

2021

ИНФЕКЦИЯ
И
ИММУНИТЕТ



ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ

сентябрь–октябрь
2021, том 11

№ 5

Журнал издается при участии Отделения Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов по Санкт-Петербургу и Ленинградской области

Главный редактор

Тотолян Арег А. д.б.н., профессор, академик РАН, директор Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, зав. лабораторией молекулярной иммунологии, Санкт-Петербург, Россия

Заместитель главного редактора

Мокроусов И.В. д.б.н., зав. лабораторией молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Редакционная коллегия

- Апт А.С.** д.б.н., профессор, зав. лабораторией иммуногенетики Центрального НИИ туберкулеза, Москва, Россия
Барбеито Л. д.м.н., профессор, директор Института Пастера, Монтевидео, Уругвай
Брей П. д.б.н., профессор, директор Института Пастера в Лаосе, зав. лабораторией медицинской энтомологии и биологии переносчиков болезней, Вьентьян, Лаос
Гинцбург А.Л. д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия
Дозо Ч. д.б.н., профессор, директор Национального научно-исследовательского центра — Институт имени Арманда Фраппьера, Квебек, Канада
Лаврентьева И.Н. д.м.н., зав. лабораторией экспериментальной вирусологии Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
Лобзин Ю.В. д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФГБУ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА, Санкт-Петербург, Россия
Лоузир Э. профессор, директор Института Пастера Туниса, Тунис
Львов Д.К. д.м.н., профессор, академик РАН, НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия
Мануссакис М. директор Института Пастера Греции, Афины, Греция
Медуницын Н.В. д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник Научного центра экспертизы средств медицинского применения, Москва, Россия
Михайлов М.И. д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, зав. лабораторией вирусных гепатитов НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова; зав. кафедрой микробиологии и вирусологии Российского университета дружбы народов, Москва, Россия
Найденски Х. д.м.н., профессор, директор Института микробиологии им. Стефана Ангелюффа, зав. отделом инфекционной микробиологии, София, Болгария
Онищенко Г.Г. д.м.н., профессор, академик РАН, первый заместитель председателя Комитета Государственной Думы по образованию и науке, Москва, Россия
Покровский В.В. д.м.н., профессор, академик РАН, руководитель Федерального НМЦ по профилактике и борьбе со СПИДом, Москва, Россия
Сантони А. зам. директора по научной работе Института Пастера в Риме, профессор иммунологии и иммунопатологии отдела молекулярной медицины Университета Сапиенца в Риме, Рим, Италия
Симбирцев А.С. д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, научный руководитель ГосНИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия
Тотолян Артем А. д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия
Фрейдлин И.С. д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия
Хайтов Р.М. д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, научный руководитель ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России, Москва, Россия
Черешнев В.А. д.м.н., профессор, академик РАН, научный руководитель Института иммунологии и физиологии, Екатеринбург, Россия
Шпигель А. д.м.н., профессор, директор Института Пастера Мадагаскара, Антананариву, Мадагаскар

Редакционный совет

| | |
|------------------------|--|
| Алешкин В.А. | д.б.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, научный руководитель Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия |
| Бухарин О.В. | д.м.н., профессор, академик РАН, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза, Оренбург, Россия |
| Вишневский Б.И. | д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела лабораторной диагностики Санкт-Петербургского НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия |
| Долгушин И.И. | д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, президент Южно-Уральского государственного медицинского университета, Челябинск, Россия |
| Зверев В.В. | д.б.н., профессор, академик РАН, научный руководитель НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, Москва, Россия |
| Зуева Л.П. | д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, зав. кафедрой эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия |
| Кафтырева Л.А. | д.м.н., профессор, зав. лабораторией кишечных инфекций Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия |
| Кашкин К.П. | д.м.н., профессор, академик РАН, профессор кафедры иммунологии Российской медицинской академии последипломного образования МЗ РФ, Москва, Россия |
| Кубарь О.И. | д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия |
| Малеев В.В. | д.м.н., профессор, академик РАН, советник директора Центрального НИИ эпидемиологии, зав. отделом инфекционной патологии, Москва, Россия |
| Нарвская О.В. | д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия |
| Савичева А.М. | д.м.н., профессор, зав. лабораторией микробиологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия |
| Сельков С.А. | д.м.н., профессор, зав. лабораторией иммунологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия |
| Тец В.В. | д.м.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии и вирусологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия |
| Харит С.М. | д.м.н., профессор, руководитель отдела профилактики инфекционных заболеваний ФГБУ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА, Санкт-Петербург, Россия |
| Чекнев С.Б. | д.м.н., зам. директора по научной работе ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, зав. лабораторией межклеточных взаимодействий, Москва, Россия |
| Шкарин В.В. | д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, президент Нижегородской государственной медицинской академии, зав. кафедрой эпидемиологии, Нижний Новгород, Россия |

Ответственный секретарь: Ракитянская Н.В. (Санкт-Петербург)

Редактор перевода: Исаков Д.В., к.м.н. (Санкт-Петербург)

Выпускающий редактор: Мурадян А.Я., к.м.н. (Санкт-Петербург)

Редактор электронной версии: Ерофеева В.С. (Санкт-Петербург)

Учредители

Северо-Западное отделение медицинских наук
Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера
Санкт-Петербургское региональное отделение Российской ассоциации аллергологов и клинических иммунологов

Журнал зарегистрирован Управлением Федеральной службы по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций по Санкт-Петербургу и Ленинградской области
Свидетельство о регистрации ПИ № ТУ 78–00578 от 26 апреля 2010 г.
Свидетельство о регистрации ПИ № ТУ 78–00910 от 24 июня 2011 г.

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций
Свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77–64788 от 02 февраля 2016 г.

Электронная версия журнала: www.iimmun.ru и www.elibrary.ru

С 2012 года журнал «Инфекция и иммунитет» входит в Перечень российских рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК РФ, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук

С 2014 года журнал «Инфекция и иммунитет» включен в международную базу Ulrich's Periodicals Directory

С 2016 года включен в базу данных Russian Science Citation Index (RSCI), интегрированную с платформой Web of Science

С 2016 года журнал «Инфекция и иммунитет» включен в Web of Science (Emerging Sources Citation Index)

С 2017 года журнал «Инфекция и иммунитет» включен в международную базу Scopus

Адрес редакции:

197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14.
Тел.: (812) 233-08-58.

Издательство НИИЭМ имени Пастера

197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14.
Тел./факс: (812) 232-07-42.
E-mail: izdatelstvo@pasteurorg.ru

Типография ООО «Аллегро»

196084, Санкт-Петербург,
ул. Коли Томчака, 28.
Тел./факс: (812) 388-90-00.

Подписано в печать 26.10.2021 г. Формат 60 x 90 1/8.
Печать офсетная. Усл.-печ. л. 25.
Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.).
Заказ № 1350

© Инфекция и иммунитет
© Северо-Западное отделение медицинских наук, 2021
© НИИЭМ имени Пастера, 2021
© СПб РО РААКИ, 2021

Russian Journal of Infection and Immunity (Infektsiya i immunitet)

September–October

2021, volume 11

No. 5

The journal is published with the assistance of the Branch of All-Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists for St. Petersburg and Leningrad Region

Editor-in-chief

Areg A. Totolian PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, St. Petersburg Pasteur Institute of Epidemiology and Microbiology, Director, Head of the Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg, Russian Federation

Deputy editor-in-chief

Igor V. Mokrousov PhD, MD (Biology), St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics, St. Petersburg, Russian Federation

Members of editorial board

Alexander S. Apt PhD, MD (Biology), Professor, Central Research Institute of Tuberculosis, Head of the Laboratory of Immunogenetics, Moscow, Russian Federation

Luis Barbeito PhD, MD (Medicine), Professor, Institute Pasteur de Montevideo, Director, Montevideo, Uruguay

Paul Brey PhD, MD (Biology), Professor, Institute Pasteur du Laos, Director; Laboratory of Medical Entomology and Biology of Disease Vectors, Head, Vientiane, Laos

Charles M. Dozois PhD, MD (Biology), Professor, INRS — Institute Armand Frappier, Director, Quebec, Canada

Alexander L. Gintsburg PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Director, Moscow, Russian Federation

Irina N. Lavrentieva PhD, MD (Medicine), St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Experimental Virology, St. Petersburg, Russian Federation

Yuri V. Lobzin PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Director, St. Petersburg, Russian Federation

Hechmi Louzir Professor, Institute Pasteur de Tunis, Director, Tunis, Tunisia

Dmitry K. Lvov PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, D.I. Ivanovsky Institute of Virology, N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Menelaos N. Manoussakis Hellenic Pasteur Institute, Director, Athens, Greece

Nikolai V. Medunitsyn PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Scientific Center for Expertise of Medical Products, Moscow, Russian Federation

Michael I. Michailov PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, I.I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera, Head of the Laboratory of Viral Hepatitis; Peoples' Friendship University of Russia, Head of the Department of Microbiology and Virology, Moscow, Russian Federation

Hristo Najdenski PhD, MD (Medicine), Professor, Institute Stephan Angeloff, Director; Department of Infectious Microbiology, Head, Sofia, Bulgaria

Gennadiy G. Onishchenko PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, First Deputy Chairman of the State Duma Committee on Education and Science, Moscow, Russian Federation

Vadim V. Pokrovskiy PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Central Research Institute of Epidemiology, Head of the Federal AIDS Center, Moscow, Russian Federation

Angela Santoni PhD, Professor, Institute Pasteur-Fondation Cenci Bolognetti, Scientific Director; Full Professor of Immunology and Immunopathology, Department of Molecular Medicine, Sapienza University of Rome, Rome, Italy

Andrei S. Simbirtsev PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, St. Petersburg Institute of Pure Biochemicals, Scientific Director, St. Petersburg, Russian Federation

Artem A. Totolian PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Institute of Experimental Medicine, Department of Molecular Microbiology, Head Researcher, St. Petersburg, Russian Federation

Irina S. Freidlin PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, Institute of Experimental Medicine, Head Researcher, St. Petersburg, Russian Federation

Rahim M. Khaitov PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Institute of Immunology, Scientific Director, Moscow, Russian Federation

Valery A. Chereshev PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Institute of Immunology and Physiology, Scientific Director, Yekaterinburg, Russian Federation

Andre Spiegel PhD, MD (Medicine), Professor, Institute Pasteur de Madagascar, Director, Antananarivo, Madagascar

Members of editorial council

| | |
|------------------------------|--|
| Vladimir A. Aleshkin | PhD, MD (Biology), Professor, G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Scientific Director, Moscow, Russian Federation |
| Oleg V. Bukharin | PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Research Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Scientific Director, Orenburg, Russian Federation |
| Boris I. Vishnevsky | PhD, MD (Medicine), Professor, Research Institute of Phthisiopulmonology, Head Researcher, Department of Laboratory Diagnostic, St. Petersburg, Russian Federation |
| Ilija I. Dolgushin | PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Chelyabinsk State Medical Academy, President, Moscow, Russian Federation |
| Vitaly V. Zverev | PhD, MD (Biology), Professor, RAS Full Member, I.I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera, Scientific Director, Moscow, Russian Federation; I.M. Sechenov State Medical University, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Moscow, Russian Federation |
| Ludmila P. Zueva | PhD, MD (Medicine), Professor, I.I. Mechnikov North-West State Medical University, Head of the Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, St. Petersburg, Russian Federation |
| Lidiia A. Kaftyreva | PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Intestinal Infections, St. Petersburg, Russian Federation |
| Kirill P. Kashkin | PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Russian Academy of Postgraduate Medical Education, Professor of the Department of Immunology, Moscow, Russian Federation |
| Olga I. Kubar | PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Leading Researcher, St. Petersburg, Russian Federation |
| Victor V. Maleev | PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Central Research Institute of Epidemiology, Adviser of the Director, Moscow, Russian Federation |
| Olga V. Narvskaya | PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Laboratory of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics, St. Petersburg, Leading Researcher, Russian Federation |
| Alevtina M. Savicheva | PhD, MD (Medicine), Professor, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Head of the Laboratory of Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation |
| Sergei A. Selkov | PhD, MD (Medicine), Professor, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Head of the Laboratory of Immunology, St. Petersburg, Russian Federation |
| Viktor V. Tets | PhD, MD (Medicine), Professor, Pavlov State Medical University, Head of the Department of Microbiology and Virology, St. Petersburg, Russian Federation |
| Susanna M. Kharit | PhD, MD (Medicine), Professor, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Head of the Prevention Department of Infectious Diseases, St. Petersburg, Russian Federation |
| Sergei B. Cheknev | PhD, MD (Medicine), N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Deputy Director on Science, Head of the Laboratory of Cellular Interactions, Moscow, Russian Federation |
| Vyacheslav V. Shkarin | PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, State Medical Academy, President, Head of the Department of Epidemiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation |

Assistant editor: Natalia V. Rakitianskaia (St. Petersburg)

Translation editor: Dmitrii V. Isakov (St. Petersburg)

Copy editor: Aram Ya. Muradyan (St. Petersburg)

Online version editorial manager: Vera S. Erofeeva (St. Petersburg)

Founders

North-West Regional Branch of Medical Sciences
Saint Petersburg Pasteur Institute
Russian Association of Allergologists and Clinical Immunologists, St. Petersburg Regional Branch (SPb RAACI)

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass media in Saint Petersburg and Leningrad region
Certificate of registration PI no. TU 78–00578 from April, 26, 2010
Certificate of registration PI no. TU 78–00910 from June, 24, 2011

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media
Certificate of registration PI no. FS 77–64788 from February, 02, 2016

Electronic version: www.iimmun.ru and www.elibrary.ru

Since 2012, the Infection and Immunity journal is admitted to the Index of leading peer-reviewed scientific journals intended for publication of key research results of MD Theses, as recommended by the Higher Attestation Commission of the Russian Ministry of Education and Science

Since 2014 the Infection and Immunity journal is included into international Ulrich's Periodicals Directory database

Since 2016 included in Russian Science Citation Index (RSCI) database, integrated in Web of Science

Since 2016 the Russian Journal of Infection and Immunity is included in Web of Science (Emerging Sources Citation Index)

Since 2017 the Russian Journal of Infection and Immunity is included into international Scopus database

Editorial Office

197101, St. Petersburg, Mira str., 14.
Tel.: (812) 233-08-58.

Publishing House of St. Petersburg Pasteur Institute

197101, St. Petersburg, Mira str., 14.
Phone/fax: (812) 232-07-42.
E-mail: izdatelstvo@pasteurorg.ru

Produced at the Allegro Printing House

196084, Russian Federation, St. Petersburg,
Koli Tomchaka str., 28.
Phone/fax: (812) 388-90-00.

Passed for printing 26.10.2021. Print format 60 x 90 1/8.
Offset printing. Printed sheets 25.
Circulation 2000 copies. (1st edition – 1000 copies).

© Russian Journal of Infection and Immunity =
Infektsiya i immunitet

© North-West Regional Branch of Medical Sciences, 2021

© St. Petersburg Pasteur Institute, 2021

© SPb RAACI, 2021

СОДЕРЖАНИЕ

Обзоры

Линге И.А., Апт А.С.

НЕЙТРОФИЛЫ: НЕОДНОЗНАЧНАЯ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ ТУБЕРКУЛЕЗА 809

Прислегина Д.А., Дубянский В.М., Платонов А.Е., Малецкая О.В.

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНО-КЛИМАТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКУЮ СИТУАЦИЮ ПО ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫМ ИНФЕКЦИЯМ 820

Щелканов М.Ю., Цыбульский А.В., Дедков В.Г., Галкина И.В., Малеев В.В.

АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ СРЕДСТВА ТЕРАПИИ ПЕРВИЧНЫХ ВИРУСНЫХ ПНЕВМОНИЙ 837

Оригинальные статьи

Бурова Л.А., Гаврилова Е.А., Пигаревский П.В., Тотолян Артем А.

РОЛЬ СТРЕПТОКИНАЗЫ В МОДЕЛИРОВАНИИ ПОСТСТРЕПТОКОККОВОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА 853

Букина Ю.В., Полищук Н.Н., Бачурин Г.В., Черковская О.С., Зинич Е.Л., Лазарик А.Л., Безуглый М.Б.

САЛЬМОНЕЛЛА-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОМА КРЫС 865

Лялина Л.В., Эсауленко Е.В., Хорькова Е.В., Новак К.Е., Останкова Ю.В., Серикова Е.Н., Васильев Д.В., Горзий Е.С., Буцкая М.Ю., Крицкая И.В., Буц Л.В., Гребенкина Е.В., Байдакова Е.В., Смирнова Н.А., Красноперева М.А., Кольцов Н.С., Котович Л.М., Калинина Е.Л., Галимов Р.Р., Кирхар Н.В., Черепанова Е.А., Тотолян Артем А.

РЕЗУЛЬТАТЫ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОГРАММЫ ЭЛИМИНАЦИИ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В НА СЕВЕРО-ЗАПАДЕ РОССИИ 875

Попова А.Ю., Тарасенко А.А., Смоленский В.Ю., Егорова С.А., Смирнов В.С., Дашкевич А.М., Светогор Т.Н., Глинская И.Н., Скуранович А.Л., Миличкина А.М., Дронина А.М., Самойлович Э.О., Хамитова И.В., Семейко Г.В., Амвросьева Т.В., Шмелева Н.П., Рубаник Л.В., Есманчик О.П., Карабан И.А., Дробышевская В.Г., Садовникова Г.В., Шилович М.В., Подушкина Е.А., Кирейчук В.В., Петрова О.А., Бондаренко С.В., Салажкова И.Ф., Ткач Л.М., Шепелевич Л.П., Автухова Н.Л., Иванов В.М., Бабило А.С., Навышная М.В., Беляев Н.Н., Зуева Е.В., Волосарь Л.А., Вербов В.Н., Лихачев И.В., Загорская Т.О., Морозова Н.Ф., Коробова З.Р., Губанова А.В., Тотолян Артем А.

КОЛЛЕКТИВНЫЙ ИММУНИТЕТ К SARS-CoV-2 НАСЕЛЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ COVID-19 887

Романенкова Н.И., Голицына Л.Н., Нгуен Т.Т.Т., Пономарева Н.В., Леонов А.В., Канаева О.И., Зверев В.В., Селиванова С.Г., Розаева Н.Р., Льюнг М.Т., Бичурина М.А., Новикова Н.А.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭТИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В РОССИИ И ВЬЕТНАМЕ 905

Савельева И.В., Куличенко А.Н., Савельев В.Н., Ковалев Д.А., Таран Т.В., Подопригра Е.И., Васильева О.В., Шапаков Н.А.

