информация об авторах:

Мицевич Ирина Петровна, старший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: mitzevich_i_p@obolensk.org

Карцев Николай Николаевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: kartsev@obolensk.org

Асташкин Евгений Ильич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: astashkin@obolensk.org

Детушева Елена Владимировна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: detushevaev@obolensk.org

Храмов Михаил Васильевич, кандидат медицинских наук, заместитель директора по качеству и развитию ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: khramov@obolensk.org

Светоч Эдуард Арсеньевич, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: svetoch@obolensk.org

Фурсова Надежда Константиновна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: fursova@obolensk.org

Information about authors:

Irina P. Mitsevitch, senior researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: mitsevich_i_p@obolensk.org

Nikolay N. Kartsev, MD, PhD, senior researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: kartsev@obolensk.org

Evgeny I. Astashkin, MD, PhD, senior researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: astashkin@obolensk.org

Elena V. Detusheva, PhD (Biological Science), senior researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: detushevaev@obolensk.org

Mikhail V. Khramov, MD, PhD, Deputy Director for Quality and Development, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: khramov@obolensk.org

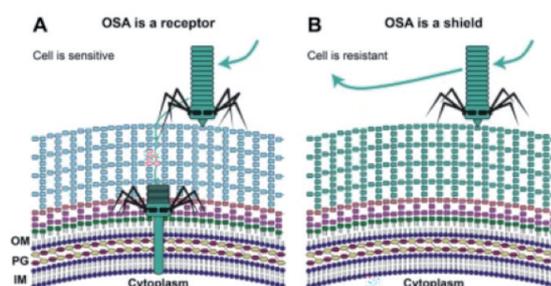
Edward A. Svetoch, PhD, DSc (Veterinary Science), professor, chief researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology.
Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: svetoch@obolensk.org

Nadezhda K. Fursova, PhD (Biological Science), leader researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзора
Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279 Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: fursova@obolensk.org

НОВОСТИ НАУКИ

«Самонаводящиеся ракеты» бактерий

Тайлоцины представляют собой бактерицидные белковые комплексы, продуцируемые широким спектром бактерий, которые убивают близкородственные штаммы и могут играть роль в структуре микробного сообщества. Благодаря своей высокой специфичности тайлоцины были предложены в качестве прецизионных антибактериальных средств для терапевтического применения. По сравнению с хвостатыми фагами, с которыми они связаны эволюционным и морфологическим родством, бактериально продуцируемые тайлоцины убивают своего хозяина при производстве, но продуцирующие штаммы проявляют устойчивость к самоотравлению. Хотя было показано, что липополисахарид (ЛПС) действует как рецептор для тайлоцинов, спектр факторов, участвующих в чувствительности к тайлоцину, и механизмы, лежащие в основе устойчивости к самоотравлению, остаются неясными. Здесь мы использовали полногеномный скрининг четырех немодельных псевдомонад для выявления мутантов с измененной приспособленностью в присутствии тайлоцинов, продуцируемых близкородственными псевдомонадами. Наши мутантные скрининги определили состав и отображение О-антигена как наиболее важные для определения чувствительности к нашим тайлоцинам. Кроме того, скрининги предполагают истончение ЛПС как механизм, с помощью которого устойчивые штаммы могут стать более чувствительными к тайлоцинам. Мы подтверждаем многие из этих новых результатов и расширяем эти наблюдения чувствительности к тайлоцину на 130 псевдомонад с секвенированием генома. Эта работа предлагает понимание взаимодействия тайлоцинов с бактериями, информируя о потенциальном использовании тайлоцинов в манипуляциях с микробиомом и антибактериальной терапии.



Carim S., Azadeh A.L., Kazakov A.E., et al.

Systematic discovery of pseudomonad genetic factors involved in sensitivity to tailocins.

ISME J 2021. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-00921-1>

Мониторинг клещей – переносчиков возбудителей инфекций на территории Ульяновской области

И.Ю.Щит¹, Т.В.Решетняк¹, Е.В.Баранова¹, А.А.Нафеев², Е.В.Колемагина², П.Г.Вовкотеч², А.В.Фольмер^{1,3}, И.Г.Говорунов¹, С.Ф.Бикетов¹

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболensk, Московская область, Российская Федерация;

²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ульяновской области», Ульяновск, Российская Федерация;

³ФГБОУ ВО «Пушчинский государственный естественно-научный институт», Пушchino, Российская Федерация

В работе представлены результаты мониторинга численности, видового состава и его изменений, сезонной активности, а также распространения клещей по районам Ульяновской области в период 2014–2018 гг. В области обитает 5 видов клещей: *Ixodes persulcatus*, *Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus*, *Dermacentor marginatus* и *Rhipicephalus rossicus*. Преобладают представители рода *Dermacentor*. Представлены данные по распространению разных видов клещей по районам области. Клещи рода *Ixodes* были заражены боррелиями (до 20% особей), а рода *Dermacentor* – бабезиями (до 7%). В одном образце клещей обнаружено присутствие сразу двух возбудителей – *Borrelia burgdorferi* и *Anaplasma phagocytophilum*.

Ключевые слова: мониторинг, клещи, Ульяновская область

Для цитирования: Щит И.Ю., Решетняк Т.В., Баранова Е.В., Нафеев А.А., Колемагина Е.В., Вовкотеч П.Г., Фольмер А.В., Говорунов И.Г., Бикетов С.Ф. Мониторинг клещей – переносчиков возбудителей инфекций на территории Ульяновской области. Бактериология. 2021; 6(1): 16–24. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-16-24

Monitoring of pathogens-carrying ticks on the territory of the Ulyanovsk region

I.Yu.Shchit¹, T.V.Reshetnyak¹, E.V.Baranova¹, A.A.Nafeev², E.V.Kolemagina², P.G.Vovkotech², A.V.Folmer^{1,3}, I.G.Govorunov¹, S.F.Biketov¹

¹State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;

²Center for Hygiene and Epidemiology in the Ulyanovsk Region, Ulyanovsk, Russian Federation;

³Pushchino State Natural Science Institute, Pushchino, Russian Federation

The paper deals with results from monitoring of the number, species composition and its variations, seasonal activity, and the spread of ixodic ticks in the Ulyanovsk region between 2014 and 2018. The area is home to five species of ticks, such as *Ixodes persulcatus*, *Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus*, *Dermacentor marginatus*, and *Rhipicephalus rossicus*. Representatives of the genus *Dermacentor* predominate. Data on the distribution of different tick species depending on the region are provided. Ticks of the genus *Ixodes* were infected with borrelia (up to 20%) and those of the genus *Dermacentor* were infected with babesia (up to 7%). One of the tick specimens simultaneously carried two pathogens, *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum*.

Key words: monitoring, ticks, Ulyanovsk region

For citation: Shchit I.Yu., Reshetnyak T.V., Baranova E.V., Nafeev A.A., Kolemagina E.V., Vovkotech P.G., Folmer A.V., Govorunov I.G., Biketov S.F. Monitoring of pathogens-carrying ticks on the territory of the Ulyanovsk region. Bacteriology. 2021; 6(1): 16–24. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-16-24

Для корреспонденции:

Говорунов Игорь Геннадиевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела информационных технологий ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболensk, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-00-46
Email: govorunov@obolensk.org

Статья поступила 09.06.2021 г., принята к печати 30.06.2021 г.

For correspondence:

Igor G. Govorunov, PhD (Biological Sciences), Leading Researcher, Information Technology Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology

Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0046
E-mail: govorunov@obolensk.org

The article was received 09.06.2021, accepted for publication 30.06.2021

Трансмиссивные заболевания, от которых ежегодно в мире умирает 700 тыс. человек, составляют 17% от всех инфекционных заболеваний [1]. Природно-очаговые трансмиссивные инфекции широко распространены в мире и характеризуются большим разнообразием как возбудителей, так и переносчиков. Значительную долю переносчиков этих инфекций составляют иксодовые клещи.

Иксодовые клещи (*Ixodidae*) широко распространены по всему миру, ареал их обитания разнообразен: таежные леса, степи, пустыни. Они максимально специализируются по хозяевам, и вследствие редких встреч с прокормителями кровососущая фаза их развития имеет тенденцию к сокращению. Высокая плодовитость, достигающая десятков тысяч яиц, компенсирует их значительную гибель при сокращении или отсутствии кормовой базы, хотя они в течение двух лет способны голодать. Самки крупных видов, принадлежащие родам *Hyalomma* и *Amblyomma*, откладывают 15–20 тыс. яиц, средних видов (роды *Dermacentor*, *Boophilus*, *Rhipicephalus*) – от 3 до 6 тыс., а самые мелкие (роды *Ixodes* и *Haemaphysalis*) – до 1 тыс. Большинство видов иксодовых клещей имеет до трех хозяев и при смене их способны передавать человеку и животным ряд возбудителей заболеваний вирусной, бактериальной и протозойной природы [2–4]. Общее время развития поколения клещей длится в зависимости от условий 3–6 лет (1100–2200 дней), в то же время стадия паразитизма (кровососания) – всего от 3 до 10 дней [5].

В Российской Федерации встречаются иксодовые клещи *Boophilus*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Ixodes*, *Rhipicephalus* [3].

Ixodes persulcatus является переносчиком весенне-летнего энцефалита, а *Ixodes ricinus* – западной формы энцефалита и северного пироплазмоза (возбудитель – гемоспоридия), *Dermacentor marginatus* – туляремии. Кроме бактерий и вирусов, многие виды клещей переносят одноклеточных паразитов (бабезий, тейлерий) и некоторых гельминтов [2, 3].

Представители рода *Ixodes* являются самыми крупными по размерам из иксодовых клещей, паразитируют на 167 видах животных [3]. Виды *I. persulcatus* и *I. ricinus* имеют, по мнению некоторых авторов, наибольшее эпидемическое и эпизоотическое значение на территории Евразии и составляют ядро сложной трехкомпонентной паразитарной системы [6–8].

В 2017 г. за медицинской помощью по поводу присасывания клещей обратилось около 500 тыс. человек [9].

В связи с этим мониторинг численности и зараженности клещей возбудителями инфекционных заболеваний является актуальной задачей эпиднадзора. В рамках совместной работы референс-центра ФБУН ГНЦ ПМБ по лайм-боррелиозу и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ульяновской области» были выполнены такие исследования, материалы которых были размещены в базе данных [10].

Целью настоящей работы был анализ численности клещей, собранных в Ульяновской области в 2014–2018 гг., включая пространственно-временной аспект их видового

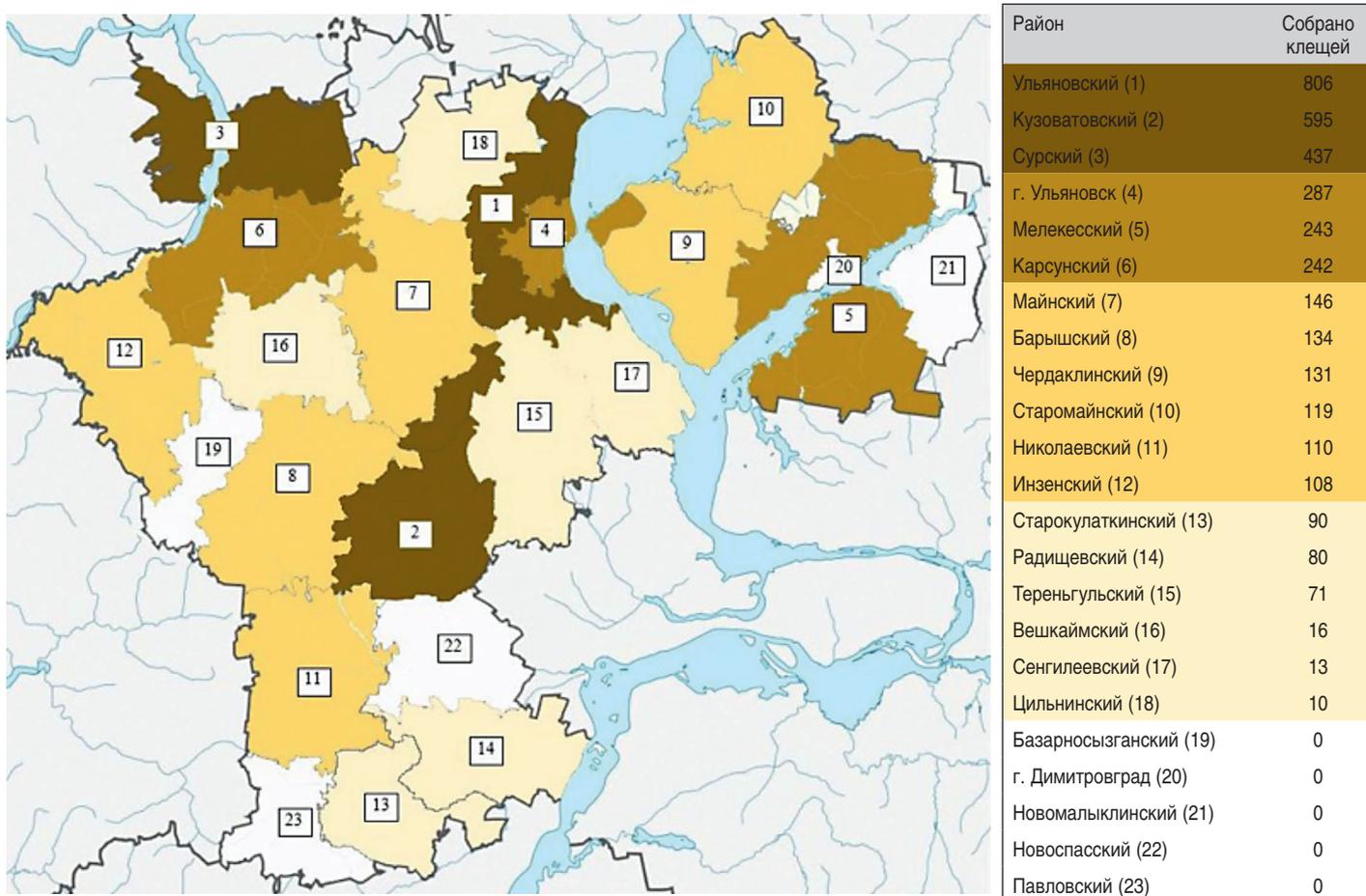


Рис. 1. Количество собранных клещей по районам Ульяновской области. Номера районов на карте соответствуют таковым во врезке справа.

состава и зараженности возбудителями инфекционных заболеваний.

Материалы и методы

Взрослых клещей собирали на флаг в период 2014–2018 гг.

ДНК из клещей выделяли с помощью коммерческого набора «Рибо-сорб» (ФБУН ЦНИИЭ) согласно инструкции производителя.

Для постановки полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) использовали «Набор реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии референсного красителя ROX» («Синтол», Москва). Олигонуклеотидные праймеры для выявления ДНК, гомологичные фрагменту гена 23S рРНК *Borrelia burgdorferi*, а также олигонуклеотидный TaqMan-зонд с флуоресцентным красителем FAM были синтезированы согласно методике [11] компанией «Синтол»

(Москва). Матрицей для ПЦР-РВ служила ДНК, выделенная из клещей. Реакцию проводили на приборе Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR Systems (США) при следующем режиме: первичная денатурация -95°C, 10 мин, далее следовало 40 циклов 95°C, 15 с, 60°C, 1 мин, считывание флуоресценции. 25 мкл реакционной смеси содержали 1x буфер Б, 1,25 ед. Taq-полимеразы, 5,0 мМ MgCl₂, 0,25 мМ каждого дНТФ, 10 мкМ каждого праймера, 5 мкл матрицы. Продукты амплификации детектировали по каналу FAM. Для анализа данных использовали программное обеспечение Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR Systems.

Математическая обработка данных осуществлялась с помощью программного обеспечения MS Excel 2013.

Результаты и обсуждение

В период 2015–2018 гг. на территории Ульяновской области было выделено 5 видов клещей: *I. persulcatus*, *I. ricinus*,

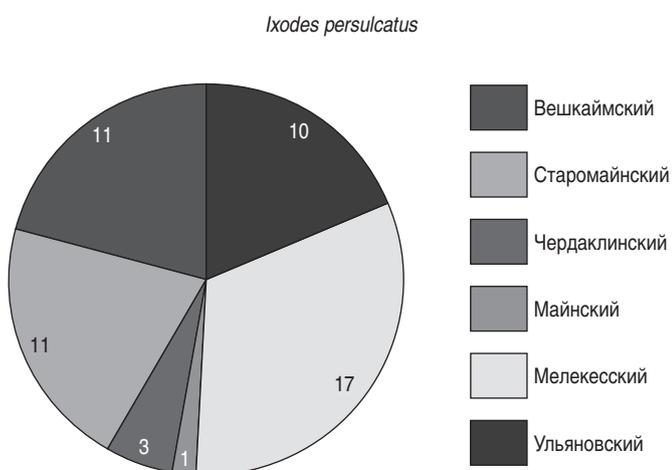


Рис. 2. Плотность заселения (слева) и ареал обитания (справа) клещей *I. persulcatus* в Ульяновской области.

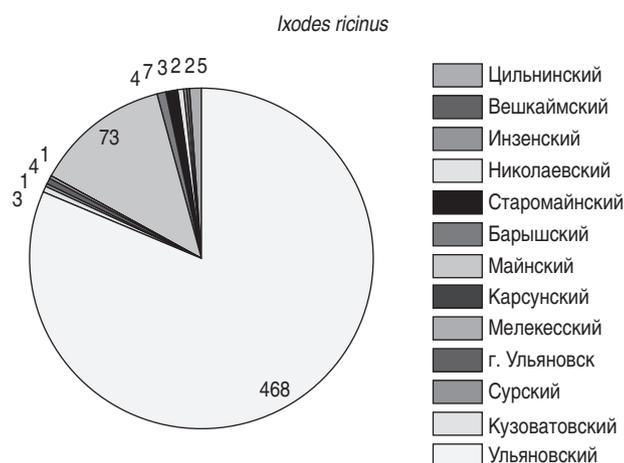
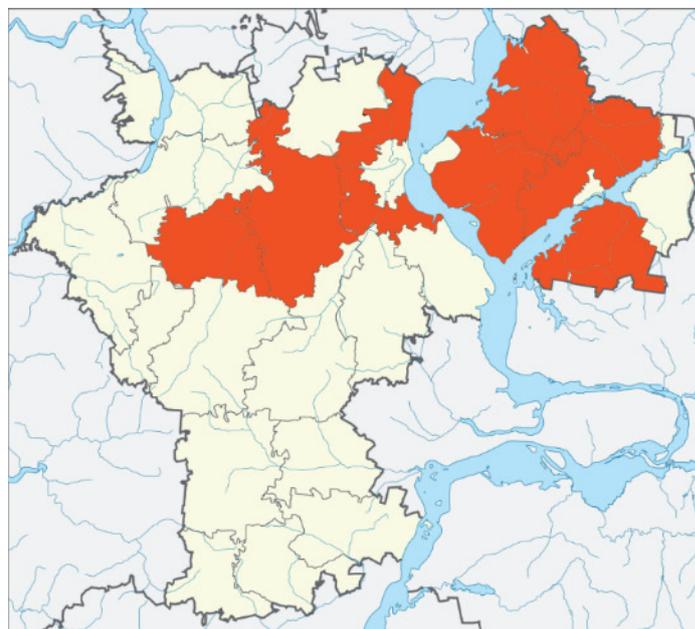
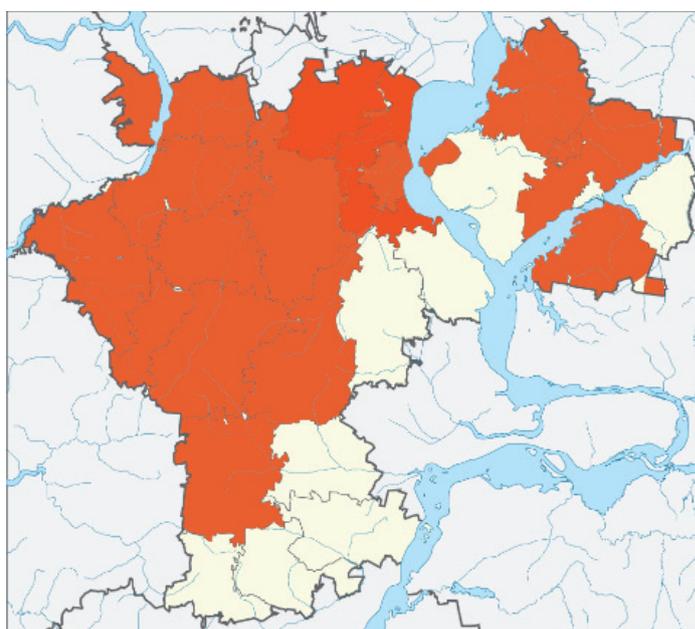


Рис. 3. Плотность заселения (слева) и ареал обитания (справа) клещей *I. ricinus* в Ульяновской области.



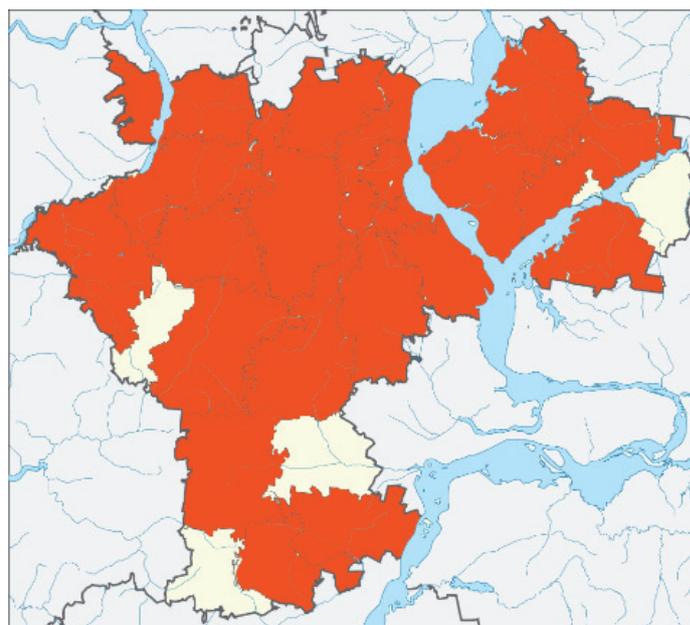
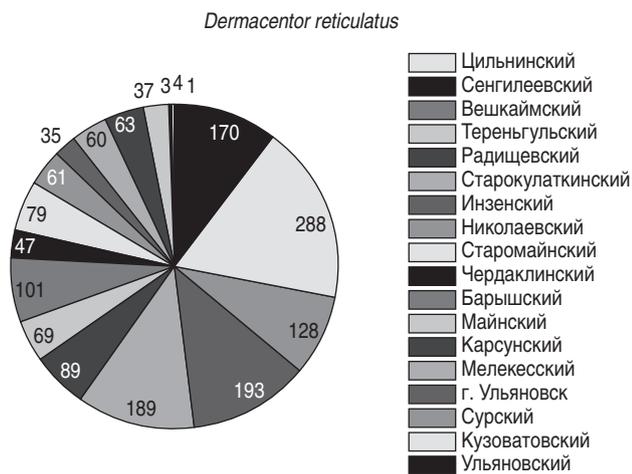


Рис. 4. Плотность заселения (слева) и ареал обитания (справа) клещей *D. reticulatus* в Ульяновской области.

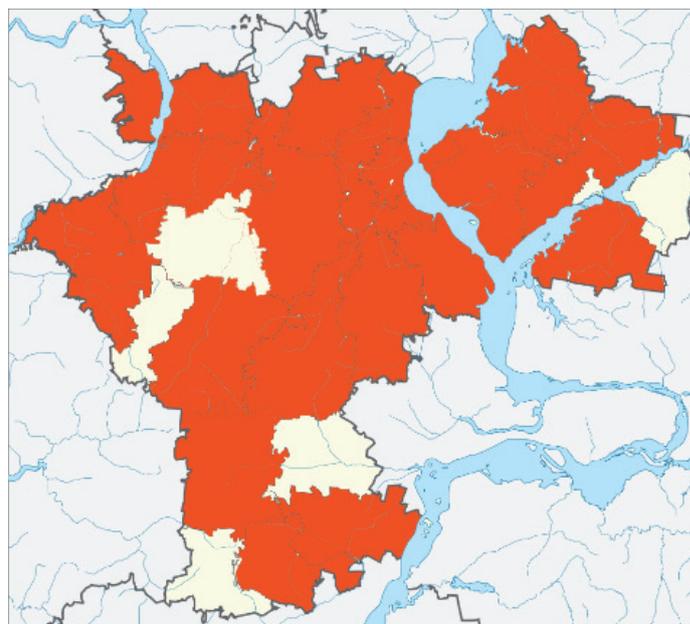
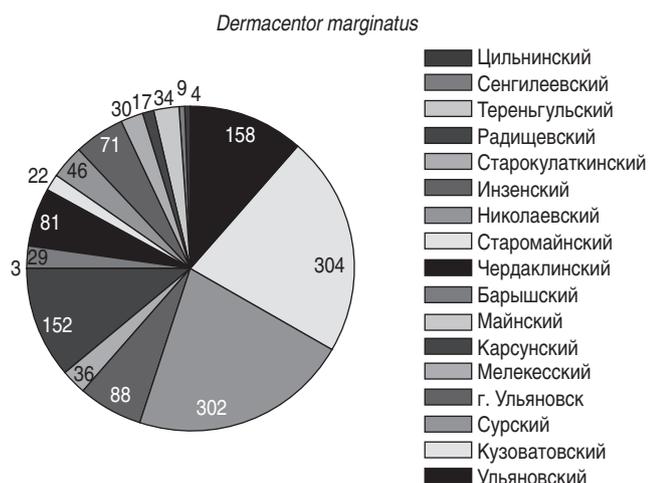


Рис. 5. Плотность заселения (слева) и ареал обитания (справа) клещей *D. marginatus* в Ульяновской области.

Dermacentor reticulatus, *D. marginatus* и *Rhipicephalus rossicus*. Поскольку порайонный сбор клещей производился в одинаковых условиях, то уместно предположить, что количество собранных в районе клещей отражает плотность заселения ими конкретного района. Клещи распространены практически по всей территории Ульяновской области, за исключением Базарносызганского, Новомалыклинского, Новоспаского, Павловского районов и г. Димитровград (рис. 1).

Из представленных данных следует, что плотность распространения клещей по районам Ульяновской области представляет довольно пеструю картину, хотя можно отметить, что наиболее плотно заселены клещами северные и центральные районы области, в то время как к югу и юго-востоку плотность заселения клещей падает.

Далее представлена информация о зараженности районов Ульяновской области отдельными видами клещей.

На рис. 2 представлен ареал распространения и плотность заселения клещом *I. persulcatus*.

Из представленных данных следует, что этот вид клеща предпочитает северные и северо-восточные районы Ульяновской области, главным образом Мелекесский, Ульяновский, Майнский и Вешкаймский.

I. persulcatus (таежный клещ) был впервые обнаружен в долине р. Амур в Сибири в 1930 г. и описан немцем Шульце. Это самый распространенный вид иксодовых клещей на территории России. Ранее он встречался довольно редко, предпочитая необжитые лесные массивы. Обитает в еловых и смешанных лесах, встречается в кустарниках и на лугах с высокой густой травой, иногда – на нижних ветках деревьев. В недалеком прошлом таежный клещ обитал только в сибирских лесах. В связи с изменениями климата клещ значительно расширил свой ареал обитания, встречается в городских парках и на дачных участках. В южном направлении клещ распространился до Ульяновской и Самарской областей. Для этого вида периоды активности приходятся на апрель–июль и август–ноябрь. После зимней спячки клещи этого

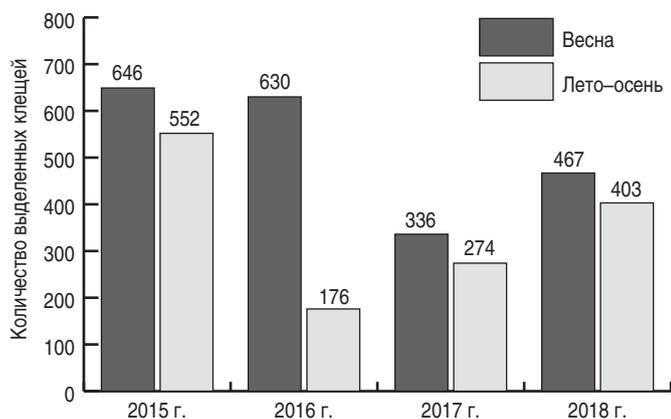


Рис. 6. Данные по суммарному количеству клещей (ось ординат), выделенных в Ульяновской области по годам (ось абсцисс).

вида пробуждаются при плюсовых температурах. Изголодавшиеся клещи опасны в мае-июне. После кладки яиц имаго-формы клеща в основной своей массе гибнут. Отмечена высокая весенняя активность иксодовых клещей по сравнению с другими периодами года (личинки и нимфы) [12, 13]. Являются переносчиками клещевого энцефалита, лайм-боррелиоза, бабезиоза и эрлихиоза [14].

На рис. 3 представлен ареал распространения и плотность заселения клещом *I. ricinus*.

Этот вид клеща встречается на большей части территории Ульяновской области, но наиболее плотно заселены Ульяновский и Майнский районы (82 и 13% соответственно от всех выделенных особей).

I. ricinus (лесной или собачий клещ) был впервые описан в 1757 г. Карлом Линнеем. На территории России этот вид распространен в средней полосе, где соседствует с таежным клещом. Вследствие потепления климата *I. ricinus* распространяется на север. Преимущественными местами обитания этого вида являются смешанные лиственные леса, лесостепи, луга, расположенные вблизи водоемов. При отсутствии кормовой базы способны существовать и в засушливых местах при температуре до 35°C. Время появления клещей после зимовки связано со сходом снежного покрова весной. В июле, в период температурных максимумов, активность клещей заканчивается. В связи со значительным потеплением климата иногда наблюдают вторую волну активности клещей осенью (сентябрь–октябрь). Имаго-формы кормятся преимущественно на крупных млекопитающих: псовых, лошадях, козах, коровах и оленях. Личинки предпочитают мелких млекопитающих. Нимфы питаются на крупных грызунах, лисах, птицах, диких кабанах. Собачий клещ опасен для человека, поскольку является переносчиком энцефалита и боррелиоза [12, 15].

Далее представлен ареал распространения и плотность заселения клещом *D. reticulatus* (рис. 4).

Клещ *D. reticulatus* встречается в Ульяновской области повсеместно, за исключением 5 районов: Базарносызганский, Новомалыклинский, Новоспасский, Павловский и г. Димитровград. Две трети собранных клещей приходится на 6 районов центральной и северной части области.

D. reticulatus – луговой клещ. Распространен в лесостепях, степях европейской части и Сибири. Предпочитает ши-

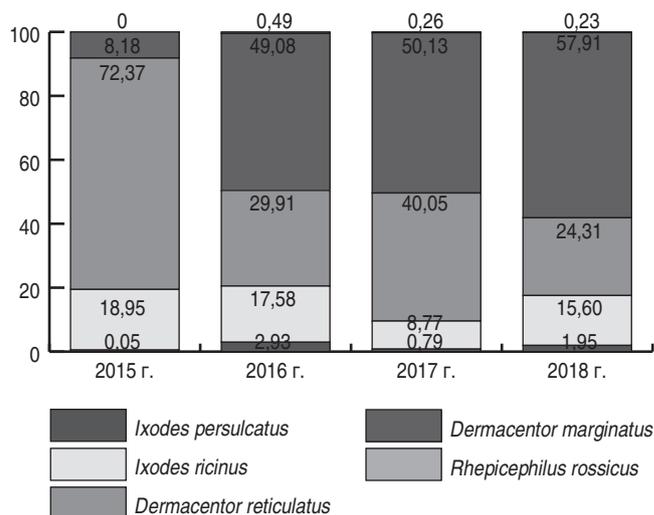


Рис. 7. Соотношение количества клещей по видам. Оси ординат – %.

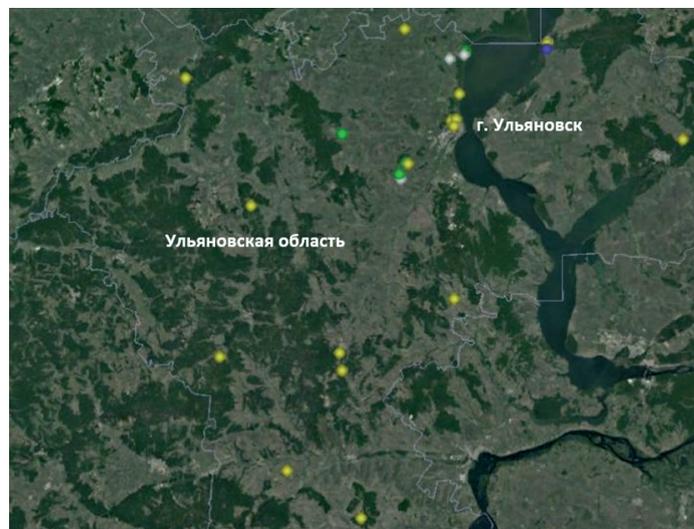


Рис. 8. Расположение точек отбора зараженных клещей на территории Ульяновской области (снимок экрана из геосервиса Google Earth): ● – *B. afzelii*; ● – *B. canis*; ● – *B. burgdorferi*; ● – *A. phagocytophilum*.

роколиственные леса, но в последнее время часто встречается в городских парках и аллеях. Луговой клещ питается на представителях крупного рогатого скота, диких животных и домашних собаках. Клещ устойчив к холодам, активен с ранней весны до первого снега. Луговой клещ переносит возбудителей таких болезней, как бабезиоз, риккетсиоз, Кулихорадка, клещевой энцефалит и пироплазмоз [16, 17].