ХОЛЕРА ЭЛЬ-ТОР НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ СЕДЬМОЙ ПАНДЕМИИ: ЭВОЛЮЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ, КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ, ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА 917

Ильичева Т.Н., Колосова Н.П., Дурымманов А.Г., Торжкова П.Ю., Святченко С.В., Буланович Ю.А., Иванова Е.В., Иванова К.И., Рыжиков А.Б.

ПОПУЛЯЦИОННЫЙ ИММУНИТЕТ К СЕЗОННЫМ ВИРУСАМ ГРИППА НАКАНУНЕ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО СЕЗОНА И ТЯЖЕЛЫЕ СЛУЧАИ ЗАБОЛЕВАНИЯ В 2019–2020 гг. 927

Решетникова И.Д., Тюрин Ю.А., Агафонова Е.В., Куликов С.Н., Гилязутдинова Г.Ф., Лопушов Д.В., Шайхразиева Н.Д., Исаева Г.Ш., Зиятдинов В.Б.

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА К НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19 СРЕДИ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ 934

Федорова И.М., Котелева С.И., Капустин И.В., Бляхер М.С., Тульская Е.А., Зверева Н.Н., Ильина М.А., Сайфуллин М.А., Самков А.А., Власов Е.В.

ВЛИЯНИЕ ГОРМОНОТЕРАПИИ НА СОСТОЯНИЕ ИНТЕРФЕРОНОВОЙ ЗАЩИТЫ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ИНФЕКЦИОННЫМ МОНОНУКЛЕОЗОМ 943

Манахов К.М., Повышева Е.В., Гилязова А.Р., Сарксян Д.С.

| | |
|--|------------|
| ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ | 951 |
|--|------------|

Дэвид Э.Э., Ямин М.А., Игвени И., Окафор А.С., Обетен У.Н., Обаси Д.О., Эзейло У.Р., Эмериболе М.Н., Дэвид Ч.Н.

| | |
|---|------------|
| МНОЖЕСТВЕННАЯ ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ И ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНОК СРЕДИ ДИАРЕЙНЫХ ПАТОТИПОВ <i>ESCHERICHIA COLI</i>, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СТУЛА ДЕТЕЙ С ОСТРОЙ ДИАРЕЕЙ | 958 |
|---|------------|

Сиволодский Е.П., Краева Л.А., Старкова Д.А., Михайлов Н.В., Горелова Г.В.

| | |
|--|------------|
| <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i> bv <i>TRYPTOPHANDESTRUENS</i> bv <i>NOV.</i>, ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА | 965 |
|--|------------|

Краткие сообщения

Жураева М.А., Алейник В.А., Ашуралиева Н.Д., Халикова Д.С., Равзатов Ж.Б., Абдулазизхожиев Б.К.

| | |
|--|------------|
| ПОКАЗАТЕЛИ КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫХ ПЕПТИДОВ И ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ГИДРОЛАЗ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ В | 973 |
|--|------------|

Карвальо Дж.Ф., Кордейро Л.Р., Силва Ф.Ф., Мота Л., Родригес К., Андраде К.Ф., Кальдас С.

| | |
|---|------------|
| ПРОФИЛЬ УРОВНЕЙ НЕКОТОРЫХ АУТОАНТИТЕЛ, КОМПЛЕМЕНТА И ВИТАМИНА D У БОЛЬНЫХ С ИНФЕКЦИЕЙ ЧИКУНГУНЯ В БРАЗИЛИИ | 979 |
|---|------------|

Кариминик А., Носсеини Ф., Насири Э.

| | |
|--|------------|
| <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> СУЩЕСТВЕННО УСИЛИВАЕТ ЭКСПРЕССИЮ РЕЦЕПТОРА ДЛЯ КОНЕЧНЫХ ПРОДУКТОВ ГЛИКИРОВАНИЯ (RAGE) У ПАЦИЕНТОВ С СЕПТИЦЕМИЕЙ | 984 |
|--|------------|

Кукурика А.В., Юровская Е.И., Ляхимец В.А.

| | |
|---|------------|
| ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА ТЕЧЕНИЕ МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ С СОПУТСТВУЮЩИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ | 989 |
|---|------------|

| | |
|-----------------------|------------|
| Рецензия | 994 |
|-----------------------|------------|

| | |
|----------------------------------|------------|
| Правила для авторов | 997 |
|----------------------------------|------------|

| | |
|----------------------------------|-------------|
| Авторский указатель | 1000 |
|----------------------------------|-------------|

| | |
|-----------------------------------|-------------|
| Предметный указатель | 1000 |
|-----------------------------------|-------------|

CONTENTS

Reviews

Linge I.A., Apt A.S.

A CONTROVERSIAL ROLE OF NEUTROPHILS IN TUBERCULOSIS INFECTION PATHOGENESIS 809

Prislegina D.A., Dubyanskiy V.M., Platonov A.E., Maletskaya O.V.

EFFECT OF THE NATURAL AND CLIMATIC FACTORS ON EPIDEMIOLOGICAL SITUATION RELATED TO NATURAL FOCAL INFECTIONS 820

Shchelkanov M.Yu., Cybulsky A.V., Dedkov V.G., Galkina I.V., Maleev V.V.

ANTIMICROBIAL PEPTIDES AS PROMISING DRUGS FOR TREATMENT OF PRIMARY VIRAL PNEUMONIA 837

Original articles

Burova L.A., Gavrilova E.A., Pigarevsky P.V., Totolian Artem A.

A ROLE OF STREPTOKINASE IN EXPERIMENTAL POST-STREPTOCOCCAL GLOMERULONEPHRITIS 853

Bukina Yu.V., Polishchuk N.N., Bachurin H.V., Cherkovskaya O.S., Zinych O.L., Lazaryk O.L., Bezugly M.B.

SALMONELLA-INDUCED CHANGES OF THE RAT INTESTINAL MICROBIOTA 865

Lyalina L.V., Esaulenko E.V., Khorkova E.V., Novak K.E., Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Vasiliev D.V., Gorziy E.S., Butskaya M.J., Kritskaya I.V., Buts L.V., Grebenkina E.V., Baydakova E.V., Smirnova N.A., Krasnoperova M.A., Koltsov N.S., Kotovich L.M., Kalinina E.L., Galimov R.R., Kirkhar N.V., Cherepanova E.A., Totolian Areg A.

RESULTS OF IMPLEMENTATION OF VIRAL HEPATITIS B ELIMINATION PROGRAM IN THE NORTH-WEST RUSSIA 875

Popova A.Yu., Tarasenko A.A., Smolenskiy V.Yu., Egorova S.A., Smirnov V.S., Dashkevich A.M., Svetogor T.N., Glinskaya I.N., Skuranovich A.L., Milichkina A.M., Dronina A.M., Samoiloich E.O., Khamitova I.V., Semeiko G.V., Amvrosyeva T.V., Shmeleva N.P., Rubanik L.V., Esmanchik O.P., Karaban I.A., Drobyshchinskaya V.G., Sadovnikova G.V., Shilovich M.V., Podushkina E.A., Kireichuk V.V., Petrova O.A., Bondarenko S.V., Salazhkova I.F., Tkach L.M., Shepelevich L.P., Avtukhova N.L., Ivanov V.M., Babilo A.S., Navyshnaya M.V., Belyaev N.N., Zueva E.V., Volosar L.A., Verbov V.N., Likhachev I.V., Zagorskaya T.O., Morozova N.F., Korobova Z.R., Gubanova A.V., Totolian Areg A.

HERD IMMUNITY TO SARS-CoV-2 AMONG THE POPULATION OF THE REPUBLIC OF BELARUS AMID THE COVID-19 PANDEMIC 887

Romanenkova N.I., Golitsyna L.N., Nguyen T.T.T., Ponomareva N.V., Leonov A.V., Kanaeva O.I., Zverev V.V., Selivanova S.G., Rozaeva N.R., Luong M.T., Bichurina M.A., Novikova N.A.

EPIDEMIOLOGICAL AND ETIOLOGICAL ASPECTS OF ENTEROVIRUS INFECTION IN RUSSIA AND VIETNAM 905

Savelyeva I.V., Kulichenko A.N., Saveliev V.N., Kovalev D.A., Taran T.V., Podoprighora E.I., Vasilieva O.V., Shapakov N.A.

EL TOR CHOLERA AT THE CONTEMPORARY STAGE OF THE SEVENTH PANDEMIC: PATHOGEN EVOLUTION, CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL FEATURES, LABORATORY DIAGNOSTICS 917

Ilyicheva T.N., Kolosova N.P., Durymanov A.G., Torzhkova P.Yu., Svyatchenko S.V., Bulanovich Yu.A., Ivanova E.V., Ivanova K.I., Ryzhikov A.B.

2019–2020 HERD IMMUNITY TO SEASONAL INFLUENZA VIRUSES PRIOR TO EPIDEMIC SEASON AND RATE OF SEVERE DISEASE CASES 927

Reshetnikova I.D., Tyurin Yu.A., Agafonova E.V., Kulikov S.N., Gilyazutdinova G.F., Lopushov D.V., Shaykhrazieva N.D., Isaeva G.Sh., Ziatdinov V.B.

STUDY OF FEATURES OF HUMORAL IMMUNE RESPONSE TO THE NEW CORONAVIRUS INFECTION COVID-19 AMONG HEALTHCARE WORKERS 934

Fedorova I.M., Koteleva S.I., Kapustin I.V., Blyakher M.S., Tulskaia E.A., Zvereva N.N., Ilyina M.A., Saifullin M.A., Samkov A.A., Vlasov E.V.

HORMONE THERAPY AFFECTING INTERFERON DEFENSE IN CHILDREN WITH INFECTIOUS MONONUCLEOSIS 943

Manakhov K.M., Povysheva E.V., Gilyazova A.R., Sarksyanyan D.S.

FEATURES OF THE COURSE OF HEMORRHAGIC FEVER WITH RENAL SYNDROME IN HIV-INFECTED PATIENTS 951

David E.E., Yameen M.A., Igwenyi I., Okafor A.C., Obeten U.N., Obasi D.O., Ezeilo U.R., Emeribole M.N., David Ch.N.

MULTI-DRUG RESISTANCE AND BIOFILM PRODUCTION AMONG DIARRHEAGENIC *ESCHERICHIA COLI* PATHOTYPES ISOLATED FROM STOOLS OF CHILDREN WITH ACUTE DIARRHEAL DISEASE 958

Sivolodskii E.P., Kraeva L.A., Starkova D.A., Mikhailov N.V., Gorelova G.V.

ACINETOBACTER BAUMANNII *bv* **TRYPTOPHANDESTRUENS** *bv* **NOV. ISOLATED FROM CLINICAL SAMPLES** 965

Short communications

Zhuraeva M.A., Aleinik V.A., Ashuralieva N.D., Halikova D.S., Ravzatov J.B., Abdulazizkhodzhyev B.K.

PARAMETERS OF BLOOD SHORT-CHAIN PEPTIDES AND DIGESTIVE HYDROLASES IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS B VIRUS INFECTION 973

Carvalho J.F., Cordeiro L.R., Silva F.F., Mota L., Rodrigues C., Andrade C.F., Caldas C.

PROFILE OF SEVERAL AUTOANTIBODIES, COMPLEMENT AND VITAMIN D LEVELS IN BRAZILIAN PATIENTS WITH CHIKUNGUNYA INFECTION 979

Kariminik A., Hosseini F., Nasiri E.

PSEUDOMONAS AERUGINOSA SIGNIFICANTLY INCREASES EXPRESSION OF RECEPTOR FOR ADVANCED GLYCATION ENDPRODUCTS (RAGE) IN THE SEPTICEMIA SUFFERING PATIENTS 984

Kukurika A.V., Yourovskaya E.I., Lyakhimets V.A.

EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS OF FACTORS INFLUENCING THE COURSE OF MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS IN HIV-INFECTED PATIENTS WITH CONCOMITANT VIRAL HEPATITIS 989

Book Review 994

Instructions to Authors 997

Author index 1000

Subject index 1000

НЕЙТРОФИЛЫ: НЕОДНОЗНАЧНАЯ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ ТУБЕРКУЛЕЗА

И.А. Линге, А.С. Апт

ФГБНУ Центральный НИИ туберкулеза, Москва, Россия

Резюме. Туберкулез (ТБ) до сих пор является важной нерешенной медицинской проблемой. Примерно четверть человечества заражена *Mycobacterium tuberculosis*, и у 5–10% рано или поздно развивается ТБ. Макрофаги и Т-лимфоциты CD4⁺ являются основными иммунными клетками, противостоящими ТБ-инфекции. Гораздо меньше известно о роли нейтрофилов при ТБ. Нейтрофилы, короткоживущие лейкоциты, в числе первых реагируют на проникновение инфекции, мигрируют в очаг воспаления и поглощают микобактерии в легких. С одной стороны, есть свидетельства защитной роли нейтрофилов за счет продукции пептидов, подавляющих рост микобактерий, усиления активации Т-лимфоцитов CD4⁺ и миграции дендритных клеток в лимфоузлы. С другой стороны, инфицирование генетически чувствительных к ТБ животных приводит к избыточному притоку нейтрофилов в легкие, формированию некротических гранул и быстрой гибели. Нейтрофилы напрямую или опосредованно воздействуют на микобактерии, используя различные окислительные и неокислительные реакции, а также образуя нейтрофильные внеклеточные ловушки (NETs). Фагоцитоз микобактерий нейтрофилами стимулирует выделение ими множества провоспалительных медиаторов, поэтому нейтрофилы являются активными участниками воспаления на всех стадиях развития инфекционного процесса. В конечном итоге нейтрофилы погибают путем апоптоза или некроза. Гибель нейтрофилов путем некроза, инициируемого активными формами кислорода, в свою очередь также провоцирует излишнее воспаление. В связи с этим велика вероятность того, что именно нейтрофилы способствуют переходу ТБ в терминальную стадию, участвуя в распаде легочной ткани. Кроме того, несмотря на то что эволюционно нейтрофилы имеют достаточно возможностей воздействия на патоген, по-видимому, сами по себе они не обладают достаточной бактерицидной активностью в отношении микобактерий вследствие формирования у последних механизмов защиты, позволяющих выживать внутри клеток. Таким образом, нейтрофилы фагоцитируют, но не убивают микобактерии и могут выступать в роли «тройного коня», экранируя бактерии от более эффективных защитных действий макрофагов. В этом обзоре мы обобщаем данные последних лет об участии нейтрофилов в туберкулезном воспалении. Мы обсуждаем неоднозначность их роли в патогенезе в зависимости от вирулентности микобактерий и генетических особенностей хозяина, динамику притока нейтрофилов в очаг воспаления и персистенцию в начальной и хронической стадиях инфекции.

Ключевые слова: туберкулез, *Mycobacterium tuberculosis*, нейтрофилы, легочное воспаление, иммунный ответ, хемоаттрактанты, антимикобактериальные агенты.

A CONTROVERSIAL ROLE OF NEUTROPHILS IN TUBERCULOSIS INFECTION PATHOGENESIS

Linge I.A., Apt A.S.

Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation

Abstract. Tuberculosis (TB) continues to be an important and unresolved medical problem. About a quarter of mankind is infected with *Mycobacterium tuberculosis*, and about 5–10% of these people eventually develop TB. Macrophages and CD4⁺ T cells are considered the key cells providing defense against TB infection. The role of neutrophils in TB is less well defined. Neutrophils are short-lived granulocytes among first migrate into the infectious lung tissue and phagocytose

Адрес для переписки:

Линге Ирина Андреевна
107564, Россия, Москва, Яузская аллея, 2,
ФГБНУ Центральный НИИ туберкулеза.
Тел.: 8 499 785-90-72.
E-mail: iralinge@gmail.com

Contacts:

Irina A. Linge
107564, Russian Federation, Moscow, Yauzskaya alley, 2,
Central Tuberculosis Research Institute.
Phone: +7 499 785-90-72.
E-mail: iralinge@gmail.com

Для цитирования:

Линге И.А., Апт А.С. Нейтрофилы: неоднозначная роль в патогенезе туберкулеза // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 809–819.
doi: 10.15789/2220-7619-ACR-1670

Citation:

Linge I.A., Apt A.S. A controversial role of neutrophils in tuberculosis infection pathogenesis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 809–819. doi: 10.15789/2220-7619-ACR-1670

tose mycobacteria. On the one hand, there is evidence for protective role of neutrophils in TB released via anti-microbial peptides inhibiting mycobacterial growth, up-regulation of CD4⁺ T-cell activation, and dendritic cell migration in the lymph nodes. On the other hand, infection of genetically TB susceptible animals leads to an overwhelming lung neutrophil inflammation, development of necrotic granulomata, and a rapid death. Neutrophils act directly or indirectly on mycobacteria by different oxidative or other reactions including neutrophil extracellular traps (NETs) formation. Phagocytosis of mycobacteria by neutrophils is accompanied by the production of pro-inflammatory factors, thus making neutrophils active participants of inflammation in all stages of the infectious process. Finally, neutrophils die by apoptosis or necrosis. Necrosis of neutrophils, which is activated by reactive oxygen species, also prolongs the inflammation. In this way, there is strong evidence that neutrophils are the cells involved in the transition of infection to the terminal stage, participating in lung tissue destruction. Although neutrophils evolutionary developed many ways to resist pathogens, it is likely, that neutrophils do not possess sufficient anti-mycobactericidal capacities due to the development of many adaptations allowing mycobacteria to survive inside the neutrophils. Neutrophils effectively phagocytose but poorly kill mycobacteria, thus hiding bacilli from more efficient killers, macrophages, and playing the role of the “Trojan Horse”. In this review, we summarize the data on the involvement of neutrophils in TB inflammation. We discuss their ambiguous role in pathogenesis which depends upon mycobacterial virulence, host genetics, dynamics of migration to inflammatory foci, and persistence during initial and chronic stages of the infectious process.

Key words: tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, neutrophils, lung inflammation, immune response, chemoattractants, antimycobacterial agents.

Введение

Туберкулез (ТБ) до сих пор является одной из главных причин гибели людей от инфекционных заболеваний. Этому способствуют различные внешние факторы, в том числе миграция людей из неблагополучных по ТБ регионов, распространение штаммов микобактерий с лекарственной устойчивостью, а также возраст и генетическая предрасположенность человека к развитию ТБ, разнообразные иммунодефициты, в том числе ВИЧ-инфекция и СПИД.

Принято считать, что Т-лимфоциты CD4⁺, продуцирующие IFN γ , и активированные этим цитокином макрофаги являются основными клетками, участвующими в борьбе с микобактериями [59, 65], хотя результаты некоторых недавних исследований [67] поставили ряд серьезных вопросов к данному постулату. Как бы то ни было, в развитие иммунного ответа к микобактериям вовлекаются все клетки иммунной системы, в том числе и нейтрофилы, вклад которых в борьбу с инфекцией и патогенез заболеваний, вызванных микобактериями, считается менее значительным, хотя он изучен далеко не полностью. Тем не менее на разных стадиях инфекционного процесса эти клетки могут существенно влиять на исход заболевания. Кроме того, одни и те же клетки иммунной системы могут проявлять защитные и патогенетические свойства в зависимости от стадии развития иммунного ответа. Считается, что одним из главных факторов патогенеза ТБ является избыточное, плохо контролируемое воспаление легочной ткани, приводящее к ее разрушению [88]. Микобактерии инициируют развитие иммунного ответа и воспаления, которое необходимо для защиты хозяина, но должно оставаться под жестким контролем, чтобы не закончиться развитием тяжелой патологии.

Микобактерии туберкулеза попадают в организм воздушно-капельным путем при вдыхании микрокапель мокроты, содержащих бактерии. В легких они поглощаются альвеолярными макрофагами (АМ) [64]. После этого АМ, содержащие микобактерии, мигрируют в интерстициальную ткань легкого. АМ высвобождают такие провоспалительные факторы, как TNF α , IL-6, IL-1 α и IL-1 β [39], что привлекает и другие фагоциты: макрофаги CD64⁺CD11c⁺MHCII⁺, нейтрофилы и, в меньшей степени, дендритные клетки и интерстициальные макрофаги. Высвобождающиеся из АМ микобактерии захватываются вновь прибывшими фагоцитами, и таким образом происходит диссеминация микобактерий в другие клетки иммунной системы [13]. Затем фагоциты с микобактериями внутри мигрируют в регионарные лимфоузлы (ЛУ), где происходит презентация антигенов микобактерий Т-лимфоцитам, и таким образом активируется ветвь адаптивного иммунного ответа.

Нейтрофилы — короткоживущие лейкоциты, которые в числе первых реагируют на проникновение микобактерий, мигрируют в легкие и поглощают микобактерии. У больных активным легочным туберкулезом нейтрофилы обнаруживаются в мокроте и бронхоальвеолярной жидкости (БАЛ) [27] и являются основными фагоцитами, содержащими микобактерии. В одном из исследований, проведенных в эндемичном районе Африки, было показано, что у больных активным ТБ в крови значительно больше нейтрофилов, чем у здоровых контактных лиц или людей с латентным туберкулезом (оценка по положительной туберкулиновой пробе TST⁺). Шестимесячное лечение инфекции приводило к снижению числа нейтрофилов до уровня, характерного для латентных носителей [82]. В недавней работе также показано, что при туберкулезном плеврите накопление ней-

трофилов в плевральной полости ассоциировано с высоким уровнем маркеров воспаления в сыворотке крови, а также с более частым обнаружением микобактерий в плевральной жидкости [11]. При этом нейтрофилы, по-видимому, не обладают достаточными бактерицидными свойствами, т. е. они фагоцитируют, но не всегда эффективно убивают микобактерии [25]. Несмотря на достаточно значительное количество данных, полученных при исследовании больных ТБ или в экспериментальных моделях ТБ на животных, до сих пор нет единого мнения о роли нейтрофилов в борьбе с туберкулезной инфекцией. В этом обзоре мы обобщаем данные последних лет об участии нейтрофилов в туберкулезном воспалении. Мы обсуждаем неоднозначность их роли в зависимости от вирулентности микобактерий и генетических особенностей хозяина, активности притока нейтрофилов в очаг воспаления, а также времени персистенции в начальной и хронической стадии развития инфекционного процесса.

Двойственная роль нейтрофилов.

Pro et contra

Нейтрофилы являются активными участниками воспаления на всех стадиях развития инфекционного процесса. Взаимодействие микобактерий с нейтрофилами и запуск последующих реакций происходят при участии множества рецепторов на их поверхности. Это толл-подобные рецепторы (TLRs), лектиновые рецепторы (C-type lectins receptors, CLR) и рецепторы к цитокинам [19, 29, 44, 47, 75]. Нейтрофилы выделяют множество провоспалительных медиаторов, а также взаимодействуют с другими клетками иммунной системы, влияя на развитие воспалительного процесса. В зависимости от активности притока нейтрофилов, времени их персистенции в начальной или хронической стадии инфекции, а также степени дифференцировки, их роль в воспалительном процессе может быть различной.

Многие исследования показывают, что роль нейтрофилов при ТБ неоднозначна. В ряде работ описывается защитная роль нейтрофилов при ТБ. В частности, было показано, что накопление нейтрофилов у людей, контактировавших с больными туберкулезом, являлось фактором протекции, поскольку продуцируемые нейтрофилами пептиды, кателицидин LL-37 и липокалин-2, сдерживают рост бактерий [45]. Другой пример защитной роли нейтрофилов был продемонстрирован в модели ТБ на крысах. LPS-индуцированный приток нейтрофилов в значительной степени блокировал образование у них легочных гранул. При этом сами нейтрофилы, активированные LPS *in vivo*, напрямую или опо-

средованно убивали микобактерии *in vitro* [79]. В моделях на мышах и рыбах *Danio rerio* было показано, что нейтрофилы способствуют миграции дендритных клеток [6] и защищают от микобактерий за счет окислительных реакций [94]. Кроме того, предполагалось, что нейтрофилы взаимодействуют с макрофагами и способствуют лучшему контролю инфекции благодаря продукции цитокинов и высвобождению содержимого специфических гранул, которые в свою очередь активируют оба типа клеток и привлекают новые фагоциты [83, 94]. Наконец, в одном из последних исследований показано, что нейтрофилы высвобождают внеклеточные везикулы, способствующие межклеточным взаимодействиям с последующей продукцией супероксид-аниона. Это приводит к повышению экспрессии в макрофагах ассоциированного с аутофагией маркера LC3-II. Последующее увеличение уровня аутофагии зараженных макрофагов приводит к подавлению роста бактерий внутри них [31]. Таким образом, довольно значительное количество исследований свидетельствует о защитной роли нейтрофилов.

С другой стороны, многие данные, полученные в экспериментальных моделях ТБ на животных, свидетельствуют о патогенетической роли нейтрофилов. Уровень нейтрофильного воспаления зависит от устойчивости к ТБ используемых линий мышей, а также от вирулентности бактерий. Большая часть исследований ТБ в модели на мышах проведены на относительно резистентной линии C57BL/6 (B6). Иммунный ответ, легочная патология, состав гранул, формирующихся при аэрозольном заражении таких животных, не похожи на аналогичные процессы в организме человека. Это вполне объяснимо: поскольку заболевают именно чувствительные, а не устойчивые к ТБ люди, резистентных животных нельзя считать оптимальной моделью. У мышей B6 наблюдается лишь небольшой приток нейтрофилов в легкие на ранних сроках после инфицирования по сравнению с чувствительными мышами [37]. Удаление нейтрофилов у таких мышей непосредственно перед заражением [71, 95] или в острой фазе [70] не влияет на количество бактерий и патологию легких. Примечательно, что если для заражения использовать более вирулентный для мышей штамм микобактерий *M. tuberculosis* Erdman или клинический гипервирулентный изолят HN878, то даже у мышей B6 уровень инфильтрации нейтрофилов в легкие повышается и образуются подобные человеческим гранулы [12].

Совсем другая картина наблюдается у чувствительных к микобактериям животных. Например, инфицирование высокочувствительных к ТБ мышей линии I/St приводит к избыточному притоку нейтрофилов в легкие, что

влечет за собой быструю гибель животных [25]. Нейтрофилы многих других чувствительных к ТБ линий мышей образуют некротические очаги внутри гранулем [35, 37, 46, 95], выделяя при распаде множество факторов, привлекающих в область воспаления новые клетки, которые замещают здоровую ткань легкого. Удаление нейтрофилов у чувствительной к ТБ линии I/St в первые дни после заражения приводит к уменьшению бактериальной нагрузки в органах, снижению кахексии и увеличению продолжительности жизни таких животных [95].

Многие исследователи считают, что именно нейтрофилы являются участниками терминальной стадии развития инфекции, приводя к распаду ткани легкого [23, 31, 32, 53]. В пользу этой теории свидетельствует исследование, демонстрирующее, что нейтрофилы являются предпочтительной нишей для размножения микобактерий у чувствительных к ТБ мышей на поздних сроках развития инфекционного процесса, тогда как эффективный Т-клеточный ответ направлен на элиминацию бактерий внутри макрофагов, но не нейтрофилов [41]. Показано также, что даже мыши устойчивой линии В6 с выключенным в нейтрофилах и моноцитах геном *atg5*, контролирующим процесс аутофагии, умирают уже через 30–40 дней после заражения *M. tuberculosis* от избыточного притока нейтрофилов в легкие и увеличения размеров очагов поражения [10, 36]. При этом удаление нейтрофилов даже у устойчивых мышей В6 в хронической фазе развития инфекционного процесса снижает бактериальную нагрузку в легких и селезенке [70]. Приведенные данные свидетельствуют о неоднозначной роли нейтрофилов. Однако удаление избыточного числа нейтрофилов и у чувствительных, и у устойчивых к инфекции животных снижает тяжесть патологического процесса и уменьшает бактериальную нагрузку в легких.

Факторы, регулирующие миграцию нейтрофилов

Множество хемокинов, цитокинов и других белковых молекул привлекают нейтрофилы в инфицированное легкое. Такие хемоаттрактанты производят различные эпителиальные, эндотелиальные и иммунокомпетентные клетки, а также сами нейтрофилы, таким образом образуя петлю положительной обратной связи. Среди этих молекул CXCL1, CXCL2, CXCL5, TNF α и G/GM-CSF, активирующие и способствующие дифференцировке, созреванию и миграции нейтрофилов, а также IL-1 β , G/GM-CSF и IL-3, которые необходимы для выживания нейтрофилов и созревания их гранул [80, 85, 92]. В модели на мышах показано, что некоторые

лиганды хемокиновых рецепторов CCR1 (CCL3, CCL4, CCL5 и CCL7), CXCR1 и CXCR2 (CXCL1, CXCL2, CXCL3 и CXCL5) повышают экспрессию в ответ на туберкулезную инфекцию, что способствует притоку нейтрофилов [58]. В этой же работе показано, что TLR2-зависимая продукция CXCL5 эпителиальными клетками легкого стимулирует приток нейтрофилов и способствует деструкции ткани легкого, тогда как выключение генов для CXCR2 или CXCL5 приводит к уменьшению патологии легких инфицированных животных. Niazi M.K.K. и соавт. показали на аутбредных мышах, что тяжесть течения ТБ ассоциирована с накоплением нейтрофилов и формированием некротических очагов [57]. При этом было установлено, что уровень некроза нейтрофилов в легких напрямую коррелирует с уровнем продукции привлекающего нейтрофилы хемокина CXCL1. В недавнем исследовании Scott N.R. и соавт. [70] показали, что уровень CXCL1 и CXCL10 в крови больных активным ТБ выше, чем у здоровых доноров, что также указывает на роль этих хемокинов в патогенезе ТБ.

При активном ТБ в легких преобладают нейтрофилы и умирающие некрозом макрофаги. Такие клетки продуцируют белок кальпротектин S100 [31] из семейства молекул DAMP (Damage-Associated Molecular Pattern). Уровень белков S100A8/A9 в сыворотке крови больных активным ТБ напрямую коррелирует со степенью развития воспаления в легких и тяжестью течения болезни. Продуцируемый нейтрофилами S100A8/A9 снижается уже через 2 недели лечения пациентов правильно подобранными антибиотиками и вновь повышается после реактивации микобактерий. Кроме того, по последним данным, уровень мРНК S100A8 и S100A9 в крови у пациентов с латентным ТБ значительно повышается примерно за 6 месяцев до диагностики прогрессирующего ТБ, по сравнению со здоровыми людьми или теми, у кого не развился активный ТБ [70]. Гетеродимер белков S100A8/A9 является аутокринным регулятором. Так, Gopal R. и соавт. показали, что цитокин IL-17 способствует накоплению нейтрофилов, продуцирующих S100A8/A9, которые в свою очередь индуцируют приток нейтрофилов и моноцитов посредством активации продукции провоспалительных хемокинов и цитокинов [66, 81], а также регулируя уровень экспрессии интегрин CD11b, необходимого для накопления нейтрофилов в легких. Показано, что генетический нокаут S100A9 у мышей В6 приводит к лучшему контролю микобактериальной инфекции в хронической стадии и снижает степень реактивации ТБ [70].

Во многочисленных работах с использованием модели ТБ на мышах с нокаут-мутациями по разным иммунологически активным генам

показано участие соответствующих белков в регуляции нейтрофильного воспаления. В частности, в отсутствие цитокина IL-18, необходимого для формирования IFN γ -продуцирующих Т-клеток CD4⁺ и CD8⁺, у мышей развивается усиленное воспаление в легких, сопровождающееся увеличенным притоком нейтрофилов и повышенной экспрессией генов цитокинов и хемокинов IL-6, IL-17, CXCL1, CXCL2, CCL2 и CCL3 в сыворотке и легочной ткани [69]. У мышей без сигнальной молекулы CARD9, проводящей сигнал от разных PRRs (Pattern Recognition Receptors), наблюдается повышенный уровень воспалительных факторов CCL2, CXCL1 и G-CSF и увеличенный приток нейтрофилов в легкие [22]. В отсутствие фактора MIF (Macrophage migration inhibitory factor), производимого макрофагами, лимфоцитами и легочными эпителиальными клетками, также развивается более тяжелое течение инфекционного процесса с увеличенным количеством нейтрофилов и уровнем CXCL2 и G-CSF [18]. У мышей ВМС с нокаутом гена рецептора для IFN γ в эпителиальных и эндотелиальных клетках неконтролируемый рост микобактерий в легких сопровождается массивным притоком нейтрофилов и повышенной экспрессией CCL3, CXCL2, CXCL5, IL-1 β и MMP-9 [21].

Таким образом, большое количество цитокинов, хемокинов и других молекул, в том числе производимых самими нейтрофилами, прямо или опосредованно влияют на приток этих клеток в зараженное легкое.

Влияние нейтрофилов на окружающие клетки и воспаление при ТБ

Нейтрофилы производят множество цитокинов и хемокинов, воздействующих на окружающие клетки и влияющих на развитие иммунного ответа. В частности, они секретируют IL-1 α , CXCL1/KC, CXCL8/IL-8, CCL3/MIP-1 α , CCL4/MIP-1 β , GM-CSF, металлопротеиназы (MMPs) и другие активные молекулы [61, 62, 68].

Выделяемые нейтрофилами хемокины CXCL1 и CXCL8 [3, 34, 73, 78, 91], а также цитокины IL-1 β и TNF α привлекают новые нейтрофилы в область воспаления и активируют их, способствуя дегрануляции, развитию кислородного взрыва и стимулируя секреторную активность (подробно обсуждено в обзоре [77]). Одна из ключевых ролей IL-1 β — индукция высвобождения эйкозаноидов, простагландина E2 (PGE2) и лейкотриена B4 (LTB4) нейтрофилами и макрофагами. Эйкозаноиды — важные липидные медиаторы воспаления, быстро синтезируемые фагоцитами при туберкулезной инфекции и привлекающие новые нейтрофилы в область воспаления. Кроме того, LTB4 стимулирует

фагоцитоз и бактерицидную активность нейтрофилов. Этот механизм основан на взаимодействии нейтрофилов с микобактериями посредством TLRs (Toll Like Receptors), активирующими NF- κ B, что опять-таки приводит к экспрессии в нейтрофилах генов воспалительных цитокинов IL-1 β и TNF α [38, 51].

Считается также, что нейтрофилы являются вспомогательным источником IFN γ . Его синтез стимулируется цитокином IL-12, либо непосредственно, либо в сочетании с другими стимулами — LPS, IL-2, IL-18 и IL-15 [26]. Показано, что у больных легочным ТБ патология ассоциирована с нейтрофилами, продуцирующими IFN γ и интерфероны 1 типа. При этом в клетках крови меняются сигнальные пути, инициированные IFN γ и интерферонами 1 типа нейтрофильного происхождения [4]. IFN 1 типа способствуют прогрессированию заболевания, тогда как IFN γ может быстро стимулировать уничтожение микобактерий [24].

Как уже отмечено выше, нейтрофилы одними из первых проникают в легкое после инфицирования микобактериями и быстро накапливаются там. Пик накопления инфицированных нейтрофилов предшествует пику накопления инфицированных дендритных клеток (ДК) в легких мышей [95]. Показано, что нейтрофилы усиливают миграцию ДК в лимфоузлы, а также доставляют бактерии для вторичного фагоцитоза другим фагоцитам, способствуя более эффективной презентации микобактериальных антигенов лимфоцитам CD4⁺ [6]. Так, имеются данные, что при внутрикожном введении BCG нейтрофилы фагоцитируют микобактерии и доставляют их в дренирующие лимфоузлы [1]. В другой работе было продемонстрировано, что удаление нейтрофилов при иммунизации мышшей модифицированной вакциной mc2-CMX (*M. smegmatis*, продуцирующая белки Ag85c, MPT51 и HspX *M. tuberculosis*) нарушало формирование специфического Th1-зависимого ответа, а также ухудшало контроль инфекции при последующем заражении [84].

Воздействие нейтрофилов на микобактерии

Нейтрофилы напрямую или опосредованно воздействуют на микобактерии, используя различные окислительные и неокислительные реакции. Фагоцитоз микобактерий нейтрофилами провоцирует их дегрануляцию. В результате из нейтрофильных гранул высвобождаются различные протеазы (в том числе эластаза, катепсин G, протеаза 3), гидролазы, антимикробные пептиды (АМП) и оксиданты — компоненты так называемого «кислородного взрыва» [14, 15, 17, 40, 49, 56]. Стоит отметить, что высвобож-

дающиеся агенты действуют не только на микобактерии, но и на клетки окружающих тканей. В частности, оксиданты приводят к разрушению ткани за счет активации различных металлопротеиназ [54]. Нейтрофилы также производят активные формы азота и кислорода [47]. Выделяемые активные формы кислорода (АФК) способствуют развитию некроза нейтрофилов. Блокирование АФК приводит к остановке развития некроза и эффероцитозу — поглощению умирающих зараженных нейтрофилов макрофагами, что вызывает защитный эффект при ТБ, способствуя подавлению инфекции [16]. H_2O_2 — пероксид водорода, один из компонентов кислородного взрыва. Показано, что сам H_2O_2 слабо действует на микобактерии [87], однако образование этих молекул способствует миграции нейтрофилов и пролонгирует воспаление в ткани [55]. Кроме того, показано, что АФК влияют на NF- κ B [50, 89] с последующей индукцией выработки IL-1 β и IL-8 (CXCL8). АФК также способствуют секреции TNF α , MIP-2 и выбросу нейтрофильных ловушек, NETs (Neutrophil Extracellular Traps) [19].