Ареал распространения и плотность заселения клещом *D. marginatus* практически совпадают с таковыми клеща *D. Reticulatus*, за исключением Вешкаймского района (рис. 5).

Две трети клещей *D. marginatus* были собраны в четырех районах: Ульяновском, Кузоватовском, Сурском, Карсунском.

D. marginatus – пастбищный клещ. Распространен в Европе и Западной Азии. Этот вид предпочитает альпийские луга, полупустынные районы, лесостепи. Зона обитания пастбищного клеща распространяется южнее таковой лугового. Клещ особенно холодоустойчив и активен даже зимой. Этот вид паразитирует на овцах, козах, лошадях, коровах, собаках и некоторых диких животных. Способен паразитировать на человеке. Эпидемиологическое значение вида обу-

Таблица. Зараженность возбудителями клещей, выделенных в Ульяновской области в 2015–2018 гг.

Вид клеща	Обследовано особей	Количество зараженных клещей				
		<i>B. burgdorferi</i>	<i>B. afzelii</i>	<i>B. canis</i>	<i>A. phagocytophilum</i>	<i>B. burgdorferi</i> + <i>A. phagocytophilum</i>
<i>I. persulcatus</i>	119	25 (21%)	3 (2,5%)	0	0	1 (0,8%)
<i>I. ricinus</i>	25	0	4 (16%)	0	1 (4%)	0
<i>D. reticulatus</i>	294	1 (0,3%)	0	11 (3,7%)	0	0
<i>D. marginatus</i>	171	0	0	7 (7,1%)	0	0
Всего	609	26 (4,2%)	7 (1,1%)	18 (2,9%)	1 (0,2%)	1 (0,2%)

словлено тем, что он переносит и хранит возбудителей туляремии, клещевого сыпного тифа, кровепаразитарных заболеваний животных [16, 17].

За весь рассматриваемый период было выделено всего 8 клещей *Rh. rossicus* в г. Ульяновске и Сурском р-не, 1 – весной.

Rh. rossicus – ранее представлял полупустынную фауну [13], однако современные биотопы этого рода клещей – леса и лесостепи. Обитание в открытой степи для них не характерно. Как и другие иксодовые клещи, *Rh. rossicus* устойчив к неблагоприятным факторам внешней среды (зимним холодам, затоплению). Клеща обнаруживают на собаках, крупном и мелком рогатом скоте, других домашних животных. Личинки и нимфы появляются во второй половине лета. С конца августа снова появляются имаго и паразитируют до ноября на жвачных и собаках. Личинки питаются на грызунах, овцах и собаках. Этот вид относится к спонтанным носителям возбудителей туляремии, лихорадки Ку, крымской геморрагической лихорадки, пироплазмоза [18, 19].

Тотальная и сезонная активность клещей по годам представлены на рис. 6. Максимальное количество собранных клещей приходится на 2015 г. – 1198 особей. Это примерно в 1,5 раза выше показателей 2016–2018 гг. Отмечено, что 2015 г. был самым теплым с 1939 г. Аномально теплой была зима (среднесезонная температура воздуха была выше на 3,56°C). Очень теплыми были весна и начало осени [20].

Отметим, что активность клещей в весенний период была выше по сравнению с летне-осенним. Активность клещей весной в 2015 и 2016 гг. была примерно одинаковой (рис. 6). Возможно, это связано с аномально теплыми зимами 2014/2015 и 2015/2016 гг. [6]. В 2017 г. этот параметр снизился почти вдвое, а в 2018 г. вырос. В летне-осенний период 2016 г. количество собранных клещей снизилось более чем в 3 раза. В последующие 3 года отмечен рост количества собираемых клещей. Возможно, это связано с ранней и холодной осенью 2016 г. [21].

Соотношение видов выделяемых клещей в данный период также изменялось (рис. 7). В 2015 г. в Ульяновской области 72% клещей принадлежали виду *D. reticulatus*. К 2018 г. их доля снизилась до 24%. В этот же временной период доля клещей вида *D. marginatus* выросла с 8% в 2017 г. до 58% в 2018 г. Доля клещей *I. ricinus* менялась незначительно (с 19 до 16%). Присутствие клещей видов *I. persulcatus* и *Rh. rossicus* было минимальным – на уровне единиц процентов.

Часть собранных в поле клещей была подвергнута лабораторным исследованиям на предмет присутствия в них возбудителей инфекционных заболеваний (таблица).

Согласно этим данным, около 9% исследуемой выборки

клещей были заражены микроорганизмами различных видов: *B. burgdorferi*, *Borrelia afzelii*, *Babesia canis* и *Anaplasma phagocytophilum*. Наибольшая степень зараженности отмечалась у клещей рода *Ixodes*. До 20% особей были заражены боррелиями (*B. burgdorferi* и *B. afzelii*). В значительно меньшей степени (4–7% особей) были заражены возбудителями клещи рода *Dermacentor*. В основном это были бабезии. Очень небольшой процент клещей был заражен анаплазмой. Интересно отметить, что в одном из экземпляров *I. persulcatus* были обнаружены одновременно две разных бактерии – *B. burgdorferi* и *A. phagocytophilum*.

B. burgdorferi sensu stricto и *B. afzelii* – возбудители клещевого боррелиоза, лайм-боррелиоза. Вызывают поражения суставов, артриты, акродерматиты без покраснения в месте присасывания или с проявлением в виде «мигрирующей эритемы» – кольцеобразного покраснения красноватого цвета [12].

B. canis – гемопротозоид, передающийся клещами, которые инфицируют млекопитающих и птиц. Оказывает серьезное влияние на здоровье сельскохозяйственных и домашних животных. С заболеванием связаны экономические издержки во всем мире [22].

Несмотря на относительно низкую долю клещей рода *Ixodes* в общей популяции клещей, высокая степень их зараженности возбудителями боррелиоза (от 16 до 21%) свидетельствует об их опасности для человека и животных. Клещи рода *Dermacentor*, как носители *B. canis*, представляют большую опасность для животных, в частности собак (рис. 8, таблица).

Картирование точек отбора зараженных клещей выявило, что точки отбора клещей, зараженных *B. afzelii*, расположены на севере области в районе Ульяновска и на берегу Куйбышевского водохранилища; *B. canis* – диффузно по территории области; *B. burgdorferi* – вблизи Ульяновска и на берегу Куйбышевского водохранилища.

В России отмечаются тенденции к расширению ареала обитания иксодовых клещей, увеличению периода их активности, растет число укушенных людей и, как следствие, заболеваемость трансмиссивными инфекционными болезнями [23]. В связи с этим не утрачивает актуальности мониторинг распространения клещей и носительства ими возбудителей инфекций, а также оптимизация мероприятий противоземического характера [24].

Проведенный пространственно-временной мониторинг распространения клещей на территории Ульяновской области и исследование их зараженности возбудителями инфекционных заболеваний указывают на необходимость продолжения этих работ. Необходимы также корреляционные исследования между активностью клещей и климатическими

параметрами среды в целях исследования их влияния на биологию клещей и возможных прогнозов эпидситуации, связанной с клещами-переносчиками.

Районирование распространения отдельных видов клещей, информация об их сезонной активности и носительстве бактерий-возбудителей инфекционных заболеваний может послужить основой для организации профилактических мероприятий в рамках эпидемиологического надзора, а также информирования населения об угрозах и опасностях, связанных с клещами – переносчиками инфекций, в конкретных районах Ульяновской области.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Financial support

The work was carried out within the framework of the sectoral program of Rospotrebnadzor.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

1. Трансмиссивные болезни [Electronic resource]. URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases> (дата обращения 20.05.2021).
2. Захваткин ЮА. Акарология – наука о клещах: История развития. Современное состояние. Систематика. Учебное пособие. М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ»; 2012, с. 177-179.
3. Забашта СН. Введение в ветеринарную акарологию. Методические указания для проведения практических занятий для аспирантов по дисциплине «Акарология». Краснодар: КГАУ; 2015, с. 1-31.
4. Коренберг ЭИ, Помелова ВГ, Осин НС. Природноочаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. Под ред. Гинцбурга АЛ, Злобина ВН. М.: Наука; 2013; 463 с.
5. Sirotkin MB, Korenberg EI. Influence of Abiotic Factors on Different Developmental Stages of the Taiga Tick *Ixodes persulcatus* and the Sheep Tick *Ixodes Ricinus*. *Entmol Rev.* 2018;98(4):496-513.
6. Filippova NA. Taxonomic Aspects of the Study of Lyme Disease Vectors. *Parazitologiya.* 1990;24(4):257-7.
7. Filippova NA. Specific Features of Biodiversity of the European Hard Ticks (*Acarina, Ixodidae*) as Vectors of Diseases with Natural Nidality. *Parazitologiya.* 2011;45(3):161-81.
8. Коренберг ЭИ, Помелова ВГ, Осин НС. Природноочаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. М.: ООО комментарий; 2013, 464 с.
9. Санитарно-эпидемиологическая обстановка [Электронный ресурс]: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителя и благополучия человека по Приморскому краю. URL: http://25.rospotrebnadzor.ru/epidemiologic_situation (дата обращения 05.12.17).
10. Баранова ЕВ, Бикетов СФ, Говорунов ИГ, Щит ИЮ, Решетняк ТВ, Фольмер АВ. Мониторинг инфицированности клещей-переносчиков возбудителей боррелиозов на территории Ульяновской области. Свидетельство о регистрации базы данных RUS 2021620011 12.01.2021
11. Courtney JW, Kostelnik LM, Zeidner NS, Massung RF. Multiplex real-time PCR for detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi*. *J Clin Microbiol.* 2004 Jul;42(7):3164-8. DOI: 10.1128/JCM.42.7.3164-3168.2004
12. Алексеев АН, Дубинина ЕВ. Опасные и очень опасные соседи: «энцефалитные» клещи. (Серия «Разнообразие животных». Вып.8). М.; СПб.: Т-во научных изданий КМК; 2014, 81 с., 8 с.
13. Сердюкова ГВ. Иксодовые клещи фауны СССР. М.; Ленинград: Изд-во Акад. наук СССР; 1956, 122 с.
14. Таежный клещ: среда обитания, чем опасен [Electronic resource]. URL: <https://klopsos.ru/kleshhi/taezhnyj-kleshh/> (дата обращения 28.04.2021).
15. Собачий клещ: фото, описание, жизненный цикл, опасность для человека и животного [Electronic resource]. URL: <https://dezoff.ru/kleshhej/sobachiy-kleshch/> (дата обращения 26.05.2021).
16. Клещ Дермацентор: описание и фото [Electronic resource]. URL: <https://apest.ru/kleshhi/vidy-kleshhej/kleshch-dermacentor/> (дата обращения 28.01.2021).
17. Виды клещей и защита от них – фото [Electronic resource]. URL: <https://hloptarakan.ru/kleshhh/vse-o-kleshhhah/vidy-kleshhej-i-zashhita-ot-nih-foto.html> (дата обращения 28.01.2021).
18. Турцева МА, Котоманова ВГ, Сантылова ОА, Сапирова ОЛ. Особенности экологии *Rhipicephalus rossicus* (Yakimov et Kohl-Yakimova, 1911) в Саратовской области. Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье. 2007;6:99-102.
19. Христиановский ПИ, Белименко ВВ, Быстров ИВ, Новосад ЕВ. Фенология иксодовых клещей на Южном Урале. Российский паразитологический журнал. 2016;36(2):141-7.
20. Погода на территории Российской Федерации в 2015 году. [Electronic resource]. URL: <http://meteo.ru/93-klimaticheskie-usloviya/606-pogoda-na-territorii-rossijskoj-federatsii-v-2015-godu> (дата обращения 28.01.2021).
21. Погода на территории Российской Федерации в 2016 году. [Electronic resource]. URL: <http://meteo.ru/93-klimaticheskie-usloviya/697-pogoda-na-territorii-rossijskoj-federatsii-v-2016-godu> (дата обращения 29.01.2021).
22. Solano-Gallego L, Sainz Á, Roura X, Estrada-Peña A, Miró G. A review of canine babesiosis: the European perspective. *Parasit Vectors.* 2016 Jun 11;9(1):336. DOI: 10.1186/s13071-016-1596-0
23. Ястребов ВК, Рудаков НВ, Рудакова СА. Эпидемиология трансмиссивных клещевых инфекций в России. Здоровье населения и среда обитания. 2016;11(284):8-12.
24. Ястребов ВК, Хазова ТГ. Оптимизация системы эпидемиологического надзора и профилактики клещевого вирусного энцефалита. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2012;1(62):19-24.

References

1. Vector-borne diseases [Electronic resource]. URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases> (accessed 20.05.2021). (In Russian).
2. Zakhvatkin YuA. Akarologiya – nauka o kleshchakh: Istoriya razvitiya. Sovremennoe sostoyanie. Sistematika. Moscow: "LIBROKOM" Publ.; 2012, pp. 177-179.
3. Zabashta SN. Vvedenie v veterinarnuyu akarologiyu. Metodicheskie ukazaniya dlya provedeniya prakticheskikh zanyatii dlya aspirantov po distsipline «Akarologiya». Krasnodar, 2015, pp. 1-31. (In Russian).
4. Korenberg EI, Pomelova VG, Osin NS. Prirodnoochagovye infektsii, peredayushchiesya iksodovymi kleshchami. Edited by Gintsburg AL, Zlobin VN. Moscow: "Nauka" Publ.; 2013; 463 p. (In Russian).
5. Sirotkin MB, Korenberg EI. Influence of Abiotic Factors on Different Developmental Stages of the Taiga Tick *Ixodes persulcatus* and the Sheep Tick *Ixodes Ricinus*. *Entmol Rev.* 2018;98(4):496-513.
6. Filippova NA. Taxonomic Aspects of the Study of Lyme Disease Vectors. *Parazitologiya.* 1990;24(4):257-7.
7. Filippova NA. Specific Features of Biodiversity of the European Hard Ticks (*Acarina, Ixodidae*) as Vectors of Diseases with Natural Nidality. *Parazitologiya.* 2011;45(3):161-81.

8. Korenberg EI, Pomelova VG, Osin NS. Prirodnoochagovye infektsii, peredayushchiesya iksodovymi kleshchami. Moscow: "000 kommentarii" Publ.; 2013. 464 p. (In Russian).
9. Sanitary and epidemiological situation [Electronic resource]: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-being in the Primorsky Territory. URL: http://25.rosпотребнадзор.ru/epidemiologic_situation (accessed 05.12.17). (In Russian).
10. Baranova EV, Biketov SF, Govorunov IG, Shchit IYu, Reshetnyak TV, Folmer AV. Monitoring of infection of ticks-carriers of pathogens of borreliosis in the territory of the Ulyanovsk region. Certificate of registration of the database. RUS 2021620011 12.01.2021 (In Russian).
11. Courtney JW, Kostelnik LM, Zeidner NS, Massung RF. Multiplex real-time PCR for detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi*. J Clin Microbiol. 2004 Jul;42(7):3164-8. DOI: 10.1128/JCM.42.7.3164-3168.2004
12. Alekseev AN, Dubinina EV. Opasnye i ochen' opasnye sosedi: «entsefalitnye» kleshchi. (Seriya «Raznoobrazie zhivotnykh». Vol. 8). Moscow; St. Petersburg, 2014, 81 p. (In Russian).
13. Serdyukova GV. Iksodovye kleshchi fauny SSSR. Moscow; Leningrad; 1956, 122 p. (In Russian).
14. Tazhnyi kleshch: sreda obitaniya, chem opasen [Electronic resource]. URL: <https://klopsos.ru/kleshhi/tazhnyi-kleshh/> (accessed 28.04.2021). (In Russian).
15. Sobachii kleshch: foto, opisaniye, zhiznennyi tsikl, opasnost' dlya cheloveka i zhivotnogo [Electronic resource]. URL: <https://dezzoff.ru/kleshhej/sobachiy-kleshch/> (accessed 26.05.2021). (In Russian).
16. Kleshch Dermatsentor: opisaniye i foto [Electronic resource]. URL: <https://apest.ru/kleshhi/vidy-kleshhej/kleshch-dermatsentor/> (accessed 28.01.2021). (In Russian).
17. Vidy kleshchei i zashchita ot nikh – foto [Electronic resource]. URL: <https://hloptarakan.ru/kleshh/vse-o-kleshhah/vidy-kleshhej-i-zashchita-ot-nih-foto.html> (accessed 28.01.2021). (In Russian).
18. Turtseva MA, Kotomanova VG, Santilova OA, Sapirova OL. Peculiarities of ecology *Rhipicephalus Rossicus* (Yakimov et Kohl-Yakimova, 1911) of the Saratov Province. Entomologicheskije i parazitologicheskije issledovaniya v Povolzh'e. 2007;6:99-102. (In Russian).
19. Khristianovskiy PI, Belimenko VV, Byistrov IV, Novosad EV. Phenology of hard ticks in Southern Ural. Russian Journal of Parasitology. 2016;36(2):141-7. (In Russian).
20. Weather on the territory of the Russian Federation in 2015 [Electronic resource]. URL: <http://meteo.ru/93-klimaticheskije-usloviya/606-pogoda-na-territorii-rossijskoj-federatsii-v-2015-godu> (accessed 28.01.2021). (In Russian).
21. Weather on the territory of the Russian Federation in 2016 [Electronic resource]. URL: <http://meteo.ru/93-klimaticheskije-usloviya/697-pogoda-na-territorii-rossijskoj-federatsii-v-2016-godu> (accessed 29.01.2021). (In Russian).
22. Solano-Gallego L, Sainz Á, Roura X, Estrada-Peña A, Miró G. A review of canine babesiosis: the European perspective. Parasit Vectors. 2016 Jun 11;9(1):336. DOI: 10.1186/s13071-016-1596-0
23. Yastrebov VK, Rudakov NV, Rudakova SA. Epidemiology of the transmissible tick-borne infections in Russia. Public Health and Life Environment. 2016;11(284):8-12. (In Russian).
24. Yastrebov VK, Khazova G. The optimization of the system of epidemiological surveillance and prophylactic of the tick-borne viral encephalitis. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2012;1(62):19-24. (In Russian).

Информация об авторах:

Щит Ирина Юрьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
 Телефон: (4967) 36-0065
 E-mail: irina_shchit@mail.ru

Решетняк Татьяна Викторовна, научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
 Телефон: (4967) 36-0065
 E-mail: irina_shchit@mail.ru

Баранова Евгения Владимировна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
 Телефон: (4967) 36-0065

Нафеев Александр Анатольевич, доктор медицинских наук, заведующий отделением обеспечения эпидемиологического надзора за особо опасными инфекциями, природно-очаговыми инфекциями, профилактики туберкулеза ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ульяновской области»; профессор кафедры инфекционных и кожно-венерических болезней медицинского факультета ФБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»
 Адрес: 432005, Ульяновск, ул. Пушкирева, 5
 Телефон: (8422) 40-5663
 E-mail: nafeev@mail.ru

Колемагина Елена Викторовна, энтомолог отдела обеспечения эпидемиологического надзора, отделение обеспечения надзора медицинской паразитологии, кишечных инфекций и кожно-венерологических заболеваний ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ульяновской области»
 Адрес: 432005, Ульяновск, ул. Пушкирева, 5
 Телефон: (8422) 40-5663
 E-mail: e.kolemagina73@mail.ru

Вовкотеч Павел Григорьевич, энтомолог отдела обеспечения эпидемиологического надзора, отделение обеспечения надзора медицинской паразитологии, кишечных инфекций и кожно-венерологических заболеваний ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ульяновской области»
 Адрес: 432005, Ульяновск, ул. Пушкирева, 5
 Телефон: (8422) 40-5663
 E-mail: vovkotech87@mail.ru

Фольмер Анастасия Владимировна, инженер отдела информационных технологий ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
 Телефон: (4967) 36-0046
 E-mail: afolmer1990@mail.ru

Бикетов Сергей Федорович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
 Телефон: (4967) 36-0065
 E-mail: biketov@obolensk.org

Information about authors:

Irina Yu. Shchit, PhD (Biological Sciences), Senior Researcher, Department of Immunobiology of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
 Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0065
 E-mail: irina_shchit@mail.ru

Tatyana V. Reshetnyak, Researcher of Department of Immunobiology of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
 Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0065
 E-mail: irina_shchit@mail.ru

Evgenia V. Baranova, MD, PhD, Leading Researcher of Department of Immunobiology of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
 Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0065

Alexander A. Nafeev, MD, PhD, DSc, Department of Epidemiological Surveillance, Head of the Department for Epidemiological Surveillance for Especially Dangerous Infections, Natural Focal Infections, Tuberculosis Prevention, Center for Hygiene and Epidemiology in the Ulyanovsk Region; Professor of the Department of Infectious and Skin-Venereal Diseases, Faculty of Medicine, Ulyanovsk State University
 Address: 5 Pushkarev str., Ulyanovsk, 432005, Russian Federation
 Phone: (8422) 40-5663
 E-mail: nafeev@mail.ru

Elena V. Kolemagina, entomologist, Department of Epidemiological Surveillance, Department for Epidemiological Surveillance for Especially Dangerous Infections, Natural Focal Infections, Tuberculosis Prevention, Center for Hygiene and Epidemiology in the Ulyanovsk Region
Address: 5 Pushkarev str., Ulyanovsk, 432005, Russian Federation
Phone: (8422) 40-5663
E-mail: e.kolemagina73@mail.ru

Pavel G. Vovkotech, entomologist, Department of Epidemiological Surveillance, Department for Epidemiological Surveillance for Especially Dangerous Infections, Natural Focal Infections, Tuberculosis Prevention, Center for Hygiene and Epidemiology in the Ulyanovsk Region
Address: 5 Pushkarev str., Ulyanovsk, 432005, Russian Federation
Phone: (8422) 40-5663
E-mail: vovkotech87@mail.ru

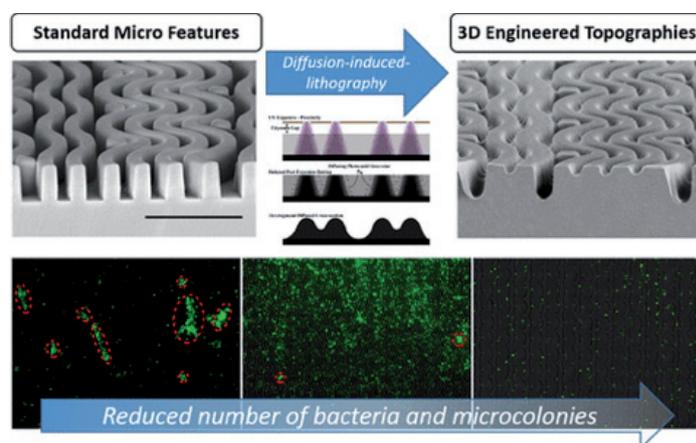
Anastasia V. Folmer, engineer, Information Technology Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0046
E-mail: afolmer1990@mail.ru

Sergey F. Biketov, PhD (Biological Science), Leading Researcher of Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0065
E-mail: biketov@obolensk.org

НОВОСТИ НАУКИ

Трехмерные микрорельефы сдерживают раннюю адгезию бактерий и могут исключить колонизацию

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) утверждает, что разработка стратегий профилактики бактериальных инфекций, не связанных с использованием лекарств, рассматривается во всем мире как важное средство сдерживания волны устойчивости к противомикробным препаратам. С учетом того, что многие устойчивые к противомикробным препаратам инфекции вызваны бактериальной колонизацией медицинских устройств, таких как катетеры и аппараты ИВЛ, использование микротехнических поверхностей для предотвращения первоначального прикрепления микробов к этим устройствам является многообещающим решением. Показано, что 3D-инженерные поверхности могут подавлять начальные фазы поверхностной колонизации *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*, представляющих три наиболее распространенных бактериальных инфекции мочевыводящих путей, ассоциированных с катетером, которые ВОЗ идентифицировала как неотложные угрозы. Различные конструкции, включая 11 различных топографий и конфигураций, которые демонстрировали случайное распределение, острые выступы и/или криволинейные формы с размерами от 500 нм до 2 мкм, были протестированы, чтобы лучше понять начальные стадии колонизации поверхности и как оптимизировать дизайн поверхности для улучшенного ингибирования. Эти топографии были изготовлены в двух конфигурациях для получения либо стандартного двумерного поперечного сечения, либо трехмерной инженерной топографии с использованием нового процесса УФ-литографии, обеспечивающего рентабельное высокопроизводительное производство. Оценка количества прикрепившихся бактерий и микроколоний, образованных всеми тремя бактериальными патогенами на разных поверхностях, дает представление о начальной фазе колонизации роста бактерий на различных поверхностях. Результаты демонстрируют, что как первоначальное прикрепление, так и последующее заселение могут быть значительно уменьшены на конкретных трехмерных образцах по сравнению с плоскими подложками и стандартными двумерными микрошаблонами. Таким образом, эта технология имеет большой потенциал для уменьшения колонизации бактерий на поверхностях в клинических условиях без необходимости химической обработки, которая может повысить устойчивость к противомикробным препаратам.



Ghavamian S., et al.

Three-Dimensional Micropatterning Deters Early Bacterial Adherence and Can Eliminate ACS Appl Colonization. Mater Interfaces. 2021 May 26;13(20):23339-23351. DOI: 10.1021/acsami.1c01902

Носительство и молекулярно-генетические особенности метициллин-резистентных *Staphylococcus aureus* среди студентов-медиков

О.Е.Хохлова¹, Я.Ивао², В.В.Камшилова³, Н.К.Поткина⁴, Д.Н.Акушева⁴, Т.Ямамото²

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболensk, Московская область, Российская Федерация;

²Международный медицинский образовательно-исследовательский центр (IMERC) Ниигата, Япония;

³КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница скорой медицинской помощи им. Н.С.Карповича», Красноярск, Российская Федерация;

⁴ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф.Войно-Ясенецкого», Красноярск, Российская Федерация

Длительное носительство *Staphylococcus aureus* выявляется в среднем у 30% населения и играет важную роль в развитии инфекционных заболеваний. Молекулярное типирование и анализ штаммов *S. aureus*, колонизирующих популяцию людей, важны для выявления штаммов с особой вирулентностью и антибиотикорезистентностью. Цель работы – изучение уровня носительства и молекулярно-генетических особенностей метициллин-резистентных *S. aureus* (MRSA), циркулирующих среди студентов. В 2008–2017 гг. на наличие *S. aureus*, в том числе MRSA, были обследованы 2503 студента 1–3-го курсов медицинского университета. Мазки из передних отделов носа исследовали бактериологическим методом. Антибиотикочувствительность определяли диско-диффузионным методом, методом серийных разведений в агаре Мюллера–Хинтона, методом Е-теста. Типировали штаммы PFGE, MLST, *spa*, *agr*, SCCmec, коагулазотипирование. Выявляли 49 генов вирулентности методом полимеразной цепной реакции. Уровень продукции токсина SEA выявляли в реакции латекс-агглютинации. У студентов колонизация *S. aureus* выявлена в 21,5% случаев, доля носительства MRSA составила 0,04%. Встречаемость MDR-штаммов среди MSSA составила 13,9%. Выделенный штамм MRSA относился к ST8/spat008/SCCmecIV.3.1.1./coall/agr1/sea, резистентный к ципрофлоксацину, левофлоксацину, хлорамфениколу. Уровень продукции энтеротоксина SEA – 1,024 нг/мл. Генетически был схож со штаммами ST8, выделенными от больных в первые часы госпитализации. Спустя 7 лет был повторно выделен штамм MRSA, относящийся к тому же генетическому варианту. Таким образом, выявлено длительное (7 лет) носительство одного генетического варианта MRSA. С течением времени произошло изменение штамма в сторону увеличения минимальной подавляющей концентрации к ванкомицину и принадлежности к hVISA, а также сформировалась резистентность к хлорамфениколу.

Ключевые слова: метициллин-резистентные *Staphylococcus aureus*, бактерионосительство, молекулярно-генетические особенности, генотип, антибиотикорезистентность, гены вирулентности

Для цитирования: Хохлова О.Е., Ивао Я., Камшилова В.В., Поткина Н.К., Акушева Д.Н., Ямамото Т. Носительство и молекулярно-генетические особенности метициллин-резистентных *Staphylococcus aureus* среди студентов-медиков. Бактериология. 2021; 6(1): 25–31. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-25-31

Carriage and molecular-genetic features of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among medical students

О.Е.Khokhlova¹, Y.Iwao², V.V.Kamshilova³, N.K.Potkina⁴, D.N.Akusheva⁴, T.Yamamoto²

¹State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;

²International Medical Education and Research Center, Niigata, Japan;

³V.F.Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation;

⁴N.S.Karpovich Krasnoyarsk State Emergency Hospital, Krasnoyarsk, Russian Federation

Для корреспонденции:

Хохлова Ольга Евгеньевна, доктор биологических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболensk, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 311-937
E-mail: khokhlovaol@mail.ru

Статья поступила 05.04.2021 г., принята к печати 30.06.2021 г.

For correspondence:

Olga E. Khokhlova, PhD, DSc (Biological Sciences), senior researcher, department of molecular microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology

Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 311-937
E-mail: khokhlovaol@mail.ru

The article was received 05.04.2021, accepted for publication 30.06.2021

Long-term carriage of *Staphylococcus aureus* is detected on average in 30% of the population and plays an important role in the development of infectious diseases. Molecular typing and analysis of *S. aureus* strains colonizing the human population is important for identifying strains with particular virulence and antibiotic resistance. The aim of the work is to study the level of carriage and molecular genetic characteristics of MRSA circulating among students. 2503 students of 1–3 courses of medical university were examined for the presence of *S. aureus*, including MRSA in 2008–2017. Anterior nasal swabs were examined bacteriologically. Antibiotic sensitivity was determined by the disk diffusion method, serial dilutions in Mueller–Hinton agar, the E-test method. The strains were typed – PFGE, MLST, *spa*, *agr*, SCCmec, coagulase typing. 49 virulence genes were identified by PCR. For detection the level of SEA toxin production we used latex agglutination reaction. Colonization of *S. aureus* was detected in students in 21.5% of cases, the proportion of MRSA carriage was 0.04%. The incidence of MDR strains among MSSA was 13.9%. The isolated MRSA strain belonged to ST8/spat008/SCCmecIV.3.1.1./CoaIII/agr1/sea, resistant to ciprofloxacin, levofloxacin, chloramphenicol. The level of production of enterotoxin SEA is 1.024 ng/ml. It was genetically similar to ST8 strains isolated from patients during the first hours of hospitalization. After 7 years, the MRSA strain was re-isolated, belonging to the same genetic variant. Thus, a long-term (7 years) carriage of one genetic variant of MRSA was revealed. Over time, the strain changed towards an increase in MIC to vancomycin and to hVISA, and chloramphenicol resistance developed.

Key words: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, bacteria carrier, molecular genetic characteristics, genotype, antibiotic resistance, virulence genes

For citation: Khokhlova O.E., Iwao Y., Kamshilova V.V., Potkina N.K., Akusheva D.N., Yamamoto T. Carriage and molecular-genetic features of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among medical students. Bacteriology. 2021; 6(1): 25–31. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-25-31

S *Staphylococcus aureus* нередко колонизирует организм [1, 2]. Порядка 20% взрослого населения являются постоянными носителями *S. aureus*, показатели варьируют от 9 до 37% среди различных категорий не госпитализированной популяции людей [3]. Около 30% населения являются транзиторными носителями, показатели варьируют от 9 до 69% [4].

Длительное носительство чаще связано с мужским полом, наличием аллергии и профессиональными контактами с животными, тогда как временное носительство коррелирует с мужским полом, приемом антибиотиков и молодым возрастом [5]. Другие факторы также влияют на уровень носительства: этническая принадлежность, доступность медицинской помощи; в развитых странах процент носительства выше, чем в развивающихся; внутривенное употребление наркотиков; ВИЧ; мутации в генах, связанные с факторами иммунной системы; рецепторы на клеточной поверхности, такие как TLR-2, неразрывно связаны с носительством [6]. Наиболее высокий уровень носительства *S. aureus*, в том числе метициллин-резистентных (MRSA), выявлен у младенцев. Например, на Тайване у младенцев в течение первых 12 мес. жизни уровень носительства *S. aureus* варьировал от 12,2 до 61,0%, колонизация MRSA была обнаружена у 6,7–41,7% [7]. Частота носительства *S. aureus* у студентов медицинских ВУЗов в Российской Федерации (РФ) в 2015 г. составила 35%; частота выделения MRSA – 1,25% [8, 9]. Хронические поражения кожи – известный фактор риска колонизации MRSA, который, возможно, способствует длительному носительству. Помимо факторов со стороны организма человека, на статус носителя-хозяина могут влиять факторы, связанные с самим патогеном, а также с микробиотой носа [10, 11].

Наиболее часто в популяции *S. aureus*, колонизирующей носовую полость здоровых людей с разных континентов, выявляли клональные комплексы CC5, CC8, CC15, CC22, CC25, CC30 и CC45 [12–14]. Другие клональные комплексы, такие как CC7, CC9, CC12, CC59 и CC121, обнаруживались достаточно редко.

Колонизация *S. aureus* играет важную роль в развитии инфекционных заболеваний [15]. Предыдущие исследования показали, что по сравнению с чувствительными к метициллину *S. aureus* (MSSA) колонизация MRSA представляет

значительно больший риск развития последующих инфекций [16, 17]. Актуальны инфекции, вызванные MRSA и ванкомицин-резистентными штаммами *S. aureus* (VRSA), варьируют от фурункулов, карбункулов и других инфекций кожи и мягких тканей до остеомиелита, эндокардита и сепсиса [18–20]. В США количество инфекций, вызванных MRSA, составляет порядка 80000 случаев, со смертностью около 11000 случаев в год [21–23]. Общие затраты на терапию MRSA-инфекций выше, чем на терапию инфекций, вызванных MSSA [24, 25].