Роль NETs при ТБ исследована недостаточно подробно, но установлено, что такие ловушки образуются при непосредственном воздействии микобактерий на нейтрофилы [28]. Предполагается, что NETs способствуют физическому задержанию микобактерий и ограничивают их распространение в другие органы, а также создают барьер для токсических веществ [8]. Считается также, что выброс NETs нейтрофилами способствует концентрации антимикробных факторов [9, 60].

Гранулы нейтрофилов могут сливаться с фаголизосомами с высвобождением АМП. На сегодняшний день у человека обнаружено 3 группы АМП: дефензины, кателицидины и гистатины [30, 96]. Эти короткие, положительно заряженные молекулы проникают в бактериальные клетки, связываются с мембраной, образуя поры и каналы или выстилая ее изнутри, и формируют комплексы с ДНК и РНК, в результате чего бактерии погибают.

В азурофильных гранулах содержатся α -дефензины. Однако вирулентные микобактерии успешно блокируют слияние фагосом с такими гранулами, вследствие чего эффект дефензинов ограничен [52]. Если же азурофильные гранулы апоптотических нейтрофилов попадают в макрофаги, рост микобактерий в них подавляется [33]. Для некоторых дефензинов показано прямое действие на микобактерии. NHP-1 (Human neutrophil peptide 1) подавляет рост *M. tuberculosis* в культуре и внутри макрофагов *in vivo* и *in vitro* [72]. Азурицидин лишь частично подавляет рост *M. tuberculosis* в культуре [33]. Для катепсинов показан ингибирующий эф-

фект только в отношении *M. bovis* BCG [76]. Специфические гранулы нейтрофилов содержат белок кателицидин. Попадание микобактерий в нейтрофилы приводит к отщеплению протеиназой 3 C-терминального пептида кателицидина LL-37 [63], который подавляет рост микобактерий в нейтрофилах [45]. Показано также, что описанный выше цитоплазматический белок нейтрофилов кальпротектин S100A8/A9, вырабатываемый в ответ на туберкулезную инфекцию, ограничивает рост микобактерий, связывая необходимые им катионы цинка [33].

Таким образом, хотя эволюционно нейтрофилы имеют множество механизмов воздействия на патоген, микобактерии не очень чувствительны к этим реакциям, по-видимому, благодаря формированию достаточного числа защитных механизмов, позволяющих бактериям выживать внутри этих клеток.

Апоптоз или некроз?

Фагоцитоз микобактерий нейтрофилами приводит к смерти нейтрофилов путем развития апоптоза или некроза. Многие исследования четко демонстрируют, что развитие апоптоза или некроза связано с вирулентностью микобактерий, а блокирование апоптоза микобактериями способствует их выживанию [5, 20, 86]. В случае смерти нейтрофилов путем некроза гибели микобактерий не происходит [43]. Более того, макрофаги, поглощающие некротизированные нейтрофилы, содержащие микобактерии, также неэффективно подавляют рост последних [16]. Развитию некроза способствуют выделяемые нейтрофилами АФК. Если же их заблокировать, то нейтрофил гибнет путем апоптоза. При фагоцитозе непосредственно бактерий или бактерий, опсонизированных комплементом или антителами, в нейтрофилах запускается программа фагоцитоз-индуцированной клеточной смерти, PICD (Phagocytosis-Induced Cell Death), необходимой для очистки организма от погибающих клеток путем последующего эффероцитоза [48]. Вследствие реализации PICD или апоптоза микобактерии остаются инкапсулированными в апоптотических гранулах и не препятствуют слиянию и созреванию фагосом и лизосом макрофагов после эффероцитоза [15]. Такие макрофаги полноценно справляются с бактериями и убивают их.

В опытах *in vitro* показано, что добавление некротических нейтрофилов к клеткам крови способствует метаболизму микобактерий, а также повышенной продукции противовоспалительного цитокина IL-10, ростовых факторов G-CSF и GM-CSF, а также хемокина CCL2 — аттрактанта моноцитов [43]. Основная функция этих молекул — привлечение в очаг новых клеток.

G-CSF поддерживает рост и размножение предшественников нейтрофилов в костном мозге, а GM-CSF действует на ранние предшественники нейтрофилов и моноцитов и их незрелые формы. Кроме того, G-CSF и GM-CSF могут опосредовано действовать на функции и фенотип нейтрофилов [7, 74, 90], замедляя развитие апоптоза, а также усиливая окислительные реакции, приводящие к разрушению легочной ткани. Важно отметить, что при индукции микобактериями некроза мигрирующие в область воспаления новые клетки также погибают некрозом и высвобождают все больше медиаторов воспаления и разрушения ткани, что в результате и приводит к гибели животного [42].

Заключение

Таким образом, нейтрофилы, одними из первых мигрирующие в область попадания микобактерий и начинающегося воспалительного процесса, часто не справляются с патогеном. Запуская каскад реакций, направленных про-

тив микобактерий, но малоэффективных, нейтрофилы привлекают новые клетки в область воспаления, заполняя легочную ткань, необходимую для дыхания. В случае развития PICD и апоптоза нейтрофилы подвергаются эффероцитозу макрофагами с последующим подавлением инфекции и воспаления, чего не происходит при некрозе нейтрофилов. При этом если на первых этапах развития иммунного ответа нейтрофилы могут способствовать активации Т-лимфоцитов CD4⁺ и миграции ДК в лимфоузлы, иницируя тем самым ответ на патоген, то длительное персистирование нейтрофилов в легком оказывает пагубный эффект. Нейтрофилы таким образом могут выступать в роли «троянского коня», экранируя бактерии от более эффективных защитных действий макрофагов и параллельно провоцируя излишнее воспаление. В связи с этим очень важен баланс некоего «среднего» уровня индукции и поддержания иммунного ответа для обеспечения эффективной защиты от микобактериальной инфекции без разрушения легочной ткани.

Список литературы/References

1. Abadie V., Badell E., Douillard P., Ensergueix D., Leenen P.J.M., Tanguy M., Fiette L., Seland S., Gicquel B., Winter N. Neutrophils rapidly migrate via lymphatics after Mycobacterium bovis BCG intradermal vaccination and shuttle live bacilli to the draining lymph nodes. *Blood*, 2005, vol. 106, pp. 1843–1850. doi: 10.1182/blood-2005-03-1281
2. Bazzoni F., Cassatella M.A., Rossi F., Ceska M., Dewald B., Baggiolini M. Phagocytosing neutrophils produce and release high amounts of the neutrophil-activating peptide 1/interleukin 8. *J. Exp. Med.*, 1991, vol. 173, pp. 771–774. doi: 10.1084/jem.173.3.771
3. Berry M.P.R., Graham C.M., McNab F.W., Xu Z., Bloch S.A.A., Oni T., Wilkinson K.A., Banchereau R., Skinner J., Wilkinson R.J., Quinn C., Blankenship D., Dhawan R., Cush J.J., Mejias A., Ramilo O., Kon O.M., Pascual V., Banchereau J., Chaussabel D., O'Garra A. An interferon-inducible neutrophil-driven blood transcriptional signature in human tuberculosis. *Nature*, 2010, vol. 466, pp. 973–977. doi: 10.1038/nature09247
4. Blomgran R., Desvignes L., Briken V., Ernst J.D. Mycobacterium tuberculosis inhibits neutrophil apoptosis, leading to delayed activation of naive CD4 T cells. *Cell Host Microbe*, 2012, vol. 11, pp. 81–90. doi: 10.1016/j.chom.2011.11.012
5. Blomgran R., Ernst J.D. Lung neutrophils facilitate activation of naive antigen-specific CD4⁺ T cells during Mycobacterium tuberculosis infection. *J. Immunol.*, 2011, vol. 186, pp. 7110–7119. doi: 10.4049/jimmunol.1100001
6. Bober L.A., Grace M.J., Pugliese-Sivo C., Rojas-Triana A., Waters T., Sullivan L.M., Narula S.K. The effect of GM-CSF and G-CSF on human neutrophil function. *Immunopharmacology*, 1995, vol. 29, pp. 111–119. doi: 10.1016/0162-3109(94)00050-P
7. Braian C., Hoge V., Stendahl O. Mycobacterium tuberculosis-induced neutrophil extracellular traps activate human macrophages. *J. Innate Immun.*, 2013, vol. 5, pp. 591–602. doi: 10.1159/000348676
8. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D.S., Weinrauch Y., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*, 2004, vol. 303, pp. 1532–1535. doi: 10.1126/science.1092385
9. Castillo E.F., Dekonenko A., Arko-Mensah J., Mandell M.A., Dupont N., Jiang S., Delgado-Vargas M., Timmins G.S., Bhattacharya D., Yang H., Hutt J., Lyons C.R., Dobos K.M., Deretic V. Autophagy protects against active tuberculosis by suppressing bacterial burden and inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012, vol. 109, no. 46, pp. E3168–E3176. doi: 10.1073/pnas.1210500109
10. Choi H., Chon H.R., Kim K., Kim S., Oh K.J., Jeong S.H., Jung W.J., Shin B., Jhun B.W., Lee H., Park H.Y., Koh W.J. Clinical and laboratory differences between lymphocyte- and neutrophil-predominant pleural tuberculosis. *PLoS One*, 2016, vol. 11, no. 10: e0165428. doi: 10.1371/journal.pone.0165428
11. Choreño-Parra J.A., Bobba S., Rangel-Moreno J., Ahmed M., Mehra S., Rosa B., Martin J., Mitreva M., Kaushal D., Zúñiga J., Khader S.A. Mycobacterium tuberculosis HN878 infection induces human-like B-cell follicles in mice. *J. Infect. Dis.*, 2020, vol. 221, pp. 1636–1646. doi: 10.1093/infdis/jiz663
12. Cohen S.B., Gern B.H., Delahaye J.L., Adams K.N., Plumlee C.R., Winkler J.K., Sherman D.R., Gerner M.Y., Urdahl K.B. Alveolar macrophages provide an early Mycobacterium tuberculosis niche and initiate dissemination. *Cell Host Microbe*, 2018, vol. 24, pp. 439–446. doi: 10.1016/j.chom.2018.08.001
13. Condliffe A.M., Chilvers E.R., Haslett C., Dransfield I. Priming differentially regulates neutrophil adhesion molecule expression/function. *Immunology*, 1996, vol. 89, pp. 105–111. doi: 10.1046/j.1365-2567.1996.d01-711.x
14. Corleis B., Korbel D., Wilson R., Bylund J., Chee R., Schaible U.E. Escape of Mycobacterium tuberculosis from oxidative killing by neutrophils. *Cell Microbiol.*, 2012, vol. 14, pp. 1109–1121. doi: 10.1111/j.1462-5822.2012.01783.x

15. Dallenga T., Repnik U., Corleis B., Eich J., Reimer R., Griffiths G.W., Schaible U.E. M. tuberculosis-induced necrosis of infected neutrophils promotes bacterial growth following phagocytosis by macrophages. *Cell Host Microbe*, 2017, vol. 22, pp. 519.e3–530.e3. doi: 10.1016/j.chom.2017.09.003
16. Dapino P., Dallegrì F., Ottonello L., Sacchetti C. Induction of neutrophil respiratory burst by tumour necrosis factor-alpha; priming effect of solid-phase fibronectin and intervention of CD11b-CD18 integrins. *Clin. Exp. Immunol.*, 2008, vol. 94, pp. 533–538. doi: 10.1111/j.1365-2249.1993.tb08230.x
17. Das R., Koo M.S., Kim B.H., Jacob S.T., Subbian S., Yao J., Leng L., Levy R., Murchison C., Burman W.J., Moore C.C., Michael Scheld W., David J.R., Kaplan G., MacMicking J.D., Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) is a critical mediator of the innate immune response to Mycobacterium tuberculosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2013, vol. 110: E2997. doi: 10.1073/pnas.1301128110
18. Deffert C., Cachat J., Krause K.H. Phagocyte NADPH oxidase, chronic granulomatous disease and mycobacterial infections. *Cell Microbiol.*, 2014, vol. 16, pp. 1168–1178. doi: 10.1111/cmi.12322
19. DeLeo F.R. Modulation of phagocyte apoptosis by bacterial pathogens. *Apoptosis*, 2004, vol. 9, pp. 399–413. doi: 10.1023/B:APP T.0000031448.64969.fa
20. Desvignes L., Ernst J.D. Interferon- γ -responsive nonhematopoietic cells regulate the immune response to Mycobacterium tuberculosis. *Immunity*, 2009, vol. 31, pp. 974–985. doi: 10.1016/j.immuni.2009.10.007
21. Dorhoi A., Desel C., Yermeev V., Pradl L., Brinkmann V., Mollenkopf H.J., Hanke K., Gross O., Ruland J., Kaufmann S.H.E. The adaptor molecule CARD9 is essential for tuberculosis control. *J. Exp. Med.*, 2010, vol. 207, pp. 777–792. doi: 10.1084/jem.20090067
22. Dorhoi A., Iannaccone M., Farinacci M., Faé K.C., Schreiber J., Moura-Alves P., Nouailles G., Mollenkopf H.J., Oberbeck-Müller D., Jörg S., Heinemann E., Hahnke K., Löwe D., Del Nonno F., Goletti D., Capparelli R., Kaufmann S.H.E. MicroRNA-223 controls susceptibility to tuberculosis by regulating lung neutrophil recruitment. *J. Clin. Invest.*, 2013, vol. 123, pp. 4836–4848. doi: 10.1172/JCI67604
23. Ellison M.A., Gearheart C.M., Porter C.C., Ambruso D.R. IFN- γ alters the expression of diverse immunity related genes in a cell culture model designed to represent maturing neutrophils. *PLoS One*, 2017, vol. 12: e0185956. doi: 10.1371/journal.pone.0185956
24. Eruslanov E.B., Lyadova I.V., Kondratieva T.H., Majorov K.B., Scheglov I.V., Orlova M.O., Apt A.S. Neutrophil responses to Mycobacterium tuberculosis infection in genetically susceptible and resistant mice neutrophil responses to Mycobacterium tuberculosis infection in genetically susceptible and resistant mice. *Infect. Immun.*, 2005, vol. 73, pp. 1744–1753. doi: 10.1128/IAI.73.3.1744
25. Ethuin F., Gérard B., Benna J.E., Boutten A., Gougereot-Pocidallo M.A., Jacob L., Chollet-Martin S. Human neutrophils produce interferon gamma upon stimulation by interleukin-12. *Lab. Invest.*, 2004, vol. 84, pp. 1363–1371. doi: 10.1038/labinvest.3700148
26. Eum S.Y., Kong J.H., Hong M.S., Lee Y.J., Kim J.H., Hwang S.H., Cho S.H., Via S.N., Laura E., Clifton B.E. Neutrophils are the predominant infected phagocytic cells in the airways of patients with active pulmonary TB. *Chest*, 2010, vol. 137, pp. 122–128. doi: 10.1378/chest.09-0903
27. Francis R.J., Butler R.E., Stewart G.R. Mycobacterium tuberculosis ESAT-6 is a leukocidin causing Ca²⁺ influx, necrosis and neutrophil extracellular trap formation. *Cell Death Dis.*, 2014, vol. 5: e1474. doi: 10.1038/cddis.2014.394
28. Futosi K., Fodor S., Mócsai A. Reprint of neutrophil cell surface receptors and their intracellular signal transduction pathways. *Int. Immunopharmacology*, 2013, vol. 17, pp. 1185–1197. doi: 10.1016/j.intimp.2013.11.010
29. Ganz T. Defensins: Antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2003, vol. 3, pp. 710–720. doi: 10.1038/nri1180
30. Gopal R., Monin L., Torres D., Slight S., Mehra S., McKenna K.C., Junecko B.A.F., Reinhart T.A., Kolls J., Báez-Saldaña R., Cruz-Lagunas A., Rodríguez-Reyna T.S., Kumar N.P., Tessier P., Roth J., Selman M., Becerril-Villanueva E., Baquera-Heredia J., Cumming B., Kasprovicz V.O., Steyn A.J.C., Babu S., Kaushal D., Zúñiga J., Vogl T., Rangel-Moreno J., Khader Sh.A. S100A8/A9 proteins mediate neutrophilic inflammation and lung pathology during tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2013, vol. 188, pp. 1137–1146. doi: 10.1164/rccm.201304-0803OC
31. Alvarez-Jiménez V.D., Leyva-Paredes K., Campillo-Navarro M., Romo-Cruz I., Hugo Rosales-García V., Castañeda-Casimiro J., González-Pozos S., Manuel Hernández J., Wong-Baeza C., Estela García-Pérez B., Ortiz-Navarrete V., Estrada-Parra S., Serafín-López J., Wong-Baeza I., Estrada-García I. Extracellular vesicles released from Mycobacterium tuberculosis-infected neutrophils promote macrophage autophagy and decrease intracellular mycobacterial survival. *Front. Immunol.*, 2018, vol. 9: 272. doi: 10.3389/fimmu.2018.00272
32. Hilda J.N., Das S., Tripathy S.P., Hanna L.E. Role of neutrophils in tuberculosis: a bird's eye view. *Innate Immun.*, 2020, vol. 26, no. 4, pp. 240–247. doi: 10.1177/1753425919881176
33. Jena P., Mohanty S., Mohanty T., Kallert S., Morgelin M., Lindstrøm T., Borregaard N., Stenger S., Sonawane A., Sørensen O.E. Azurophil granule proteins constitute the major mycobactericidal proteins in human neutrophils and enhance the killing of mycobacteria in macrophages. *PLoS One*, 2012, vol. 7: e50345. doi: 10.1371/journal.pone.0050345
34. Jin L., Batra S., Douda D.N., Palaniyar N., Jeyaseelan S. CXCL1 contributes to host defense in polymicrobial sepsis via modulating T cell and neutrophil functions. *J. Immunol.*, 2014, vol. 193, pp. 3549–3558. doi: 10.4049/jimmunol.1401138
35. Keller C., Hoffmann R., Lang R., Brandau S., Hermann C., Ehlers S. Genetically determined susceptibility to tuberculosis in mice causally involves accelerated and enhanced recruitment of granulocytes. *Infect. Immun.*, 2006, vol. 74, pp. 4295–4309. doi: 10.1128/IAI.00057-06
36. Kimmey J.M., Huynh J.P., Weiss L.A., Park S., Kambal A., Debnath J., Virgin H.W., Stallings C.L. Unique role for ATG5 in neutrophil-mediated immunopathology during M. tuberculosis infection. *Nature*, 2015, vol. 528, pp. 565–569. doi: 10.1038/nature16451
37. Kondratieva T.K., Rubakova E.I., Linge I.A., Evstifeev V.V., Majorov K.B., Apt A.S. B cells delay neutrophil migration toward the site of stimulus: tardiness critical for effective Bacillus Calmette–Guerin vaccination against tuberculosis infection in mice. *J. Immunol.*, 2010, vol. 184, pp. 1227–1234. doi: 10.4049/jimmunol.0902011

38. Kroon E.E., Coussens A.K., Kinnear C., Orlova M., Möller M., Seeger A., Wilkinson R.J., Hoal E.G., Schurr E. Neutrophils: innate effectors of TB resistance? *Front. Immunol.*, 2018, vol. 9: 2637. doi: 10.3389/fimmu.2018.02637
39. Law K., Weiden M., Harkin T., Tchou-Wong K., Chi C., Rom W.N. Increased release of interleukin-1 β , interleukin-6, and tumor necrosis factor- α by bronchoalveolar cells lavaged from involved sites in pulmonary tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996, vol. 153, pp. 799–804. doi: 10.1164/ajrccm.153.2.8564135
40. Liles W.C., Ledbetter J.A., Waltersdorff A.W., Klebanoff S.J. Cross-linking of CD18 primes human neutrophils for activation of the respiratory burst in response to specific stimuli: Implications for adhesion-dependent physiological responses in neutrophils. *J. Leukoc. Biol.*, 1995, vol. 58, pp. 690–697. doi: 10.1002/jlb.58.6.690
41. Lovewell R.R., Baer C.E., Mishra B.B., Smith C.M., Sasseti C.M. Granulocytes act as a niche for Mycobacterium tuberculosis growth. *Mucosal Immunol.*, 2020, vol. 14, pp. 229–241. doi: 10.1038/s41385-020-0300-z
42. Lowe D.M., Bandara A.K., Packe G.E., Barker R.D., Wilkinson R.J., Griffiths C.J., Martineau A.R. Neutrophilia independently predicts death in tuberculosis. *Eur. Respir. J.*, 2013, vol. 42, pp. 1752–1757. doi: 10.1183/09031936.00140913
43. Lowe D.M., Demaret J., Bangani N., Nakiwala J.K., Goliath R., Wilkinson K.A., Wilkinson R.J., Martineau A.R. Differential effect of viable versus necrotic neutrophils on mycobacterium tuberculosis growth and cytokine induction in whole blood. *Front. Immunol.*, 2018, vol. 9: 27. doi: 10.3389/fimmu.2018.00903
44. Lyadova I.V. Review article neutrophils in tuberculosis: heterogeneity shapes the way? *Mediators Inflamm.*, 2017, vol. 2017: 8619307. doi: 10.1155/2017/8619307
45. Martineau A.R., Newton S.M., Wilkinson K.A., Kampmann B., Hall B.M., Nawroly N., Packe G., Davidson R.N., Griffiths C.J., Wilkinson R.J. Neutrophil-mediated innate immune resistance to mycobacteria. *J. Clin. Invest.*, 2007, vol. 117, pp. 1988–1994. doi: 10.1172/JCI31097
46. Marzo E., Vilaplana C., Tapia G., Diaz J., Garcia V., Cardona P.-J. Damaging role of neutrophilic infiltration in a mouse model of progressive tuberculosis. *Tuberculosis*, 2014, vol. 94, pp. 55–64. doi: 10.1016/j.tube.2013.09.004
47. Mayadas T.N., Cullere X., Lowell C.A. The Multifaceted functions of neutrophils. *Annu. Rev. Pathol.*, 2014, vol. 9, pp. 181–218. doi: 10.1146/annurev-pathol-020712-164023
48. McCracken J.M., Allen L.A.H. Regulation of human neutrophil apoptosis and lifespan in health and disease. *J. Cell Death*, 2014, vol. 7, pp. 15–23. doi: 10.4137/JCD.S11038
49. Miralda I., Uriarte S.M., McLeish K.R. Multiple phenotypic changes define neutrophil priming. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2017, vol. 7: 217. doi: 10.3389/fcimb.2017.00217
50. Mitra S., Abraham E. Participation of superoxide in neutrophil activation and cytokine production. *Biochim. Biophys. Acta-Mol. Basis. Dis.*, 2006, vol. 1762, pp. 732–741. doi: 10.1016/j.bbdis.2006.06.011
51. Muefong C.N., Sutherland J.S. Neutrophils in tuberculosis-associated inflammation and lung pathology. *Front. Immunol.*, 2020, vol. 11: 962. doi: 10.3389/fimmu.2020.00962
52. N'Diaye E.-N., Darzacq X., Astarie-Dequeker C., Daffé M., Calafat J., Maridonneau-Parini I. Fusion of azurophil granules with phagosomes and activation of the tyrosine kinase hck are specifically inhibited during phagocytosis of mycobacteria by human neutrophils. *J. Immunol.*, 1998, vol. 161, pp. 4983–4991.
53. Nandi B., Behar S.M. Regulation of neutrophils by interferon- γ limits lung inflammation during tuberculosis infection. *J. Exp. Med.*, 2011, vol. 208, pp. 2251–2262. doi: 10.1084/jem.20110919
54. Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature*, 2002, vol. 420, pp. 846–852. doi: 10.1038/nature01320
55. Nathan C., Cunningham-Bussell A. Beyond oxidative stress: an immunologist's guide to reactive oxygen species. *Nat. Rev. Immunol.*, 2013, vol. 13, pp. 349–361. doi: 10.1038/nri3423
56. Neufert C., Pai R.K., Noss E.H., Berger M., Boom W.H., Harding C.V. Mycobacterium tuberculosis 19-kDa lipoprotein promotes neutrophil activation. *J. Immunol.*, 2001, vol. 167, pp. 1542–1549. doi: 10.4049/jimmunol.167.3.1542
57. Niazi M.K.K., Dhulekar N., Schmidt D., Major S., Cooper R., Abeijon C., Gatti D.M., Kramnik I., Yener B., Gurcan M., Beamer G. Lung necrosis and neutrophils reflect common pathways of susceptibility to Mycobacterium tuberculosis in genetically diverse, immune-competent mice. *Dis. Model. Mech.*, 2015, vol. 8, pp. 1141–1153. doi: 10.1242/dmm.020867
58. Nouailles G., Dorhoi A., Koch M., Zerrahn J., Weiner J., Faé K.C., Arrey F., Kuhlmann S., Bandermann S., Loewe D., Mollenkopf H.J., Vogelzang A., Meyer-Schwesinger C., Mittrücker H.W., McEwen G., Kaufmann S.H.E. CXCL5-secreting pulmonary epithelial cells drive destructive neutrophilic inflammation in tuberculosis. *J. Clin. Invest.*, 2014, vol. 124, pp. 1268–1282. doi: 10.1172/JCI172030
59. O'Garra A., Redford P.S., McNab F.W., Bloom C.I., Wilkinson R.J., Berry M.P.R. The immune response in tuberculosis. *Annu. Rev. Immunol.*, 2013, vol. 31, pp. 475–527. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-095939
60. Papayannopoulos V., Zychlinsky A. NETs: a new strategy for using old weapons. *Trends Immunol.*, 2009, vol. 30, pp. 513–521. doi: 10.1016/j.it.2009.07.011
61. Petrofsky M., Bermudez L.E. Neutrophils from Mycobacterium avium-infected mice produce TNF α , IL-12, and IL-1 β and have a putative role in early host response. *Clin. Immunol.*, 1999, vol. 91, pp. 354–358. doi: 10.1006/clim.1999.4709
62. Riedel D.D., Kaufmann S.H.E. Chemokine secretion by human polymorphonuclear granulocytes after stimulation with mycobacterium tuberculosis and lipoarabinomannan. *Infect. Immun.*, 1997, vol. 65, pp. 4620–4623. doi: 10.1128/IAI.65.11.4620-4623.1997
63. Rivas-Santiago B., Hernandez-Pando R., Carranza C., Juarez E., Contreras J.L., Aguilar-Leon D., Torres M., Sada E. Expression of cathelicidin LL-37 during Mycobacterium tuberculosis infection in human alveolar macrophages, monocytes, neutrophils, and epithelial cells. *Infect. Immun.*, 2008, vol. 76, pp. 935–941. doi: 10.1128/IAI.01218-07
64. Russell D.G. Mycobacterium tuberculosis: here today, and here tomorrow. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2001, vol. 2, pp. 569–577. doi: 10.1038/35085034
65. Russell D.G. Who puts the tubercle in tuberculosis? *Nat. Rev. Microbiol.*, 2007, vol. 5, pp. 39–47. doi: 10.1038/nrmicro1538
66. Ryckman C., McColl S.R., Vandal K., De Médicis R., Lussier A., Poubelle P.E., Tessier P.A. Role of S100A8 and S100A9 in neutrophil recruitment in response to monosodium urate monohydrate crystals in the air-pouch model of acute gouty arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2003, vol. 48, pp. 2310–2320. doi: 10.1002/art.11079

67. Sakai S., Kauffman K.D., Sallin M.A., Sharpe A.H., Young H.A., Ganusov V.V., Barber V.V., Daniel L. CD4 T cell-derived IFN- γ plays a minimal role in control of pulmonary Mycobacterium tuberculosis infection and must be actively repressed by PD-1 to prevent lethal disease. *PLoS Pathog.*, 2016, vol. 12, no. 5: e1005667. doi: 10.1371/journal.ppat.1005667
68. Sawant K.V., McMurray D.N. Guinea pig neutrophils infected with Mycobacterium tuberculosis produce cytokines which activate alveolar macrophages in noncontact cultures. *Infect. Immun.*, 2007, vol. 75, pp. 1870–1877. doi: 10.1128/IAI.00858-06
69. Schneider B.E., Korbel D., Hagens K., Koch M., Raupach B., Enders J., Kaufmann S.H.E., Mittrücker H.W., Schaible U.E. A role for IL-18 in protective immunity against Mycobacterium tuberculosis. *Eur. J. Immunol.*, 2010, vol. 40, pp. 396–405. doi: 10.1002/eji.200939583
70. Scott N.R., Swanson R.V., Al-Hammadi N., Domingo-Gonzalez R., Rangel-Moreno J., Kriel B.A., Domingo-Gonzalez R., Rangel-Moreno J., Kriel B.A., Bucsan A.N., Das S., Ahmed M., Mehra S., Treerat P., Cruz-Lagunas A., Jimenez-Alvarez L., Muñoz-Torrico M., Bobadilla-Lozoya K., Vogl T., Walzl G., du Plessis N., Kaushal D., Scriba T., Zuñiga J., Khader S. S100A8/A9 regulates CD11b expression and neutrophil recruitment during chronic tuberculosis. *J. Clin. Invest.*, 2020, vol. 130, no. 6, pp. 3098–3112. doi: 10.1172/JCI130546
71. Seiler P., Aichele P., Raupach B., Odermatt B., Steinhoff U., Kaufmann S.H.E. Rapid neutrophil response controls fast-replicating intracellular bacteria but not slow-replicating Mycobacterium tuberculosis. *J. Infect. Dis.*, 2000, vol. 181, pp. 671–680. doi: 10.1086/315278
72. Sharma S., Verma I., Khuller G.K. Therapeutic potential of human neutrophil peptide 1 against experimental tuberculosis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2001, vol. 45, pp. 639–640. doi: 10.1128/AAC.45.2.639-640.2001
73. Shea-Donohue T., Thomas K., Cody M.J., Zhao A., Detolla L.J., Kopydlowski K.M., Fukata M., Lira S.A., Vogel S.N. Mice deficient in the CXCR2 ligand, CXCL1 (KC/GRO- α), exhibit increased susceptibility to dextran sodium sulfate (DSS)-induced colitis. *Innate Immun.*, 2008, vol. 14, pp. 117–124. doi: 10.1177/1753425908088724
74. Spiekermann K., Roesler J., Emmendoerffer A., Elsner J., Welte K. Functional features of neutrophils induced by G-CSF and GM-CSF treatment: Differential effects and clinical implications. *Leukemia*, 1997, vol. 11, pp. 466–478. doi: 10.1038/sj.leu.2400607
75. Stamm C.E., Collins A.C., Shiloh M.U. Sensing of Mycobacterium tuberculosis and consequences to both host and bacillus. *Immunol. Rev.*, 2015, vol. 264, pp. 204–219. doi: 10.1111/imr.12263
76. Steinwede K., Maus R., Bohling J., Voedisch S., Braun A., Ochs M., Schmiedl A., Länger F., Gauthier F., Roes J., Welte T., Bange F.C., Niederweis M., Bühling F., Maus U.A. Cathepsin G and neutrophil elastase contribute to lung-protective immunity against mycobacterial infections in mice. *J. Immunol.*, 2012, vol. 188, pp. 4476–4487. doi: 10.4049/jimmunol.1103346
77. Stek C., Allwood B., Walker N.F., Wilkinson R.J., Lynen L., Meintjes G. The immune mechanisms of lung parenchymal damage in tuberculosis and the role of host-directed therapy. *Front. Microbiol.*, 2018, vol. 9: 2603. doi: 10.3389/fmicb.2018.02603
78. Strieter R.M., Kasahara K., Allen R.M., Standiford T.J., Rolfe M.W., Becker F.S., Chensue S.W., Kunkel S.L. Cytokine-induced neutrophil-derived interleukin-8. *Am. J. Pathol.*, 1992, vol. 141, pp. 397–407. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1886610>
79. Sugawara I., Udagawa T., Yamada H. Rat neutrophils prevent the development of tuberculosis. *Infect. Immun.*, 2004, vol. 72, pp. 1804–1806. doi: 10.1128/IAI.72.3.1804-1806.2004
80. Summers C., Rankin S.M., Condliffe A.M., Singh N., Peters A.M., Chilvers E.R. Neutrophil kinetics in health and disease. *Trends Immunol.*, 2010, vol. 31, pp. 318–324. doi: 10.1016/j.it.2010.05.006
81. Sunahori K., Yamamura M., Yamana J., Takasugi K., Kawashima M., Yamamoto H., Chazin W.J., Nakatani Y., Yui S., Makino H. The S100A8/A9 heterodimer amplifies proinflammatory cytokine production by macrophages via activation of nuclear factor kappa B and p38 mitogen-activated protein kinase in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.*, 2006, vol. 8: 69. doi: 10.1186/ar1939
82. Sutherland J.S., Jeffries D.J., Donkor S., Walther B., Hill P.C., Adetifa I.M.O., Adegbola I.M.O., Ota R.A., Martin O.C. High granulocyte/lymphocyte ratio and paucity of NKT cells defines TB disease in a TB-endemic setting. *Tuberculosis*, 2009, vol. 89, pp. 398–404. doi: 10.1016/j.tube.2009.07.004
83. Tan B.H., Meinken C., Bastian M., Bruns H., Legaspi A., Ochoa M.T., Krutzik S.R., Bloom B.R., Ganz T., Modlin R.L., Stenger S. Macrophages acquire neutrophil granules for antimicrobial activity against intracellular pathogens. *J. Immunol.*, 2006, vol. 177, pp. 1864–1871. doi: 10.4049/jimmunol.177.3.1864
84. Trentini M.M., de Oliveira F.M., Kipnis A., Junqueira-Kipnis A.P. The role of neutrophils in the induction of specific Th1 and Th17 during vaccination against tuberculosis. *Front. Microbiol.*, 2016, vol. 7: 898. doi: 10.3389/fmicb.2016.00898
85. Ueda Y., Cain D.W., Kuraoka M., Kondo M., Kelsoe G. IL-1R type I-dependent hemopoietic stem cell proliferation is necessary for inflammatory granulopoiesis and reactive neutrophilia. *J. Immunol.*, 2009, vol. 182, pp. 6477–6484. doi: 10.4049/jimmunol.0803961
86. Velmurugan K., Chen B., Miller J.L., Azogue S., Gurses S., Hsu T., Glickman M., Jacobs W.R., Porcelli S.A., Briken V. Mycobacterium tuberculosis nuoG is a virulence gene that inhibits apoptosis of infected host cells. *PLoS Pathog.*, 2007, vol. 3, no. 7: e110. doi: 10.1371/journal.ppat.0030110
87. Voskuil M.I., Bartek I.L., Visconti K., Schoolnik G.K. The response of Mycobacterium tuberculosis to reactive oxygen and nitrogen species. *Front. Microbiol.*, 2011, vol. 2: 105. doi: 10.3389/fmicb.2011.00105
88. Vyas S.P., Goswami R. Striking the right immunological balance prevents progression of tuberculosis. *Inflamm. Res.*, 2017, vol. 66, pp. 1031–1056. doi: 10.1007/s00011-017-1081-z
89. Warnatsch A., Tzourouktoglou T.D., Branzk N., Wang Q., Reincke S., Herbst S., Gutierrez M., Papayannopoulos V. Reactive oxygen species localization programs inflammation to clear microbes of different size. *Immunity*, 2017, vol. 46, pp. 421–432. doi: 10.1016/j.immuni.2017.02.013
90. Weisbart R.H., Golde D.W., Clark S.C., Wong G.G., Gasson J.C. Human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor is a neutrophil activator. *Nature*, 1985, vol. 314, pp. 361–363. doi: 10.1038/314361a0
91. Wengner A.M., Pitchford S.C., Furze R.C., Rankin S.M. The coordinated action of G-CSF and ELR CXC chemokines in neutrophil mobilization during acute inflammation. *Blood*, 2008, vol. 111, no. 1, pp. 42–49. doi: 10.1182/blood-2007-07-099648

92. Witko-Sarsat V., Rieu P., Descamps-Latscha B., Lesavre P., Halbwachs-Mecarelli L. Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. *Lab. Investig.*, 2000, vol. 80, pp. 617–654. doi: 10.1038/labinvest.3780067
93. Wolf A.J., Linas B., Trevejo-Nuñez G.J., Kincaid E., Tamura T., Takatsu K., Ernst J.D. Mycobacterium tuberculosis infects dendritic cells with high frequency and impairs their function in vivo. *J. Immunol.*, 2007, vol. 179, pp. 2509–2519. doi: 10.4049/jimmunol.179.4.2509
94. Yang C.T., Cambier C.J., Davis J.M., Hall C.J., Crosier P.S., Ramakrishnan L. Neutrophils exert protection in the early tuberculous granuloma by oxidative killing of mycobacteria phagocytosed from infected macrophages. *Cell Host Microbe*, 2012, vol. 12, pp. 301–312. doi: 10.1016/j.chom.2012.07.009
95. Yeremeev V., Linge I., Kondratieva T., Apt A. Neutrophils exacerbate tuberculosis infection in genetically susceptible mice. *Tuberculosis*, 2015, vol. 95, pp. 447–451. doi: 10.1016/j.tube.2015.03.007
96. Zanetti M. Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity. *J. Leukoc. Biol.*, 2004, vol. 75, pp. 39–48. doi: 10.1189/jlb.0403147

Авторы:

Линге И.А., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики отдела иммунологии ФГБНУ Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза, Москва, Россия;

Апт А.С., д.б.н., профессор, зав. лабораторией иммуногенетики отдела иммунологии ФГБНУ Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза, Москва, Россия.