MRSA-инфекции представляют собой серьезную проблему в медицинских учреждениях из-за распространения эпидемических клонов, связанных с оказанием медицинской помощи (HA-MRSA) [26–28], чуть позже распространились эпидемические амбулаторные штаммы MRSA (CA-MRSA) [29, 30], позднее выявили инфекции, связанные с животноводством (LA-MRSA) [31]. Колонизация MRSA может приводить к развитию различных по локализации и тяжести инфекций – поверхностных и инвазивных [32].

Молекулярное типирование и анализ штаммов *S. aureus*, колонизирующих популяцию людей, важны для выявления штаммов с особой вирулентностью и антибиотикорезистентностью. Кроме того, необходимо изучать изменения свойств колонизирующих агентов, связанные с санацией носителя, в том числе с помощью антибиотиков.

Целью данной работы явилось изучение уровня носительства и молекулярно-генетические особенности метициллин-резистентных *S. aureus*, циркулирующих среди студентов.

Материалы и методы

В 2008–2017 гг. на наличие *S. aureus*, в том числе MRSA, были обследованы 2503 студента 1–3-го курсов медицинского университета. Возраст студентов 18–29 лет (средний возраст – 19,0 ± 3,18 года). Доля мужчин составила 33,7% (844 человек), женщин – 66,3% (1659). Все обследованные были проанкетированы с целью выявления факторов риска колонизации нозокомиальными MRSA. Работу проводили в соответствии с биомедицинской этикой при одобрении локального этического комитета ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого Минздрава России (№28/2010).

Критерии включения: возраст ≥ 18 лет, проживание на территории г. Красноярск / Красноярского края, обучение в университете. Критерии исключения: госпитализация за последние 6 мес., острые и хронические заболевания на момент обследования.

Стерильными ватными тампонами забирали мазки из передних отделов носа с последующим высевом на селективную среду маннит-солевой агар (ФБУН ГНЦ ПМБ) с добавлением яичного желтка или на желточно-солевой агар методом «штрих с площадкой». Культивировали в течение 24–48 ч. Выделенные культуры идентифицировали по морфотипическим, культуральным и биохимическим свойствам рутинным способом, а также помощью тест-систем фирмы Remel (США) в соответствии с инструкцией производителя. Антибиотикочувствительность определяли диско-диффузионным методом на агаре Мюллера–Хинтона (Becton Dickinson and Co., Madison, Wis.; ФБУН ГНЦ ПМБ) с дисками (OXOID, Великобритания; Bio-Rad, США). Чувствительность стафилококков к оксациллину (Sigma-Aldrich, США), цефокситину (OXOID, Великобритания) проводили методом скрининга в соответствии с международными рекомендациями CLSI, EUCAST [33, 34]. Для определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) для различных антимикробных химиопрепаратов у штаммов MRSA использовали метод серийных разведений в агаре Мюллера–Хинтона (Becton Dickinson and Co., Madison, Wis., США), а также метод Е-теста (Bio Merieux, Франция). Для контроля использовали контрольные штаммы коллекции ATCC (*S. aureus* ATCC 25923). Обработку результатов антибиотикочувствительности проводили с использованием компьютерной программы WHOnet 5.6.

Хромосомную ДНК из штаммов MRSA выделяли термическим способом. Для типирования штаммов использовали гель-электрофорез в пульсирующем поле (PFGE), MLST-типирование, *sra*-типирование, *agr*-, SCCmec-типирование, коагулазотипирование. Выявляли 49 генов вирулентности методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Выявление ПЦР-продуктов проводили с горизонтальным электрофорезом в 1,5%-м геле. Определение молекулярной массы ПЦР-продуктов проводили с использованием 100 п.н. DNA маркера (Sigma-Aldrich Japan, Tokyo). Выявление уровня продукции токсина SEA проводили в реакции латекс-агглютинации с SET-RPLA (Denka Seiken) в соответствии с инструкцией производителя.

Результаты и обсуждение

У обследованных студентов колонизация *S. aureus* слизистых оболочек носа выявлена в 21,5% случаев. В 2009 г. установлено носительство MRSA у одного студента 2-го курса лечебного факультета, не имевшего факторов риска колонизации госпитальными штаммами. Таким образом, доля носительства MRSA среди студентов составила 0,04%.

При исследовании антибиотикочувствительности у штаммов MSSA, выделенных от студентов, было установлено, что встречаемость штаммов микроорганизмов, резистентных к 3 и более классам антибактериальных препаратов (мультирезистентные – MDR) среди MSSA составила 13,9%. Изоляты MSSA, выделенные от студентов, были устойчивы к пени-

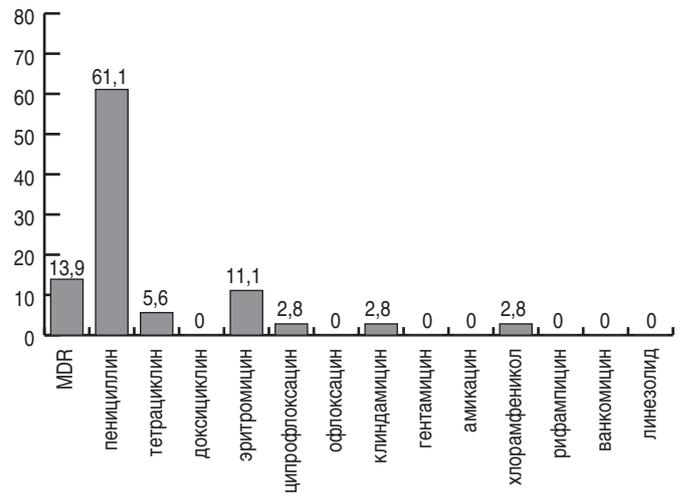


Рис. 1. Результаты определения антибиотикоустойчивости (%) у изолятов MSSA, выделенных от студентов.

циллину в 61,1% случаев, к тетрациклину – в 5,6%, к эритромицину – в 11,1%, в 2,8% случаев устойчивы к клиндамицину, ципрофлоксацину и хлорамфениколу соответственно. Изоляты MSSA, выделенные от студентов, сохраняют 100%-ю чувствительность к аминогликозидам, рифампицину, ванкомицину, линезолиду (рис. 1).

Из 537 выделенных *S. aureus* 1 (0,17%) штамм являлся Пантон–Валентайн лейкоцидин-отрицательным MRSA (табл. 1). Выделенный штамм MRSA (OC217) относился к ST8, *sra*1 (t008), SCCmec IV.3.1.1., *coa* III, *agr* 1. У выделенного штамма MRSA выявили лейкоцидин lukED, гемолизины, энтеротоксин SEA, адгезины (за исключением *сна*, *bbp*).

Установили уровень продукции энтеротоксина SEA – 1,024 нг/мл. МПК для оксациллина составила 32 мкг/мл, имипенема – 0,125 мкг/мл. Выделенный штамм оказался резистентным к ципрофлоксацину, левофлоксацину, хлорамфениколу (табл. 2). Также выделенный штамм MRSA (OC217) характеризовался чувствительностью к тяжелым металлам (кадмий).

По результатам гель-электрофореза в пульсирующем поле изолированный от студента штамм MRSA (217) генетически был схож со штаммами, выделенными от больных в первые часы госпитализации и принадлежащими также к ST8 (рис. 2).

Спустя 7 лет бывший студент медицинского университета, у которого был выделен штамм MRSA, был обследован повторно на предмет носительства MRSA. На момент по-

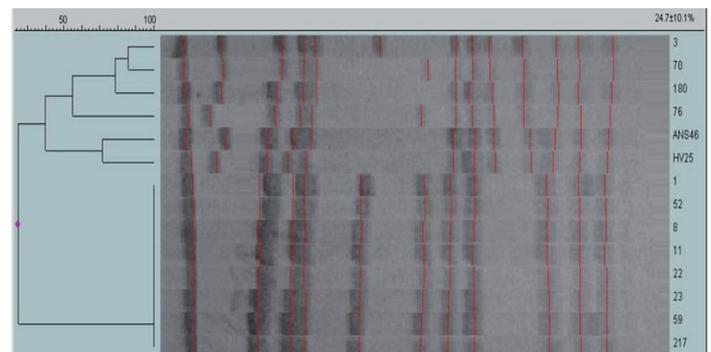


Рис. 2. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов MRSA, изолированных в г. Красноярске.

Таблица 1. Молекулярно-генетическая характеристика изолята MRSA, выделенного от студента

Определяемые характеристики	Результаты (n = 1)
CC	8
ST	8
<i>sra</i>	1 (t008)
SCCmec	IV.3.1.1 (IVc)
<i>agr</i>	1
<i>coa</i>	III
<i>lukPVSF</i>	–
<i>lukE-lukD</i>	+
<i>lukM</i>	–
<i>hla, hlg, hlg-v</i>	+
<i>hly (split)</i>	(+)
<i>psma, hld</i>	+
<i>sea</i>	+
<i>tst</i>	–
<i>sec, sep, seb, sed, see, seh, set, sel</i>	–
<i>SapI5 (sek, seq)</i>	–
<i>sej, seu, egc*</i>	–
<i>eta, etb, etd</i>	–
<i>c12ag'</i>	+
<i>cna, bbp</i>	–
ACME (<i>arcA</i>)	–
<i>ssl</i>	–
<i>edin</i>	–

вторного обследования он являлся клиническим врачом в крупном стационаре г. Красноярска. От него был также выделен MRSA, относящийся к тому же генетическому варианту, то есть мы можем предположить наличие длительного носительства MRSA. Сопоставив результаты антибиотикочувствительности 2 штаммов, выделенных от одного человека с промежутком в 7 лет, установили различия в уровнях МПК для ванкомицина – в 2016 г. произошло увеличение МПК, составившей 3 мкг/мл, по сравнению с 2009 г. Таким образом, штамм отнесен к hVISA [35].

Таким образом, выявлено длительное (7 лет) носительство одного генетического варианта MRSA. При этом в 2009 г. штамм MRSA был отнесен к внебольничным, т.к. был выделен на тот момент от студентки, не имевшей факторов риска инфицирования госпитальными штаммами, и по характеристикам относился к штаммам внебольничного происхождения. При обследовании в 2016 г. данный сотрудник уже несколько лет работал в крупном стационаре. С течением времени произошло изменение штамма в сторону увеличения МПК к ванкомицину и принадлежности к hVISA, а также сформировалась резистентность к хлорамфениколу.

Информация о финансировании

Работа выполнена при финансовой поддержке государственного задания Министерства здравоохранения РФ по теме «Молекулярно-генетические основы патогенности и антибиотикорезистентности актуальных нозокомиальных и вне-

Таблица 2. Характеристика антибиотикочувствительности штаммов MRSA, изолированных в 2009 и 2016 гг.

Антимикробные препараты	Результаты антибиотикорезистентности	
	2009 г.	2016 г.
Имипенем (МПК, мкг/мл)	0,125	0,25
Оксациллин (МПК, мкг/мл)	32	4
Ампициллин (МПК, мкг/мл)	4	4
Аминогликозиды	0%	0%
Тетрациклины	0%	0%
Макролиды	0%	0%
Линкозамиды	0%	0%
Фторхинолоны	100%	100%
Рифампицин (МПК, мкг/мл)	0% 0,0625	0% 0,006
Хлорамфеникол (МПК, мкг/мл)	100% 4	100% >32
Сульфаметоксазол/Триметоприм	0%	0%
Гликопептиды	0%	0%
Ванкомицин (МПК, мкг/мл)	0,5	3,0
Оксазолидиноны	0%	0%
Линезолид (МПК, мкг/мл)	1	1,5
Мупироцин	0%	0%
Полипептиды		
Даптомицин (МПК, мкг/мл)	–	0,25

больничных возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний различного генеза» и НИР 072 Роспотребнадзора «Молекулярно-генетические механизмы вирулентности и резистентности бактерий к антибактериальным препаратам».

Financial support

This work was carried out with financial support from the state assignment of the Ministry of Health of the Russian Federation on the topic "Molecular genetic basis of pathogenicity and antibiotic resistance of topical nosocomial and community-acquired pathogens of pyoinflammatory diseases of various origins" and R&D 072 of Rosпотребнадзор "Molecular genetic mechanisms of virulence and resistance of bacteria to antibacterial drugs".

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

1. Dantes R, Mu Y, Belflower R, Aragon D, Dumyati G, Harrison LH, et al; Emerging Infections Program – Active Bacterial Core Surveillance MRSA Surveillance Investigators. National burden of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections, United States, 2011. JAMA Intern Med. 2013 Nov 25;173(21):1970-8. DOI: 10.1001/jamainternmed.2013.10423
2. Williamson DA, Heffernan H, Nimmo G. Contemporary genomic approaches in the diagnosis and typing of *Staphylococcus aureus*. Pathology. 2015 Apr;47(3):270-5. DOI: 10.1097/PAT.0000000000000236
3. Mehraj J, Witte W, Akmatov MK, Layer F, Werner G, Krause G. Epidemiology of *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage Patterns in the Community. Curr Top Microbiol Immunol. 2016;398:55-87. DOI: 10.1007/82_2016_497

4. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, Nouwen JL. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*. 2005 Dec;5(12):751-62. DOI: 10.1016/S1473-3099(05)70295-4
5. Mehraj J, Akmatov MK, Strömler J, Gatzemeier A, Layer F, Werner G, et al. Methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage in a random sample of non-hospitalized adult population in northern Germany. *PLoS One*. 2014 Sep 24;9(9):e107937. DOI: 10.1371/journal.pone.0107937
6. Sivaraman K, Venkataraman N, Cole AM. *Staphylococcus aureus* nasal carriage and its contributing factors. *Future Microbiol*. 2009 Oct;4(8):999-1008. DOI: 10.2217/fmb.09.79
7. Tsai MH, Chiu CY, Shih HJ, Liao SL, Hua MC, Huang SH, et al. Longitudinal investigation of nasopharyngeal methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in early infancy: The PATCH birth cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2017 Feb;23(2):121.e1-121.e7. DOI: 10.1016/j.cmi.2016.10.020
8. Бажукова ТА, Симонян ЕЭ. Распространенность и характеристика носительства *Staphylococcus aureus* у студентов медицинского вуза. *Научные исследования*. 2016;9(10):74-5.
9. Широкова ИЮ, Шишкин ГА, Чанышева РФ, Глазовская ЛС, Ефимова ТВ. Распространенность и характеристика носительства *Staphylococcus aureus* у студентов медицинских вузов (двухцентровое исследование). *Медицина в Кузбассе*. 2013;12(2):79-83.
10. Lee AS, de Lencastre H, Garau J, Kluytmans J, Malhotra-Kumar S, Peschel A, Harbarth S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Dis Primers*. 2018 May 31;4:18033. DOI: 10.1038/nrdp.2018.33
11. Laux C, Peschel A, Krismer B. *Staphylococcus aureus* Colonization of the Human Nose and Interaction with Other Microbiome Members. *Microbiol Spectr*. 2019 Mar;7(2). DOI: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0029-2018.
12. Sakwinska O, Kuhn G, Balmelli C, Francioli P, Giddey M, Perreten V, et al. Genetic diversity and ecological success of *Staphylococcus aureus* strains colonizing humans. *Appl Environ Microbiol*. 2009 Jan;75(1):175-83. DOI: 10.1128/AEM.01860-08
13. Rolo J, Miragaia M, Turlej-Rogacka A, Empel J, Bouchami O, Faria NA, et al. CONCORD Working Group. High genetic diversity among community-associated *Staphylococcus aureus* in Europe: results from a multicenter study. *PLoS One*. 2012;7(4):e34768. DOI: 10.1371/journal.pone.0034768
14. Heilbronner S, Foster TJ. *Staphylococcus lugdunensis*: a Skin Commensal with Invasive Pathogenic Potential. *Clin Microbiol Rev*. 2020 Dec 23;34(2):e00205-20.
15. Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev*. 1997 Jul;10(3):505-20. DOI: 10.1128/CMR.10.3.505-520.1997
16. Ellis MW, Hospenthal DR, Dooley DP, Gray PJ, Murray CK. Natural history of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization and infection in soldiers. *Clin Infect Dis*. 2004;39:971-979.
17. Scudiero O, Brancaccio M, Mennitti C, Laneri S, Lombardo B, De Biasi MG, et al. Human Defensins: A Novel Approach in the Fight against Skin Colonizing *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics (Basel)*. 2020 Apr 21;9(4):198. DOI: 10.3390/antibiotics9040198
18. Бруси́на ЕБ, Дми́тренко ОА, Глазо́вская ЛС, Ефи́мова ТВ. Эпидемиология и эпидемиологический мониторинг инфекций, вызванных метициллинрезистентными штаммами золотистого стафилококка. *Федеральные клинические рекомендации*. М., 2014. 50 с.
19. Centers for Disease Control and Prevention [электронный ресурс]. Antibiotic Resistance Threats in the United States. 2013; URL: www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013 (дата обращения 05.04.2016).
20. Bassetti M, Righi E, Del Giacomo P, Sartor A, Ansaldi F, Trucchi C, et al. Predictors of Mortality with *Staphylococcus aureus* Bacteremia in Elderly Adults. *J Am Geriatr Soc*. 2018 Jul;66(7):1284-1289. DOI: 10.1111/jgs.15391
21. Centers for Disease Control and Prevention [электронный ресурс]. Active bacterial core surveillance report, emerging infections program network, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. 2014; URL: <https://www.cdc.gov/mmwr/pdf/wk/mm6348.pdf> (дата обращения 21.04.2017).
22. Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, Petit S, Gershman K, Ray S, et al; Active Bacterial Core surveillance (ABCs) MRSA Investigators. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA*. 2007 Oct 17;298(15):1763-71. DOI: 10.1001/jama.298.15.1763
23. Malani PN. National burden of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA*. 2014 Apr 9;311(14):1438-9. DOI: 10.1001/jama.2014.1666
24. Balasubramanian D, Harper L, Shopsis B, Torres VJ. *Staphylococcus aureus* pathogenesis in diverse host environments. *Pathog Dis*. 2017 Jan 1;75(1):ftx005. DOI: 10.1093/femspd/ftx005
25. Filice GA, Nyman JA, Lexau C, Lees CH, Bockstedt LA, Como-Sabetti K, et al. Excess costs and utilization associated with methicillin resistance for patients with *Staphylococcus aureus* infection. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010 Apr;31(4):365-73. DOI: 10.1086/651094
26. Гасретова ТД, Синькова ОН, Харсеева ГГ, Миронов АЮ. Формирование и распространение MRSA-штаммов у больных с гнойно-воспалительными заболеваниями. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013;4:33-6.
27. Aguayo-Reyes A, Quezada-Aguiluz M, Mella S, Riedel G, Opazo-Capurro A, Bello-Toledo H, et al. Bases moleculares de la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus* [Molecular basis of methicillin-resistance in *Staphylococcus aureus*]. *Rev Chilena Infectol*. 2018;35(1):7-14. Spanish. DOI: 10.4067/s0716-10182018000100007
28. Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 May 28;99(11):7687-92. DOI: 10.1073/pnas.122108599
29. David MZ, Daum RS. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clin Microbiol Rev*. 2010 Jul;23(3):616-87. DOI: 10.1128/CMR.00081-09
30. Yamamoto T, Nishiyama A, Takano T, Yabe S, Higuchi W, Razvina O, Shi D. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: community transmission, pathogenesis, and drug resistance. *J Infect Chemother*. 2010 Aug;16(4):225-54. DOI: 10.1007/s10156-010-0045-9
31. Cuny C, Wieler LH, Witte W. Livestock-Associated MRSA: The Impact on Humans. *Antibiotics (Basel)*. 2015 Nov 6;4(4):521-43. DOI: 10.3390/antibiotics4040521
32. Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG Jr. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev*. 2015 Jul;28(3):603-61. DOI: 10.1128/CMR.00134-14
33. Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии [электронный ресурс]. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Клинические рекомендации. Версия-2018-03. 2018; URL: <https://www.antibiotic.ru/minzdrav/category/clinical-recommendations/> (дата обращения 12.03.2021).
34. European Committee on Antimicrobial Susceptibility [электронный ресурс]. Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.0. 2018; URL: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/ (дата обращения 21.02.2018).
35. Howden BP, Davies JK, Johnson PD, Stinear TP, Grayson ML. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*. 2010 Jan;23(1):99-139. DOI: 10.1128/CMR.00042-09

References

1. Dantes R, Mu Y, Belflower R, Aragon D, Dumyati G, Harrison LH, et al; Emerging Infections Program – Active Bacterial Core Surveillance MRSA Surveillance Investigators. National burden of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus*

- aureus* infections, United States, 2011. JAMA Intern Med. 2013 Nov 25;173(21):1970-8. DOI: 10.1001/jamainternmed.2013.10423
2. Williamson DA, Heffernan H, Nimmo G. Contemporary genomic approaches in the diagnosis and typing of *Staphylococcus aureus*. Pathology. 2015 Apr;47(3):270-5. DOI: 10.1097/PAT.0000000000000236
 3. Mehraj J, Witte W, Akmatov MK, Layer F, Werner G, Krause G. Epidemiology of *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage Patterns in the Community. Curr Top Microbiol Immunol. 2016;398:55-87. DOI: 10.1007/82_2016_497
 4. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, Nouwen JL. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. Lancet Infect Dis. 2005 Dec;5(12):751-62. DOI: 10.1016/S1473-3099(05)70295-4
 5. Mehraj J, Akmatov MK, Strömpl J, Gatzemeier A, Layer F, Werner G, et al. Methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage in a random sample of non-hospitalized adult population in northern Germany. PLoS One. 2014 Sep 24;9(9):e107937. DOI: 10.1371/journal.pone.0107937
 6. Sivaraman K, Venkataraman N, Cole AM. *Staphylococcus aureus* nasal carriage and its contributing factors. Future Microbiol. 2009 Oct;4(8):999-1008. DOI: 10.2217/fmb.09.79
 7. Tsai MH, Chiu CY, Shih HJ, Liao SL, Hua MC, Huang SH, et al. Longitudinal investigation of nasopharyngeal methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in early infancy: The PATCH birth cohort study. Clin Microbiol Infect. 2017 Feb;23(2):121.e1-121.e7. DOI: 10.1016/j.cmi.2016.10.020
 8. Lisishnikova LP, Simonyan EE. Prevalence and characteristics of *Staphylococcus aureus* carriage among medical students. Nauchnye issledovaniya. 2016;9(10):74-5. (In Russian).
 9. Shirokova IYu, Shishkin GA, Chanysheva RF, Glazovskaya LS, Efimova TV. Prevalence and characteristics of *Staphylococcus aureus* carriage in students of higher educational medical institutuins (two-focus research). Medicine in Kuzbass. 2013;12(2):79-83. (In Russian).
 10. Lee AS, de Lencastre H, Garau J, Kluytmans J, Malhotra-Kumar S, Peschel A, Harbarth S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Nat Rev Dis Primers. 2018 May 31;4:18033. DOI: 10.1038/nrdp.2018.33
 11. Laux C, Peschel A, Krismer B. *Staphylococcus aureus* Colonization of the Human Nose and Interaction with Other Microbiome Members. Microbiol Spectr. 2019 Mar;7(2). DOI: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0029-2018.
 12. Sakwinska O, Kuhn G, Balmelli C, Francioli P, Giddey M, Perreten V, et al. Genetic diversity and ecological success of *Staphylococcus aureus* strains colonizing humans. Appl Environ Microbiol. 2009 Jan;75(1):175-83. DOI: 10.1128/AEM.01860-08
 13. Rolo J, Miragaia M, Turlej-Rogacka A, Empel J, Bouchami O, Faria NA, et al. CONCORD Working Group. High genetic diversity among community-associated *Staphylococcus aureus* in Europe: results from a multicenter study. PLoS One. 2012;7(4):e34768. DOI: 10.1371/journal.pone.0034768
 14. Heilbronner S, Foster TJ. *Staphylococcus lugdunensis*: a Skin Commensal with Invasive Pathogenic Potential. Clin Microbiol Rev. 2020 Dec 23;34(2):e00205-20.
 15. Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clin Microbiol Rev. 1997 Jul;10(3):505-20. DOI: 10.1128/CMR.10.3.505-520.1997
 16. Ellis MW, Hospenthal DR, Dooley DP, Gray PJ, Murray CK. Natural history of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization and infection in soldiers. Clin Infect Dis. 2004;39:971-979.
 17. Scudiero O, Brancaccio M, Mennitti C, Laneri S, Lombardo B, De Biasi MG, et al. Human Defensins: A Novel Approach in the Fight against Skin Colonizing *Staphylococcus aureus*. Antibiotics (Basel). 2020 Apr 21;9(4):198. DOI: 10.3390/antibiotics9040198
 18. Brusina EB, Dmitrenko OA, Glazovskaya LS, Efimova TV. Epidemiology and epidemiological monitoring of infections caused by methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. Federal clinical guidelines. Moscow, 2014, 50 p. (In Russian).
 19. Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic Resistance Threats in the United States. 2013; URL: www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013 (accessed 05.04.2016).
 20. Bassetti M, Righi E, Del Giacomo P, Sartor A, Ansaldi F, Trucchi C, et al. Predictors of Mortality with *Staphylococcus aureus* Bacteremia in Elderly Adults. J Am Geriatr Soc. 2018 Jul;66(7):1284-1289. DOI: 10.1111/jgs.15391
 21. Centers for Disease Control and Prevention. Active bacterial core surveillance report, emerging infections program network, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. 2014; URL: <https://www.cdc.gov/mmwr/pdf/wk/mm6348.pdf> (accessed 21.04.2017).
 22. Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, Petit S, Gershman K, Ray S, et al; Active Bacterial Core surveillance (ABCs) MRSA Investigators. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. JAMA. 2007 Oct 17;298(15):1763-71. DOI: 10.1001/jama.298.15.1763
 23. Malani PN. National burden of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. JAMA. 2014 Apr 9;311(14):1438-9. DOI: 10.1001/jama.2014.1666
 24. Balasubramanian D, Harper L, Shospin B, Torres VJ. *Staphylococcus aureus* pathogenesis in diverse host environments. Pathog Dis. 2017 Jan 1;75(1):ftx005. DOI: 10.1093/femspd/ftx005
 25. Filice GA, Nyman JA, Lexau C, Lees CH, Bockstedt LA, Como-Sabetti K, et al. Excess costs and utilization associated with methicillin resistance for patients with *Staphylococcus aureus* infection. Infect Control Hosp Epidemiol. 2010 Apr;31(4):365-73. DOI: 10.1086/651094
 26. Gasretova TD, Sinkova ON, Kharseeva GG, Mironov AYu. The formation and spread of MRSA strains in patients with pyoinflammatory diseases. Russian Clinical Laboratory Diagnostics (Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika). 2013;4:33-6. (In Russian).
 27. Aguayo-Reyes A, Quezada-Aguiluz M, Mella S, Riedel G, Opazo-Capurro A, Bello-Toledo H, et al. Bases moleculares de la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus* [Molecular basis of methicillin-resistance in *Staphylococcus aureus*]. Rev Chilena Infectol. 2018;35(1):7-14. Spanish. DOI: 10.4067/s0716-10182018000100007
 28. Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Proc Natl Acad Sci U S A. 2002 May 28;99(11):7687-92. DOI: 10.1073/pnas.122108599
 29. David MZ, Daum RS. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. Clin Microbiol Rev. 2010 Jul;23(3):616-87. DOI: 10.1128/CMR.00081-09
 30. Yamamoto T, Nishiyama A, Takano T, Yabe S, Higuchi W, Razvina O, Shi D. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: community transmission, pathogenesis, and drug resistance. J Infect Chemother. 2010 Aug;16(4):225-54. DOI: 10.1007/s10156-010-0045-9
 31. Cuny C, Wieler LH, Witte W. Livestock-Associated MRSA: The Impact on Humans. Antibiotics (Basel). 2015 Nov 6;4(4):521-43. DOI: 10.3390/antibiotics4040521
 32. Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG Jr. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clin Microbiol Rev. 2015 Jul;28(3):603-61. DOI: 10.1128/CMR.00134-14
 33. Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial chemotherapy [electronic resource]. Determination of the sensitivity of microorganisms to antimicrobial drugs. Clinical recommendations. Version-2018-03. URL: <https://www.antibiotic.ru/minzdrav/category/clinical-recommendations/> (accessed 12.03.2021). (In Russian).
 34. European Committee on Antimicrobial Susceptibility [электронный ресурс]. Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.0. 2018; URL: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/ (дата обращения 21.02.2018).
 35. Howden BP, Davies JK, Johnson PD, Stinear TP, Grayson ML. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. Clin Microbiol Rev. 2010 Jan;23(1):99-139. DOI: 10.1128/CMR.00042-09

Информация об авторах:

Ивао Ясухиса, PhD, старший научный сотрудник Международного медицинского образовательного-исследовательского центра
Адрес: Фукусуми здание II, 1-86-12 Хигасинакадори, Чуо-ку, г. Ниигата 951-8116, Япония
Тел/факс: 81-25-229-5335
E-mail: indiansign_64@hotmail.com

Камшилова Вера Владимировна, кандидат биологических наук, заведующая бактериологической лабораторией КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница скорой медицинской помощи им. Н.С.Карповича»
Адрес: 660062, Красноярск, ул. Курчатова, 17
Телефон: (391) 205-2722
E-mail: kamshylova@mail.ru

Поткина Надежда Константиновна, научный сотрудник ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого»
Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1
Телефон: (391) 228-0865
E-mail: potnadkon@inbox.ru

Акушева Дарья Николаевна, преподаватель кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого»
Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1
Телефон: (391) 228-0865
E-mail: kallisto@yandex.ru

Ямамото Татсуо, PhD, профессор, директор Международного медицинского образовательного-исследовательского центра
Адрес: Фукусуми здание II, 1-86-12 Хигасинакадори, Чуо-ку, г. Ниигата 951-8116, Япония
Тел/факс: 81-25-229-5335
E-mail: tatsuo@imerc.jp

Information about authors:

Iwao Yasuhisa, PhD, Senior Researcher International Medical Education and Research Center (IMERC)
Address: Fukusumbuilding II, 1-86-12 Higashinakadori, Chuo-ku, Niigata 951-8116, Japan
Phone/Fax: 81-25-229-5335
E-mail: indiansign_64@hotmail.com

Vera V. Kamshilova, PhD (Biological Sciences), head of bacteriological laboratory, N.S.Karpovich Krasnoyarsk State Emergency Hospital
Address: 17 Kurchatov str., Krasnoyarsk, 660062, Russian Federation
Phone: (391) 205-2722
E-mail: kamshylova@mail.ru

Nadezhda K. Potkina, researcher, V.F.Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University
Address: 1 Partizan Zheleznyak str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation
Phone: (391) 228-0865
E-mail: potnadkon@inbox.ru

Darya N. Akusheva, teacher, department of microbiology, V.F.Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University
Address: 1 Partizan Zheleznyak str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation
Phone: (391) 228-0865
E-mail: kallisto@yandex.ru

Yamamoto Tatsuo, PhD, Professor, Director, International Medical Education and Research Center (IMERC)
(Address: Fukusumbuilding II, 1-86-12 Higashinakadori, Chuo-ku, Niigata 951-8116, Japan
Phone/Fax: 81-25-229-5335
E-mail: tatsuo@imerc.jp

НОВОСТИ НАУКИ

Микробиомы кишечника и полости рта как предикторы тяжести COVID-19

Причина резких различий в клинических исходах у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, все еще плохо изучена. В то время как большинство из них выздоравливает, часть людей тяжело заболевает и умирает. Таким образом, определение биомаркеров, которые могут предсказать клинические исходы заболевания COVID-19, является ключом к расстановке приоритетов для пациентов, нуждающихся в срочном лечении. Учитывая, что несбалансированный микробиом кишечника является отражением плохого здоровья, мы стремимся определить виды-индикаторы, которые могут предсказать клинические исходы заболевания COVID-19. Впервые на большой когорте пациентов с COVID-19 продемонстрировано, что состав кишечного и орального микробиома предсказывает, соответственно, с точностью 92% и 84% тяжелый COVID-19 респираторных симптомов, приводящих к смерти. Было обнаружено, что точность прогноза микробиома тяжести COVID-19 намного выше, чем при обучении аналогичных моделей с использованием информации о сопутствующих заболеваниях, часто применяемой для сортировки пациентов в клинике (77% AUC). Кроме того, сочетая симптомы, сопутствующие заболевания и микробиоту кишечника, модель достигла наивысшего значения AUC – 96%. Примечательно, что модельное обучение микробиому стула выявило обогащение *Enterococcus faecalis*, известного патобионта, как главного предиктора тяжести заболевания COVID-19. *E. faecalis* уже легко культивировать в клинических лабораториях, поэтому мы призываем медицинское сообщество включить эту бактерию в качестве надежного средства прогнозирования серьезности COVID-19 при оценке стратификации риска пациентов в клинике.



Ward D.V., et al.

The intestinal and oral microbiomes are robust predictors of COVID-19 severity the main predictor of COVID-19-related fatality: preprint. Infectious Diseases (except HIV/AIDS), 2021.

Алгоритм мониторинга соблюдения требований биологической безопасности в лабораториях различного уровня защиты ветеринарной практики

Е.А.Тюрин¹, И.Е.Большан², Л.В.Чекан¹, К.Р.Гвазава², Е.В.Артеменко²

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация;

²Управление Роспотребнадзора по Московской области, Мытищи, Московская область, Российская Федерация

В рамках совместной деятельности проведена оценка состояния биологической безопасности при обследовании лабораторий различного уровня защиты при работе с микроорганизмами II–IV групп патогенности (опасности). Разработан алгоритм проведения мероприятий по оценке состояния условий работы и охраны здоровья сотрудников лабораторий. Предложены мероприятия по улучшению состояния биологической безопасности в лабораториях.