Authors:

Linge I.A., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Immunogenetics, Immunology Department, Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation;

Apt A.S., PhD, MD (Biology), Professor, Head of the Laboratory of Immunogenetics, Immunology Department, Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 22.01.2021
Отправлена на доработку 12.07.2021
Принята к печати 16.08.2021

Received 22.01.2021
Revision received 12.07.2021
Accepted 16.08.2021

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНО-КЛИМАТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКУЮ СИТУАЦИЮ ПО ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫМ ИНФЕКЦИЯМ

Д.А. Прислегина^{1,2}, В.М. Дубянский^{1,2}, А.Е. Платонов², О.В. Малецкая¹

¹ ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

² ФБУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Резюме. Данная статья посвящена анализу и обобщению результатов отечественных и зарубежных работ по влиянию природно-климатических факторов на интенсивность проявлений эпидемического процесса и жизнедеятельность переносчиков возбудителей наиболее актуальных для Российской Федерации природно-очаговых инфекций. На протяжении последних семи лет инфекции, передающиеся клещами (среди которых по распространенности и частоте регистрации случаев лидирует иксодовый клещевой боррелиоз), составляют более 50% в общей нозологической структуре природно-очаговых болезней. Серьезную угрозу для здоровья населения страны по-прежнему представляет клещевой вирусный энцефалит. На юге Европейской части России сохраняется напряженная эпидемиологическая ситуация по Крымской геморрагической лихорадке: помимо ежегодного выявления множественных случаев заболевания, наблюдается выраженная тенденция смещения и расширения ареала возбудителя в северном направлении, что создает риск распространения вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки за пределы южных регионов страны. Регистрируется высокий уровень заболеваемости опасной трансмиссивной инфекцией — лихорадкой Западного Нила — с вовлечением в эпидемический процесс новых субъектов и появлением местных случаев заражения на ранее неэндемичных территориях. Отмечается расширение границ природных очагов геморрагической лихорадки с почечным синдромом, являющейся самым широко распространенным природно-очаговым зоонозом вирусной этиологии в Российской Федерации и в течение многих лет занимающей по частоте выявления больных второе место после инфекций, передающихся клещами. В ходе работы были систематизированы данные исследований о зависимости численности переносчиков возбудителей природно-очаговых инфекций и динамики заболеваемости этими инфекциями от значений климатических факторов, подтвержденной с помощью различных методов математической статистики (анализа временных рядов, авторегрессии интегрированного скользящего среднего, логистической регрессии, корреляционного анализа, однофакторного дисперсионного анализа и других). Установлено, что общими абиотическими факторами для всех рассматриваемых инфекций являются температура и влажность воздуха и почвы, количество выпавших осадков,

Адрес для переписки:

Прислегина Дарья Александровна
355035, Россия, г. Ставрополь, ул. Советская, 13–15,
ФКУЗ Ставропольский противочумный институт
Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (962) 448-73-57 (моб.). Тел./Факс: 8 (865) 226-03-12.
E-mail: daria775@rambler.ru

Contacts:

Daria A. Prislegina
355035, Russian Federation, Stavropol, Sovetskaya str., 13–15,
Stavropol Plague Control Research Institute.
Phone: +7 (962) 448-73-57. Phone/Fax: +7 (865) 226-03-12.
E-mail: daria775@rambler.ru

Для цитирования:

Прислегина Д.А., Дубянский В.М., Платонов А.Е., Малецкая О.В.
Влияние природно-климатических факторов на эпидемиологическую
ситуацию по природно-очаговым инфекциям // Инфекция и иммунитет.
2021. Т. 11, № 5. С. 820–836. doi: 10.15789/2220-7619-EOT-1631

Citation:

Prislegina D.A., Dubyanskiy V.M., Platonov A.E., Maletskaia O.V. Effect of the
natural and climatic factors on epidemiological situation related to natural focal
infections // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet,
2021, vol. 11, no. 5, pp. 820–836. doi: 10.15789/2220-7619-EOT-1631

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 197520088 «Создание опирающейся на данные дистанционного зондирования Земли методологии анализа и прогнозирования влияния климатических и экологических факторов на заболеваемость природноочаговыми инфекциями»), исполнители – Платонов А.Е., Дубянский В.М., Прислегина Д.А.

The study was supported by the grant from the Russian Science Foundation (project No. 197520088 “Creation of a methodology for analyzing and predicting the influence of climatic and environmental factors on the incidence of natural focal infections based on Earth’s remote sensing data”), conducted by Platonov A.E., Dubyanskiy V.M., Prislegina D.A.

высота снежного покрова, значения которых могут быть использованы для последующего составления эпидемиологического прогноза. Перспективным является дальнейшее изучение связи уровня заболеваемости населения, численности членистоногих переносчиков возбудителей и мелких млекопитающих с показателями влажности и температуры почвы на различной глубине, гидротермического коэффициента, нормализованного относительного индекса растительности, накопленных значений температуры и осадков, а также проведение аналогичных исследований по другим распространенным в стране природно-очаговым инфекциям.

Ключевые слова: климатические факторы, клещевой вирусный энцефалит, Крымская геморрагическая лихорадка, лихорадка Западного Нила, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, переносчики возбудителей инфекций, заболеваемость населения.

EFFECT OF THE NATURAL AND CLIMATIC FACTORS ON EPIDEMIOLOGICAL SITUATION RELATED TO NATURAL FOCAL INFECTIONS

Prislegina D.A.^{a,b}, Dubyanskiy V.M.^{a,b}, Platonov A.E.^b, Maletskaya O.V.^a

^a Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russian Federation

^b Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. This article is dedicated to the analysis and generalization of the Russian and foreign research results on natural and climatic factors effect on the intensity of epidemic process manifestations and the natural focal infections pathogens vectors vital activity which are the most widespread in the Russian Federation. Over the past seven years tick-borne infections have been accounting for more than 50 per cent in the natural focal diseases general nosological structure. Among the diseases of this group Lyme borreliosis leads in prevalence and frequency of cases identification. Tick-borne viral encephalitis is still a serious danger for national health. Crimean-Congo hemorrhagic fever epidemiological situation remains unfavorable in the south of the European part of Russia. In addition to the annual patients identification, the demonstrable trend of shifting and expansion of the pathogen's area in a northerly direction was established. It creates a risk for the spread of the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus outside the southern regions of the country. High incidence of the dangerous vector-borne infection — West Nile fever — with the involvement of new subjects in the epidemic process and the emergence of local cases of infection in previously non-endemic territories is registered. Expansion of hemorrhagic fever with renal syndrome natural foci borders, which is the most widespread natural focal zoonosis of viral etiology in the Russian Federation and is the second by the frequency of patients identification after tick-borne infections, is noted. Research data for the dependence of the carriers pathogens number and the dynamics of the natural focal infections incidence on the values of climatic factors, confirmed using various methods of mathematical statistics (time-series analysis, autoregression integrated moving average, logistic regression, correlation analysis, one-way analysis of variance and other) were systematized. It was found that the temperature and humidity of the air and soil, the amount of precipitation, the height of the snow cover are the common abiotic factors for all of investigated infections. The values of these factors can be used for the subsequent epidemiological forecast. The further study of relationship between the incidence rate of the population, the number of arthropod vectors and small mammals with indicators of soil moisture and temperature at different depths, hydrothermal coefficient, normalized relative vegetation index, accumulated values of temperature and precipitation, as well as similar studies on other actual natural focal infections in the Russian Federation will be very promising.

Key words: climatic factors, tick-borne viral encephalitis, Crimean-Congo hemorrhagic fever, West Nile fever, hemorrhagic fever with renal syndrome, vectors of pathogens, disease rate.

Влияние климата на здоровье населения является одной из наиболее широко исследуемых проблем последних десятилетий. Кроме непосредственного воздействия на организм человека, абиотические факторы, формируя условия для жизнедеятельности и распространения патогенных микроорганизмов, во многом определяют интенсивность проявлений эпидемического процесса многих инфекционных болезней. Особенно ярко эта связь проявляется на примере природно-очаговых инфекций (ПОИ), численность специфических переносчиков возбудителей которых в значительной степени зависит от природно-климатических факторов. Каждый год в Российской Федерации регистрируется около 20 тыс. слу-

чаев ПОИ (в 2019 г. — 27 996, в 2018 г. — 17 212, в 2017 г. — 20 171). Наблюдаемые изменения климата способствуют расширению ареала возбудителей многих инфекций и появлению случаев заражения на территориях, где они ранее не регистрировались [10, 14, 30]. Тяжелое течение и высокий риск летального исхода при отсутствии препаратов для специфической профилактики большинства ПОИ также подтверждают возрастающую актуальность изучения абиотических факторов как предпосылок осложнения эпизоотолого-эпидемиологической ситуации — для прогнозирования уровня заболеваемости населения, своевременного планирования и проведения неспецифических профилактических мероприятий.

На сегодняшний день имеется ряд работ, посвященных изучению связи климатических условий с активностью природных очагов и динамикой эпидемических проявлений трансмиссивных и зоонозных инфекций. Но результаты исследований представляют собой множество разрозненных данных для различных нозологических форм, поэтому использовать их при составлении эпидемиологического прогноза одновременно для нескольких ПОИ крайне затруднительно. Слишком большое число показателей, отсутствие их дифференцирования по степени влияния на жизнедеятельность переносчиков значительно осложняет и удлинняет проведение анализа, а также может значительно снизить точность получаемых результатов. Кроме того, абиотические факторы, рассматриваемые разными авторами в качестве ведущих, значительно различаются и зачастую зависят от региона, в котором проводились исследования.

Таким образом, цель данной работы — на основе результатов отечественных и зарубежных исследований выделить природно-климатические факторы, оказывающие комплексное действие на жизнедеятельность переносчиков возбудителей наиболее распространенных в нашей стране ПОИ для последующего риск-ориентированного прогнозирования эпидемиологической ситуации.

Результаты

В общей структуре заболеваемости ПОИ (бактериальной и вирусной этиологии) в Российской Федерации на протяжении последних семи лет более 50% составляют инфекции, передающиеся клещами (ИПК) [22, 23, 40]. По распространенности и частоте регистрации среди них лидирует иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ). Случаи заболевания почти ежегодно отмечаются в 77 из 85 субъектов страны. В 2019 г. было выявлено 8023 больных (5,46 на 100 тыс. населения), что на 23,8% выше уровня предыдущего года — 6481 человек (4,42 на 100 тыс. населения).

Второе место занимает клещевой вирусный энцефалит (КВЭ). Несмотря на то, что ареал инфекции охватывает меньше территорий, ее актуальность чрезвычайно высока ввиду возможности развития тяжелых форм болезни, приводящих к стойкой инвалидизации и летальным исходам, которые регистрируются ежегодно. Так, в 2019 г. выявлен 1781 случай КВЭ, в том числе 23 — летальных (в 2018 г. — 1721 и 22 соответственно).

Наибольшее эпидемиологическое значение в качестве основных переносчиков возбудителей обоих инфекций на территории центральных, восточных районов и частично лесной зоны европейской части страны имеют иксодовые кле-

щи *Ixodes persulcatus*, а на территории западных — *Ixodes ricinus*. Кроме того, доказано широкое распространение микст-инфицирования людей после присасывания лесных и таежных клещей, которые бывают одновременно заражены возбудителями КВЭ, ИКБ и других ПОИ [33, 40].

Для эпидемиологического благополучия населения юга Европейской части России серьезную угрозу представляет Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ) — особо опасная арбовирусная инфекция, множественные случаи заболевания которой в течение последних двадцати лет ежегодно регистрируются на эндемичной территории Южного и Северо-Кавказского федеральных округов [8, 14, 29, 40]. Основным переносчиком вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) являются клещи *Hyalomma marginatum*, но возбудитель инфекции изолирован и от клещей других видов [14, 37, 39, 40]. Ситуацию осложняет выраженная тенденция смещения и расширения ареала вируса ККГЛ в северном направлении, что подтверждается ежегодным (с 2016 г.) обнаружением вирусофорных клещей на территории районов Волгоградской области, граничащих с Приволжским федеральным округом (Саратовской областью). Это создает риск распространения возбудителя КГЛ за пределы южных регионов Российской Федерации, с вовлечением в эпидемический процесс новых субъектов страны [14].

На сегодняшний день известно, что уровень заболеваемости населения ИПК по большей части зависит от влияния природно-климатических факторов, в конечном итоге во многом определяющих не только общую численность популяций клещей, но и количество инфицированных особей. Поэтому при анализе эпидемиологической ситуации и составлении эпидемиологического прогноза, наряду со сведениями о проведении акарицидных обработок, необходимо учитывать метеорологические характеристики предшествующего и начавшегося текущего эпидемического сезона.

Важнейшим фактором, влияющим на все стадии развития клещей, является температура воздуха [2]. Данный показатель определяет не только начало периода активности иксодид, но и численность имаго в следующем году, поскольку влияет как на сохранение жизнеспособности зимующих форм, так и на процессы эмбриогенеза, и выживаемость личинок, хитиновый покров которых способен выдерживать определенные температурные диапазоны [2, 21, 27, 37, 39, 78]. Значимость этого фактора подтверждается зависимостью между показателями температуры в феврале, марте, апреле, июле, августе, октябре и высоким или низким уровнями заболеваемости КВЭ в Новосибирской области [6]. Выявлены сильные корреляцион-

ные связи числа случаев КВЭ (на 100 тыс. жителей) с макроциклами температуры февраля, марта, мая, августа и суммой среднемесячных температур за теплый и холодный периоды года в г. Иркутске [13]. На примере Владимирской и Иркутской областей установлено статистически достоверное косвенное влияние среднемесячной температуры июля и сентября предыдущего года на число больных ИКБ [38].

Снижение заболеваемости КВЭ при высокой численности клещей, периодически наблюдаемое после относительно теплого зимнего периода, может быть объяснено тем, что наряду с высокопатогенными также выживают низковирулентные штаммы вируса, вызывающие легкие, зачастую не регистрируемые формы инфекции. Крайне низкую температуру воздуха способны выдерживать только самые вирулентные штаммы возбудителя КВЭ [32].

Смена стадий жизненного цикла клещей также зависит от количества выпавших осадков и влажности почвы [39]. Отрицательно на преимагинальные фазы действуют как обильные осадки, так и их недостаток, вызывающий сухость почвенного покрова. Так, при появлении личинок из яйца показатели влажности почвы не должны выходить за пределы определенного диапазона, чтобы не произошло их высыхание. Для линьки личинки и ее перехода в имаго необходимо оптимальное сочетание содержания влаги в почве и температуры воздуха, иначе особь перестанет расти и прошедшая линька закончится летально [21]. Чрезмерно низкая влажность воздуха также вызывает высыхание хитинового покрова и приводит к гибели особей.

Высокий снежный покров в сочетании с низкой скоростью ветра создает благоприятные микроклиматические условия для зимующих клещей, обеспечивая сохранение жизнеспособности большинства особей [14].

Комплексное воздействие данных факторов на численность клещей и уровень заболеваемости ИПК подтверждается многочисленными отечественными и зарубежными исследованиями. Доказано влияние гидротермических условий на численность таежного клеща в Красноярском крае, на территории южного Прибайкалья, в Республике Карелия [5, 7, 12]. Выявлена связь между повышенными значениями температуры воздуха, длительностью безморозного периода, увеличением числа иксодовых клещей и ростом количества больных клещевым боррелиозом в Иркутской области и Забайкальском крае [9, 16, 20]. На основе результатов анализа влияния метеорологических факторов на жизнедеятельность переносчиков КЭ, свидетельствующих о значимости таких показателей как относительная влажность воздуха (ноября предшествующего года, апреля и июня текущего) и температуры

воздуха (июня), были разработаны логико-вероятностные модели прогнозирования уровня заболеваемости населения этой инфекцией в Иркутске, Горно-Алтайске и Новосибирске [3].

В Европе исследования влияния температуры воздуха (средней и максимальной), среднесуточной относительной влажности воздуха и количества осадков на численность и фенологию *I. ricinus* проводились на основе обобщенных аддитивных линейных моделей — с отрицательным биномиальным распределением вероятности (generalized linear models (GLM) with negative binomial probability distribution, NBGLM) в Швейцарии и с распределением Пуассона и логарифмической связью (generalized additive linear model with Poisson distribution and log link) в Чехии [47, 53]. В Южной Скандинавии (Дании, Норвегии и Швеции) при прогнозировании численности иксодовых клещей с помощью метода дерева расширенной регрессии (boosted regression tree, BRT) в качестве основных климатических факторов в расчеты были включены значения нормализованного относительного вегетационного индекса (normalized difference vegetation index, NDVI), максимальной и минимальной температуры воздуха различных сезонов года и количество выпавших осадков [57, 60]. С использованием климатических данных и NDVI были разработаны прогнозная модель и карты риска заражения возбудителями ИКБ и КВЭ населения в Чешской Республике (Южной Чехии) и Германии (Нижней Баварии и Верхнем Пфальце) [54].

Обобщенные данные по влиянию климатических факторов на жизнедеятельность переносчиков возбудителей КВЭ и уровень заболеваемости населения (в том числе зависимость от определенных числовых значений) представлены в табл. 1.

Ряд зарубежных работ посвящен изучению зависимости интенсивности эпидемических проявлений КГЛ от природно-климатических условий окружающей среды, влияющих на *H. marginatum*. Так, анализ временных рядов (time series analysis), проведенный с использованием модели авторегрессии интегрированного скользящего среднего (seasonal auto-regression integrated moving average (SARIMA) model) в Юго-Восточном Иране, свидетельствует о выраженной связи числа больных с ежемесячной средней температурой воздуха (прямой — с лагом в два месяца и обратной — в пять месяцев), максимальной месячной относительной влажностью и накопленным количеством осадков с лагом в два и пять месяцев соответственно [43]. В Восточном Иране методом регрессионного анализа Пуассона (Poisson regression analysis) с псевдо-R-квадратом Макфаддена (McFadden's pseudo R²) выявлена сильная корреляция количества случаев со значениями максимальной температуры (преды-

душего месяца) и относительной влажности воздуха (в течение предшествующего месяца и полугодия) [64]. В результате апробации временной модели на основе логистической регрессии (temporal logistic regression model) для краткосрочного (на предстоящий месяц) прогнозирования

общего числа больных КГЛ в Иране установлено, что с увеличением максимальной температуры воздуха трех предшествующих месяцев на 1°C и относительной влажности двух предыдущих месяцев на 1% риски возникновения случаев заболевания повышаются на 9 и 4% соответ-

Таблица 1. Влияние климатических факторов на жизнедеятельность членистоногих переносчиков вируса клещевого энцефалита и заболеваемость населения КВЭ

Table 1. Effect of climatic factors on vital activity of arthropod vectors of tick-borne encephalitis virus and tick-borne viral encephalitis incidence

| № No. | Факторы Factors | Числовые значения факторов Factors numeric values | Влияние Effect |
|----------|--|--|--|
| 1 | Температура воздуха, °C Air temperature, °C | -10,0...-1,9 в марте -10.0...-1.9 in March +16,9...+19,0 в июле +16.9...+19.0 in July | Низкий уровень заболеваемости ¹ Low incidence ¹ |
| 2 | Температура воздуха, °C Air temperature, °C | -18,0...-11,0 в феврале -18.0...-11.0 in February -10,0...-1,9 в марте -10.0...-1.9 in March +16,9...+19,0 в июле +16.9...+19.0 in July | Низкий уровень заболеваемости ¹ Low incidence ¹ |
| 3 | Температура воздуха, °C Air temperature, °C | -1,5...+3,0 в апреле -1.5...+3.0 in April +19,0...+22,2 в июле +19.0...+22.2 in July | Высокий уровень заболеваемости ² High incidence ² |
| 4 | Температура воздуха, °C Air temperature, °C | +19,0...+22,2 в июле +19.0...+22.2 in July +15,0...+18,7 в августе +15.0...+18.7 in August +2,1...+ 5,6 в октябре +2.1...+ 5.6 in October | Высокий уровень заболеваемости ² High incidence ² |
| 5 | Относительная влажность воздуха, % Relative air humidity, % | 71,3-78,0 в марте 71.3-78.0 in March 68,0-74,5 в августе 68.0-74.5 in August | Низкий уровень заболеваемости ¹ Low incidence ¹ |
| 6 | Относительная влажность воздуха, % Relative air humidity, % | 64,0-73,6 в июне 64.0-73.6 in June 68,0-74,5 в августе 68.0-74.5 in August 73,5-80,0 в октябре 73.5-80.0 in October | Низкий уровень заболеваемости ¹ Low incidence ¹ |
| 7 | Относительная влажность воздуха, % Relative air humidity, % | 72,5-83,5 в феврале 72.5-83.5 in February 79,8-85,0 в декабре 79.8-85 in December | Высокий уровень заболеваемости ² High incidence ² |
| 8 | Относительная влажность воздуха, % Relative air humidity, % | 72,5-83,5 в феврале 72.5-83.5 in February 58,0-73,0 в апреле 58.0-73.0 in April 79,8-85,0 в декабре 79.8-85.0 in December | Высокий уровень заболеваемости ² High incidence ² |
| 9 | Температура воздуха, °C Air temperature, °C | +3,0...+5,0 весной +3.0...+5.0 in spring | Начало пробуждения <i>I. persulcatus</i> Onset of <i>I. persulcatus</i> awakening (the end of diapause) |
| 10 | Температура воздуха, °C Air temperature, °C | выше +15,0 весной above +15.0 in spring | Максимальная активность <i>I. persulcatus</i> Maximum activity of <i>I. persulcatus</i> |

Примечание. ¹ — от 2 до 19 случаев на 100 тыс. человек; ² — от 20 до 61 случая на 100 тыс. человек.

Note. ¹ — from 2 to 19 cases per 100,000 population; ² — from 20 to 61 cases per 100,000 population.

ственно [65]. С помощью однофакторного дисперсионного анализа (one-way analysis of variance, ANOVA) в Болгарии выявлено, что увеличение средней температуры воздуха и NDVI на единицу приводит к росту интенсивности проявлений эпидемического процесса КГЛ на 5,5% [74]. Определение стандартизованного показателя аномалий NDVI (разницы между десятилетними значениями и средним за предыдущий год), проведенного в Турции, позволяет прогнозировать возникновение эпидемиологических осложнений на 20 дней вперед с точностью до 82% (10-й процентиль) или 98% (25-й квартиль) [50].

В Российской Федерации исследование комплексного действия климатических факторов различных сезонов года на развитие всех стадий жизненного цикла *H. marginatum* и динамику заболеваемости населения КГЛ было выполнено на примере Ставропольского края. Были выявлены сильные корреляции значений температуры воздуха, количества выпавших осадков зимнего (прямая корреляция) и весеннего (обратная корреляция) периодов текущего года с индексом обилия клещей на сельскохозяйственных животных, их количеством при сборе «на учетчика», и летнего периода (предыдущего эпидемического сезона) — с индексами обилия личинок, нимф *H. marginatum*, а также с числом зарегистрированных больных КГЛ. Учитывая полученные данные, на основе теоремы Байеса и последовательного статистического анализа Вальда была разработана риск-ориентированная методика для составления ежегодного краткосрочного количественного эпидемиологического прогноза по отдельным административным районам Ставропольского края [8, 28, 29].

Обобщенные данные по влиянию климатических факторов на жизнедеятельность переносчиков возбудителей КГЛ и уровень заболеваемости населения (в том числе зависимость от определенных числовых значений) представлены в табл. 2.

Актуальной для Российской Федерации также является другая особо опасная трансмиссивная инфекция — лихорадка Западного Нила (ЛЗН) [18, 25, 37]. Наряду с сохранением роста заболеваемости населения на протяжении последних двух лет, отмечается интенсивное вовлечение в эпидемических процесс новых субъектов и появление местных случаев заражения на ранее неэндемичных территориях. Так, в 2019 г. было зарегистрировано 352 лабораторно подтвержденных случая ЛЗН (0,2 на 100 тыс. человек), что в 2 раза выше среднемноголетнего показателя (2012–2018 гг., 0,1 на 100 тыс.) и в 4 раза — уровня 2018 г. (0,05 на 100 тыс.) [30]. Интенсивность проявлений эпидемического процесса этой инфекции во многом определяется природно-климатическими условиями, действующими

на численность комаров — переносчиков вируса Западного Нила (ЗН) [25, 26, 35, 67].

Так, на сегодняшний день доказано, что лимитирующим фактором является температура воздуха, которая влияет не только на развитие комаров, их питание, метаболизм, репродукцию, но и на скорость репликативного процесса самого возбудителя ЛЗН [25, 26, 67]. Вирус ЗН способен размножаться в широком диапазоне температур — от +14°C у комаров до +45°C у птиц [42, 45, 58]. С повышением температуры скорость репликации увеличивается. Так, количество вируса, необходимое для инфицирования человека через укус комара, накапливается при +14°C через 58 дней, при +18°C — через 22, при +23,5°C — через 15 и при +30°C — через 11 суток [25, 31]. Установлено, что осложнения эпидемиологической ситуации по ЛЗН наблюдаются в теплые годы (особенно с более высокими температурами в летние месяцы) [1, 35, 51, 52, 66, 69, 72].

Сильные корреляционные связи выявлены между количеством случаев этой инфекции и климатическими факторами, влияющими на развитие личинок комаров [72]. Зависимость уровня заболеваемости ЛЗН с осадками выраженная, но неоднозначная — установлены как прямая, так и обратная корреляции [44, 46, 48, 72, 75]. Известно, что дожди способствуют увеличению площади стоячих водоемов — мест непосредственного вылода комаров. С другой стороны, засухи увеличивают плотность птиц и комаров вокруг оставшихся водных источников, тем самым активируя процесс передачи вируса ЗН между ними [66, 71]. Кроме того, слишком обильные осадки разбавляют содержание питательных веществ, отрицательно влияя на развитие личиночных стадий и даже могут привести к уничтожению их мест обитания [55]. Таким образом, климатическими предпосылками для осложнения эпидемиологической ситуации по ЛЗН является увеличение количества выпавших осадков в предыдущем эпидемическом сезоне и их некоторый дефицит в текущем [57].

Относительная влажность воздуха влияет как непосредственно на жизнедеятельность комаров (на них отрицательно влияют и чрезмерная сухость, и относительная влажность, превышающая 60%), так и на скорость яйцекладки [41]. Установлено, что при высокой температуре (+35°C) и низкой относительной влажности (60%) у взрослых самок наблюдалась низкая скорость яйцекладки (55±4,8 яйца). С другой стороны, при более низкой температуре (+25°C) и высокой влажности (80%) скорость яйцекладки значительно повышалась (99±3,6 яйца) [41].

Результаты комплексного ретроспективного исследования в Российской Федерации подтверждают наличие прямой зависимости количества случаев ЛЗН от средних температур возду-

Таблица 2. Влияние климатических факторов на жизнедеятельность членистоногих переносчиков вируса клещевого энцефалита и заболеваемость населения КВЭ

Table 2. Climatic factors effect on the ticks (CCHF virus vectors) vital activity and CCHF incidence

| № No. | Факторы Factors | Значения факторов Factors magnitude | Влияние Effect |
|-------|--|--|--|
| 1 | Температура воздуха весной, °С: – дневная – ночная Spring air temperature, °С: – daytime – nighttime | – не ниже +9,0 – не ниже +2,0 – not lower than +9.0 – not lower than +2.0 | Необходимо для активизации перезимовавших особей <i>H. marginatum</i> и начала их питания на животных Necessary for activation of overwintered <i>H. marginatum</i> and onset of their feeding on animals |
| 2 | Среднемесячная температура воздуха весной, °С Spring average monthly air temperature, °С | +16,9 | Пик паразитирования <i>H. marginatum</i> <i>H. marginatum</i> maximum parasitism |
| 3 | Среднемесячная сумма осадков, мм Average monthly precipitation, mm | 34,7 | Пик паразитирования <i>H. marginatum</i> <i>H. marginatum</i> maximum parasitism |
| 4 | Весенне-летняя температура воздуха (май–июнь), °С Spring-summer air temperature (May–June), °С | +26,0...+28,0 | Оптимально для эмбриогенеза (при более низких значениях развитие яиц <i>H. marginatum</i> задерживается) Optimal condition for embryogenesis (<i>H. marginatum</i> eggs development is delayed under lower temperature) |
| 5 | Осадки (май–июль) Precipitation (May–July) | Обильные осадки Heavy precipitation | Губительно для преимагинальных фаз <i>H. marginatum</i> Detrimental to <i>H. marginatum</i> preimaginal phases |
| 6 | Осадки, влажность почвы (май–июль) Precipitation, soil moisture (May–July) | Недостаток осадков, сухость почвы Shortage of precipitation, dry soil | Высыхание покрова и гибель преимагинальных фаз <i>H. marginatum</i> <i>H. marginatum</i> preimaginal phases dehydrate and die |
| 7 | Весенне-летняя температура воздуха (май–июль) Spring-summer air temperature (May–July) | Прохладная погода Cool weather | Неблагоприятно для выживаемости личинок <i>H. marginatum</i> Unfavorable for survival of <i>H. marginatum</i> larvae |
| 8 | Температура воздуха осенью Autumn air temperature | Теплая погода Warm weather | Благоприятно для жизнедеятельности клещей, может увеличить продолжительность эпидемического сезона Favorable for tick vital activity, may increase duration of epidemic season |
| 9 | Осадки осенью Precipitation in autumn | Мало осадков Little precipitation | Благоприятно для жизнедеятельности клещей, может увеличить продолжительность эпидемического сезона Favorable for tick vital activity, may increase duration of epidemic season |
| 10 | Температура воздуха зимой (декабрь–февраль), °С Winter air temperature (December–February), °С | Ниже –20,0 Below –20.0 | Промерзание почвы и гибель клещей Soil freezing and tick death |
| 11 | Среднемесячная температура воздуха весной (март–апрель), °С Spring average monthly air temperature (March–April), °С | +10,5 | Необходимо для начала паразитирования <i>H. marginatum</i> Necessary for onset of <i>H. marginatum</i> parasitism |
| 12 | Среднемесячная сумма осадков весной, мм Spring average monthly precipitation, mm | 47 | Необходимо для начала паразитирования <i>H. marginatum</i> Necessary for onset of <i>H. marginatum</i> parasitism |
| 13 | Максимальная температура воздуха трех предшествующих месяцев Maximum air temperature of the previous three months | Увеличение на 1°С Increase by 1°С | Риски возникновения случаев заболевания повышаются на 9% The risk of disease cases is increased by 9% |

| № No. | Факторы Factors | Значения факторов Factors magnitude | Влияние Effect |
|----------|---|---|---|
| 14 | Максимальная относительная влажность трех предшествующих месяцев Maximum relative humidity of the previous three months | Увеличение на 1% Increase by 1% | Риски возникновения случаев заболевания повышаются на 4% The risk of disease cases is increased by 4% |
| 15 | Средняя температура воздуха Average air temperature | Увеличение на 1°C Increase by 1°C | Рост заболеваемости на 5,5% Incidence rate is increase by 5.5% |
| 16 | NDVI | Увеличение на 1 Increase by 1 | Рост заболеваемости на 5,5% Incidence rate is increased by 5.5% |

ха (среднегодовых, среднесезонных температур воздуха весны и лета) и обратной — от среднесезонной влажности воздуха лета и весны [30].

В качестве вспомогательной основы для уточняющего прогноза заболеваемости ЛЗН на предстоящий сезон используются значения средней температуры и средней относительной влажности 25-й недели года. Так, с использованием логистической регрессии и метода построения деревьев решений установлено, что резкие эпидемические подъемы наблюдаются в годы со значениями данных показателей выше +22°C и ниже 50% соответственно [35]. Вместе с тем степень влияния одних и тех же абиотических факторов в разных субъектах неодинакова. Так, наиболее значимыми показателями для прогнозирования развития эпидемиологической ситуации по ЛЗН, согласно результатам корреляционного анализа, для территории Волгоградской области можно считать значения температуры воздуха летнего периода (среднесезонные) и влажности воздуха весны и лета (среднемесячные), для Ростовской области — среднемесячные температурные данные лета и весны [30].

Исследование связи интенсивности проявлений эпидемического процесса ЛЗН и действия погодно-климатических условий также было выполнено методом деревьев классификации и регрессии (classification and regression trees method, CRT) с последующей проверкой методом автоматического обнаружения взаимодействия по критерию хи-квадрат (Chi-squared automatic interaction detection, CHIAD). Согласно полученным результатам, для Волгоградской области наиболее сильной была связь уровня заболеваемости с температурами мая и июля (вспышки инфекции происходили в годы, когда средняя температура в течение этих месяцев превышала +21°C). В Ростовской области наиболее важным фактором была температура в мае и в меньшей степени в июне, но не в июле. Рост заболеваемости также отмечался при повышенных значениях температурных показателей в декабре прошлого года. В Астраханской области летние температуры, как правило, обычно довольно высокие и не оказывают влияния на эпидемиологическую ситуацию,

поэтому в качестве ограничивающего фактора может выступать температура зимнего периода (с декабря по январь): при значениях ниже –5°C отмечается снижение числа случаев инфекции. Кроме того, была построена общая прогностическая модель для всех трех исследуемых субъектов, включающая показатели температуры воздуха в мае, январе и августе–сентябре [68].

Полученные данные также подтверждаются и дополняются результатами зарубежных исследований. Так, в Хорватии установлено наличие положительной корреляции средней силы между числом случаев ЛЗН и среднемесячными температурами воздуха в восточных и северо-западных районах страны. При проведении корреляционного анализа числа больных и месячного количества осадков выявлена отрицательная связь средней силы в северо-западных районах и слабая — в восточных [30]. В Греции при проведении множественного логистического регрессионного анализа (multiple logistic regression analysis) установлена зависимость уровня заболеваемости от температуры и относительной влажности воздуха, а также от количества осадков, температуры и влажности почвы [72]. Наиболее важными факторами, влияющими на численность *Culex pipiens* в Северном Иране при составлении модели экологической ниши, были годовой диапазон температур, осадки самого холодного квартала, максимальная температура самого теплого месяца, осадки самого сухого квартала. В США изучение влияния природно-климатических факторов на инфицированность комаров вирусом ЗН и число случаев заболевания ЛЗН было выполнено с использованием нейросетевого подхода — алгоритма машинного обучения «случайный лес» (random forest analysis). Результаты исследования свидетельствуют о том, что повышение уровня зараженности переносчиков наблюдалось при увеличении средней минимальной температуры июля, августа и сентября. Выявлена нелинейная зависимость показателя инфицированности комаров от влажности почвы в апреле, мае и июне. Высокая зараженность *C. pipiens* отмечалась в годы с низкими значениями влажности почвы или

при сочетании нормальной влажности почвы и повышенных значениях средних минимальных температур. Также обнаружена связь более высокой инфицированности комаров с повышенными значениями средней минимальной температуры января, февраля, марта и засухой в июле, августе и сентябре. Самая низкая зараженность переносчиков отмечалась в прохладные годы с нормальной влажностью почвы [58]. С помощью корреляции Пирсона (Pearson correlations), бинарной (binary logistic regression) и полиномиальной логистической регрессии (multinomial logistic regression) в ряде стран Европы, Азии и Ближнего Востока (Румынии, Греции, Турции, Израиле) была установлена зависимость между началом и уровнем заболеваемости ЛЗН от температуры воздуха, относительной влажности и количества выпавших осадков в течение летне-весенних месяцев [66]. Результаты дискриминантного анализа (discriminant analysis) свидетельствуют о связи высокой заболеваемости ЛЗН в канадской провинции Саскачеван с низким количеством осадков в июне–июле и высокими значениями температуры в июле–августе [49, 68]. Согласно исследованиям, проведенным в США, предпосылками роста инфицированности комаров и числа больных ЛЗН являлись повышенные значения кумулятивных температур (выше $+22^{\circ}\text{C}$) и дефицит летних осадков [70]. Важность учета климатических факторов также подтверждена в ходе многофакторного прогнозирования вспышек ЛЗН в Европе с помощью линейных моделей смешанных эффектов (linear mixed-effects models) и использования информационного критерия Акаике (Akaike information criterion, AIC) — были обнаружены положительные корреляции уровня заболеваемости населения со значениями средних температур в июне–сентябре, а также общим количеством дней с осадками в конце зимы–весны [63].