Ключевые слова: биологическая безопасность, ветеринарные лаборатории разного уровня защиты, анализ

Для цитирования: Тюрин Е.А., Большан И.Е., Чекан Л.В., Гвазава К.Р., Артеменко Е.В. Алгоритм мониторинга соблюдения требований биологической безопасности в лабораториях различного уровня защиты ветеринарной практики. Бактериология. 2021; 6(1): 32–36. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-32-36

Algorithm for monitoring compliance with biological safety in laboratories with various levels of veterinary practice protection

Е.А.Tyurin¹, I.E.Bolshan², L.V.Chekan¹, K.R.Gvazava², E.V.Artemenko²

¹State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;

²Office of Rosпотребнадзор in the Moscow region, Mytishchi, Russian Federation

Within the framework of joint activities, an assessment of the state of biological safety was carried out during the examination of laboratories of various levels of protection when working with microorganisms of II–IV groups of pathogenicity (danger). An algorithm has been developed for carrying out measures to assess the state of working conditions and health protection of laboratory employees. Measures are proposed to improve the state of biological safety in laboratories.

Key words: biological safety, veterinary laboratories of different levels of protection, analysis

For citation: Tyurin E.A., Bolshan I.E., Chekan L.V., Gvazava K.R., Artemenko E.V. Algorithm for monitoring compliance with biological safety in laboratories with various levels of veterinary practice protection. Bacteriology. 2021; 6(1): 32–36. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-32-36

Безопасность работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека и животных, относящимися к I–IV группам патогенности (опасности) бактериальной и вирусной природы, обеспечивается строгим соблюдением требований биологической безопасности (ББ), прописанных в нормативно-методических документах [1–4]. Контроль за соблюдением этих требований является важной и актуаль-

ной задачей, стоящей перед специалистами, работающими в организациях и учреждениях различной ведомственной принадлежности и подчиненности.

Нами были проведены проверки состояния ББ в ветеринарных лабораториях, которые работают с микроорганизмами бактериальной и вирусной природы при предоставлении материалов в Федеральную службу для получения

Для корреспонденции:

Тюрин Евгений Александрович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник лаборатории биологической безопасности ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0016
E-mail: turin@obolensk.org

Статья поступила 02.04.2021 г., принята к печати 30.06.2021 г.

For correspondence:

Eugene A. Tyurin, MD, PhD, leading researcher of the laboratory of biological safety, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology

Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0016
E-mail: turin@obolensk.org

The article was received 02.04.21, accepted for publication 30.06.2021

лицензии на право деятельности с патогенными биологическими агентами (ПБА). Эту работу проводили в соответствии с положениями «Совместного плана основных организационных мероприятий Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Московской области, Федерального бюджетного учреждения здравоохранения «Центр гигиены и эпидемиологии в Московской области», Федерального бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана», Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» на 2020 г.».

Целью настоящей работы являлись: 1) разработка алгоритма оценки состояния ББ в ветеринарных лабораториях, работающих с ПБА II–IV групп бактериальной и вирусной природы опасных для человека и животных; 2) выработка предложений и механизмов совершенствования условий безопасной деятельности.

Обследования проводили в ветеринарных лабораториях, расположенных в Московской области. Мероприятия выполнялись в рамках положений «Плана...» на основании поручения руководства Федеральной службы Роспотребнадзора при реорганизации лицензий на осуществление деятельности в области использования возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных (за исключением случаев, если указанная деятельность осуществляется в медицинских целях) и генно-инженерно-модифицированных организмов III–IV степеней потенциальной опасности, осуществляемой в замкнутых системах (экспериментальные, диагностические исследования материала, зараженного или подозрительного на зараженность ПБА II–IV групп, хранение музейных штаммов). В ходе выполнения проверочных мероприятий по оценке состояния уровня ББ, заявленного для выполнения задач, поставленных перед сотрудниками лабораторий, при их посещении был выявлен ряд нарушений, которые оказались практически во всех проверенных лабораториях.

Для оценки состояния ББ в различных лабораториях нами был разработан перечень положений ББ, исполнение которых необходимо проверять при обследовании бактериологических лабораторий для получения разрешительных документов на работу с микроорганизмами II–IV групп патогенности (опасности), которые относят к базовым и изолированным лабораториям.

Существуют четыре уровня ББ (УББ) (Biosafety Level/ BSL в международной терминологии), которые состоят из комбинации лабораторных методов, оборудования и лабораторных объектов. Уровень ББ – это регламентированные требования к организации работ с ПБА I–IV групп (в России) или 1–4-го уровней риска по классификации ВОЗ [5–7]. Такие лаборатории организовываются с учетом проектирования помещений, используемого оборудования, средств индивидуальной защиты, программ подготовки и медицинского обслуживания персонала, а также мер обеспечения безопасности для персонала и окружающей среды при проведении работ в различного типа лабораториях.

В соответствии с концепцией ББ, принятой в настоящее время [5–7], и положениями санитарно-эпидемиологических

правил [1–4] нами был разработан примерный перечень допустимых требований ББ, которые могут быть необходимы и достаточными для осуществления деятельности по оценке лабораторий при проведении проверки в них для получения разрешительных документов. Эти требования можно разделить на несколько блоков в рамках оценки выполнения положений ББ:

- организационно-профилактический;
- инженерно-технический;
- медико-биологический;
- контрольный.

К организационно-профилактическому блоку мероприятий отнесли положения ББ, связанные с наличием учредительных, нормативных и разрешительных документов:

- устава лаборатории;
- санитарно-эпидемиологического заключения о наличии условий и возможности проведения работ с микроорганизмами;
- действующей лицензии на деятельность, связанную с микроорганизмами;
- приказов о допуске персонала лаборатории к работам с микроорганизмами II–IV групп патогенности;
- приказа о создании комиссии по контролю соблюдения требований ББ и протоколы заседаний комиссии;
- оперативного плана ликвидации последствий аварий при работе с микроорганизмами II–IV групп патогенности;
- документов или их копий, подтверждающих квалификацию сотрудников (дипломы о высшем и среднем специальном образовании, свидетельства, удостоверения, сертификаты о повышении квалификации);
- программы проведения производственного контроля при выполнении работ с микроорганизмами на отдельных участках работ с лабораторией и в подразделении в целом;
- частных инструкций по ББ на работы с микроорганизмами на рабочих местах, стандартные операционные процедуры;
- рекомендаций на деятельность лаборатории, выданных при проведенных ранее проверках состояния ББ, и фактов (актов) их исполнения;
- журнала контроля доступа в лабораторию персонала и сторонних лиц.

К инженерно-техническому блоку мероприятий ББ отнесли положения, связанные с наличием:

- паспортов на приточные и вытяжные системы вентиляции;
- договоров на обслуживание и контроля эффективности работы вентиляционных систем и высокоэффективных фильтров тонкой очистки воздуха со сторонними организациями, протоколов обследований систем, боксов микробиологической безопасности (БМБ), сертификатов об их эффективности, умении сотрудников работать в них;
- актов и протоколов проверки защитной эффективности инженерного оборудования, систем и аппаратов в целом;
- планов размещения оборудования, планировки рабочих зон лаборатории («чистая» / «заразная») и контура герметизации с приборами контроля;

- схем направленности материальных, людских и воздушных потоков, обозначенных на плане размещения зон и оборудования;
- журналов контроля концентрации маточных и рабочих дезинфицирующих растворов;
- протоколов поверки средств измерения и аттестации устройств и приборов;
- плана проведения планово-предупредительного ремонта (ППР), актов и протоколов начала работы после ППР;
- журналов контроля работы УФ-облучателей и актов введения УФ-ламп в эксплуатацию;
- журналов проведения процессов автоклавирования;
- договоров и актов на уничтожение твердых отходов, журналов контроля вывоза отходов на полигон или в иные места для захоронения или уничтожения; крематория;
- журналов контроля обеззараживания жидких отходов (стоков) на присутствие остаточного хлора при применении хлорсодержащих дезинфектантов;
- рабочей, защитной одежды и средств индивидуальной защиты (СИЗ), порядка использования, контроля количества и качества имеющихся вариантов одежды, умения надевать одежду и СИЗ;
- аварийной, пожарной и охранной сигнализации.

К медико-биологическому блоку обеспечения работ с ПБА отнесли положения ББ, связанные с наличием:

- договоров с территориальным медицинским учреждением на медицинское обслуживание, госпитализацию сотрудников в случае подозрения на инфекционное заболевание, вызванное микроорганизмами II группы патогенности, и проведение необходимых профилактических прививок;
- контроля за размещением и комплектацией аварийных аптек;
- журналов, сертификатов, карт учета проведения профилактических прививок у персонала лабораторий против сибирской язвы;
- журнала входного медицинского контроля персонала с данными по термометрии сотрудников;
- акта по результатам ежегодного профилактического медицинского осмотра сотрудников лаборатории;
- оформленных медицинских книжек у сотрудников лаборатории.

Важным условием при проведении мероприятий по оценке состояния ББ в ветеринарных лабораториях является то, что все требования ББ проверяются комплексно, без разграничения на биологические или инженерные. Это связано с тем, что все мероприятия ББ взаимосвязаны и взаимообусловлены. Нельзя проводить проверку исполнения одних мероприятий ББ в отрыве от других. Поэтому во время проведения мониторинга состояния ББ обращали внимание на оснащение специальными инженерно-техническими системами ББ, коллективными и индивидуальными средствами защиты персонала, наличием и работоспособностью охранной и пожарной сигнализаций. Эти системы необходимо ежегодно контролировать и подтверждать их эффективность с оформлением соответствующих актов проверки и протоколов испытаний. Это делается для того, чтобы обеспечить внутреннюю и внешнюю ББ средствами инженерной линии защиты по следующим направлениям:

- ограждающие строительные конструкции;
- средства, обеспечивающие нераспространение и сдерживание вероятных биологических аэрозолей, для чего служат системы вентиляции, БМБ;
- средства, обеспечивающие сбор, обеззараживание и удаление жидких и твердых отходов, расположенные на границах зон.

Соответственно, персонал лабораторий и представители технических служб, контролирующие работу инженерных систем, должны иметь соответствующую квалификацию, профессиональную и специальную подготовку, в том числе и по вопросам биологической и экологической безопасности, основам микробиологии и эпидемиологии инфекционных заболеваний.

Выявленные в ходе проведенных обследований нарушения требований ББ можно считать типичными, что заставляет обратить на них внимание руководства управлений и ведущих лабораторий. Эти нарушения требований ББ в лабораториях сводились к следующему:

- отсутствие разработанных инструкций по соблюдению требований ББ на рабочих местах для выполнения отдельных операций и/или манипуляций;
- отсутствие тренировочных занятий по ликвидации последствий аварий различного характера с персоналом непосредственно на рабочих местах;
- использование сотрудниками рабочей одежды вместо комплектов защитной одежды (противочумные костюмы разных типов) для работы с ПБА;
- использование в качестве защитной одежды одноразовых халатов и шапочек, не являющихся аналогами противочумного костюма;
- эксплуатация защитных устройств (ЗУ), установленных в микробиологических боксах, не предназначенных для работы с ПБА и не имеющих государственной регистрации в качестве ЗУ при проведении работ с микроорганизмами II–IV патогенности;
- применение передаточных окон, а не передаточных шлюзов для передачи материала, подозрительного на содержание микроорганизмов, для диагностического исследования из «чистого» помещения в «заразное» отделение лаборатории и обратно, что может привести к нарушению контура герметизации «заразного» помещения лаборатории;
- применение хирургических масок вместо респираторов третьего класса защиты (FFP3) для защиты верхних дыхательных путей от возможного попадания микроорганизмов;
- слив сточных вод из помещений «заразной» зоны в общую канализационную сеть без какого-либо предварительного обеззараживания в «выгребные ямы», в которых контроль обеззараживания и содержание остаточного хлора (при его применении) не ведется;
- проведение патоморфологического исследования поступившего материала или вскрытие трупов биопробных животных в помещениях «заразной» зоны вне БМБ на открытых столах в металлических кюветах без соответствующей фиксации при отсутствии механической вытяжной системы вентиляции с фильтрами очистки воздуха.

Нарушения требований и положений ББ могут стать причиной возникновения аварийных ситуаций, которые, в свою очередь, могут привести к серьезным последствиям, то есть к заболеванию сотрудников и выходу микроорганизмов в окружающую среду. Неправильная оценка риска для проведения работ и, как следствие, использование рабочих помещений лабораторий не того уровня защиты (например, более низкого) может привести к серьезным последствиям. Чтобы этого не произошло, необходимо постоянно совершенствовать систему ББ в ветеринарных лабораториях, снижать риск возникновения инфекционных заболеваний среди персонала и риск попадания патогенного материала в окружающую среду. Необходимо постоянно повышать уровень ответственности сотрудников и руководителей лабораторий.

В связи с этим руководителям управлений было предложено постоянное проведение следующих мероприятий с последующим контролем:

- повышение понимания руководством важности выполнения положений ББ, готовности выполнения требований и положений ББ, а также выделение достойного финансирования для выполнения планов по совершенствованию ББ в лаборатории;
- осуществление руководством управлений и лабораторий регулярного мониторинга и анализа состояния уровня ББ на местах;
- организация руководством управлений и лабораторий проведения соответствующей подготовки специалистов ветеринарных лабораторий по вопросам ББ с освоением практических приемов безаварийной работы с ПБА путем направления их на соответствующие курсы повышения квалификации;
- рассмотрение вопроса о целесообразности привлечения специалистов в области ББ для оказания консультативно-методической помощи руководителям управлений и лабораторий по повышению уровня состояния ББ;
- признание необходимости повышения уровня оказания квалифицированной помощи при проведении оценки защитной эффективности инженерных систем ББ, смонтированных в лабораториях, а также при составлении технических заданий и других исходных материалов при планировании, реконструкции, перепланировке и ремонте помещений лабораторий.

Эти предложения, на наш взгляд, позволяют улучшить состояние ББ в ветеринарных лабораториях и повысить профессионализм работающих в них сотрудников.

По результатам проверок были подготовлены два доклада на совещания, проводимые управлением Роспотребнадзора Московской области с приглашением руководителей территориальных ветеринарных управлений, представителей лабораторий и ответственных сотрудников Роспотребнадзора на местах. Представленный материал был заслушан со вниманием, в ответах на предлагаемые после совещаний вопросы даны конкретные и четкие разъяснения.

В соответствии с принятыми на совещаниях решениями работа по оценке состояния ББ в рамках оценки лицензионной деятельности в Московской области будет продолжена в соответствии с положениями «Совместного плана основных организационных мероприятий Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и

благополучия человека по Московской области, Федерального бюджетного учреждения здравоохранения «Центр гигиены и эпидемиологии в Московской области», Федерального бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана», Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» на 2021 г.».

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Financial support

The work was carried out within the framework of the sectoral program of Rosпотребнадзор.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

1. Санитарно-эпидемиологические правила. «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)». СП 1.3.3118-13. 2013. 196 с.
2. Санитарно-эпидемиологические правила. «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». СП 1.3.2322-08. 2008. 95 с.
3. Санитарно-эпидемиологические правила. Дополнения и изменения №1 к СП 1.3.2322-08. «Безопасность работы с микроорганизмами II–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». СП 1.3.2518-09. 2009. 4 с.
4. Санитарно-эпидемиологические правила. Дополнения и изменения №2 к СП 1.3.2322-08. «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». СП 1.3.2885-11. 2011. 1 с.
5. Тюрин ЕА. Организация условий соблюдения требований биологической безопасности при проведении работ с микроорганизмами I–IV групп патогенности в микробиологических лабораториях различных уровней защиты. Правовые основы биоэкономики и биобезопасности. Монография. Отв. ред. А.А.Мохов, О.В.Сушкова. М.: «Проспект»; 2020, с. 110-21.
6. Практическое руководство по биологической безопасности в лабораторных условиях. Женева. 3-е издание. ВОЗ. 2004, 139 с.
7. Дмитриева ВА, Воронин АМ, Дмитриев ВВ, Доброхотский ОН, Жариков ГА, Коломбет ЛВ, и др. Учебное пособие по биобезопасности. Тула: Изд-во ТулГУ; 2013, 500 с.

References

1. Sanitary and epidemiological rules. "Safety of work with microorganisms of groups I–II of pathogenicity (danger)". SP 1.3118-13. 2013. 196 p. (In Russian).
2. Sanitary and epidemiological rules. "Safety of work with microorganisms of groups III–IV of pathogenicity (danger) and pathogens of parasitic diseases". SP 1.3.2322-08. 2008. 95 p. (In Russian).
3. Sanitary and epidemiological rules. Additions No 1 to SP 1.3.2322-08. "Safety of work with microorganisms of groups II–IV of pathogenicity (danger) and pathogens of parasitic diseases. SP 1.3.2518-09. 2009. 4 p. (In Russian).
4. Sanitary and epidemiological rules. Additions No 2 to SP 1.3.2322-08. "Safety of work with microorganisms of groups III–IV of pathogenicity (danger) and pathogens of parasitic diseases". SP 1.3.2885-11. 2011. 1 p. (In Russian).

5. Tyurin EA. Organization of conditions for compliance with the requirements of biological safety when working with microorganisms of groups I–IV of pathogenicity in microbiological laboratories of various levels of protection. Legal bases of bioeconomics and biosafety. A.A.Mokhov, O.V.Sushkova (eds.). Moscow: «Prospekt» Publ.; 2020, pp. 110-21. (In Russian).
6. Practical guide to biological safety in the laboratory. Geneva. 3rd ed. WHO. 2004, 139 p. (In Russian).
7. Dmitrieva VA, Voronin AM, Dmitriev VV, Dobrokhotskii ON, Zharikov GA, Kolombet LV, et al. Biosafety. Tula: "TulGU" Publ.; 2013, 500 p. (In Russian).

Информация об авторах:

Большан Ирина Евгеньевна, начальник отдела организации надзора и государственных услуг Управления Роспотребнадзора по Московской области
 Адрес: 141014, Московская обл., г. Мытищи, ул. Семашко, 2
 Телефон: (495) 586-1078
 E-mail: bolshan_ie@50.rospotrebnadzor.ru

Чекан Лариса Владимировна, старший научный сотрудник лаборатории биологической безопасности ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Гвазава Кахабер Раминович, и.о. начальника отдела эпидемиологического надзора управления Роспотребнадзора по Московской области
 Адрес: 141014, Московская обл., г. Мытищи, ул. Семашко, 2
 Телефон: (495) 586-1078
 E-mail: org@50.rospotrebnadzor.ru

Артеменко Евгений Владимирович, ведущий специалист-эксперт отдела эпидемиологического надзора Управления Роспотребнадзора по Московской области
 Адрес: 141014, Московская обл., г. Мытищи, ул. Семашко, 2
 Телефон: (495) 586-1078
 E-mail: org@50.rospotrebnadzor.ru

Information about authors:

Irina E. Bolshan, head of the department for organization of supervision and public services of the Office of Rosпотrebnadzor in the Moscow Region
 Address: 2 Semashko str., Mytischki, Moscow region, 141014, Russian Federation
 Phone: (495) 586-1078
 E-mail: bolshan_ie@50.rospotrebnadzor.ru;

Larisa V. Chekan, senior researcher head of the of the laboratory of biological safety, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology

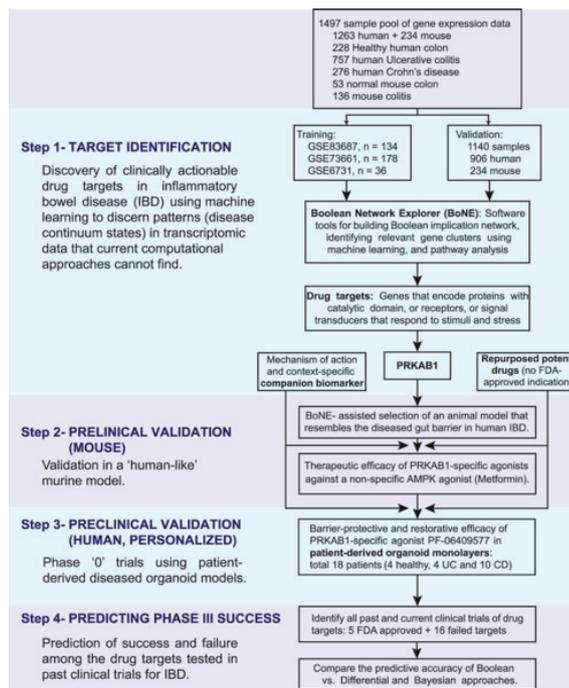
Kakhaber R. Gvazava, acting head of the epidemiological surveillance department of the Rosпотrebnadzor Administration for the Moscow Region
 Address: 2 Semashko str., Mytischki, Moscow region, 141014, Russian Federation
 Phone: (495) 586-1078
 E-mail: org@50.rospotrebnadzor.ru

Evgeny V. Artemenko, leading expert-expert of the department of epidemiological surveillance of the Office of Rosпотrebnadzor in the Moscow region
 Address: 2 Semashko str., Mytischki, Moscow region, 141014, Russian Federation
 Phone: (495) 586-1078
 E-mail: org@50.rospotrebnadzor.ru

НОВОСТИ НАУКИ

Новый подход с использованием машинного обучения может изменить разработку лекарств

Моделирование болезней человека в виде сетей упрощает сложные многоклеточные процессы, помогает понять закономерности в зашумленных данных, которые люди не могут найти, и тем самым повышает точность прогнозов. Используя в качестве примера воспалительное заболевание кишечника (ВЗК), мы обрисовываем беспристрастный подход с использованием искусственного интеллекта для идентификации и проверки целей. Была построена сеть, в которой кластеры генов связаны направленными ребрами, подчеркивающими асимметричные логические отношения. С помощью машинного обучения была определена последовательность состояний континуума, наиболее эффективно предсказывающая исход болезни. Этот путь был обогащен кластерами генов, которые поддерживают целостность эпителиального барьера кишечника. Мы используем это понимание для определения приоритетности одной цели, выбора подходящих доклинических моделей мышей для проверки целей и разработки моделей органоидов, полученных от пациентов. Потенциал эффективности лечения подтвержден на органоидах, полученных от пациентов, с помощью многомерного анализа. Этот подход с использованием искусственного интеллекта идентифицирует первый в своем классе агент, защищающий кишечный барьер при ВЗК, и предсказывает успех фазы III агентов-кандидатов.



Sahoo D, Swanson L, Sayed IM, Katkar GD, Ibeawuchi SR, Mittal Y, et al. Artificial intelligence guided discovery of a barrier-protective therapy in inflammatory bowel disease. Nat Commun. 2021 Jul 12;12(1):4246. DOI: 10.1038/s41467-021-24470-5

Геном *Helicobacter pylori* и патогенность

Г.Ш.Исаева^{1,2}, Р.А.Исаева³

¹ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, Казань, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Российская Федерация;

³ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова» (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

Helicobacter pylori-инфекция достоверно связана с развитием различных заболеваний желудочно-кишечного тракта: хронического гастрита, язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки, рака желудка. Но, несмотря на огромное количество публикаций по изучению этого микроорганизма, открытым остается вопрос о механизмах формирования различных вариантов клинических исходов *H. pylori*-инфекции от бессимптомного носительства до онкологической трансформации желудочного эпителия. Молекулярно-генетические исследования генома *H. pylori* позволили расшифровать некоторые патогенетические механизмы *H. pylori*-инфекции, хотя до окончательного понимания роли этой бактерии в патологии человека еще далеко.

Несмотря на высокую генетическую изменчивость, штаммы *H. pylori* сохраняют основную генетическую структурированность, что может быть использовано для установления филогенетических связей между изолятами, а также их географического происхождения. Популяционная генетика позволяет расшифровать генетические аспекты коэволюции бактерий и человека на примере эволюции *H. pylori*. Целью данного обзора стало обобщение современных данных молекулярной биологии о генотипе и патогенности *H. pylori*. Дальнейшие исследования генома *H. pylori* открывают перспективу раскрытия механизмов патогенеза индуцированных этим микроорганизмом заболеваний, в том числе онкологических трансформаций, могут служить ключом к пониманию эволюционных процессов симбиотических взаимоотношений «патоген–хозяин».

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, геном, патогенность

Для цитирования: Исаева Г.Ш., Исаева Р.А. Геном *Helicobacter pylori* и патогенность. Бактериология. 2021; 6(1): 37–47. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-37-47

The genome of *Helicobacter pylori* and the pathogenicity

G.Sh.Isaeva^{1,2}, R.A.Isaeva³

¹Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russian Federation;

²Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation;

³I.M.Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Helicobacter pylori infection is reliably associated with the development of various diseases of the gastrointestinal tract: chronic gastritis, gastric ulcer and duodenal ulcer, stomach cancer. But, despite the huge number of publications on the study of this microorganism, the question remains open about the mechanisms of formation of different variants of clinical outcomes of *H. pylori* infection from asymptomatic carrier to oncological transformation of the gastric epithelium. Molecular genetic studies of the *H. pylori* genome have made it possible to decipher some of the pathogenetic mechanisms of *H. pylori* infection, although a definitive understanding of the role of this bacterium in human pathology is still far away.

Despite the high genetic variability, *H. pylori* strains retain the basic genetic structure, which can be used to establish phylogenetic relationships between isolates, their geographical origin. Population genetics allows us to decipher the genetic aspects of co-evolution between bacteria and man on the example of the evolution of *H. pylori*. The purpose of this review was to generalize current molecular biology data on the genotype and pathogenicity of *H. pylori*. Further studies of the genome of *H. pylori* open the prospect of revealing the mechanisms of pathogenesis of diseases induced by this microorganism, including oncological transformations, can serve as a key to understanding the evolutionary processes of symbiotic relationships «pathogen–host».

Key words: *Helicobacter pylori*, genome, pathogenicity

For citation: Isaeva G.Sh., Isaeva R.A. The genome of *Helicobacter pylori* and the pathogenicity. Bacteriology. 2021;6(1): 37–47. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-37-47

Для корреспонденции:

Исаева Гузель Шавхатовна, доктор медицинских наук, доцент, заместитель директора по инновационному развитию ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора; заведующая кафедрой микробиологии им. академика В.М.Аристовского ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет»

Адрес: 420015, Казань, ул. Б.Красная, 67

Телефон: (843) 236-6721

E-mail: guisaeva@rambler.ru

Статья поступила 21.06.2021 г., принята к печати 30.06.2021 г.

For correspondence:

Guzel' Sh. Isaeva, MD, PhD, DSc, professor, deputy director for Innovative Development, Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Rospotrebnadzor; Head of the Department Academician V.M.Aristovskiy of Microbiology, Kazan State Medical University

Address: 67 B. Krasnaya str., Kazan, 420015, Russian Federation

Phone: (843) 236-6721

E-mail: guisaeva@rambler.ru

The article was received 21.06.2021, accepted for publication 30.06.2021

На рубеже 1980–1990-х гг. произошло событие, приведшее к революционному перевороту в гастроэнтерологии. Речь идет об открытии В. Marshall и J.R. Warren (1983) роли бактерии *Helicobacter pylori* в патогенезе ряда заболеваний желудочно-кишечного тракта, таких как острый и хронический гастрит, язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки и других [1]. Ассоциация между *H. pylori*-инфекцией и раком желудка позволила Международному агентству по изучению рака (IARC) отнести этот микроорганизм к канцерогенам I группы [2]. Данное открытие позволило пересмотреть взгляды на возможность участия бактерий в этиопатогенезе онкологических заболеваний, и *H. pylori* является первой бактерией с доказанной канцерогенностью среди других факторов биологической природы.

Устойчивость *H. pylori* к агрессивным условиям желудка, иммунной реакции организма показывает, что хеликобактеры приспособлены к длительному существованию в кислой среде желудка. В течение длительного периода эволюции *H. pylori* смог адаптироваться и разработать успешную стратегию выживания в агрессивной желудочной среде, заключающаяся в генетическом разнообразии штаммов этого вида. Но, несмотря на высокую генетическую изменчивость, штаммы *H. pylori* сохраняют основную генетическую структурированность, что может быть использовано для установления филогенетических связей между изолятами, их географического происхождения. Популяционная генетика, которая получает в последние годы все большее развитие благодаря совершенствованию технологий геномного анализа, позволит расшифровать генетические аспекты коэволюции бактерий и человека. Молекулярно-генетические исследования генома *H. pylori* позволили расшифровать некоторые патогенетические механизмы *H. pylori*-инфекции, хотя до окончательного понимания роли этой бактерии в патологии человека еще далеко.

Целью данного обзора стало обобщение современных данных молекулярной биологии о генотипе и патогенности *H. pylori*.

Большим успехом молекулярной биологии можно считать полную расшифровку генома двух штаммов *H. pylori*: 26695 в 1997 г. [3] и J99 в 1999 г. [4]. *H. pylori* – это своего рода «пионер» среди бактерий: это не только первая бактерия с доказанной канцерогенностью, но и одна из первых бактерий, у которой был расшифрован геном. Два расшифрованных генома этой бактерии состоят из 1667867 и 1643831 пар нуклеотидных оснований при соотношении Г/Ц 39%. Геном штамма 26695 представлен кольцевой двухцепочечной молекулой и содержит 1630 генов, из которых 1576 кодируют белки. Геном штамма J99 представлен кольцевой двухцепочечной молекулой ДНК и содержит 1535 генов, из которых 1489 кодируют белки. Два изученных штамма существенно отличаются генетически: до 6% нуклеотидов имеют различия.

Постоянно растущая база данных геномных последовательностей изолятов *H. pylori*, выделенных в различных регионах, позволяет проводить сравнительный биоинформационный анализ, выявлять новые факторы патогенности и более детально изучать патогенез *H. pylori*-инфекции как на уровне отдельного организма, так и на популяционном. Вирулентный потенциал *H. pylori* и развитие различных ис-

ходов инфицирования – от хронического гастрита и язвенной болезни до рака желудка и MALT-лимфомы – могут быть обусловлены чрезвычайной гетерогенностью штаммов, выделенных из различных стран мира. Такие сравнительные исследования стали более доступны благодаря развивающимся технологиям полногеномного секвенирования. В базе данных GenBank за последние 20 лет депонировано более 700 последовательностей генома *H. pylori*, что позволяет изучить бактериальный геном, включая мобильные элементы (IS-последовательности, транспозоны), а также чужеродные интегрированные гены, представленные профагами [5].

Растущее число исследований полногеномных последовательностей позволяет смоделировать эволюцию *H. pylori*. Cao et al. [6], сравнив 75 геномов *H. pylori*, пришли к выводу о различии основного (core) генома с 1173 консервативными областями, кодирующими белки семейства *Helicobacter*, 673 консервативными областями, кодирующими белки рода *Helicobacter*. Они предположили, что 80% генома *H. pylori* является родоспецифичным, а остальная часть генома кодирует адаптивную и патогенетическую функции, обуславливая штаммовые различия. Они идентифицировали 79 таких участков, состоящих из 202, 359 п.о., включая *cagPAI*, *babA*, *sabA* и другие гены.

Геном и «острова» патогенности

Острова патогенности у бактерий – это участки ДНК протяженностью не менее 10 000 пар нуклеотидных оснований, которые отличаются по составу Г-Ц нуклеотидов от основного генома бактерий и ответственны за синтез факторов патогенности, обеспечивающих развитие патологического процесса в организме хозяина. Острова патогенности найдены у большинства патогенных бактерий и могут быть локализованы в составе основной хромосомы, плазмид или фагов.

Как безусловный патоген человека, *H. pylori* обладает большим набором факторов патогенности, которые условно можно разделить на несколько групп: факторы, способствующие адгезии и колонизации; факторы с токсической функцией; факторы агрессии, защиты от иммунного ответа хозяина, а также факторы защиты от воздействия антимикробных препаратов. На основании изучения генома *H. pylori* всего 62 гена отнесены к категории «генов патогенности».

Важным фактором патогенности *H. pylori* является способность к образованию уреазы. Один из генов уреазы – *ureI* – кодирует синтез белка UreI, который осуществляет процесс транспорта мочевины в периплазматическое пространство, где происходит ее гидролиз. *H. pylori* производит огромное количество этого фермента, позволяющего нейтрализовать кислую среду и создать вокруг бактерии микроокружение – «облако» из аммиака. Ионы аммония, образующиеся в результате гидролиза мочевины, являются токсическими веществами и оказывают прямое повреждающее действие на эпителий желудка. Как известно, ко-фактором уреазы является никель. Этот элемент опосредованно принимает участие в колонизации желудочного эпителия. Согласно последним данным, транспортировка никеля регулируется двумя генами: *nixA* и *niuBDE*. Кроме того, ген *niuBDE* ответственен еще и за транспортировку кобальта и висмута, применяемого в эрадикации хеликобактера.

Fischer F. et al. идентифицировали новую транспортную систему переноса никеля *H. pylori* NiuBDE и NiuBDE, необходимую для никелезависимой активации уреазы, специфичную для желудочных видов *Helicobacter* [7]. Как было показано, эти гены были приобретены от общего предка желудочных видов хеликобактерий путем горизонтальной передачи и функционально не зависят друг от друга.

«Остров патогенности» *cag PAI* у *H. pylori* – это регион хромосомальной ДНК, содержащий около 40 генов, кодирующих белки IV секреторной системы *H. pylori* и разделенных на два региона: *cag I* и *cag II*. Цитотоксин CagA, маркер «острова патогенности» *H. pylori*, участвует в язвообразовании, развитии атрофии, в процессе дегенерации и разрушения межклеточного матрикса и базальной мембраны, опухолевой инвазии и метастазировании посредством индукции комплекса uPA (urokinase-type plasminogen activator) и uPAR (urokinase-type plasminogen activator receptor) в раковые клетки в желудке, стимуляции выработки интерлейкина-8 (ИЛ-8), способствует повышению активности антрального гастрита.

Цитотоксины CagC, CagE, CagH стимулируют выработку ИЛ-8, а CagF вовлечен в процесс распознавания и доставки CagA в каналы T4СС (IV секреторной системы). Функция IV секреторной системы состоит в транспортировке эффекторных молекул бактерии к эукариотическим клеткам [8]. За перенос CagA непосредственно в эпителиоциты отвечают продукты генов, входящих в состав «островка патогенности» *cag-PAI*. Прикрепляясь к мукоциту, подобно действию «молекулярного шприца», они впрыскивают в клетку CagA-протеин. После доставки в клетку хозяина продукт терминального гена островка патогенности, белок CagA, подвергается фосфорилированию и активирует эукариотическую фосфатазу, что приводит к дефосфорилированию белков клеток хозяина и морфологическим изменениям [8, 9]. Этот фосфорилированный белок изменяет активность цитокиновых генов, иницирующих мононуклеарные фагоциты, и, таким образом, вызывает индукцию ИЛ-8, а также мощную активацию нейтрофилов [10]. С активностью фосфорилированного CagA связывают транскрипцию ядерных генов, что объясняет высокую частоту возникновения рака желудка у людей, инфицированных *cagA*-положительными штаммами *H. pylori*, и его участие в канцерогенезе [11]. Присутствие гена *cagA* ассоциировано с высоким уровнем воспаления, которое через цепь последовательных превращений приводит к более серьезным заболеваниям, таким как язва желудка и желудочная карцинома [12, 13].

В западных странах сообщалось, что лица, инфицированные *cagA*-положительными штаммами, подвержены большему риску язвы и рака желудка, чем инфицированные *cagA*-негативными штаммами *H. pylori*. Однако в Восточной Азии такой зависимости не установлено [14, 15].

Ген *cagA* – это полиморфный ген, который представлен разным количеством повторяющихся последовательностей, расположенных в 3'-регионе. Каждый повторяющийся регион протеина CagA содержит Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala(EPIYA)-профили, включающие фосфорилирование тирозина. Согласно расшифрованным EPIYA-последовательностям профиля различают 4 сегмента: EPIYA-A, EPIYA-B, EPIYA-C, EPIYA-D, каждый из которых содержит повторяющийся реги-

он EPIYA-A. Но профили EPIYA-последовательностей имеют географические особенности, чем можно объяснить различия по распространенности рака желудка в различных странах. Так, EPIYA-A повторяющийся регион гена *cagA* западных изолятов *H. pylori* ассоциирован с EPIYA-A, EPIYA-B, EPIYA-C сегментами (A-B-C тип CagA). EPIYA-C сегмент вариабельно повторяется (до трех раз) в тандеме среди различных CagA-штаммов. CagA-штаммы, выделенные из восточноазиатских изолятов *H. pylori*, также содержат сегменты EPIYA-A и EPIYA-B, но без повторения сегмента EPIYA-C, вместо которого они имеют сегмент EPIYA-D, уникальный для этого региона. Соответственно, EPIYA-A повторяющийся регион *cagA*-гена восточноазиатских изолятов *H. pylori* находится в ассоциации с EPIYA-A, EPIYA-B, EPIYA-D сегментами (A-B-D тип CagA) [16]. Западные *cagA*-штаммы, имеющие повторяющийся сегмент EPIYA-C, чаще ассоциированы с развитием предраковых изменений и раком желудка [17]. При изучении роли повторяющегося региона полученные данные позволяют предположить, что штаммы *H. pylori*, имеющие эти повторяющиеся последовательности, менее устойчивы к действию соляной кислоты, на что указывает их присутствие при атрофическом гастрите, при котором снижена ее секреция. В исследовании Yamaoka Y. et al. показано, что заболеваемость раком желудка наиболее высока в странах Восточной Азии, но также и в некоторых странах Америки, таких как Колумбия и Перу, где преимущественно циркулируют CagA-штаммы [18]. Но при сравнительном изучении частоты встречаемости повторяющегося сегмента EPIYA-C установлено, что два сегмента EPIYA-C имеют 57% изолятов *H. pylori* из Колумбии и только 4% изолятов из США, где частота рака желудка одна из самых низких. Таким образом, частота распространения сегмента EPIYA-C среди популяции может быть одним из факторов, объясняющих наличие географических различий по распространенности рака желудка.

Риск развития рака желудка, возможно, определяется некоторыми особенностями, связанными с *cagPAI*, в частности, изменениями генетических последовательностей мотивов EPIYA и наличием/отсутствием функциональной системы секреции типа IV [19]. Tegtmeyer N. et al. предложили интегративную модель активности транслоцированной *cagA*, включающую несколько возможных сигнальных путей, реализующихся через множественные рецепторные и нереперторные киназы в желудочном эпителии человека, что оказывает влияние на процессы адгезии, воспаления и пролиферации [19]. Как было показано Hayashi et al. (2012), структура N-концевого сегмента молекулы CagA уникальна без наличия гомологии к каким-либо известным протеинам и состоит из нескольких доменов, включающих интегрин-связывающий регион [20]. А неструктурированный C-терминальный сегмент содержит повторяющиеся регионы EPIYA, CM (*cagA* multimerization) и CRPIA (conserved repeat responsible for phosphorylation-independent activity) мотивы, а также регион, связывающий секрецию CagF с C-терминальным сигналом [21]. Jang et al. (2017) сообщили, что некоторые штаммы *H. pylori* являются гетерогенными в отношении копий *cagA* (до 4 копий), расположенных в хромосоме, число копий может изменяться и динамически напрямую связано с токсичностью [22]. Они показали, что множественные копии

cagA, найденные у 7,5% штаммов *H. pylori*, выделенных в США, оказывали влияние на вирулентность бактерии, фенотипическое проявление провоспалительных свойств. Эти данные согласуются с данными Draper et al., которые показали, используя близкие штаммы PMSS1 и SS1, что количество *CagA* динамически изменяется и модулирует его активность [23]. Дальнейшие исследования в этой области помогут расшифровать значение вариаций *CagA* (EPIYA, CM, CRPIA) и функцию *cagPAI/T4SS* в качестве *CagA*-маркера риска различных исходов заболевания.

Отдельные гены (включая *virB4*, *virB7*, *virB11*, *virD4*), входящие в состав зоны пластичности *H. pylori*, кодируют IV тип системы секреции и обуславливают высокую вариабельность генома. Группы исследователей идентифицировали маркеры вирулентности в этих областях, ассоциированные с язвенной болезнью желудка, раком и MALT-лимфомой желудка. При изучении 211 штаммов *H. pylori*, выделенных от больных с неатрофическим гастритом, язвой желудка и раком желудка, группа иранских ученых обнаружила ассоциацию между присутствием трех генов из пластичного региона – *jhp940*, *jph945*, *jhp947* – и геном *cagE*, при этом *jhp940* был достоверно связан с риском развития рака желудка [24]. Другая группа индийских ученых подтвердила, что гены *jhp945*, *jph947*, *jhp949* могут использоваться в качестве прогностических маркеров развития дуоденальной язвы [25]. Исследуя мобильность генов, Uchiyama I. et al. (2016) идентифицировали новые генетические элементы, которые назвали со-occurring gene clusters (CGCs) – сопутствующие генетические кластеры [26]. Один из таких кластеров кодирует некоторые компоненты системы IV типа секреции, в частности обратную транскриптазу, которая может быть ассоциирована с механизмом защиты бактерии от действия бактериофагов.

Вакуолизирующий токсин *VacA* (полипептид с молекулярной массой 140 кД) кодируется геном *vacA*, существующим у всех штаммов *H. pylori*, и отображает аллельное разнообразие в трех основных регионах: *s* (signal – сигнальный), *i* (intermediate – промежуточный), *m* (middle – средний). Уровень секреции вакуолизирующего токсина определяется мозаичной структурой гена *vacA*. Регионы *vacA* существуют в двух аллельных типах: (*s1* и *s2*, *i1* и *i2*, *m1* и *m2*), что обуславливает штаммовые различия в цитотоксической активности. В *s1* идентифицированы подтипы: *s1a*, *s1b*, *s1c* [27]. Штаммы *H. pylori*, имеющие генотипы *s1m1* и *s1m2*, обладают максимальным или средним уровнем секреции цитотоксина, тогда как штаммы *s2m2* проявляют незначительную токсическую активность [28]. Что касается *i*-региона, *s1/m2*-генотипы, имеющие *i1*, являются вакуолизирующими, а штаммы *s1/m2*, имеющие *i2*-аллель – невакуолизирующие [29]. Недавно Sinnett C.G. et al. (2016) описали новый полиморфизм гена промежуточного региона *vacA i1*-подтипа, который ассоциирован с уровнем воспаления слизистой оболочки желудка у *H. pylori*-позитивных пациентов и повышением риска заболеваний [30]. Другое исследование сообщило о *VacA*-зависимом патогенетическом механизме, приводящем к фосфорилированию *CagA* на клеточной линии дуоденальной карциномы AZ-521 [31]. Молекулярные исследования выявили два новых полиморфных участка: делецию (варианты *d1* и *d2*) и *s*-область (варианты *c1* и *c2*),

расположенные в 3'-концевом регионе *vacA* [32]. Подобно описанным ранее подтипам, некоторые варианты из этих новых регионов ассоциированы с высоким риском рака желудка, однако окончательно их роль не установлена [33].

Штаммы с *s1*-аллелью секретируют активный токсин и ассоциированы с высоким риском язвы и рака желудка, а комбинация *s1/s2* или *s2* найдены у больных раком желудка [34]. Подтип *m1* демонстрирует более сильную вакуолизирующую активность, чем подтип *m2*, и связан с повышенным риском развития повреждения эпителия желудка и канцерогенезом [35]. Также показано, что *i1*-аллель ассоциирована с аденокарциномой желудка [36]. Исследователями также установлено, что жители стран Латинской Америки, Ближнего Востока, Африки, инфицированные *s1*- или *m1*-штаммами *H. pylori* имеют повышенный риск развития язвенной болезни и рака желудка в сравнении с лицами, инфицированными штаммами *s2* и *m2* [37]. Также имеются данные о наличии штаммовых различий в распространенности генотипов по географическому происхождению. Например, штаммы *m1* распространены в странах Северо-Восточной Азии, таких как Япония, Южная Корея, а штаммы *m2* преобладают в странах Юго-Восточной Азии, таких как Тайвань, Вьетнам, но при этом связь между развитием определенных заболеваний и географическим регионом не выявлено [38].

Геном *H. pylori* содержит более 30 *omp*-генов (outer membrane proteins), кодирующих белки наружной мембраны, которые делятся на две подгруппы: *hop* (*Helicobacter* outer membrane proteins) и *hor* (*hop*-related groups). *Hop*-подгруппа кодируется 21 геном и включает два известных адгезина: Lewis blood group antigen-binding adhesion BabA (адгезин, ассоциированный с группой крови) и sialic Lewis X antigen binding adhesion – SabA. Эти адгезины распознают специфические углеводные фрагменты желудочного эпителия, что способствует инфекции и воспалительным процессам в гастродуоденальном тракте.

Описаны гены *bab* (*babA* и *babB*), кодирующие белок Bab (blood group antigen-binding adhesion – адгезин, ассоциированный с группой крови), которые присутствуют в виде нескольких аллелей. Белки Bab обуславливают адгезию *H. pylori* с системой антигенов Lewis на эпителиальных клетках желудка [39]. Некоторые исследователи указывают на то, что штаммы с высоким уровнем экспрессии BabA определяют более серьезные повреждения слизистой и чаще ассоциированы с язвой [40] и раком желудка [41]. Доказательства связи *babA* с тяжелыми гастродуоденальными заболеваниями основываются на многочисленных эпидемиологических данных, указывающих на то, что BabA-опосредованная адгезия может усиливать активность *cagT4SS* и стать индуктором провоспалительных цитокинов (например, ИЛ-8) или предраковых факторов (CDX2 и MUC2) [39]. Исследование Su Y.L. et al. (2016) [42] показало значительную связь между комбинацией BabA, SabA, OipA и *H. pylori*-ассоциированным раком желудка. Недавно проведенные исследования подтвердили разнообразие и динамичность экспрессии различных фенотипов BabA, что должно учитываться при установлении связи между BabA и различными клиническими исходами [43, 44]. В то же время генотипическое разнообразие генов *babA* и *babB* может влиять на избирательность адгезии различных штаммов *H. pylori*

[45]. Известно, что BabA-опосредованное связывание является кислоточувствительным процессом, обратимым и реагирующим на повышение pH [46]. Белок BabA играет также роль в кислотной адаптации бактерии в ответ на изменения секреции соляной кислоты в ходе прогрессирования заболевания. Связывание BabA с гликоконъюгатами ингибирует пролиферацию, вызванную бактериальной агрегацией, что указывает на новую роль муцина в защите хозяина против *H. pylori* [47].

Наружный воспалительный белок OipA (outer inflammatory protein) поддерживает воспаление слизистой оболочки желудка, связан с секрецией ИЛ-8 и ИЛ-6, со степенью обсемененности *H. pylori*, выраженностью нейтрофильной инфильтрации, с развитием интерстициальной метаплазии. Yamaoko Y. et al. обнаружили ассоциацию OipA-положительных штаммов с дуоденальной язвой и нейтрофильной инфильтрацией, тогда как SabA-генотип был ассоциирован с раком желудка, кишечной метаплазией, атрофией тела желудка [48]. Молекулярно-эпидемиологические исследования указывают на существование корреляции между *oip* и присутствием *cagPAI* и *vacAs1/m1* у высоковирулентных штаммов *H. pylori* [49]. Teymournejad et al. (2017) были представлены новые аргументы в пользу доказательства роли Oip в вирулентном потенциале *H. pylori*, основные на поражении клеточных линий желудка различными концентрациями OipA [50]. В подтверждение функции Oip эта группа исследователей показала токсические эффекты в виде каскада апоптоза, возникающие в результате связывающего (binding) свойства протеинов наружной мембраны.

Кроме того, существуют и другие протеины, такие как AlpA (HopC), AlpB (HopB), HopZ, которые также принимают участие в адгезии и опосредуют тропизм *H. pylori* к слизистой оболочке желудка, но окончательно их роль пока не установлена [51, 52]. *H. pylori* membrane protein (HopQ) – это наружный протеин мембраны, который впервые был описан у секвенированного штамма *H. pylori* и назван *omp27* [53], имеет два аллельных варианта – *hopQ1* и *hopQ2*. Интерес исследователей к этому протеину вызван тем фактом, что обнаружена прямая корреляция между присутствием генов *cagA* и *hopQ1* [53]. При скрининге большого количества мутантов *H. pylori* исследователями был идентифицирован HopQ как не-*cagPAI*-кодируемый ко-фактор функции T4SS, который необходим для транслокации CagA [54]. Эта работа также показала, что делеция *hopQ* снижает T4SS-зависимую активацию нейтрофилов и секрецию ИЛ-8 в клетках хозяина. Также Jimenez-Soto et al. (2013) [55] идентифицировали HopQ наряду с другими факторами OMPs как фактор ограничения и контроля последующей транслокации CagA в клетки хозяина, независимо от наличия рецептора интегрин $\beta 1$. Исследования по изучению молекулярных механизмов, лежащих в основе взаимодействий OMPs и транслокации CagA, привели к определению опосредованной роли HopQ для реализации вирулентного потенциала *cagPAI* в процессе взаимодействия с рецепторами человека из семейства кардиоэмбриональных антиген-связанных молекул клеточной адгезии (CEACAMs) [56–58].

Известен также ген *htrA*, кодирующий синтез HtrA (High temperature requirement A) – сериновой протеазы, выделяемой в межклеточное пространство *H. pylori* в процессе ин-

фекции. Внеклеточная протеаза HtrA расщепляет клеточный адгезивный белок путем протеолиза. Возможно, что этот фермент также принимает участие в перекрестных реакциях с белком CagA и других патогенетических механизмах инфекционного процесса, вызванного *H. pylori* [59]. Обнаружение опухолевого супрессора E-кадгерина в качестве HtrA-субстрата может указывать на роль HtrA в *H. pylori*-индуцированном канцерогенезе, нарушениях адгезивных соединений, что способствует транслокации микроорганизма через эпителий [60]. Последние исследования доказывают влияние HtrA на E-кадгерин. Показано, что при изучении 992 штаммов *H. pylori* локус гена *htrA* присутствовал у всех изолятов, а протеолитическая активность HtrA способствовала выживанию бактерий [61]. При введении второго функционального гена *htrA* в штаммы *H. pylori* при чрезмерной экспрессии HtrA происходило усиление расщепления E-кадгерина, бактериальная трансмиграция и доставка эффекторного белка CagA в эпителиальные клетки [62]. Эти данные указывают на возможную роль HtrA в качестве фактора патогенности *H. pylori* в процессе онкотрансформации.

Популяционная геномика *H. pylori*

Изоляция семи сцепленных генов (*atpA*, *efp*, *mutY*, *ppa*, *trpC*, *urel*, *yhpC*) или генов *cagPAI* с помощью мультилокусного сиквенс-типирования (MLST) может быть использовано в качестве изучения миграции человека на протяжении существования человечества. Штаммы *H. pylori* могут быть разделены на отдельные бактериальные популяции, которые демонстрируют тесную связь с этногеографическим расселением человеческой популяции [63]. Изучая генотипические свойства *H. pylori*, можно предположить, что человек и *H. pylori* эволюционировали совместно около 100 тыс. лет, и за этот период микроорганизм смог выработать стратегию выживания в неблагоприятных условиях кислотной среды желудка, так что, возможно, его следует отнести к наиболее успешным патогенам человека [63]. На основе методов филогенетического анализа первоначально были выделены бактериальные популяции *H. pylori*, из которых три имеют африканское происхождение (hpNEAfrica, hpAfrica1, hpAfrica2), одна – европейское (hpEurope), три – азиатское (hpEastAsia, hpAsia2, hpSahul) [63, 64]. В каждой популяции были также выделены субпопуляции: в африканской популяции hpNEAfrica – субпопуляции hpEastNEAfrica, hspCentralNEAfrica; в популяции hpAfrica1 – субпопуляции hspAfrica, hspWAfrica, hspCAfrica; в азиатской hpEastAsia – субпопуляции hspAmerind, hspEAsia, hspMaori [64, 65]. В целях повышения точности идентификации популяций и субпопуляций были предложены новые методологические подходы с использованием геномных последовательностей вместо последовательностей изолированных генов. Один из таких подходов, основанный на методе окраски хромосомы, разработан Lawson [66] и апробирован Yahara, описавшим новые субпопуляции *H. pylori* [67]. С помощью нового инструмента, названного fineSTRUCTURE, Thorell et al. описали новые субпопуляции *H. pylori*, циркулирующие на Американском континенте: hspAfrica1NAmerica, hspAfrica1Nicaragua, hspEuropeColumbia, hspMiscAmerica [68]. Эти новые субпопуляции могли возникнуть в результате генетического дрейфа или рекомбинаций. Три независимых

исследования указывают на быструю эволюцию *H. pylori* на Американском континенте в течение короткого периода (около 500 лет). В исследовании Thorell et al. проанализирован 401 геном штаммов *H. pylori* из Северной, Центральной и Южной Америки, что подтверждает происхождение американской популяции преимущественно за счет смешения европейской и африканской популяций [68]. Было идентифицировано несколько новых субпопуляций, большинство из которых были европейскими и африканскими гибридами. Munoz-Ramirez et al., сравнивая геномы 107 штаммов *H. pylori*, полученных из Мексики, Колумбии и Никарагуа, разделили их на группы, отделив европейские, африканские и латиноамериканские, и указали на частые рекомбинации среди латиноамериканских штаммов [69]. Oleastro et al., исследуя 215 штаммов, полученных из разных португалоязычных стран, расположенных на разных континентах, показали, что штаммы из Португалии принадлежат к европейской популяции hrEurope [70]. При этом интеграция европейской популяции hrEurope в популяцию штаммов hrAfrica 1 *H. pylori*, выделенных от населения африканских стран, говорящих на португальском языке, была низкой, в то время как в Бразилии и африканском острове Cape Verde европейские популяции hrEurope встречались в 20 и 50% случаев. Все штаммы hrEurope из португалоязычных стран имели смешение популяций европейского и африканского происхождения. Таким образом, эти данные указывают на то, что генетическое разнообразие *H. pylori* может быть использовано в качестве генетического маркера миграционных процессов, происходивших в человеческом обществе в течение длительных исторических периодов, и опосредованно служить основой для прогнозирования популяционных рисков развития рака желудка.

Фаговая конверсия *H. pylori*

Как известно, бактериальный геном может содержать гены интегрированной ДНК профага, обуславливающие фаговую конверсию – изменение свойств бактерии под действием встроенного фага. Существование явления лизогении у штаммов *H. pylori* впервые предположили Schmidt E.N. et al. в 1990 г. [71]. В последующем также было несколько сообщений о лизогенных штаммах *H. pylori* [72–74]. Группа исследователей Lehours et al. сообщила о возможном влиянии на повышение вирулентности штамма *H. pylori* за счет интегрированного профага из семейства *Siphoviridae*, выделенного от больного MALT-лимфомой [75]. Исследования Vale F.F. et al. представили филогенетический анализ 28 профагов, найденных у изолятов *H. pylori*, выделенных от пациентов с различными заболеваниями желудка (гастриты, рак) различного географического происхождения [76]. Размеры геномов этих профагов варьировали 22.6–33.0 Kbp. В отличие от хромосомной ДНК *H. pylori*, содержащей 39% G-Ц, ДНК профага содержит 36,6% G-С. Почти 40% профагов содержали IS (Insertion sequences) вставочные последовательности, ранее описанные у *H. pylori*. Тандемные повторы (tandem repeats) были обнаружены в межгенной области (intergenic region) между профагом и бактериальными генами. Кроме того, гены профагов представляют собой надежную филогенетическую структуру с выделением четырех основных кластеров: одна африканская, одна азиатская

и две европейские популяции. В результате мозаичности строения генома *H. pylori* происходит значительная вариация геновариантов и соответствующих фенотипических проявлений. Kyrillos et al. (2016) при скрининге фаговых последовательностей у 335 штаммов *H. pylori* обнаружили корреляцию между приобретенным горизонтальным переносом генов фагов и основными генами вирулентности *cagA* и *vacA* [77]. В другом исследовании профаг был обнаружен в геноме CagA-негативного штамма *H. pylori*, который был изолирован от больного раком желудка [78]. Kumar et al. предположили значение профагов в кодировании генов антибиотикорезистентности и вирулентности *H. pylori*, что требует проведения дальнейших исследований в этой области [79].

Экспрессия генов патогенности и патогенез *H. pylori*-инфекции

H. pylori может реализовать свой патогенный потенциал только в случае успешной колонизации клеток хозяина. Как известно, для большинства бактерий кислая среда желудка является непреодолимым барьером (средняя продолжительность сохранения жизнеспособности некислоустойчивых бактерий ограничивается 30 мин). Для *H. pylori* оптимальное значение pH нейтральное, ближе к слабощелочному – 8,5. Способность *H. pylori* быстро преодолевать кислотный барьер желудка и достигать нейтральной среды обусловлено его морфологическими особенностями, высокой подвижностью за счет жгутиков и спиралевидной формой, а также системой хемотаксиса и синтезом уреазы [80]. На долю уреазы *H. pylori* приходится около 10% общей белковой массы. Этот фермент играет ключевую роль как в установлении начальной колонизации, так и в поддержании хронической инфекции [81, 82]. Jones M.D. et al. показали значение снижения pH цитоплазмы на *H. pylori*, подвергнувшегося в эксперименте воздействию pH, равного 2,0, при имитации условий в желудке человека *in vitro*. Это привело к активации транскрипции гена мочевины, зависящей от фактора транскрипции никеля (HpNikR), что иллюстрирует механизм адаптации этой бактерии к кислой среде желудка. Экспериментальные данные позволили связать адаптацию *H. pylori* в кислой среде желудка и гомеостаз никеля.

Дополнительный повреждающий эффект, индуцированный *H. pylori*, вызван снижением секреции бикарбонатов, которые защищают эпителий желудка от соляной кислоты. *H. pylori* подавляет экспрессию двух переносчиков клеточного бикарбоната в эпителии 12-перстной кишки, что может играть дополнительную роль в патогенезе язвенной болезни 12-перстной кишки [83, 84]. Кроме того, уреазы *H. pylori* и ее каталитические продукты могут оказывать прямое повреждающее действие на ткани хозяина. Аммиак может повреждать целостность желудочного эпителия, в то время как углекислый газ поддерживает устойчивость бактерий к повреждению метаболитами оксида азота, продуцируемыми фагоцитарными клетками [82]. Уреазы также индуцирует воспаление и ангиогенез *in vivo* независимо от своей каталитической активности и непосредственно активирует нейтрофилы человека для выработки активных форм кислорода, тем самым нанося дополнительный повреждающий эффект [85].

Достижению длительной колонизации *H. pylori* способствует способность этой бактерии к адгезии на эпителиаль-

ных клетках желудка, образованию биопленок и антиоксидантной ферментативной системе [86, 87]. Вязкость желудочного муцина тесно связана со значением pH: при низком значении pH желудочный муцин образует гель, а при увеличении pH, вызванном уреазой, происходит снижение его вязкости, что облегчает плавающую подвижность планктонных форм *H. pylori* [88]. Мочевина является не только субстратом уреазы, но и одной из сигнальных молекул системы хемотаксиса. *H. pylori* использует систему хемотаксиса для определения градиента pH, мочевины и аминокислот, секретруемых клетками хозяина [89]. Система хемотаксиса способна воспринимать сигналы, предупреждающие бактерию о неблагоприятных факторах, таких как активные формы кислорода, желчные соли, выделяемые клетками «хозяина», и молекулы, регулирующие систему Quorum sensing (аутоиндуктор-2), продуцируемые самими бактериями, тем самым оберегают *H. pylori* от негативного воздействия окружающей среды [90]. Целостность системы хемотаксиса является необходимым условием для патогенеза *H. pylori*-инфекции. McGee D.J. et al. (2005) установили, что дефицитный по регулятору хемотаксиса штамм *H. pylori* не может колонизировать монгольских песчанок, а дефицитный по хеморецепторам штамм сохраняет способность инфицирования со значительным снижением воспаления [91].

Спиралевидная форма и наличие на одном полюсе жгутиков позволяет бактерии преодолевать толщи слизи. *H. pylori* в зависимости от среды обитания производит различные типы движения: плавающие (swimming), скользящие (spreading), ползающие (swarming). Роль подвижности в колонизации желудочного и метапластически измененного эпителия 12-перстной кишки была убедительно показана в работе с гнотобионтами, когда у животных, зараженных подвижными штаммами *H. pylori*, отмечалась более высокая частота инфицирования в сравнении с животными, инфицированными неподвижными мутантами [92]. Вращение полярно расположенных жгутиков обусловлено сокращением белков подвижности MotA и MotB, при этом мутанты со сниженным количеством жгутиков имели пониженную способность колонизировать желудок мышей, тогда как мутанты с большим их числом могли быстрее достигать слизистой оболочки желудка [81]. Спиралевидная морфология позволяет *H. pylori* инвазировать слизистый слой желудка подобно вращающемуся штопору, а мутанты с палочковидной морфологией теряют около 7–21% своей скорости [93].

В геноме *H. pylori* закодировано приблизительно 30 белков внешней мембраны, выполняющих адгезивные функции, ведущими из которых являются белки BabA и SabA [81]. Колонизация слизистой оболочки желудка *H. pylori* опосредуется поверхностными адгезинами, которые преимущественно взаимодействуют с муцином (MUC5AC) и Lewis-детерминантами (Le). Повышенная продукция MUC5AC в ответ на инфекцию *H. pylori* может рассматриваться как потенциальный механизм, способствующий адгезии бактерий. *In vivo* на животной модели морских свинок было выявлено, что во время инфекции *H. pylori* повышается выработка MUC5AC и накопление детерминант LeX и LeY в слизистой оболочке желудка [94]. Эти явления были подтверждены также *in vitro* на клеточных культурах первичных эпителиальных клеток желудка морской свинки, культивируемых со-

вместно с антигенами, такими как белок CagA, субъединица А уреазы и липополисахарид клеточной стенки. Показана роль рецептора трансферрина (TFRC) *H. pylori* для прикрепления к эпителиальным клеткам желудка, что облегчает захват железа. При этом сверхэкспрессия легкой цепи ферритина в слизистой оболочке желудка у пациентов, инфицированных *H. pylori*, может приводить к дифференцировке эпителиальных клеток в кишечную метаплазию – начальную стадию онкогенной трансформации [95].

В исследованиях Huang Y. было подтверждено, что *H. pylori* способен внедряться и пролиферировать в эпителиальных клетках желудка, таких как клетки AGS и MKN45, что помогает ему избежать иммунной системы хозяина [96]. Кроме того, способность этой бактерии к биопленкообразованию повышает устойчивость к лекарственным препаратам. Так, *in vitro* у биопленочных форм устойчивость к кларитромицину примерно в 8 раз больше, чем у планктонных клеток [87, 97].

В сравнительном транскриптомном анализе, проведенном Hathroubi et al., было обнаружено, что 8% изученных генов дифференцированно экспрессируются биопленочными и планктонными формами *H. pylori*. Гены со сниженной экспрессией в биопленке были ответственны за метаболизм и трансляцию, в то время как гены с повышенной экспрессией в биопленке кодировали белки оболочки, участвующие в реакции на стресс и синтезе жгутиков [98].

Антиоксидантная система является еще одним защитным механизмом *H. pylori*. Эти бактерии оказывают сопротивление окислительному стрессу, вызванному иммунным ответом хозяина, выделяя свои собственные антиоксидантные ферменты, такие как супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза. Частота распространения СОД-дефицитного штамма у мышей составляет всего 4%, тогда как для штамма дикого типа она достигает 88%, что указывает на важность антиоксидантных ферментов при инфекции *H. pylori* [99]. По данным эпидемиологических исследований, инфицирование *H. pylori* у 85% лиц носит бессимптомный характер или приводит к развитию гастрита, у 15% инфицированных людей возможно развитие язвенной болезни и у 1% – рака желудка [100]. После успешной колонизации желудка инфекция *H. pylori* через цепь последовательных превращений может привести к атрофическому гастриту, метаплазии, дисплазии и, в конечном итоге, раку желудка [101]. Недавние исследования еще раз подтвердили, что эрадикация *H. pylori* у инфицированных бессимптомных лиц в любом возрасте может снизить частоту возникновения рака желудка [102].

Различные факторы патогенности *H. pylori*, такие как цитотоксин CagA, вакуолизирующий токсин VacA, белок DupA и уреазы, играют ключевую роль в повреждении тканей хозяина и индуцировании желудочно-кишечных заболеваний [80]. CagA – это онкогенный белок, связанный с возникновением аденокарциномы желудка и 12-перстной кишки [103]. CagA через систему секреции IV типа может взаимодействовать с несколькими молекулами клеток-хозяев, тем самым вызывая провоспалительные реакции, приводящие к хроническому воспалению слизистой оболочки желудка. Также CagA может способствовать развитию карциногенеза через модуляцию апоптоза [104]. Исследования показывают, что

риск развития рака желудка у индивидуумов, инфицированных CagA-позитивными штаммами *H. pylori*, в два раза выше, чем у лиц, инфицированных CagA-негативными штаммами [100].

VacA – это мультирецепторный белок, мишенью которого являются различные клетки, как эпителиальные клетки желудка, так и иммунные [105]. После связывания с рецепторами вакуолизирующий токсин накапливается внутри различных клеточных структур и индуцирует деполяризацию мембран, митохондриальную дисфункцию, аутофагию, активирует протеинкиназы, ингибирует функции Т-клеток и клеточный апоптоз. Исследования показывают, что люди, инфицированные штаммами *H. pylori vacA s1* или *m1*, имеют повышенный риск развития рака желудка в западных популяциях, в то время как *H. pylori*-инфекция *vacA i1*-типа ассоциирована с более высоким риском развития рака желудка в Средней Азии и на Ближнем Востоке [100]. Белок DupA получил свое название благодаря способности вызывать язвенную болезнь 12-перстной кишки (duodenal ulcer promoting gene – *dupA*). В соответствии с первоначальными данными распространенность этого гена была выше у штаммов, выделенных от больных язвенной болезнью 12-перстной кишки, чем от больных гастритом или раком желудка [106]. Но дальнейший анализ данных показал, что инфицирование DupA-штаммами повышает риск не только развития язвенной болезни 12-перстной кишки, но и рака желудка [104].

Таким образом, дальнейшие исследования генома *H. pylori* открывают перспективу раскрытия механизмов патогенеза индуцированных этим микроорганизмом заболеваний, в том числе онкологических трансформаций, могут служить ключом к пониманию эволюционных процессов симбиотических взаимоотношений «патоген–хозяин».

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература / References

- Warren JR, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*. 1983 Jun 4;1(8336):1273-5.
- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenesis Risks to Humans. Monographs. Lyon. 1994, Vol. 61, pp. 177-240.
- Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Fleischmann RD, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*. 1997 Aug 7;388(6642):539-47. DOI: 10.1038/41483
- Alm RA, Ling LS, Moir DT, King BL, Brown ED, Doig PC, et al. Genomic - sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*. 1999 Jan 14;397(6715):176-80. DOI: 10.1038/16495. Erratum in: *Nature* 1999 Feb 25;397(6721):719.
- Thorell K, Lehours P, Vale FF. Genomics of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. 2017 Sep;22 Suppl 1. DOI: 10.1111/hel.12409
- Cao DM, Lu QF, Li SB, Wang JP, Chen YL, Huang YQ, Bi HK. Comparative Genomics of *H. pylori* and Non-Pylori *Helicobacter* Species to Identify New Regions Associated with Its Pathogenicity and Adaptability. *Biomed Res Int*. 2016;2016:6106029. DOI: 10.1155/2016/6106029
- Fischer F, Robbe-Saule M, Turlin E, Mancuso F, Michel V, Richaud P, Veyrier FJ, De Reuse H, Vinella D. Characterization in *Helicobacter pylori* of a Nickel Transporter Essential for Colonization That Was Acquired during Evolution by Gastric *Helicobacter* Species. *PLoS Pathog*. 2016 Dec 6;12(12):e1006018. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006018
- Odenbreit S, Püls J, Sedlmaier B, Gerland E, Fischer W, Haas R. Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. *Science*. 2000 Feb 25;287(5457):1497-500. DOI: 10.1126/science.287.5457.1497
- Higashi H, Tsutsumi R, Muto S, Sugiyama T, Azuma T, Asaka M, Hatakeyama M. SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. *Science*. 2002 Jan 25;295(5555):683-6. DOI: 10.1126/science.1067147
- Brandt S, Kwok T, Hartig R, König W, Backert S. NF-kappaB activation and potentiation of proinflammatory responses by the *Helicobacter pylori* CagA protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Jun 28;102(26):9300-5. DOI: 10.1073/pnas.0409873102
- Chow WH, Blaser MJ, Blot WJ, Gammon MD, Vaughan TL, Risch HA, et al. An inverse relation between *cagA+* strains of *Helicobacter pylori* infection and risk of esophageal and gastric cardia adenocarcinoma. *Cancer Res*. 1998 Feb 15;58(4):588-90.
- Wang SH, Zhu HF, He BS, Zhang ZY, Chen ZT, Wang ZZ, Wu GL. CagA + *H. pylori* infection is associated with polarization of T helper cell immune responses in gastric carcinogenesis. *World J Gastroenterol*. 2007 Jun 7;13(21):2923-31. DOI: 10.3748/wjg.v13.i21.2923
- Roesler BM, Costa SCB, Zeitune JMR. Virulence factors of *Helicobacter pylori* and their relationship with the development of early and advanced distal intestinal type gastric adenocarcinoma. In: Tonino P, editor. Gastritis and Gastric Cancer. New Insights in Gastroprotection, Diagnosis and Treatments. Rijeka Croatia: InTech Publishers; 2011.
- Van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, Plaisier A, Schneeberger P, de Boer W, Quint W. Clinical relevance of the *cagA*, *vacA*, and *iceA* status of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*. 1998 Jul;115(1):58-66. DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70365-8
- Yamaoka Y, Kodama T, Gutierrez O, Kim JG, Kashima K, Graham D. Relationship between *Helicobacter pylori iceA*, *cagA* and *vacA* status and clinical outcome: studies in four different countries. *J Clin Microbiol*. 1999;(7):2274-9.
- Higashi H, Tsutsumi R, Muto S, Sugiyama T, Azuma T, Asaka M, Hatakeyama M. SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. *Science*. 2002 Jan 25;295(5555):683-6. DOI: 10.1126/science.1067147
- Hatakeyama M. *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis. *J Gastroenterol*. 2009;44(4):239-48. DOI: 10.1007/s00535-009-0014-
- Yamaoka Y. Mechanisms of disease: *Helicobacter pylori* virulence factors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010 Nov;7(11):629-41. DOI: 10.1038/nrgastro.2010.154
- Tegtmeyer N, Wessler S, Necchi V, Rohde M, Harrer A, Rau TT, et al. *Helicobacter pylori* employs a unique basolateral type IV secretion mechanism for CagA delivery. *Cell Host Microbe*. 2017 Oct 11;22(4):552-560.e5. DOI: 10.1016/j.chom.2017.09.005
- Hayashi T, Senda M, Morohashi H, Higashi H, Horio M, Kashiba Y, et al. Tertiary structure-function analysis reveals the pathogenic signaling potentiation mechanism of *Helicobacter pylori* oncogenic effector CagA. *Cell Host Microbe*. 2012 Jul 19;12(1):20-33. DOI: 10.1016/j.chom.2012.05.010
- Schindele F, Weiss E, Haas R, Fischer W. Quantitative analysis of CagA type IV secretion by *Helicobacter pylori* reveals substrate recognition and translocation requirements. *Mol Microbiol*. 2016 Apr;100(1):188-203. DOI: 10.1111/mmi.13309
- Jang S, Su H, Blum FC, Bae S, Choi YH, Kim A, et al. Dynamic expansion and contraction of CagA copy number in *Helicobacter* impact development of gastric disease. *mBio*. 2017 Feb 21;8(1):e01779-16. DOI: 10.1128/mBio.01779-16

23. Draper JL, Hansen LM, Bernick DL, Abedrabbo S, Underwood JG, Kong N, et al. Fallacy of the unique genome: sequence diversity within single *Helicobacter pylori* strains. *mBio*. 2017 Feb 21;8(1):e02321-16. DOI: 10.1128/mBio.02321-16
24. GholizadeTobnagh Sh, Bakhti SZ, Latifi Navid S, Zahri S, Sadat Bakhti F. Role of Plasticity Region Genes and *cagE* gene of *cagPAI* of *Helicobacter pylori* in Development of Gastrointestinal (GI) Diseases. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2017 Jan 1;18(1):43-49. DOI: 10.22034/APJCP.2017.18.1.43
25. Ganguly M, Sarkar S, Ghosh P, Sarkar A, Alam J, Karmakar BC, et al. *Helicobacter pylori* plasticity region genes are associated with the gastroduodenal diseases manifestation in India. *Gut Pathog*. 2016 Mar 22;8:10. DOI: 10.1186/s13099-016-0093-5
26. Uchiyama I, Albritton J, Fukuyo M, Kojima KK, Yahara K, Kobayashi I. A Novel Approach to *Helicobacter pylori* Pan-Genome Analysis for Identification of Genomic Islands. *PLoS One*. 2016 Aug 9;11(8):e0159419. DOI: 10.1371/journal.pone.0159419
27. Atherton JC, Cao P, Peek RM Jr, Tummuru MK, Blaser MJ, Cover TL. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem*. 1995 Jul 28;270(30):17771-7. DOI: 10.1074/jbc.270.30.17771
28. Cover TL, Blaser MJ. Purification and characterization of the vacuolating toxin from *Helicobacter pylori*. *J Biol Chem*. 1992 May 25;267(15):10570-5.
29. Rhead JL, Letley DP, Mohammadi M, Hussein N, Mohagheghi MA, Eshagh Hosseini M, Atherton JC. A new *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin determinant, the intermediate region, is associated with gastric cancer. *Gastroenterology*. 2007 Sep;133(3):926-36. DOI: 10.1053/j.gastro.2007.06.056
30. Sinnett CG, Letley DP, Narayanan GL, Patel SR, Hussein NR, Zaitoun AM, Robinson K, Atherton JC. *Helicobacter pylori vacA* transcription is genetically-determined and stratifies the level of human gastric inflammation and atrophy. *J Clin Pathol*. 2016 Nov;69(11):968-973. DOI: 10.1136/jclinpath-2016-203641
31. Nakano M, Yahiro K, Yamasaki E, Kurazono H, Akada J, Yamaoka Y, et al. *Helicobacter pylori VacA*, acting through receptor protein tyrosine phosphatase α , is crucial for CagA phosphorylation in human duodenum carcinoma cell line AZ-521. *Dis Model Mech*. 2016 Dec 1;9(12):1473-1481. DOI: 10.1242/dmm.025361
32. Thi Huyen Trang T, Thanh Binh T, Yamaoka Y. Relationship between *vacA* Types and Development of Gastroduodenal Diseases. *Toxins (Basel)*. 2016 Jun 9;8(6):182. DOI: 10.3390/toxins8060182
33. Bakhti SZ, Latifi-Navid S, Mohammadi S, Zahri S, Bakhti FS, Feizi F, Yazdanbod A, Siavoshi F. Relevance of *Helicobacter pylori vacA* 3'-end Region Polymorphism to Gastric Cancer. *Helicobacter*. 2016 Aug;21(4):305-16. DOI: 10.1111/hel.12284
34. López-Vidal Y, Ponce-de-León S, Castillo-Rojas G, Barreto-Zúñiga R, Torre-Delgadillo A. High diversity of *vacA* and *cagA* *Helicobacter pylori* genotypes in patients with and without gastric cancer. *PLoS One*. 2008;3(12):e3849. DOI: 10.1371/journal.pone.0003849
35. Yamaoka Y. Mechanisms of disease: *Helicobacter pylori* virulence factors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010 Nov;7(11):629-41. DOI: 10.1038/nrgastro.2010.154
36. Basso D, Zambon CF, Letley DP, Stranges A, Marchet A, Rhead JL, et al. Clinical relevance of *Helicobacter pylori cagA* and *vacA* gene polymorphisms. *Gastroenterology*. 2008 Jul;135(1):91-9. DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.041
37. Sugimoto M, Yamaoka Y. The association of *vacA* genotype and *Helicobacter pylori*-related disease in Latin American and African populations. *Clin Microbiol Infect*. 2009 Sep;15(9):835-42. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.02769.x
38. Uchida T, Nguyen LT, Takayama A, Okimoto T, Kodama M, Murakami K, et al. Analysis of virulence factors of *Helicobacter pylori* isolated from a Vietnamese population. *BMC Microbiol*. 2009 Aug 23;9:175. DOI: 10.1186/1471-2180-9-175
39. Ansari S, Yamaoka Y. *Helicobacter pylori* BabA in adaptation for gastric colonization. *World J Gastroenterol*. 2017 Jun 21;23(23):4158-4169. DOI: 10.3748/wjg.v23.i23.4158
40. Fujimoto S, Olaniyi O, Arnqvist A, Wu JY, Odenbreit S, Haas R, Graham DY, Yamaoka Y. *Helicobacter pylori* BabA expression, gastric mucosal injury, and clinical outcome. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007 Jan;5(1):49-58. DOI: 10.1016/j.cgh.2006.09.015
41. Talebi Bezmin Abadi A, Taghvaei T, Mohabbati Mobarez A, Vaira G, Vaira D. High correlation of *babA* 2-positive strains of *Helicobacter pylori* with the presence of gastric cancer. *Intern Emerg Med*. 2013 Sep;8(6):497-501. DOI: 10.1007/s11739-011-0631-6
42. Su YL, Huang HL, Huang BS, Chen PC, Chen CS, Wang HL, et al. Combination of OipA, BabA, and SabA as candidate biomarkers for predicting *Helicobacter pylori*-related gastric cancer. *Sci Rep*. 2016 Nov 7;6:36442. DOI: 10.1038/srep36442
43. Hansen LM, Gideonsson P, Canfield DR, Borén T, Solnick JV. Dynamic Expression of the BabA Adhesin and Its BabB Paralog during *Helicobacter pylori* Infection in Rhesus Macaques. *Infect Immun*. 2017 May 23;85(6):e00094-17. DOI: 10.1128/IAI.00094-17
44. Kable ME, Hansen LM, Styer CM, Deck SL, Rakhimova O, Shevtsova A, Eaton KA, Martin ME, Gideonsson P, Borén T, Solnick JV. Host Determinants of Expression of the *Helicobacter pylori* BabA Adhesin. *Sci Rep*. 2017 Apr 18;7:46499. DOI: 10.1038/srep46499
45. Colbeck JC, Hansen LM, Fong JM, Solnick JV. Genotypic profile of the outer membrane proteins BabA and BabB in clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Infect Immun*. 2006 Jul;74(7):4375-8. DOI: 10.1128/IAI.00485-06
46. Bugaytsova JA, Björnham O, Chernov YA, Gideonsson P, Henriksson S, Mendez M, et al. *Helicobacter pylori* adapts to chronic infection and gastric disease via pH-responsive BabA-mediated adherence. *Cell Host Microbe*. 2017 Mar 8;21(3):376-389. DOI: 10.1016/j.chom.2017.02.013
47. Skoog EC, Padra M, Åberg A, Gideonsson P, Obi I, Quintana-Hayashi MP, Arnqvist A, Lindén SK. BabA dependent binding of *Helicobacter pylori* to human gastric mucins cause aggregation that inhibits proliferation and is regulated via ArsS. *Sci Rep*. 2017 Jan 20;7:40656. DOI: 10.1038/srep40656
48. Yamaoka Y, Ojo O, Fujimoto S, Odenbreit S, Haas R, Gutierrez O, El-Zimaity HM, Reddy R, Arnqvist A, Graham DY. *Helicobacter pylori* outer membrane proteins and gastroduodenal disease. *Gut*. 2006 Jun;55(6):775-81. DOI: 10.1136/gut.2005.083014
49. Matsuo Y, Kido Y, Yamaoka Y. *Helicobacter pylori* Outer Membrane Protein-Related Pathogenesis. *Toxins (Basel)*. 2017 Mar 11;9(3):101. DOI: 10.3390/toxins9030101
50. Teymournejad O, Mobarez AM, Hassan ZM, Talebi Bezmin Abadi A. Binding of the *Helicobacter pylori* OipA causes apoptosis of host cells via modulation of Bax/Bcl-2 levels. *Sci Rep*. 2017 Aug 14;7(1):8036. DOI: 10.1038/s41598-017-08176-7
51. Odenbreit S, Swoboda K, Barwig I, Ruhl S, Borén T, Koletzko S, Haas R. Outer membrane protein expression profile in *Helicobacter pylori* clinical isolates. *Infect Immun*. 2009 Sep;77(9):3782-90. DOI: 10.1128/IAI.00364-09
52. Dossumbekova A, Prinz C, Mages J, Lang R, Kusters JG, Van Vliet AH, et al. *Helicobacter pylori* HopH (OipA) and bacterial pathogenicity: genetic and functional genomic analysis of *hopH* gene polymorphisms. *J Infect Dis*. 2006 Nov 15;194(10):1346-55. DOI: 10.1086/508426
53. Loh JT, Shaffer CL, Piazuolo MB, Bravo LE, McClain MS, Correa P, Cover TL. Analysis of *cagA* in *Helicobacter pylori* strains from Colombian populations with contrasting gastric cancer risk reveals a biomarker for disease severity. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2011 Oct;20(10):2237-49. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0548
54. Ohno T, Sugimoto M, Nagashima A, Ogiwara H, Vilaichone RK, Mahachai V, Graham DY, Yamaoka Y. Relationship between *Helicobacter pylori hopQ* genotype and clinical outcome in Asian and Western populations. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009 Mar;24(3):462-8. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05762.x
55. Belogolova E, Bauer B, Pompaiah M, Asakura H, Brinkman V, Ertl C, et al. *Helicobacter pylori* outer membrane protein HopQ identified as a novel T4SS-associated virulence factor. *Cell Microbiol*. 2013 Nov;15(11):1896-912. DOI: 10.1111/cmi.12158

56. Jiménez-Soto LF, Clausen S, Sprenger A, Ertl C, Haas R. Dynamics of the Cag-type IV secretion system of *Helicobacter pylori* as studied by bacterial co-infections. *Cell Microbiol.* 2013 Nov;15(11):1924-37. DOI: 10.1111/cmi.12166
57. Javaheri A, Kruse T, Moonens K, Mejías-Luque R, Debraekeleer A, Asche CI, et al. *Helicobacter pylori* adhesin HopQ en-gages in a virulence-enhancing interaction with human CEACAMs. *Nat Microbiol.* 2016 Oct 17;2:16189. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.189
58. Königer V, Holsten L, Harrison U, Busch B, Loell E, Zhao Q, et al. *Helicobacter pylori* exploits human CEACAMs via HopQ for adherence and translocation of CagA. *Nat Microbiol.* 2016 Oct 17;2:16188. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.188. Erratum in: *Nat Microbiol.* 2016 Oct 31;2:16233.
59. Hoy B, Löwer M, Weydig C, Carra G, Tegtmeyer N, Geppert T, Schröder P, Sewald N, Backert S, Schneider G, Wessler S. *Helicobacter pylori* HtrA is a new secreted virulence factor that cleaves E-cadherin to disrupt intercellular adhesion. *EMBO Rep.* 2010 Oct;11(10):798-804. DOI: 10.1038/embor.2010.114
60. Hoy B, Geppert T, Boehm M, Reisen F, Plattner P, Gadermaier G, et al. Distinct roles of secreted HtrA proteases from gram-negative pathogens in cleaving the junctional protein and tumor suppressor E-cadherin. *J Biol Chem.* 2012 Mar 23;287(13):10115-10120. DOI: 10.1074/jbc.C111.333419
61. Tegtmeyer N, Moodley Y, Yamaoka Y, Pernitzsch SR, Schmidt V, Traverso FR, et al. Characterisation of worldwide *Helicobacter pylori* strains reveals genetic conservation and essentiality of serine protease HtrA. *Mol Microbiol.* 2016 Mar;99(5):925-44. DOI: 10.1111/mmi.13276
62. Harrer A, Boehm M, Backert S, Tegtmeyer N. Overexpression of serine protease HtrA enhances disruption of adherens junctions, paracellular transmigration and type IV secretion of CagA by *Helicobacter pylori*. *Gut Pathog.* 2017 Jul 25;9:40. DOI: 10.1186/s13099-017-0189-6
63. Moodley Y, Linz B. *Helicobacter pylori* Sequences Reflect Past Human Migrations. *Genome Dyn.* 2009;6:62-74. DOI: 10.1159/000235763
64. Moodley Y, Linz B, Bond RP, Nieuwoudt M, Soodyall H, Schlebusch CM, et al. Age of the association between *Helicobacter pylori* and man. *PLoS Pathog.* 2012;8(5):e1002693. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002693
65. Nell S, Eibach D, Montano V, Maady A, Nkwescheu A, Siri J, et al. Recent acquisition of *Helicobacter pylori* by Baka pygmies. *PLoS Genet.* 2013;9(9):e1003775. DOI: 10.1371/journal.pgen.1003775
66. Lawson LP, Vernesi C, Ricci S, Rovero F. Evolutionary history of the grey-faced Sengi, *Rhynchocyon udzungwensis*, from Tanzania: a molecular and species distribution modelling approach. *PLoS One.* 2013 Aug 27;8(8):e72506. DOI: 10.1371/journal.pone.0072506
67. Yahara K, Furuta Y, Oshima K, Yoshida M, Azuma T, Hattori M, Uchiyama I, Kobayashi I. Chromosome painting in silico in a bacterial species reveals fine population structure. *Mol Biol Evol.* 2013 Jun;30(6):1454-64. DOI: 10.1093/molbev/mst055
68. Thorell K, Yahara K, Berthenet E, Lawson DJ, Mikhail J, Kato I, et al. Rapid evolution of distinct *Helicobacter pylori* subpopulations in the Americas. *PLoS Genet.* 2017 Feb 23;13(2):e1006546. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006546. Erratum in: *PLoS Genet.* 2017 Apr 14;13(4):e1006730.
69. Muñoz-Ramírez ZY, Mendez-Tenorio A, Kato I, Bravo MM, Rizzato C, Thorell K, et al. Whole Genome Sequence and Phylogenetic Analysis Show *Helicobacter pylori* Strains from Latin America Have Followed a Unique Evolution Pathway. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017 Feb 28;7:50. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00050
70. Oleastro M, Rocha R, Vale FF. Population genetic structure of *Helicobacter pylori* strains from Portuguese-speaking countries. *Helicobacter.* 2017 Aug;22(4). DOI: 10.1111/hel.12382
71. Schmid EN, von Recklinghausen G, Ansorg R. Bacteriophages in *Helicobacter (Campylobacter) pylori*. *J Med Microbiol.* 1990 Jun;32(2):101-4. DOI: 10.1099/00222615-32-2-101
72. Heintschel von Heinegg E, Nalik HP, Schmid EN. Characterisation of a *Helicobacter pylori* phage (HP1). *J Med Microbiol.* 1993 Apr;38(4):245-9. DOI: 10.1099/00222615-38-4-245
73. Eppinger M, Baar C, Linz B, Raddatz G, Lanz C, Keller H, Morelli G, Gressmann H, Achtman M, Schuster SC. Who ate whom? Adaptive *Helicobacter* genomic changes that accompanied a host jump from early humans to large felines. *PLoS Genet.* 2006 Jul;2(7):e120. DOI: 10.1371/journal.pgen.0020120.eor
74. Arnold IC, Zigova Z, Holden M, Lawley TD, Rad R, Dougan G, Falkow S, Bentley SD, Müller A. Comparative whole genome sequence analysis of the carcinogenic bacterial model pathogen *Helicobacter felis*. *Genome Biol Evol.* 2011;3:302-8. DOI: 10.1093/gbe/evr022
75. Lehours P, Vale FF, Bjursell MK, Meleforts O, Advani R, Glavas S, et al. Genome sequencing reveals a phage in *Helicobacter pylori*. *mBio.* 2011 Nov 15;2(6):e00239-11. DOI: 10.1128/mBio.00239-11
76. Vale FF, Nunes A, Oleastro M, Gomes JP, Sampaio DA, Rocha R, et al. Genomic structure and insertion sites of *Helicobacter pylori* prophages from various geographical origins. *Sci Rep.* 2017 Feb 16;7:42471. DOI: 10.1038/srep42471
77. Kyrillos A, Arora G, Murray B, Rosenwald AG. The presence of phage or-thologous genes in *Helicobacter pylori* correlates with the presence of the virulence factors CagA and VacA. *Helicobacter.* 2016;21:226-233
78. Mucito-Varela E, Castillo-Rojas G, Cevallos MA, Lozano L, Merino E, López-Leal G, López-Vidal Y. Complete Genome Sequence of *Helicobacter pylori* Strain 29CaP Isolated from a Mexican Patient with Gastric Cancer. *Genome Announc.* 2016 Jan 14;4(1):e01512-15. DOI: 10.1128/genomeA.01512-15
79. Kumar S, Majid M, Kumar N, Tiwari SK, Semmler T, Devi S, et al. Genome Dynamics and Molecular Infection Epidemiology of Multidrug-Resistant *Helicobacter pullorum* Isolates Obtained from Broiler and Free-Range Chickens in India. *Appl Environ Microbiol.* 2016 Dec 15;83(1):e02305-16. DOI: 10.1128/AEM.02305-16
80. Liu Q, Meng X, Li Y, Zhao CN, Tang GY, Li S, Gan RY, Li HB. Natural Products for the Prevention and Management of *Helicobacter pylori* Infection. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2018 Jul;17(4):937-952. DOI: 10.1111/1541-4337.12355
81. Keilberg D, Ottemann KM. How *Helicobacter pylori* senses, targets and interacts with the gastric epithelium. *Environ Microbiol.* 2016 Mar;18(3):791-806. DOI: 10.1111/1462-2920.13222
82. Debowski AW, Walton SM, Chua EG, Tay AC, Liao T, Lamichhane B, et al. *Helicobacter pylori* gene silencing *in vivo* demonstrates urease is essential for chronic infection. *PLoS Pathog.* 2017 Jun 23;13(6):e1006464. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006464
83. Jones MD, Li Y, Zamble DB. Acid-responsive activity of the *Helicobacter pylori* metalloregulator NikR. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018 Sep 4;115(36):8966-8971. DOI: 10.1073/pnas.1808393115
84. Wen G, Deng S, Song W, Jin H, Xu J, Liu X, Xie R, Song P, Tuo B. *Helicobacter pylori* infection downregulates duodenal CFTR and SLC26A6 expressions through TGFβ signaling pathway. *BMC Microbiol.* 2018 Aug 17;18(1):87. DOI: 10.1186/s12866-018-1230-8
85. De Jesus Souza M, de Moraes JA, Da Silva VN, Helal-Neto E, Uberti AF, Scopel-Guerra A, Olivera-Severo D, Carlini CR, Barja-Fidalgo C. *Helicobacter pylori* urease induces pro-inflammatory effects and differentiation of human endothelial cells: Cellular and molecular mechanism. *Helicobacter.* 2019 Jun;24(3):e12573. DOI: 10.1111/hel.12573
86. Hathroubi S, Servetas SL, Windham I, Merrell DS, Ottemann KM. *Helicobacter pylori* Biofilm Formation and Its Potential Role in Pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2018 May 9;82(2):e00001-18. DOI: 10.1128/MMBR.00001-18
87. Yonezawa H, Osaki T, Hojo F, Kamiya S. Effect of *Helicobacter pylori* biofilm formation on susceptibility to amoxicillin, metronidazole and clarithromycin. *Microb Pathog.* 2019 Jul;132:100-108. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.04.030
88. Salama NR, Hartung ML, Müller A. Life in the human stomach: persistence strategies of the bacterial pathogen *Helicobacter pylori*. *Nat Rev Microbiol.* 2013 Jun;11(6):385-99. DOI: 10.1038/nrmicro3016
89. Huang JY, Sweeney EG, Sigal M, Zhang HC, Remington SJ, Cantrell MA, Kuo CJ, Guillemin K, Amieva MR. Chemodetection and Destruction of Host Urea Allows

- Helicobacter pylori* to Locate the Epithelium. Cell Host Microbe. 2015 Aug 12;18(2):147-56. DOI: 10.1016/j.chom.2015.07.002
90. Johnson KS, Ottemann KM. Colonization, localization, and inflammation: the roles of *H. pylori* chemotaxis *in vivo*. Curr Opin Microbiol. 2018 Feb;41:51-57. DOI: 10.1016/j.mib.2017.11.019
91. McGee DJ, Langford ML, Watson EL, Carter JE, Chen YT, Ottemann KM. Colonization and inflammation deficiencies in Mongolian gerbils infected by *Helicobacter pylori* chemotaxis mutants. Infect Immun. 2005 Mar;73(3):1820-7. DOI: 10.1128/IAI.73.3.1820-1827.2005
92. Eaton KA, Morgan DR, Krakowka S. Motility as a factor in the colonisation of gnotobiotic piglets by *Helicobacter pylori*. J Med Microbiol. 1992 Aug;37(2):123-7. DOI: 10.1099/00222615-37-2-123
93. Martínez LE, Hardcastle JM, Wang J, Pincus Z, Tsang J, Hoover TR, Bansil R, Salama NR. *Helicobacter pylori* strains vary cell shape and flagellum number to maintain robust motility in viscous environments. Mol Microbiol. 2016 Jan;99(1):88-110. DOI: 10.1111/mmi.13218
94. Gonciarz W, Walencka M, Moran AP, Hinc K, Obuchowski M, Chmiela M. Upregulation of MUC5AC production and deposition of LEWIS determinants by *Helicobacter pylori* facilitate gastric tissue colonization and the maintenance of infection. J Biomed Sci. 2019 Mar 6;26(1):23. DOI: 10.1186/s12929-019-0515-z
95. Hamed Asl D, Naserpour Farivar T, Rahmani B, Hajmanoochehri F, Emami Razavi AN, Jahanbin B, Soleimani Dodaran M, Peymani A. The role of transferrin receptor in the *Helicobacter pylori* pathogenesis; L-ferritin as a novel marker for intestinal metaplasia. Microb Pathog. 2019 Jan;126:157-164. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.10.039
96. Huang Y, Wang QL, Cheng DD, Xu WT, Lu NH. Adhesion and Invasion of Gastric Mucosa Epithelial Cells by *Helicobacter pylori*. Front Cell Infect Microbiol. 2016 Nov 22;6:159. DOI: 10.3389/fcimb.2016.00159
97. Bugli F, Palmieri V, Torelli R, Papi M, De Spirito M, Cacaci M, Galgano S, Masucci L, Paroni Sterbini F, Vella A, Graffeo R, Posteraro B, Sanguinetti M. *In vitro* effect of clarithromycin and alginate lyase against *Helicobacter pylori* biofilm. Biotechnol Prog. 2016 Nov;32(6):1584-1591. DOI: 10.1002/btpr.2339
98. Hathroubi S, Zerebinski J, Ottemann KM. *Helicobacter pylori* Biofilm Involves a Multigene Stress-Biased Response, Including a Structural Role for Flagella. mBio. 2018 Oct 30;9(5):e01973-18. DOI: 10.1128/mBio.01973-18
99. Seyler RW Jr, Olson JW, Maier RJ. Superoxide dismutase-deficient mutants of *Helicobacter pylori* are hypersensitive to oxidative stress and defective in host colonization. Infect Immun. 2001 Jun;69(6):4034-40. DOI: 10.1128/IAI.69.6.4034-4040.2001
100. Chang WL, Yeh YC, Sheu BS. The impacts of *H. pylori* virulence factors on the development of gastroduodenal diseases. J Biomed Sci. 2018 Sep 11;25(1):68. DOI: 10.1186/s12929-018-0466-9
101. Qureshi N, Li P, Gu Q. Probiotic therapy in *Helicobacter pylori* infection: a potential strategy against a serious pathogen? Appl Microbiol Biotechnol. 2019 Feb;103(4):1573-1588. DOI: 10.1007/s00253-018-09580-3
102. Bae SE, Choi KD, Choe J, Kim SO, Na HK, Choi JY, et al. The effect of eradication of *Helicobacter pylori* on gastric cancer prevention in healthy asymptomatic populations. Helicobacter. 2018 Apr;23(2):e12464. DOI: 10.1111/hel.12464. Epub 2018 Jan 18. Erratum in: Helicobacter. 2019 Apr;24(2):e12564.
103. Nejati S, Karkhah A, Darvish H, Validi M, Ebrahimpour S, Nouri HR. Influence of *Helicobacter pylori* virulence factors CagA and VacA on pathogenesis of gastrointestinal disorders. Microb Pathog. 2018 Apr;117:43-48. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.02.016
104. Šterbenc A, Jarc E, Poljak M, Homan M. *Helicobacter pylori* virulence genes. World J Gastroenterol. 2019 Sep 7;25(33):4870-4884. DOI: 10.3748/wjg.v25.i33.4870
105. Chauhan N, Tay ACY, Marshall BJ, Jain U. *Helicobacter pylori* VacA, a distinct toxin exerts diverse functionalities in numerous cells: An overview. Helicobacter. 2019 Feb;24(1):e12544. DOI: 10.1111/hel.12544
106. Ansari S, Yamaoka Y. Survival of *Helicobacter pylori* in gastric acidic territory. Helicobacter. 2017 Aug;22(4):10.1111/hel.12386. DOI: 10.1111/hel.12386

Информация о соавторе:

Исаева Регина Алексеевна, студентка ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова» (Сеченовский университет)
Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая 8, стр. 2

Information about author:

Regina A. Isaeva, student, I.M.Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)
Address: 8/2 Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russian Federation

НОВОСТИ НАУКИ**Кишечник и мозг – как кишечные бактерии исцеляют и защищают**

Наш организм населяет множество микроорганизмов, которых в десять раз больше, чем клеток самого организма.

Автор раскрывает влияние кишечных бактерий на состояние нашего мозга и предлагает практичную пошаговую программу для улучшения экологии нашего кишечника.

Согласно результатам последних исследований, здоровье головного мозга и развитие различных его заболеваний в сильной степени зависят от того, что происходит в кишечнике человека. Пищеварительная система самым непосредственным образом связана с тем, что происходит в головном мозге. И, вероятно, самый важный аспект, от которого зависят общее хорошее самочувствие и психическое здоровье человека, – это состояние микрофлоры кишечника. Это так называемая внутренняя экология организма, включающая различные микроорганизмы, населяющие кишечник, особенно бактерии.

Практические рекомендации, приведенные в этой книге, помогут изменить внутреннюю экологию организма для увеличения числа «правильных» микроорганизмов, поддерживающих работоспособность головного мозга.

Основополагающие элементы предлагаемой автором системы: пребиотики, пробиотики, ферментированные пищевые продукты, низкоуглеводные продукты, продукты, не содержащие глютена, и здоровые жиры. Из книги вы узнаете о значении каждого из этих элементов в обеспечении здоровой микрофлоры и для функционирования головного мозга.



Кишечник и мозг: как кишечные бактерии исцеляют и защищают ваш мозг.
Д. Перлмуттер — «Манн, Иванов и Фербер (МИФ)», 2015. ISBN 978-5-00100-491-2

ИФА и РПГА как методы серологического мониторинга дифтерии

П.С. Колесников

ЗАО «ЭКОлаб», г. Электрогорск, Московская область, Российская Федерация

В данном обзоре рассматривается эпидемиологическая ситуация по дифтерии за последнее десятилетие, а также описываются существующие методы контроля качества иммунизации населения и ускоренного выявления токсина в материале от больных дифтерией.

Ключевые слова: дифтерия, дифтерийный диагностикум, реакция пассивной гемагглютинации, иммуноферментный анализ, антитоксический иммунитет

Для цитирования: Колесников П.С. ИФА и РПГА как методы серологического мониторинга дифтерии. Бактериология. 2021; 6(1): 48–53. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-48-53

ELISA and RPGA as methods of serological monitoring of diphtheria

P.S. Kolesnikov

CJSC «EKOlab», Electrogorsk, Moscow Region, Russian Federation

This review examines the epidemiological situation with diphtheria over the past decade, and describes the existing methods for monitoring the quality of immunization of the population and accelerated detection of toxin in the material from patients with diphtheria.

Key words: diphtheria, diphtheria diagnosticum, passive hemagglutination reaction, enzyme immunoassay, antitoxic immunity

For citation: Kolesnikov P.S. ELISA and RPGA as methods of serological monitoring of diphtheria. Bacteriology. 2021; 6(1): 48–53. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-48-53

Дифтерия – одно из наиболее тяжелых инфекционных заболеваний, угрожающих жизни человека. Без немедленного введения сыворотки около 50% больных могут умереть, и даже после введения сыворотки остается риск смерти до 20%. До начала широкого применения иммунизации против дифтерии это заболевание являлось главной причиной смертности среди детей [1].

После Второй мировой войны заболеваемость в промышленно развитых странах быстро снизилась благодаря появлению вакцины против дифтерии, столбняка и коклюша (АКДС). В других странах заболеваемость также снизилась после запуска Расширенной программы иммунизации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 1974 г. [2].

Благодаря массовой вакцинации долгое время дифтерию считали полностью побежденной, однако во многих странах до сих пор фиксируются ее вспышки [3]. В последние годы в целом наблюдается рост заболеваемости дифтерией. По данным ВОЗ, в мире в год фиксируется 16–17 тыс. случаев [4, 5].

В России эпидемиологическая ситуация находится под контролем, поскольку вакцинацией охвачено 97% населения [6–8]. Тем не менее, несмотря на высокие показатели привитости населения, в разных регионах России периодически регистрируются случаи заболевания дифтерией или носительства. Как правило, это происходит среди лиц в закрытых коллективах [9, 10]. В период с 2009 по 2020 г. заболеваемость регистрируется на уровне единичных случаев без летальных исходов [6, 11].

Возбудитель дифтерии – грамположительная палочковидная бактерия рода *Corynebacterium*. Впервые возбудитель был обнаружен Эдвином Клебсом в 1883 г. на срезах пленок из ротоглотки больных. Через год Фридрих Лёффлер выделил чистую культуру. Дифтерийный токсин получили Пьер Эмиль Ру и Александр Йерсен [12, 13].

Corynebacterium diphtheriae – крупные, прямые, слегка изогнутые полиморфные палочковидные бактерии. На полюсах клеток локализуются метакрохроматические зерна воллютина, придавая клеткам характерную форму «булавы».

Для корреспонденции:

Колесников Павел Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, микробиолог НПО Иммунологии, ЗАО «ЭКОлаб»

Адрес: 142530, Московская область, г. Электрогорск, ул. Будённого, 1-1
Телефон: (800) 333-1745
E-mail: docent-oz311@rambler.ru

For correspondence:

Pavel S. Kolesnikov, PhD (Veterinary Sciences), Microbiologist of NPO Immunology, ECOlab CJSC.

Address: 1-1 Budenny str., Electrogorsk, Moscow region, 142530, Russian Federation
Phone: (800) 333-1745
E-mail: docent-oz311@rambler.ru

The article was received 23.06.2021, accepted for publication 30.06.2021

Зерна волютинина окрашиваются метиленовым синим по Нейссеру. Окрашивание по Граму не применяют [14]. На микропрепаратах клетки располагаются одиночно или в форме латинских букв V или Y. Спор и капсул не образуют.

Заражение здорового человека происходит от больного дифтерией или от здорового носителя бактерии [14, 15]. Пути передачи – воздушно-капельный, контактно-бытовой, пищевой. Входными воротами возбудителей дифтерии могут быть практически все области покровов (кожи и слизистых). Однако наиболее часто ими является слизистая ротоглотки, намного реже – гортани, носа, конъюнктив, половых органов, раневая поверхность, кожа и др. По локализации различают локализованную и распространенную формы дифтерии.

После перенесенного заболевания формируется нестойкий иммунитет, и приблизительно через 10–11 лет человек может заболеть вновь. Повторное заболевание носит нетяжелый характер и переносится легче [15, 16].

Иммунизация является единственным средством создания невосприимчивости населения и соответственно благоприятной эпидемической ситуации [17]. Благодаря вакцинопрофилактике во многих странах дифтерия регистрируется на уровне единичных случаев (Франция – 14 в 2015 г., Германия – 14 в 2015 г., Италия – 1 в 2015 г., Латвия – 6 в 2015 г. и 10 в 2016 г., Дания – 1 в 2015 г., Австрия – 8 в 2015 г., 2 в 2016 г.) [18–21]. В то же время в странах с низким уровнем охвата населения вакцинопрофилактикой ежегодно регистрируются сотни и тысячи случаев инфекции (Индия – 3380 в 2015 г. и 2366 в 2016 г., Мадагаскар – 2865 в 2015 г., 1627 в 2016 г.) [22, 23].

Это свидетельствует о том, что дифтерия остается актуальной проблемой. Уровень заболеваемости дифтерией обратно пропорционален числу населения, привитому от данного заболевания [24, 25]. Периодические и осенне-зимние подъемы заболеваемости наблюдаются при наличии среди населения восприимчивых контингентов. В этих же условиях заболеваемость может сдвигаться с детского на старший возраст, а контингентами риска становятся работники транспорта, торговли, сферы обслуживания, медицинские работники.

Наиболее подвержены заболеванию дифтерией лица старше 50 лет, рабочие промышленных предприятий, особенно занятые на вредном производстве; лица, страдающие туберкулезом, а также гепатитом С, СПИД, наркоманией и алкоголизмом. Особое внимание должно уделяться лицам в закрытых коллективах [26].

Эпидемический подъем заболеваемости дифтерией, начавшийся в 1980-х гг., характеризовался преобладанием среди заболевших взрослых (до 72%) [27–29]. Заболеваемость регистрировалась также среди детей, преимущественно в возрасте 7–10 лет. При этом 30% заболевших составляли невакцинированные дети. Доля невакцинированных варьировала от 20% в возрастной группе 7–10 лет до 62% среди детей младше 3 лет [16, 30]. Рост заболеваемости регистрировался практически на всех административных территориях России и был обусловлен следующими факторами:

- существенным накоплением неиммунных контингентов;
- отсутствием эффективного действия противэпидеми-

ческих факторов вследствие уменьшения циркуляции возбудителя дифтерии при низкой заболеваемости;

- сохранением патогенных свойств коринебактерий дифтерии даже при их циркуляции среди иммунных контингентов [31–33].

За период с 2009 по 2018 г. в мире было зарегистрировано 68 636 случаев дифтерии, из них в Европе 440. Наивысший годовой показатель за данный период отмечался в 2018 г. – 82 случая, 74 (90%) из которых были подтверждены лабораторно, 4 случая классифицированы как клинически совместимые, 4 случая не получили окончательной классификации. 74 лабораторно подтвержденных случая были зарегистрированы в 12 странах: Германия – 26, Великобритания – 14, Франция – 9, Украина – 7, Швейцария – 5, Нидерланды – 4, Латвия – 3, Бельгия – 2, Испания – 1, Италия – 1, Норвегия – 1 и Словакия – 1.

Из 82 зарегистрированных в 2018 г. случаев 64 имели данные о возрасте и прививочном статусе. Большинство заболевших (75%, 48 человек) были в возрасте ≥ 30 лет. Из них 23 заболевших (48%) были не привиты. В отличие от предыдущих лет, единая форма отчетности за 2018 г. предполагала включение лишь всех случаев дифтерии с токсигенными штаммами [34].

На Украине в 2019 г. зафиксировано 20 случаев дифтерии, из них 18 в октябре. Лабораторно подтверждено распространение заболевания в Луганской, Хмельницкой, Закарпатской, Тернопольской и Киевской областях. В настоящее время Украина не производит анатоксин и противодифтерийную сыворотку. Ранее эти препараты закупали у российских производителей, но с 2014 г. закупки прекратились. Согласно данным ООН, Украина находится в группе стран, где вакцинацию АКДС прошли менее половины населения. Рядом с Украиной в этом перечне – Чад, Нигерия, Сомали, Южный Судан, Сирия [35].

По данным ВОЗ, в странах Латинской Америки зафиксирован подъем заболеваемости дифтерией, которая считалась ликвидированной с 1990-х гг. 80% всех зарегистрированных случаев в Латинской Америке пришлось на Венесуэлу. Несмотря на проводимую в настоящее время властями Венесуэлы вакцинацию населения, в 2018 г. зарегистрировано 1200 случаев заболеваний дифтерией, из них более 80 случаев закончились летальным исходом [21, 36].

В Гаити зафиксировано порядка 250 случаев заболеваний, из которых 3 случая закончились летально. В Колумбии зарегистрировано около 10 случаев заболеваний, которые также связаны с вынужденной миграцией населения из стран, где регистрируются случаи заболевания дифтерией [36].

Наиболее тяжелое положение сложилось также в Йемене и Бангладеш, где в 2017 г. начался интенсивный рост заболеваемости [21, 22].

Иммунитет носит антимикробный и антитоксический характер. Однако защитную функцию выполняет именно антитоксический иммунитет, поскольку экзотоксин играет в патогенезе ведущую роль [37].

Для стабилизации заболеваемости на низком уровне необходим тщательный контроль за показателями привитости населения и состоянием антитоксического иммунитета – это главные факторы, определяющие благоприятную эпидемиологическую ситуацию [38–40].

С целью оценки состояния специфического иммунитета необходимо ежегодно проводить серологический мониторинг – исследование крови на наличие специфических защитных антител к дифтерии. Однако отсутствие программ и схем исследования при диагностике дифтерии и изучении напряженности иммунитета у населения не позволяет полноценно и качественно проводить бактериологический и иммунологический контроль в отношении дифтерии на местах [41, 42].

По решению ВОЗ (1993 г.) защитным титром считается уровень противодифтерийных антител в крови в титре 0,01 МЕ/мл, что соответствует титру РПГА 1:80–1:160 [37].

Для определения уровней антитоксических антител (АТ-АТ) в крови здоровых людей в России используют реакцию пассивной гемагглютинации (РПГА) с дифтерийным антигеном [37, 43, 44]. Эта реакция имеет свои преимущества, состоящие в простоте постановки, быстроте получения результатов и экономичности.

Для постановки реакции используется диагностический дифтерийный эритроцитарный антигенный. Диагностический представляет собой 3,0%-ю взвесь формализированных, танизированных эритроцитов барана, сенсibilизированных очищенным концентрированным дифтерийным анатоксином [45]. Поскольку срок годности эритроцитарных диагностических составляет 1 год, необходимо перед каждым проведением серологического исследования сывороток проверять активность препарата. Проверка проводится с контрольным антитоксином, приложенным к комплекту, либо используется национальный препарат дифтерийного антитоксина, очищенного ферментализом и специфической сорбцией диагностический сухой. Допускается исследование контрольной сыворотки (лабораторный образец) с известным титром дифтерийных антител. Если диагностический выявляет в сыворотке антитела в концентрации на 2–3 разведения ниже, чем они в ней содержатся, то такой препарат не пригоден для дальнейшего исследования.

РПГА проводят в два этапа: подготовка к реакции и основной опыт. Ответ может быть получен на вторые сутки с момента поступления исследуемого материала в лабораторию [46].

Традиционно основным методом определения антитоксических противодифтерийных антител является кожная проба на кроликах или морских свинках. Однако при использовании данного метода результат можно получить только через 4–7 дней, что ограничивает его применение в клинической лаборатории, где результат должен быть получен в минимальные сроки [26].

В качестве второго стандартного метода принята реакция нейтрализации (РН) в культуре клеток Vero, поскольку она не имеет недостатков биологического теста, более стандартна и наглядна. Важнейшее патогенное свойство дифтерийного токсина – способность блокировать синтез белка в культивируемых клетках млекопитающих, в результате чего происходит гибель этих клеток. Это свойство используется для определения титров противодифтерийных антител в реакции нейтрализации с использованием клеточных культур, чувствительных к дифтерийному токсину [15].

Коэффициент корреляции результатов реакции нейтрализации с результатами классического метода составля-

ет 0,98. Реакция нейтрализации гораздо экономичнее, быстрее и проще в постановке. Однако достоверность результатов реакции нейтрализации во многом определяется стандартностью культуры клеток, токсинов и антитоксинов.

В реакции нейтрализации используется цветная проба, основанная на способности токсина изменять метаболизм зараженных клеток, что определяют по цвету индикатора, содержащегося в питательной среде. В непораженных токсинотерапевтических культурах клеток под влиянием выделяющихся продуктов клеточного метаболизма pH питательной среды сдвигается в кислую сторону, вызывая изменение цвета индикатора. В пораженных токсинотерапевтических культурах в результате дегенерации клеток их метаболическая активность подавляется и цвет фенолового красного не изменяется или изменяется частично. В реакции используется токсин 0,0002 Лf/мл и антитоксин 0,032 МЕ/мл. При постановке реакции применяют культуру клеток Vero, получаемую из лаборатории детских вирусных инфекций НИИЭМ им. Пастера, в концентрации $2,5 \times 10^5$ кл./мл. Содержание антитоксических антител определяют от 0,000125 МЕ/мл и выше.

Ряд зарубежных исследователей отмечает возможность получения ложноположительных данных и несовпадения результатов, полученных в реакции нейтрализации *in vivo* и методами *in vitro*. По данным ряда авторов, коэффициент корреляции между результатами, полученными в РПГА и реакции нейтрализации, составляет всего 0,6 [26].

В последние годы совершенствование иммунотехнологии позволило использовать иммуноферментные методы для определения антител, в том числе противодифтерийных.

Имуноферментный анализ (ИФА) – лабораторный иммунологический метод выявления антигенов и антител, основанный на определении комплексов «антиген–антитело» за счет введения в один из компонентов реакции ферментативной метки с последующей ее детекцией с помощью соответствующего субстрата, изменяющего свою окраску. Изменение цветности является соответственно и изменением оптической плотности, которая измеряется с помощью приборов [45].

Эти реакции отличаются стабильностью, быстротой, удобством в постановке. Широко применяется тест-система на основе твердофазного ИФА с адсорбированным в лунках планшета очищенным дифтерийным анатоксином. Конъюгатом служат иммуноглобулины (F(ab')₂-фрагменты) диагностические против IgG человека, аффинноочищенные, меченные пероксидазой хрена. Специальные компьютерные программы, дают возможность производить перерасчет показателей оптической плотности в показатели антитоксических международных единиц [26].

ИФА и РПГА также могут применяться для ускоренного выявления токсина в материале от больных дифтерией, носителей токсигенных коринебактерий дифтерии; от лиц, обследуемых с профилактической целью или по эпидемиологическим показаниям, а также в культурах, выделенных на разных этапах бактериологического исследования. Методы позволяют выдать ответ о наличии или отсутствии токсина в исследуемом материале на 1–3 суток раньше традиционных. Кроме того, они позволяют изучить уровень токсинообразования штаммов коринебактерий дифтерии. Использование жидкой питательной среды позволяет выявить токсин у сла-

ботоксигенных штаммов, продукцию которого не всегда представляется возможным уловить на плотной питательной среде при использовании реакции иммунопреципитации в агаре. Чувствительность ИФА и РПГА зависит от условий культивирования исследуемого материала [15].

В настоящее время разрабатываются молекулярно-генетические методы для лабораторного выявления *C. diphtheriae*. Имеющиеся на данный момент тест-системы для полимеразной цепной реакции не могут различить ген дифтерийного токсина токсигенных штаммов от измененного гена дифтерийного токсина нетоксигенных токснесущих штаммов *C. diphtheriae*, не способных продуцировать токсин из-за мутаций в этом гене. Это может привести к гипердиагностике. Поэтому их использование в лабораторной диагностике дифтерии может иметь только вспомогательное значение – поиск нетоксигенных токснесущих штаммов *C. diphtheriae* среди нетоксигенных штаммов.

Оценка величины истинной иммунной прослойки населения проводится на основании документов и результатов планового иммунологического контроля по реакции пассивной гемагглютинации или иммуноферментного анализа в индикаторных группах населения. Результаты, полученные при выборочном серологическом обследовании индикаторных групп, сравнивают с «эталонными» показателями, разработанными при массовых обследованиях привитых людей для каждой территории, области. Данные результаты не должны быть ниже эталонных, в противном случае проводится обследование группы или коллектива с низкими показателями иммунитета [17, 47].

Регулятором снижения и повышения заболеваемости дифтерией является уровень коллективного антитоксического иммунитета. Стабильно низкие показатели заболеваемости могут быть гарантированы при постоянном поддержании высокого (95–98%) охвата вакцинацией всего населения [48].

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что основная роль в борьбе с дифтерией принадлежит повышению эффективности вакцинопрофилактики и серологического мониторинга. Методы РПГА и ИФА дают возможность быстро и точно проводить контроль качества иммунизации населения, а также выявлять дифтерийный токсин в материале, полученном от больных.

Информация о финансировании

Работа профинансирована ЗАО «ЭКОлаб».

Financial support

The work is funded by CJSC «EKOLab».

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

- World Health Organization. Reported immunization schedules by vaccine. Geneva: The Organization; 2018 [cited 2018 Oct 20].
- Santos LS, Sant'anna LO, Ramos JN, Ladeira EM, Stavracakis-Peixoto R, Borges LL, et al. Diphtheria outbreak in Maranhão, Brazil: microbiological, clinical and epidemiological aspects. *Epidemiol Infect.* 2015 Mar;143(4):791-8. DOI: 10.1017/S095026881400124
- Landazabal Garcia N, Burgos Rodríguez MM, Pastor D. Diphtheria outbreak in Cali, Colombia, August-October 2000. *Epidemiol Bull.* 2001 Sep;22(3):13-5.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Diphtheria outbreak – Russian Federation, 1990-1993. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 1993 Nov 5;42(43):840-1, 847.
- World Health Organization. JRF supplementary questionnaire on surveillance. Geneva: The Organization; 2018 [cited 2018 Oct 20].
- Краева ЛА, Носков ФС, Ценева ГЯ. Качественные показатели антитоксических антител в оценке противодифтерийного иммунитета. *Медицинская иммунология.* 2005;7(2-3):274.
- Маркина СС, Максимова НМ, Тымчаковская ИМ, и др. Эпидемиологическая характеристика дифтерийной инфекции. *Здравоохранение Российской Федерации.* 1993;2:17-20.
- Инструкция «Эритроцитарный дифтерийный антигенный жидкий диагностический препарат производства «Биомед» им. И.И.Мечникова».
- Баранова НЮ, Аббасова ЛА, Воронцова ИВ. Серологический мониторинг за состоянием коллективного иммунитета к дифтерии отдельных групп населения в Рязанской области. *Инфекция и иммунитет. Материалы X съезда ВНПОЭМП (Москва, 12-13 апреля 2012 г.). М., 2012;2(1-2):240.*
- Каримов ИЗ, Горovenko MB, Пеньковская НА, Мидикари АС, Шмойлов ДК, Козловский ОА, и др. Уровень напряженности иммунитета к дифтерии и столбняку у населения Республики Крым. *Инфекция и иммунитет.* 2015;5(2):165-170.
- «Серологические методы диагностики и мониторинга дифтерийной инфекции». МР 3.1.2.0105-15. Методические рекомендации. М., 2016.
- Максимова НМ, Якимова ТН, Маркина СС, Яцковский КА, Адугозелов СЭ. Дифтерия в России в XXI веке. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2017;5(96):4-15.
- Носов СД. *Инфекционные болезни у детей в прошлом и настоящем.* Л.: Медицина, 1980.
- Краева ЛА, Алексеева ЕА, Беспалова ГИ. Комплексные лабораторные исследования на дифтерию на современном этапе. *Бактериология.* 2017;2(1):20-24. DOI: 10.20953/2500-1027-2017-1-20-24
- Васильев КГ, Савчук АИ. Клинико-эпидемиологические аспекты вакцинации против дифтерии. Первый конгресс педиатров-инфекционистов России. М., 2002, 26 с.
- Харсеева ГГ, Соловьёв МЮ, Айдинов ГВ, Ковалёв ЕВ, Алутина ЭЛ, Ненадская СА. Противодифтерийный антитоксический иммунитет у детского населения г. Ростова-на-Дону и Ростовской области. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2013;2(69):52-5.
- World Health Organization. World Health Organization expanded programme on immunization. WHA2757. Geneva: The Organization; 1974. p. 9-28.
- Цепелева ЛВ. Дифтерийная инфекция и поствакцинальный иммунитет у населения городов Волго-Вятского региона. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2002.
- Edmunds WJ, Pebody RG, Aggerback H, Baron S, Berbers G, Conyn-van Spaendonck MA, et al. The sero-epidemiology of diphtheria in Western Europe. ESEN Project. European Sero-Epidemiology Network. *Epidemiol Infect.* 2000 Aug;125(1):113-25. DOI: 10.1017/s0950268899004161. Erratum in: *Epidemiol Infect* 2001 Apr;126(2):331.
- Markov AA. The characteristics of population immunity to measles and diphtheria in adolescent collectives. *Vrach Delo.* 1992;(8):54-56 (Eng. Abstr.)
- WHO: Vaccine preventable diseases. Vaccines monitoring system. Diphtheria reported cases, 2017 Jun.
- Чистякова ГГ. Дифтерия у взрослых: эпидемиология и вакцинопрофилактика. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2002.
- Dandinarasaiah M, Vikram BK, Krishnamurthy N, Chetan AC, Jain A. Diphtheria Re-emergence: Problems Faced by Developing Countries. *Indian J*

- Otolaryngol Head Neck Surg. 2013 Dec;65(4):314-8. DOI: 10.1007/s12070-012-0518-5
24. Методические указания. МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции».
 25. Филатов НН, Лыткина ИН, Чистякова ГГ. Стратегия и тактика вакцинопрофилактики инфекционных болезней в Москве. Эпидемиология и инфекционные болезни. 1999;6:6-10.
 26. Санитарно-эпидемиологические правила. СП 3.1.2.1108-02 «Профилактика дифтерии».
 27. Наркевич МИ, Тымчаковская ИМ. Инфекционная заболеваемость в России. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1997;3:48-52.
 28. Berger A, Meinel DM, Schaffer A, Ziegler R, Pitteroff J, Konrad R, Sing A. A case of pharyngeal diphtheria in Germany, June 2015. Infection. 2016 Oct;44(5):673-5. DOI: 10.1007/s15010-016-0882-2
 29. Dittmann S, Wharton M, Vitek C, Ciotti M, Galazka A, Guichard S, et al. Successful control of epidemic diphtheria in the states of the Former Union of Soviet Socialist Republics: lessons learned. J Infect Dis. 2000 Feb;181 Suppl 1:S10-22. DOI: 10.1086/315534
 30. Марданлы СГ, Симонов ВВ, Авдонина АС. Производство наборов реагентов для клинической лабораторной диагностики иммунохимическими методами. Орехово-Зуево: ГГТУ; 2017, 208 с.
 31. Эпидемиологическая справка. №1/2020. ВОЗ. Европейское региональное бюро. Эпидемиологическая оценка отдельных заболеваний, предотвращаемых вакцинацией.
 32. Маркина СС, Тымчаковская ИМ, Максимова НМ, и др. Эпидемический процесс дифтерийной инфекции в РСФСР в условиях внедрения эпидемиологического надзора. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1989;5:38-42.
 33. Методические указания. МУ 3.1.2943-11.3.1. «Профилактика инфекционных болезней. Организация и проведение серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики (дифтерия, столбняк, коклюш, корь, краснуха, эпидемический паротит, полиомиелит, гепатит В)». (Утв. Роспотребнадзором 15.07.2011).
 34. WHO: Vaccine-preventable disease monitoring system, 2013 global summary. Global and regional immunization profile: European Region. Geneva: World Health Organization; 2013.
 35. Методические указания. Диагностика, лечение и профилактика острого тонзиллита и дифтерии в Вооруженных Силах Российской Федерации. М., 2019.
 36. Dravid MN, Joshi SA. Resurgence of diphtheria in Malegaon & Dhule regions of north Maharashtra. Indian J Med Res. 2008 Jun;127(6):616-7.
 37. Онищенко ГГ. Эпидемиологический надзор за дифтерийной инфекцией. Методические указания МЗ РФ. 2001.
 38. Борисова ИЭ, Батаева СЕ, Шабалина СВ. Эпидемиологическая ситуация по дифтерии на современном этапе. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2008;5(42):15-21.
 39. Покровский ВИ, Шабалина СВ. Иммунобиотехнология и проблемы современной эпидемиологии. Жур. Всесоюз. хим. общества. 1989;XXXIV(1):3-11.
 40. Семенов ТА, Русакова ЕВ, Щербakov АГ, Гайдаренко АД, Готвянская ТП, Евсеева ЛФ, и др. Состояние популяционного иммунитета в отношении управляемых инфекций (по материалам банка сывороток крови). Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2012;6:10-15.
 41. Zakikhany K, Efstratiou A. Diphtheria in Europe: current problems and new challenges. Future Microbiol. 2012 May;7(5):595-607. DOI: 10.2217/fmb.12.24
 42. Далматов ВВ, Стасенко ВЛ. Мониторинг, надзор и контроль в эпидемиологической деятельности. Инфекция и иммунитет. Материалы X съезда ВНПОЭМП (12-13 апреля 2012 г.). М., 2012;2(1-2):24,25.
 43. Казарова ВИ. Состояние напряженности противодифтерийного иммунитета в Западно-Сибирском регионе России. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1998;3:75-76.
 44. Онищенко ГГ. Эпидемиологическая обстановка по инфекционным заболеваниям, управляемым средствами специфической профилактики, и основные направления профилактики этой группы заболеваний в РФ. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1998;1:35-39.
 45. Корженкова МП, Малышев НА, Максимова НМ, Маркина СС, Черкасова ВВ, Шестакова ОМ, Базарова МВ. Уроки дифтерии. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2011;2:30-35.
 46. Харсеева ГГ, Соловьёв МЮ, Ковалёв ЕВ, Айдинов ГВ, Ненадская СА, Алутина ЭЛ, и др. Дифтерийная инфекция: характеристика эпидпроцесса в г. Ростове-на-Дону и Ростовской области. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2014;5(78):36-39.
 47. European Centre for Disease Prevention and Control. Vaccine Scheduler: vaccine schedules in all countries of the European Union. Stockholm: The Centre; 2018 [cited 2018 Oct 20].
 48. Кармазин И. С пеной у рта: почему на Украину возвращаются смертоносные болезни [Электронный ресурс]. Известия. Доступно по: <https://iz.ru/937975/igor-karmazin/s-penoi-u-rta-na-ukraine-nachalas-epidemiia-smertonosnoi-bolezni>. (дата обращения 01.06.2021).

References

1. World Health Organization. Reported immunization schedules by vaccine. Geneva: The Organization; 2018 [cited 2018 Oct 20].
2. Santos LS, Sant'anna LO, Ramos JN, Ladeira EM, Stavracakis-Peixoto R, Borges LL, et al. Diphtheria outbreak in Maranhão, Brazil: microbiological, clinical and epidemiological aspects. Epidemiol Infect. 2015 Mar;143(4):791-8. DOI: 10.1017/S095026881400124
3. Landazabal Garcia N, Burgos Rodríguez MM, Pastor D. Diphtheria outbreak in Cali, Colombia, August-October 2000. Epidemiol Bull. 2001 Sep;22(3):13-5.
4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Diphtheria outbreak – Russian Federation, 1990–1993. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1993 Nov 5;42(43):840-1, 847
5. World Health Organization. JRF supplementary questionnaire on surveillance. Geneva: The Organization; 2018 [cited 2018 Oct 20].
6. Kraeva LA, Noskov FS, Tseneva GYa. Kachestvennye pokazateli antitoksicheskikh antitel v otsenke protivodifferiynogo immuniteta. Medical Immunology (Russia). 2005;7(2-3):274. (In Russian).
7. Markina SS, Maksimova NM, Tymchakovskaya IM, et al. Epidemiologicheskaya kharakteristika differiynoi infektsii. Health Care of the Russian Federation. 1993;2:17-20.
8. Instruction "Erythrocyte diphtheria antigenic liquid diagnosticum produced by "Biomed" named after I.I.Mechnikov". (In Russian).
9. Baranova NYu, Abbasova LA, Vorontsova IV. Serological monitoring of the state of collective immunity to diphtheria of individual population groups in the Ryazan region. Infection and immunity. Proceedings of the X Congress of the All-Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists (Moscow, 12-13 April 2012). Moscow, 2012;2(1-2):240. (In Russian).
10. Karimov IZ, Gorovenko MV, Penkovskaya NA, Midikari AS, Shmoylov DK, Kozlovsky OA, Los-Yatsenko NG. The level of intensity of immunity to diphtheria and tetanus among the population of the republic of Crimea. Infektsiya i immunitet (Russian Journal of Infection and Immunity). 2015;5(2):165-170. (In Russian).
11. "Serological methods of diagnosis and monitoring of diphtheria infection". МР 3.1.2.0105-15. Methodological recommendations. Moscow, 2016. (In Russian).
12. Maximova NM, Yakimova TN, Markina SS, Yatskovsky KA, Aduguzelov SE. Diphtheria in Russia in the 21st century. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2017;5(96):4-15. (In Russian).

13. Nosov SD. Infectious diseases in children in the past and present. L.: "Meditsina" Publ., 1980. (In Russian).
14. Kraeva LA, Alekseeva EA, Bespalova GI. Comprehensive laboratory studies of diphtheria at the present time. *Bacteriology*. 2017;2(1):20-24. DOI: 10.20953/2500-1027-2017-1-20-24. (In Russian).
15. Vasiliev KG, Savchuk AI. Clinical and epidemiological aspects of vaccination against diphtheria. The First Congress of Pediatric Infectious Diseases Specialists in Russia. Moscow, 2002, 26 p. (In Russian).
16. Kharseeva GG, Solovyev MYu, Aydinov GV, Kovalev EV, Alutina EL, Nenadskaya SA. Antidiphtheria antitoxic immunity in the population of children in Rostov-on-Don and Rostov region. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2013;2(69):52-5. (In Russian).
17. World Health Organization. World Health Organization expanded programme on immunization. WHA2757. Geneva: The Organization; 1974. p. 9-28.
18. Tsepeleva LV. Diphtheria infection and post-vaccination immunity in the population of the cities of the Volga-Vyatka region. Diss. Moscow, 2002. (In Russian).
19. Edmunds WJ, Pebody RG, Aggerback H, Baron S, Berbers G, Conyn-van Spaendonck MA, et al. The sero-epidemiology of diphtheria in Western Europe. ESEN Project. European Sero-Epidemiology Network. *Epidemiol Infect*. 2000 Aug;125(1):113-25. DOI: 10.1017/s0950268899004161. Erratum in: *Epidemiol Infect* 2001 Apr;126(2):331.
20. Markov AA. The characteristics of population immunity to measles and diphtheria in adolescent collectives. *Vrach Delo*. 1992;(8):54-56 (Eng. Abstr.)
21. WHO: Vaccine preventable diseases. Vaccines monitoring system. Diphtheria reported cases, 2017 Jun.
22. Chistyakova GG. Diphtheria in adults: epidemiology and vaccination prevention. Diss. Moscow, 2002. (In Russian).
23. Dandinarasiah M, Vikram BK, Krishnamurthy N, Chetan AC, Jain A. Diphtheria Re-emergence: Problems Faced by Developing Countries. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2013 Dec;65(4):314-8. DOI: 10.1007/s12070-012-0518-5
24. Methodological guidelines. MUC 4.2.3065-13 "Laboratory diagnostics of diphtheria infection". (In Russian).
25. Filatov NN, Lytkina IN, Chistyakova GG. Strategy and tactics of vaccination of infectious diseases in Moscow. *Epidemiology and Infectious Diseases (Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni)*. 1999;6:6-10. (In Russian).
26. Sanitary and epidemiological rules. SP 3.1.2.1108-02 "Prevention of diphtheria".
27. Narkevich MI, Tymchakovskaya IM. Infectious morbidity in Russia. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1997;3:48-52. (In Russian).
28. Berger A, Meinel DM, Schaffer A, Ziegler R, Pitteroff J, Konrad R, Sing A. A case of pharyngeal diphtheria in Germany, June 2015. *Infection*. 2016 Oct;44(5):673-5. DOI: 10.1007/s15010-016-0882-2
29. Dittmann S, Wharton M, Vitek C, Ciotti M, Galazka A, Guichard S, et al. Successful control of epidemic diphtheria in the states of the Former Union of Soviet Socialist Republics: lessons learned. *J Infect Dis*. 2000 Feb;181 Suppl 1:S10-22. DOI: 10.1086/315534
30. Mardanly S G, Simonov V V, Avdonina AS. Production of reagent kits for clinical laboratory diagnostics by immunochemical methods. Orekhovo-Zuyevo, 2017, 208 p. (In Russian).
31. Epidemiological reference. No. 1/2020. WHO. Regional Office for Europe. Epidemiological assessment of individual diseases prevented by vaccination. (In Russian).
32. Markina SS, Tymchakovskaya IM, Maksimova NM, et al. Epidemicheskii protsess differiinoi infektsii v RSFSR v usloviyakh vnedreniya epidemiologicheskogo nadzora. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1989;5:38-42. (In Russian).
33. Methodological guidelines. MU 3.1.2943-11.3.1. "Prevention of infectious diseases. Organization and conduct of serological monitoring of the state of collective immunity to infections controlled by means of specific prevention (diphtheria, tetanus, whooping cough, measles, rubella, mumps, polio, hepatitis B). " (Approved by Rospotrebnadzor on 15.07.2011). (In Russian).
34. WHO: Vaccine-preventable disease monitoring system, 2013 global summary. Global and regional immunization profile: European Region. Geneva: World Health Organization; 2013.
35. Methodological guidelines. Diagnosis, treatment and prevention of acute tonsillitis and diphtheria in the Armed Forces of the Russian Federation. Moscow, 2019. (In Russian).
36. Dravid MN, Joshi SA. Resurgence of diphtheria in Malegaon & Dhule regions of north Maharashtra. *Indian J Med Res*. 2008 Jun;127(6):616-7.
37. Onishchenko G. Epidemiological surveillance of diphtheria infection. Methodological guidelines of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2001. (In Russian).
38. Borisova IE, Batueva SE, Shabalina SV. The epidemiological situation of diphtheria at the present stage. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2008;5(42):15-21. (In Russian).
39. Pokrovskii VI, Shabalina SV. Immunobiotechnologiya i problemy sovremennoi epidemiologii. *Zhur. Vsesoyuzn. khim. obshchestva*. 1989;XXXIV(1):3-11. (In Russian).
40. Semenenko TA, Rusakova EV, Shcherbakov AG, Gaidarenko AD, Gotvyanskaya TP, Evseyeva LF, et al. Herd immunity against controlled infections (according to the materials of the serum bank). *Èpidemiologiya i infektsionnye bolezni. Aktual'nye voprosy (Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items)*. 2012;6:10-15. (In Russian).
41. Zakikhany K, Efstratiou A. Diphtheria in Europe: current problems and new challenges. *Future Microbiol*. 2012 May;7(5):595-607. DOI: 10.2217/fmb.12.24
42. Dalmatov VV, Stasenkov VL. Monitoring, supervision and control in epidemiological activities. Infection and immunity. Proceedings of the X Congress of the All-Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists (Moscow, 12-13 April 2012). Moscow, 2012;2(1-2):p.24,25. (In Russian).
43. Kazarova VI. The state of anti-diphtheria immunity in the West Siberian region of Russia. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1998;3:75-76. (In Russian).
44. Onishchenko GG The epidemiological situation of infectious diseases controlled by means of specific prevention, and the main directions of prevention of this group of diseases in the Russian Federation. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1998;1:35-39. (In Russian).
45. Korzhenkova MP, Malyshev NA, Maksimova NM, Markina SS, Cherkasova VV, Shestakova OM, Bazarova MV. The lessons of diphtheria. *BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2011;2:30-35. (In Russian).
46. Kharseeva GG, Solovjev MYu, Kovalev EV, Ajdinov GV, Nenadskaya SA, Alutina EL, et al. Diphtheriae infection: characteristic of epidemic process in Rostov-on-Don and Rostov region. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2014;5(78):36-39. (In Russian).
47. European Centre for Disease Prevention and Control. Vaccine Scheduler: vaccine schedules in all countries of the European Union. Stockholm: The Centre; 2018 [cited 2018 Oct 20].
48. Karmazin I. Why deadly diseases are returning to Ukraine [Electronic resource]. *Izvestia*. Available at: <https://iz.ru/937975/igor-karmazin/s-penoi-u-rta-na-ukraine-nachalas-epidemiia-smertonosnoi-bolezni> (In Russian).

Кадровое обеспечение – ключевая задача федеральной научно-технической программы развития генетических технологий

М.В. Дулясова

ФГБОУ ВО «Пушкинский государственный естественно-научный институт», г. Пушкино, Московская область, Российская Федерация

В статье рассматриваются проблемы кадрового образования в рамках федеральной научно-технической программы развития генетических технологий и подходы к их решению.

Ключевые слова: образование, генетические технологии, центр геномных исследований мирового уровня

Для цитирования: Дулясова М.В. Кадровое обеспечение – ключевая задача федеральной научно-технической программы развития генетических технологий. Бактериология. 2021; 6(1): 54–58. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-54-58

Staffing is a key task of the federal scientific and technical program for the development of genetic technologies

M.V. Dulyasova

Pushchino State Natural Science Institute, Pushchino, Moscow region, Russian Federation

The article examines the problems of personnel education within the framework of the federal scientific and technical program for the development of genetic technologies and approaches to their solution.

Key words: education, genetic technologies, world-class genomic research center

For citation: Dulyasova M.V. Staffing is a key task of the federal scientific and technical program for the development of genetic technologies. Bacteriology. 2021; 6(1): 54–58. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-54-58

Сегодня весь мир живет в условиях тревоги, напряженно-эмоционального фона. Мировым сообществом решается задача планетарного значения – сохранение жизни и здоровья человечества. Его усилия направлены на противодействие эпидемии коронавируса, на реализацию неотложных мер поддержки граждан и национальных экономик.

Следует отметить, что Россия традиционно лучше других справлялась с решением такого рода задач. Примеры у всех если не на слуху, то на памяти (чума, оспа, холера, сибирская язва). Конечно, болезни остались, но были найдены эффективные способы их подавления.

И основная заслуга в этом принадлежит науке, а точнее – ученым-исследователям, в том числе русским, советским, российским, создававшим и продолжающим сохранять и развивать традиции национальной научной школы по различным направлениям!

Представляется не случайным, что несмотря на явные негатившиеся кризисные экономические тенденции (спад

роста ВВП, усиление безработицы и т.д.) новый 2021 г. объявлен Годом науки и технологий, что имеет огромное значение для развития страны в целом и, надеемся, позволит:

– ученым получить более широкую и значимую поддержку для воплощения своих смелых идей в жизнь;

– сделать серьезные прорывы в разработках, и при этом «не просто создать научные заделы, а конвертировать их в практические результаты, в реальные технологии, конкурентную – и в России, и в мире – продукцию»;

– обеспечить технологическую безопасность – сегодня это суверенность государства;

– масштабнее популяризировать научную деятельность, поскольку чем больше молодых людей будут увлечены наукой, тем больший потенциал технологического развития будет у страны.

В этих условиях представляется чрезвычайно актуальным и своевременным запуск Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–

Для корреспонденции:

Дулясова Марина Веденеевна, профессор, доктор экономических наук, кандидат технических наук, и.о. ректора ФГБОУ ВО «Пушкинский государственный естественно-научный институт»

Адрес: 142290, Московская область, Пушкино, пр-т Науки, 3

Телефон: (496) 773-2679

E-mail: rector@pushgu.ru

Статья поступила 05.04.2021 г., принята к печати 30.06.2021 г.

For correspondence:

Marina V. Dulyasova, Professor, Doctor of Economics, Candidate of Technical Sciences, Acting Rector of Pushchino State Natural Science Institute

Address: 3 Nauki ave., Pushchino, 142290, Moscow region, Russian Federation

Phone: (496) 773-2679

E-mail: rector@pushgu.ru

The article was received 05.04.2021, accepted for publication 30.06.2021

2027 годы (далее – Программа), которая утверждена Правительством Российской Федерации в апреле 2019 г. в развитие Указа Президента Российской Федерации (ноябрь 2018 г.) «О развитии генетических технологий в Российской Федерации».

Программа направлена на комплексное решение задач ускоренного развития генетических технологий (включая технологии генетического редактирования) и создание научно-технологических заделов для медицины, сельского хозяйства и промышленности, а также на совершенствование мер предупреждения чрезвычайных ситуаций биологического характера и контроля в этой области.

В рамках Программы на конкурсной основе созданы три геномных центра мирового уровня. Каждый из них представляет собой консорциум исследовательских институтов, вузов, производственных и инновационных компаний, что выдвигалось одним из условий отбора.

По направлению «Биобезопасность и обеспечение технологической независимости» победителем выбран Центр по биобезопасности (полное название – Центр геномных исследований мирового уровня по обеспечению биологической безопасности и технологической независимости), созданный на базе Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора в консорциуме еще с двумя организациями Роспотребнадзора – Государственным научным центром вирусологии и биотехнологии «Вектор» и Центральным научно-исследовательским институтом эпидемиологии.

За короткий период (конец 2019 г. – начало 2020 г.) заданные форматы деятельности центров в рамках Программы доказали свою эффективность, о чем докладывалось на Совете Программы в мае 2020 г.

Так, в рамках деятельности Центра по биобезопасности создан электронный каталог клинических и референс-штаммов для разработки инновационных препаратов для лечения инфекционных болезней и проведен скрининг более 2 тыс. штаммов бактерий; начато создание национального интерактивного каталога патогенных микроорганизмов и биотоксинов, значимых для биологической безопасности.

Кроме того, адаптирована и внедрена новая система для обнаружения организмов I и II группы патогенности; создан метод, который позволяет быстро ставить диагнозы, включая инфекционные заболевания.

При этом для достижения целей Программы задача развития кадрового потенциала как российской науки в целом, так и высокопрофессиональных компетенций исследователей в области генетических технологий определяется как одна из ключевых и напрямую касается не только геномной программы, но и геномных исследований.

Современная молекулярная генетика – это комплексная междисциплинарная область, которая предполагает знания химии нуклеиновых кислот и белков, биоинформатики, статистики и других дисциплин, а роль математики и биоинформатики в генетических исследованиях будет неуклонно возрастать.

По оценке министра науки и высшего образования В.Н.Фалькова: «Не так много студентов, как хотелось бы, сегодня выбирают профессию исследователя. Только 10% студентов очной формы обучения так или иначе хотели бы

связать свою жизнь с наукой, то есть стать исследователем, ученым».

По результатам социологических опросов школьников о сделанном ими профессиональном выборе установлено, что более 20% собираются осваивать специальности по направлениям генетики, медицины, биотехнологии.

Да, абитуриенты с удовольствием идут на обучение по этим специальностям, потому что они современные, а в последнее время стали и очень модными.

В таблице представлены данные, отражающие неполные объемы и направления подготовки специалистов-исследователей по геномным технологиям и биобезопасности в российских вузах. Однако они позволяют сделать определенные выводы.

Количественные показатели свидетельствуют, что, несмотря на то, что в 103 вузах в 61 субъекте Российской Федерации осуществляется подготовка специалистов-исследователей, этого количества явно недостаточно, а молодых ученых, которые доходят сегодня до защиты диссертаций и защищаются по направлениям генетики, – тем более.

Именно поэтому, по сообщению вице-премьера Правительства Д.Н.Чернышенко, едва ли не главный акцент в мероприятиях Года науки решено сделать на «поддержку молодых ученых, а для этого нужны благоприятные условия для учебы, работы и широкие возможности для самореализации молодежи».

Что такое условия для учебы сегодня? Это цивилизованные условия для освоения образовательных программ, то есть наличие достаточного учебно-аудиторного фонда, современного оборудования, сформированные условия для комфортного проживания обучающихся и их воспитание через организацию интересной студенческой жизни.

Полагаю, что кадровое обеспечение не только геномной Программы, но и геномных исследований – одна из важнейших ключевых задач, которые предстоит решать не только с помощью мер государственной поддержки, но и совместными усилиями науки и образования, путем тесной интеграции науки, высшей школы и производства.

На основе обобщенного опыта собственного вуза (Пушчинского государственного естественно-научного института/ПушГЕНИ), основная деятельность которого направлена на подготовку специалистов-исследователей в сфере биотехнологий (94% от общего объема подготовки), и анализа опыта других российских и зарубежных вузов нами рассматриваются следующие варианты совместного решения задачи кадрового обеспечения. При этом имеется в виду прежде всего взаимодействие ПушГЕНИ и Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора.

Варианты решения задачи кадрового обеспечения генетических исследований и технологий:

1. Реализация основных профессиональных образовательных программ в сетевой форме с привлечением материально-технической и интеллектуальной базы Центра, сохраняющая фундаментальность образования и обеспечивающая непрерывный процесс обновления образовательных программ.

Накопленный с 1992 г. совместный опыт научно-исследовательских институтов Российской академии наук и

Таблица. ВУЗы, реализующие программы магистратуры по геномным технологиям и биобезопасности

Направление/ отрасль	ВУЗы	Бюджет/ договор	
Геномные технологии/ медицина, сельское хозяйство, пищевая промышленность, экология	МГУ им. М.В.Ломоносова – Геномика и здоровье человека	0/10	
	ВоГУ – Геномная инженерия	10/3	
	БашГУ – Геномная медицина	15/5	
	КФУ – Физиология человека и животных, биохимия, генетика, микробиология, геномика и протеомика	12/5	
	Университет Сириус – Генетика и генетические технологии	20/0	
	СФУ – Геномика и биоинформатика, ИОМ РАНХиГС – Геномика, молекулярная генетика и биоинформатика	12/1	
	ЛГУ им. А.С.Пушкина – Геномика, молекулярная генетика и биоинформатика	10/2	
	КубГУ – Генетика	5/5	
	ПГНИУ – Генетика	15/8	
	ВГУ – Генетика	8/5	
	ВолгГМУ – Генетика и биохимия	15/4	
	ПуцГЕНИ – Молекулярно-генетические технологии	17/6	
	ПуцГЕНИ – Биологическая безопасность	10/5	
	Биобезопасность/ медицина, сельское хоз-во, пищевая и химическая промышленность, экология		

Роспотребнадзора и ПуцГЕНИ в данной области позволяет не только использовать, но и развивать подготовку специалистов-исследователей и молодых ученых (аспирантура) в сетевой форме с учетом дополнений, внесенных на федеральном законодательном уровне в сентябре 2020 г., позволяющих:

– устанавливать более четкое регулирование отношений образовательных и научных организаций; определять права и ответственность за качественную реализацию частей образовательных программ, закрепленных за конкретной(ыми) организацией(ями); с учетом экономической и образовательно-содержательной составляющих эффективно использовать материально-технические и кадровые ресурсы организаций; обеспечивать выпускников вуза знаниями о последних мировых научных достижениях.

2. Переход на междисциплинарную подготовку (в т.ч. на стыке разных наук с привлечением к реализации программ профильных вузов в формате сетевого взаимодействия, например по биомедицинской инженерии, бионике, биобезопасности, биоэкономике, биоэкологии, биофизике) через индивидуальные траектории обучения с обязательной включенностью обучающихся в исследовательскую работу при активном взаимодействии с партнерами.

Исторически созданные под конкретную предметную область факультеты в вузах не позволяют получить студенту весь спектр необходимых междисциплинарных компетенций, которые зачастую находятся на стыке наук, что объективно влияет на востребованность исследователя работодателями.

3. Переход на интегрированные образовательные программы магистратуры и аспирантуры.

Уже сегодня магистранты и аспиранты в обязательном порядке полноценно работают в составе исследовательских коллективов: собственно, так и выстраиваются единые треки, интегрированные программы магистратуры и аспирантуры, когда тематика будущей кандидатской диссертации задается уже в магистратуре.

В настоящее время в ПуцГЕНИ развернута работа по такому алгоритму обучения. И уже реализуется первая целевая образовательная программа магистратуры по направлению «биологические науки» по профилю «биомедицина и биофармацевтика» подготовки исследователей для высокотехнологичной компании Биокад.

Таким образом, предлагаемые выше три варианта (модели) позволят обеспечить существенное увеличение объемов подготовки специалистов-исследователей в области генетических исследований и технологий.

4. Подготовка новых (или переподготовка) и повышение квалификации учителей средней школы по профильным дисциплинам.

В настоящее время на всех уровнях образования – от школы до аспирантуры – сформировался запрос на новое качество образования в области генетики. Генетические технологии, в том числе секвенирование и редактирование генома, становятся повседневной практикой в медицине, сельском хозяйстве, микробиологической промышленности, охране природы.

Тех, кто обучается сейчас в средней школе, важно подготовить к этому новому миру, обеспечить необходимыми знаниями, обеспечить массовую подготовку высококвалифицированных кадров в области генетики.

Проводником новых знаний в школе является, конечно, прежде всего учитель.

К сожалению, по собственному опыту следует сказать, что знания школьников, даже получивших приличные баллы по ЕГЭ, слишком часто не соответствуют требованиям, необходимым для освоения основных образовательных программ высшей школы. В нашем случае это касается таких дисциплин, как химия, физика. В результате первый семестр бакалавриата отводится на освоение заново школьных программ 9, 10 и 11-го классов с целью выравнивания уровня стартовых знаний. Аналогичная практика преодоления незнаний первокурсниками применяется и другими вузами.

Представляется, что подготовку/повышение квалификации педагогических кадров по профильным дисциплинам эффективнее осуществлять в профильных вузах.

5. Следует отметить, что не простые отношения с учебной складываются и у абитуриентов магистратуры, которые приезжают на обучение в ПуцГЕНИ из российских вузов 47 субъектов Российской Федерации, в том числе у тех, у кого была другая специализация.

Это отдельная проблема, с которой вуз работает совместно с научными и промышленными партнерами, с одной стороны, через разработку и реализацию целевых программ повышения квалификации специалистов, с другой – через открытие собственного бакалавриата как системы отбора лучших и выстраивание в вузе полной образовательной вертикали подготовки. (Справка: до 2017 г. в вузе осуществлялась подготовка только по программам магистратуры и аспирантуры.)



Рисунок. Траектория развития ПушГЕНИ.

6. Нарастание опыта, объемов и форм работы со школьниками, в том числе в рамках их профориентации, посредством использования как традиционных, так и нестандартных решений.

Как правило, варианты решения задачи кадрового обеспечения базируются на результатах нарабатываемых вузами успешных практик, а также на основе поиска нетрадиционных.

И, конечно, ярким примером в данном случае может служить постановка биологического трека в образовательном центре «Сириус». К их числу также относятся Курчатовский проект, проекты академических и медицинских профильных классов в столичных и подмосковных школах.

Наработан опыт и ПушГЕНИ. В частности, вуз сотрудничает в биотех- проектах 3 пуштинских школ, 2 близлежащих малокомплектных сельских и школ г. Серпухова на юге Подмосковья. Почти три года на постоянной основе вуз работает с биологическим профильным классом в школе №18 г. Серпухова и с находящимся там же областным медицинским колледжем.

Ряд выпускников колледжа и профильного класса школы, а также других пуштинских школ поступили в ПушГЕНИ на обучение по образовательным программам бакалавриата. Раньше исключительно все выпускники местных школ уезжали для поступления на обучение в вузы Москвы.

Также на постоянной основе при вузе успешно функционируют зимняя и летняя школы с тематикой «Биомедицина и биофармацевтика», «Цифровая биология», в которых прошли обучение более 150 российских школьников и около 30 студентов из числа иностранных граждан.

Школы вызывают интерес не только у местных школьников – сюда приезжают школьники из Москвы, близлежащих городов Подмосковья, Тульской, Калужской областей, а летом – даже с Дальнего Востока. Эта работа будет продолжена уже с расширением тематики в области генетических исследований и технологий.

На основе нарабатываемого опыта представляется целесообразным открыть подготовку / повышение квалификации педагогов дополнительного образования детей в целях формирования условий для освоения школьниками научно-популярных программ (работа кванториумов, малых академий, универсариумов и т.п.).

Однако в других вузах, например, эффективными являются программы полевого обучения основам генетики, селекции и сопутствующих технологий.

Для этих целей в мире широко используется система экологических полевых станций, которые, как правило, курируются вузами. Станции регенеративного земледелия, экологического мониторинга, эталонные участки биоразнообразия, экспериментальные полевые программы восстановления и поддержания нарушенных экосистем – все это хорошие способы заинтересовать школьников современными генетическими технологиями, привлечь их внимание к экологии. В вузе будет более подробно изучен формат работы полевых станций со школьниками.

Отмечая нарабатываемый опыт по проблеме в целом, я хотела бы дать некоторую очень краткую характеристику ПушГЕНИ в настоящее время (рисунок).

В 2017 г. в ПушГЕНИ произошла смена управленческой команды. За 3,5 года деятельности вузу удалось:

- выстроить собственную образовательную вертикаль подготовки исследователей – от бакалавриата до аспирантуры, с включением в основные образовательные программы элементов интеграции;
- довести трудоустройство магистров по полученной специальности в первый год после окончания обучения до 95% за счет существенного обновления содержания образовательных программ или открытия новых;
- закрывать потребность Московской области в специалистах-исследователях по биологическим наукам почти на 25%;

– довести контингент обучающихся из числа иностранных граждан по основным образовательным программам до 11% от общего объема подготовки и открыть для них программы (в том числе профильные) на подготовительном факультете по линии Россотрудничества;

– расширить основные направления деятельности вуза (широкая профориентация школьников; открыт подготовительный факультет для иностранных граждан по профильным направлениям; открыт институт непрерывного образования);

– помимо НИИ РАН и Роспотребнадзора, привлечь к совместной работе индустриальных партнеров из числа высокотехнологических компаний (Биокад, Герофарм);

– занять 18-ю позицию в рейтинге эффективных вузов (без учета вузов Москвы и Санкт-Петербурга) за 2019 г.

Резюмируя сказанное по теме решения задачи кадрового обеспечения генетических исследований и технологий, полагаю, что как у ПушГЕНИ, так и у российских вузов в целом открываются новые широкие возможности участия в разработке и реализации образовательных программ в сфере генетических исследований и технологий.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

1. Указ Президента Российской Федерации от 28.11.2018 №680 Президент России [Electronic resource]. URL: <http://kremlin.ru/acts/bank/43794> (дата обращения 02.04.2021).
2. Постановление Правительства РФ от 22 апреля 2019 г. №479 «Об утверждении Федеральной научно-технической программы развития генетических техно-

логий на 2019–2027 годы» [Electronic resource]. URL: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/72128722/> (дата обращения 02.04.2021).

3. Материалы заседания Совета по реализации федеральной научно-технической программы развития генетических технологий от 13 сентября 2019 года. Новости – Правительство России [Electronic resource]. URL: <http://government.ru/news/37864/> (дата обращения 02.04.2021).
4. Материалы правительственного совещания о развитии генетических технологий в Российской Федерации от 14 мая 2020 года. Новости – Правительство России [Electronic resource]. URL: <http://government.ru/news/37864/> (дата обращения 02.04.2021).
5. Дулясова МВ. Тезисы выступления на Итоговом семинаре по результатам выполнения Программы создания и развития Центра геномных исследований мирового уровня по обеспечению биологической безопасности и технологической независимости в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий в 2019–2020 гг. 21 января 2021 г. в г. Оболенске Московской области.

References

1. Decree of the President of the Russian Federation No.680 of 28.11.2018 President of Russia [Electronic resource]. URL: <http://kremlin.ru/acts/bank/43794> (accessed 02.04.2021). (In Russian).
2. Decree of the Government of the Russian Federation No.479 of April 22, 2019 "On Approval of the Federal Scientific and Technical Program for the Development of Genetic Technologies for 2019-2027" [Electronic resource]. URL: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/72128722/> (accessed 02.04.2021). (In Russian).
3. Proceedings of the meeting of the Council for the Implementation of the federal scientific and Technical program for the Development of genetic technologies dated September 13, 2019. News – The Government of Russia [Electronic resource]. URL: <http://government.ru/news/37864/> (accessed 02.04.2021). (In Russian).
4. Proceedings of the government meeting on the development of genetic technologies in the Russian Federation of May 14, 2020. News – Russian Government [Electronic resource]. URL: <http://government.ru/news/37864/> (accessed 02.04.2021). (In Russian).
5. Dulyasova MV. Proceedings of the Seminar on the results of the implementation of the Program for the Creation and Development of the Genomic Research Center for Ensuring Biological Safety and Technological independence and the Federal Scientific and Technical Program for the Development of Genetic Technologies in 2019–2020 on January 21, 2021 in Obolensk, Moscow Region. (In Russian).

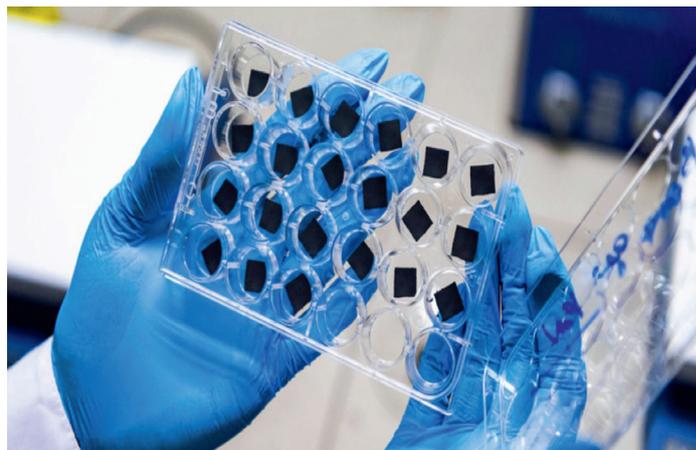
НОВОСТИ НАУКИ

Российские ученые нашли новый способ борьбы с бактериями

Ученые из Московского института стали и сплавов создали нанопокрывтия с антибактериальными и противогрибковыми свойствами, за сутки почти полностью уничтожающие болезнетворных микробов. Механизм действия – прямой физический контакт с иглоподобной поверхностью нанопленки на основе нитрида бора. Полагают, что этот подход будет перспективен в хирургии имплантатов и стоматологии.

Нанозффект: российские ученые нашли новый способ борьбы с бактериями [Electronic resource].

RT на русском. URL: <https://russian.rt.com/science/article/781338-nanoplyonki-protiv-mikrobov> (accessed 08.12.2020).



Грибы, обитающие в кишечнике, могут иметь одинаковое значение для здоровья и болезней

Роль бактерий в здоровье кишечника в последние годы привлекла большое внимание. Но новое исследование, проведенное учеными из Университета здравоохранения штата Юта, показывает, что грибы, живущие внутри нас, могут иметь одинаковое значение для здоровья и болезней.

Грибы процветают в здоровом кишечнике, но также могут вызывать повреждение кишечника, способствующее воспалительному заболеванию кишечника (ВЗК). Эксперименты на мышах показывают, что в норме иммунная система контролирует грибки, нацеливаясь на микроб, когда он переходит в состояние, которое может причинить вред. Когда система выходит из равновесия, более вероятно возникновение болезни.

«Грибы были полностью недостаточно изучены, отчасти потому, что их количество значительно превосходит численность бактерий», – говорит Джун Раунд, доктор философии, профессор патологии и автор исследования.

Эти работы открывают новые возможности для разработки терапевтических средств для улучшения здоровья кишечника. Исследование демонстрирует доказательство концепции, что однажды вакцины можно будет использовать для обуздания желудочно-кишечных заболеваний за счет усиления естественных иммунных реакций, которые способствуют здоровому балансу грибков и другой кишечной микробиоты.

Раунд заинтересовалась этим направлением исследований после того, как заметила, что обычный медицинский тест для диагностики болезни Крона, типа ВЗК, работает путем обнаружения антител против грибов. И все же то, как антитела влияют на влияние грибов на болезнь, еще предстоит изучить. Ее команда искала триггер иммунного ответа. Работая с образцами пациентов и проводя тесты на мышах, они определили, что дрожжи *Candida albicans* – один из основных видов грибов, обитающих в кишечнике человека, – вызвали сильнейший иммунный ответ. Дальнейшее исследование показало, что антитела сосредотачиваются на удлинённых типах грибковых клеток, называемых гифами, специфически связываясь с белками адгезинами, которые помогают микробам прилипнуть к поверхностям и становиться инвазивными.

Исследователи могли более точно исследовать роль грибов в здоровье кишечника. Они обнаружили, что мыши, зараженные дрожжами в их нормальном округлом состоянии, оставались здоровыми. Напротив, мыши, зараженные *Candida* в его инвазивной форме, вызвали повреждение кишечника, напоминающее ВЗК. Результаты показывают, что нормальные ответы антител в кишечнике подавляют заболевание, распознавая вредную гифальную форму грибов.

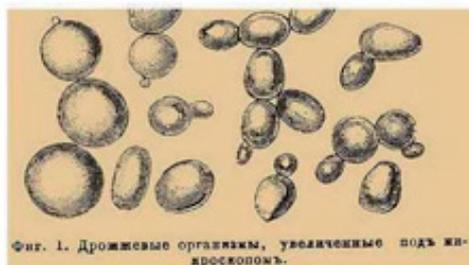
ВЗК – не единственное заболевание, связанное с грибами. Другое – вагинальные дрожжевые инфекции. Исследователи определили, что вакцина, которую исследуют как средство от дрожжевой инфекции, вызвала иммунную реакцию против белков адгезина, аналогичную реакции у пациентов с болезнью Крона. При прививке вакциной у мышей, обычно предрасположенных к IBD-подобному состоянию, вероятность развития заболевания снижалась.

В настоящее время исследователи изучают, могут ли вакцины помочь уменьшить ВЗК у людей и можно ли применить тот же подход в более широком смысле для формирования других микробных сообществ в кишечнике.

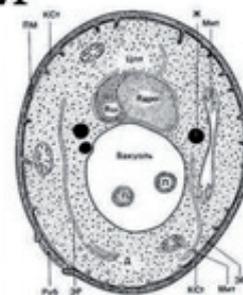
В дополнение к последствиям для болезни результаты также предполагают, что грибки могут иметь важное значение для здорового кишечника. Как правило, работа иммунной системы заключается в устранении инфекций путем избавления от инвазивных организмов. В этом случае грибки выигрывают от взаимодействия с антителами. Иммунная реакция переводит грибы из инвазивного состояния в округлое, бутонизированное состояние, что улучшает их выживаемость в кишечнике.

«Иммунная система ограничивает *Candida* в ее наименее патогенной форме, – говорит Кайла Ост, доктор философии, научный сотрудник лаборатории Раунда и ведущий автор исследования. – Это показывает нам, что общение между хозяином и микробом может быть дружественным, а не антагонистическим, и принести пользу обоим».

Дрожжевые грибки



Фиг. 1. Дрожжевые организмы, увеличенные под микроскопом.



Ost KS, O'Meara TR, Stephens WZ, Chiaro T, Zhou H, Penman J, et al.

Adaptive immunity induces mutualism between commensal eukaryotes. *Nature*. 2021 Jul 14.

DOI: 10.1038/s41586-021-03722-w

Правила оформления статей (основные положения)

Журнал «Бактериология» публикуется на русском языке (резюме статей и ключевые слова – на русском и английском языках), распространяется на бумажном носителе и публикуется в электронной форме.

К публикации принимаются экспериментальные и обзорные статьи, а также короткие сообщения по прикладным и фундаментальным вопросам медицинской, ветеринарной и сельскохозяйственной бактериологии. Статьи принимаются без ограничения объема от граждан любой страны на русском языке. По согласованию с редакцией допускается публикация рекламных материалов, соответствующих тематике журнала.

Публикации, созданные в порядке выполнения служебного задания, должны иметь направление от учреждения, в котором выполнена работа. В направлении следует указать, что представленный материал ранее не был нигде опубликован и не находится на рассмотрении для публикации в других изданиях (включая зарубежные).

К публикации прилагается экспертное заключение организации об отсутствии ограничений для открытой публикации представленных материалов.

Материалы для публикации, включая сопровождающие документы, направляются в редакцию в электронной форме по адресу: info@obolensk.org или bacteriology@obolensk.org. В теме сообщения следует указать «Бактериология».

Требования к оформлению статьи.

Экспериментальная статья должна состоять из разделов: введение, материалы и методы, результаты и обсуждение, список литературы.

Рукопись должна быть подготовлена в текстовом редакторе MS Word, шрифт – Times New Roman, размер – 14, межстрочный интервал – 1,5, поля – 2 см. Статья должна включать резюме и ключевые слова на русском и английском языках. Нумерация всех страниц рукописи сквозная.

Краткие сообщения представляются без таблиц и рисунков.

Статья должна быть подписана всеми авторами, включая иностранных.

К статье следует приложить сведения об авторах на русском и английском языках с указанием адреса, контактных телефонов (служебного и мобильного), факса и электронной почты с указанием автора, ответственного за переписку с редакцией.

Заглавие статьи оформляется следующим образом:

НАЗВАНИЕ СТАТЬИ

И. И. Иванов*, П. П. Петров**

*Первая организация, г. Москва, РФ

**Вторая организация, Техас, США

E-mail

[далее текст аннотации и ключевые слова]

Текст статьи, включая резюме, список литературы, подписи к рисункам и таблицы, должны быть оформлены одним файлом, а каждый рисунок – отдельным файлом.

РЕЗЮМЕ статьи должно быть представлено на русском и английском языках, отражать основные полученные результаты и содержать не более 250 слов.

КЛЮЧЕВЫХ СЛОВ (словосочетаний) должно быть не более 10, на русском и английском языках.

Во ВВЕДЕНИИ (без заголовка) следует изложить мотивацию написания данной работы и отдельным абзацем обозначить цель исследования. Дополнительно на английском языке.

Раздел МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ должен содержать сведения об объекте исследования (включая источник получения, название коллекции) и краткое описание использованных методик, позволяющее их воспроизвести (на ранее опубликованные и общеизвестные методы дается ссылка); для приборов и реактивов указываются название фирмы на языке оригинала в кавычках и страны в скобках.

Следует использовать общепринятые современные сокращения мер, физических, химических и математических величин, терминов и т.д. Единицы измерения должны даваться в единицах СИ (Система Интернациональная). Обозначения мутантных и рекомбинантных форм микроорганизмов следует приводить в соответствии с международными правилами. Для трехбуквенного обозначения генов бактерий используются строчные буквы (курсив).

Рисунки и таблицы размещаются в тексте статьи в соответствии с пожеланиями авторов. Кроме того, черно-белые и цветные рисунки (в формате *.jpg) прилагаются к статье в виде отдельных файлов (ris1.jpg, ris2.jpg и т.д.)

Сведения о финансовой поддержке работы приводятся в конце текста статьи перед списком литературы.

В СПИСКЕ ЛИТЕРАТУРЫ указываются авторы, название статьи, название журнала или сборника, год, номер, страницы. Для названия журналов используются общепринятые сокращения (<http://www.nlm.nih.gov/>).

В случае невыполнения настоящих правил оформления статья не принимается и отсылается авторам на доработку.

Редакция оставляет за собой право редактировать статьи по согласованию с автором.

Присланные в редакцию статьи проходят процедуру рецензирования. В случае отклонения статьи редакция направляет автору мотивированный отказ.

Публикация – бесплатная.

Статьи направлять по адресу:

142279, Московская обл.,

Серпуховский р-н, п. Оболенск, ГНЦ ПМБ

Тел. (4967) 36-00-46

Факс (4967) 36-00-10

E-mail: info@obolensk.org

или

bacteriology@obolensk.org