Обобщенные данные по влиянию климатических факторов на жизнедеятельность переносчиков возбудителей ЛЗН и уровень заболеваемости населения (в том числе зависимость от определенных числовых значений) представлены в табл. 3.

Также на протяжении многих лет в Российской Федерации сохраняется напряженная эпидемиологическая ситуация по геморрагической лихорадке с почечным синдромом (ГЛПС). ГЛПС является самым широко распространенным (более 90%) из природно-очаговых зоонозов вирусной этиологии и в общей структуре бактериальных и вирусных ПОИ, выявляемых в стране, занимает второе место (в разные годы от 40 до 50%) по частоте регистрации случаев заболевания после ИПК [19, 22, 23, 24, 34]. В 2019 г., по сравнению с предыдущим годом, число выявленных больных возросло в 2,4 раза [24]. Была за-

регистрирована вспышка инфекции в г. Саратове и значительный рост заболеваемости на территории других эндемичных субъектов. Резервуаром и источником инфекции для человека являются мышевидные грызуны — каждый тип хантавирусов преимущественно связан с их определенным видом [15, 19, 37]. В настоящее время циркуляция возбудителя ГЛПС установлена на территории всех федеральных округов России [34]. Кроме того, наблюдается ярко выраженная тенденция расширения границ природных очагов с вовлечением новых субъектов, ранее считавшихся свободными от этой инфекции. Так, за последнее десятилетие обнаружены новые очаги ГЛПС в Республике Алтай, Новосибирской, Иркутской и Кемеровской областях, установлены новые резервуары инфекции в природе [10].

Таким образом, повсеместное распространение ГЛПС, наблюдаемая тенденция к росту уровня заболеваемости населения и расширение ареала циркуляции хантавирусов свидетельствуют о необходимости проведения комплексного анализа абиотических (в том числе погодных) условий, определяющих интенсивность эпидемических проявлений и активность эпизоотического процесса данной инфекции. Вместе с тем составление ежегодного эпидемиологического прогноза по ГЛПС в настоящее время выполняется преимущественно на основе прогноза численности мелких млекопитающих, без детального учета значений климатических факторов, перспективность использования которых в целях повышения точности прогнозирования, подтверждена результатами многочисленных отечественных и зарубежных исследований.

Так, на сегодняшний день известно, что благоприятными условиями для усиленного размножения грызунов являются теплая зима, отсутствие весеннего паводка и умеренно теплое, но не жаркое лето [4]. Кроме того, от погодных условий (температуры, влажности и осадков) зависит урожайность кормовых растений. Поэтому при составлении прогноза заболеваемости также важно учитывать значения NDVI. Данный показатель коррелирует с количеством и продуктивностью сельскохозяйственных культур, что является хорошим показателем питания грызунов. Растительность также обеспечивает укрытие, безопасность и защищает от хищников. Численность мелких млекопитающих уменьшается в засушливые годы, когда биомасса растительного корма для них снижается [15]. Таким образом, природно-климатические факторы оказывают как прямое влияние на численность популяций переносчиков хантавирусов (на количество беременностей, размер помета, рождаемость и коэффициент выживаемости), так и опосредованное — на условия их жизни и обеспеченность пищевыми ресурсами.

Проведенный в Самарской области (г. Тольятти) корреляционно-регрессионный анализ подтверждает наличие достоверной связи между уровнем заболеваемости ГЛПС, осенней численностью мелких мышевидных млекопитающих и значениями температуры воздуха и осадков летнего периода [17]. Результаты апробации регрессионной модели краткосрочного прогнозирования заболеваемости ГЛПС на примере Оренбургской области свидетельствуют, что наибольшее прогностическое значение имеют температура воздуха в октябре и количество осадков в ноябре предыдущего года, максимальный и минимальный уровни высоты снежного покрова в феврале, а также число Вольфа (с запаздыванием на 2 года) [11]. При составлении прогноза эпизоотической активности природных очагов ГЛПС на основе множественного регрессионного

анализа в Саратовской области в качестве основных абиотических факторов были использованы значения климатических показателей зимнего периода: средняя температура и влажность воздуха, высота снежного покрова, число Вольфа, а также количество дней с осадками.

Примерами зарубежных работ, посвященных изучению данной проблемы, является ряд исследований, проведенных в Китае. Так, при проведении кросс-корреляционного анализа (cross-correlation analysis) и апробации обобщенной аддитивной модели (generalized additive model, GAM) временного ряда была выявлена сильная корреляция между заболеваемостью ГЛПС и температурой, относительной влажностью воздуха и осадками в предшествующие три месяца и предыдущем году в провинции Шаньдун, г. Циндао. Были установлены отрицательные

Таблица 3. Влияние климатических факторов на жизнедеятельность комаров – переносчиков вируса ЗН и заболеваемость населения ЛЗН

Table 3. Effect of climatic factors on the mosquitoes (West Nile virus vectors) vital activity and WNF incidence

| № No. | Факторы Factors | Числовые значения факторов Factors numeric values | Влияние Effect |
|-------|--|--|--|
| 1 | Температура воздуха в июне, °С Air temperature in June, °C | Выше средней на 3,9 Above average by 3.9 | Максимальный эпидемический подъем заболеваемости Maximum epidemic increase incidence |
| 2 | Температура воздуха 25-й недели года, накануне эпидемического сезона, °С Air temperature at week 25 of the year, before the epidemic season, °C | Выше средней на 5,2 Above average by 5.2 | Максимальный эпидемический подъем заболеваемости Maximum epidemic-related increase in disease incidence |
| 3 | Относительная влажность воздуха в июне, % Relative air humidity in June, % | Ниже средней на 16,7 Below average by 16.7 | Максимальный эпидемический подъем заболеваемости Maximum epidemic-related increase in disease incidence |
| 4 | Относительная влажность воздуха 25-й недели года, накануне эпидемического сезона, % Relative air humidity at week 25 of the year, before the epidemic season, % | Ниже средней на 24,2 Below average by 24.2 | Максимальный эпидемический подъем заболеваемости Maximum epidemic-related increase in disease incidence |
| 5 | Накопленная сумма активных температур воздуха июня, °С Accumulated amount of active air temperatures in June, °C | 22,0 и выше 22,0 and above | Максимальный эпидемический подъем заболеваемости Maximum epidemic-related increase in disease incidence |
| 6 | Сумма активных температур воздуха июля, °С Amount of active air temperatures in July, °C | 22,0 и выше 22,0 and above | Увеличение длительности эпидемического сезона Increased duration of epidemic season |
| 7 | Показатели 25-й недели года: – средней температуры воздуха, °С; – средней относительной влажности воздуха, % Data of the week 25 of the year: – average air temperature, °C; – average relative air humidity, % | – выше 22,0 – ниже 5,0°С – above 22,0 – below 5,0°C | Резкий эпидемический подъем уровня заболеваемости Sharp epidemic increase in disease incidence |
| 8 | Средняя температура воздуха в мае–июле, °С Average air temperature in May–July, °C | Выше 21,0 Above 21,0 | Вспышки заболевания Disease outbreaks |
| 9 | Средняя температура воздуха с декабря по январь, °С Average air temperature from December to January, °C | Ниже –5,0 Below –5,0 | Уровень заболеваемости ниже обычного Incidence is lower than usual rate |

корреляционные связи между числом больных и температурным диапазоном от +6,0 до +23,7°C и положительные — со значениями влажности воздуха выше 85,7% и ниже 67,5% [56]. При изучении предпосылок активизации эпизоотического процесса хантавирусной инфекции с помощью методов главных компонент (principal component analysis, PCA) и логистической регрессии (logistic regression analysis) в провинции Хунань в качестве факторов риска, кроме среднегодовой температуры воздуха и годового количества осадков были использованы ежемесячные значения температуры поверхности земли и NDVI (которые также косвенно свидетельствуют о влажности почвы) [76]. Результаты вейвлет-анализа (Wavelet analysis) — вейвлет-преобразования (Wavelet transform) с вейвлетом Морле (Morlet wavelet) и кросс-корреляционного анализа (cross correlation analysis), — проведенного в провинции Ляонин (г. Хулудао), свидетельствуют о наличии выраженной положительной корреляции численности норвежских крыс с показателями средней, максимальной и минимальной температуры воздуха, накопленными осадками и абсолютной влажностью [62]. С использованием вейвлет-анализа (Morlet wavelet) и байесовской, скорректированной по Пуассону модели временного ряда (Bayesian time-series adjusted Poisson regression model) выявлены основные факторы риска возникновения вспышек ГЛПС в провинции Шэньси (г. Сиань) — численность грызунов, количество выпавших осадков и температура воздуха, значения которых сильно коррелировали с количеством заболевших (с 2-, 3- и 4-месячным лагом соответственно) [73]. В городском округе Чэньчжоу прогнозирование заболеваемости

ГЛПС было выполнено на основе модели полиномиально распределенных лагов (polynomial distributed lag (PDL) model). В качестве первого компонента были использованы численность грызунов, NDVI и среднемесячная температура, второго — среднемесячное количество осадков и среднемесячная относительная влажность, третий был представлен численностью грызунов и среднемесячной относительной влажностью. Полученные результаты также подтвердили наличие выраженной зависимости уровня заболеваемости населения от значений всех исследуемых факторов [77]. С помощью регрессионной модели главных компонент (principal components regression (PCR) model) и модели сезонного интегрированного скользящего среднего (SARIMA) с авторегрессией были установлены связи интенсивности проявлений эпидемического процесса ГЛПС в провинциях Гири и Хэйлунцзян со среднемесячными значениями средней, максимальной и минимальной температуры воздуха, относительной влажности воздуха, накопленными осадками и скоростью ветра [61, 79].

Обобщенные данные по влиянию климатических факторов на жизнедеятельность переносчиков возбудителей ГЛПС и уровень заболеваемости населения представлены (в том числе зависимость от определенных числовых значений) в табл. 4.

Таким образом, основными факторами, которые влияют на численность переносчиков возбудителей наиболее распространенных в Российской Федерации ПОИ, являются температура, влажность (почвы и воздуха) и количество выпавших осадков. Данные факторы могут быть

Таблица 4. Влияние климатических факторов на жизнедеятельность мышевидных грызунов — переносчиков хантавирусов и уровень заболеваемости населения ГЛПС

Table 4. Effect of climatic factors on vital activity of mouse-like rodents (hantaviruses vectors) and HFRS incidence

| № No. | Факторы Factors | Значения факторов Factors values | Влияние Effect |
|----------|---|--|---|
| 1 | Температура воздуха трех предшествующих месяцев, °C Air temperature of the previous three months, °C | +6,0... +23,7 | Отрицательная корреляционная связь с числом больных Negative correlation with the number of patients |
| 2 | Температура воздуха трех предшествующих месяцев, °C Air temperature of the previous three months, °C | Выше 23,7 и ниже 6,0 Above 23.7 and below 6.0 | Положительная корреляционная связь с числом больных Positive correlation with the number of patients |
| 3 | Влажность воздуха трех предшествующих месяцев, % Air humidity of the previous three months, % | Выше 85,7 и ниже 67,5 Above 85.7 and below 67.5 | Положительная корреляционная связь с числом больных Positive correlation with the number of patients |
| 4 | Температура воздуха летом Air temperature in summer | Теплая, но не жаркая Warm but not hot | Благоприятно для усиленного размножения грызунов Favorable for enhanced rodent reproduction |
| 5 | Отсутствие весеннего паводка Lack of spring flood | | Благоприятно для усиленного размножения грызунов Favorable for enhanced rodent reproduction |



Рисунок. Комплексное влияние климатических факторов на эпидемиологическую ситуацию по ПОИ
Figure. The complex climatic factors impact on the natural focal infections epidemiological situation

одновременно использованы для прогноза эпидемиологической ситуации по клещевым (КГЛ, КВЭ, ИКБ), зоонозным (ГЛПС) и передаваемым через укусы комаров (ЛЗН) инфекциям (рис.).

Заключение

Таким образом, результаты проведенного анализа многочисленных литературных данных подтверждают зависимость уровня заболеваемости населения ПОИ от природно-климатических факторов, влияющих на жизнедеятельность основных переносчиков их возбудителей — клещей, комаров, мышевидных грызунов, — а также свидетельствуют об актуальности продолжения исследований в данном

направлении. Дальнейшего изучения требует связь активности природных очагов инфекций с влажностью и температурой почвы на различной глубине, гидротермическим коэффициентом, NDVI, накопленными значениями температуры и количества осадков. Кроме того, особое внимание необходимо уделять таким широко распространенным в Российской Федерации ПОИ, которым на сегодняшний день посвящено лишь небольшое число отечественных работ (ИКБ, КГЛ) или детальные исследования которых по влиянию погодных условий на интенсивность эпизоотического процесса и эпидемических проявлений до настоящего времени широко не проводились (например, астраханская пятнистая лихорадка).

Список литературы/References

1. Антонов В.А., Смоленский В.Ю., Путинцева Е.В., Липницкий А.В., Смелянский В.П., Яковлев А.Т., Мананков В.В., Погасий Н.И., Красовская Т.Ю. Эпидемическая ситуация по лихорадке Западного Нила в 2011 году на территории Российской Федерации и прогноз ее развития // Проблемы особо опасных инфекций. 2012. № 1 (111). С. 17–21. [Antonov V.A., Smolensky V.Yu., Putintseva E.V., Lipnitsky A.V., Smelyansky V.P., Yakovlev A.T., Manankov V.V., Pogasy N.I., Krasovskaya T.Yu. West Nile Fever epidemic situation in the Russian Federation territory in 2011 and prognosis of its development. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2012, no. 1 (111), pp. 17–21. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2012-1(111)-17-21
2. Балашов Ю.С. Иксодовые клещи — паразиты и переносчики инфекций. СПб.: Наука, 1998. 287 с. [Balashov Yu.S. Ixodid ticks are parasites and vectors of infectious diseases. *St. Petersburg: Nauka*, 1998. 287 p. (In Russ.)]
3. Бериков В.Б., Лбов Г.С., Полякова Г.Л., Бахвалова В.Н., Панов В.В., Щучинова Л.Д., Гладкий П.А., Коротков Ю.С., Никитин А.Я., Лутова С.Л., Банникова Л.М., Козловский Л.И., Баштанник В.И., Мезенцева Э.А., Михеев В.Н., Шульгина Н.И., Герасимов М.К., Гусев В.А., Маслов П.П., Пестунов И.А., Морозова О.В. Анализ факторов, влияющих на заболеваемость клещевым энцефалитом, с использованием логико-вероятностных и корреляционно-регрессионных моделей // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2011. № 6 (61). С. 25–34. [Berikov V.B., Lbov G.S., Polyakova G.L., Bakhvalova V.N., Panov V.V., Shchuchinova L.D., Gladky P.A., Korotkov Yu.S., Nikitin A.Ya., Lutova S.L., Bannikova L.M., Kozlovsky L.I., Bashtannik V.I., Mezentseva E.A., Miheev V.N., Shulgina N.I., Gerasimov M.K., Gusev V.A., Maslov P.P., Pestunov I.A., Morozova O.V. Analysis of factors influencing the incidence of tick-borne encephalitis using logical-and-probabilistic and correlation-regression models. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2011, no. 6 (61), pp. 25–34. (In Russ.)]

4. Богданова Т.М., Семенова В.А., Каретникова А.Ю., Терехина Е.С., Шляпников Н.В. ГЛПС: предикторы заболевания // Международный студенческий научный вестник. 2019. № 4. [Bogdanova T.M., Semenova V.A., Karetnikova A.Yu., Terekhina E.S., Shlyapnikov N.V. HFRS: predictors of illness. *Mezhdunarodnyy studencheskiy nauchnyy vestnik = International Student Scientific Bulletin*, 2019, no. 4. (In Russ.)] URL: <http://www.eduherald.ru/ru/article/view?id=19704>
5. Бугмырин С.В., Назарова Л.Е., Беспятова Л.А., Иешко Е.П. К вопросу о северной границе распространения *Ixodes persulcatus* (Acari: Ixodidae) в Карелии // Известия РАН. Серия биологическая. 2013. № 2. С. 240–244. [Bugmyrin S.V., Nazarova L.E., Bespyatova L.A., Ieshko E.P. Concerning the problem of the northern limit of *Ixodes persulcatus* (Acari: Ixodidae) distribution in Karelia. *Izvestiya RAN. Seriya biologicheskaya = Proceedings of the Russian Academy of Sciences. Biological Series*, 2013, no. 2, pp. 240–244. (In Russ.)] doi: 10.7868/S0002332913020033
6. Власов В.В., Репин В.Е. Инфекции, передаваемые клешами в Сибирском регионе. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2011. 395 с. [Vlasov V.V., Repin V.E. Tick-borne infections in the Siberian Region. *Novosibirsk: SO RAN Publishing*, 2011. 395 p. (In Russ.)]
7. Данчинова Г.А., Хаснатинов М.А., Шулунов С.С., Арбатская Е.В., Бадиева Л.Б., Сунцова О.В., Чапоргина Е.А., Богомазова О.Л., Тимошенко А.Ф. Фауна и экология популяций иксодовых клещей — переносчиков клещевых инфекций в Прибайкалье // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2007. № 3 (55), прил. С. 86–89. [Danchinova G.A., Khasnatinov M.A., Shulunov S.S., Arbatskaya E.V., Badueva L.B., Suntsova O.V., Tchaporgina E.A., Bogomazova O.L., Timoshenko A.F. Fauna and ecology of ixodid ticks in Pribaikalye. *Byulleten' VSNTS SO RAMN = Bulletin of ESCC SB RAMS*, 2007, no. S3 (55), pp. 86–89. (In Russ.)]
8. Дубянский В.М., Прислегина Д.А., Куличенко А.Н. Риск-ориентированная модель прогнозирования эпидемиологической ситуации по Крымской геморрагической лихорадке (на примере Ставропольского края) // Анализ риска здоровью. 2018. № 1. С. 13–21. [Dubynskiy V.M., Prislegina D.A., Kulichenko A.N. Risk-oriented model for predicting epidemiological situation with Crimean-Congo hemorrhagic fever (on the example of Stavropol region). *Analiz riska zdorov'yu = Health Risk Analysis*, 2018, no. 1, pp. 13–21. (In Russ.)] doi: 10.21668/health.risk/2018.1.02
9. Емельянова А.Н., Кижло Л.Б. Клинико-эпидемиологические особенности иксодового клещевого боррелиоза в Забайкальском крае // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2012. Т. 112, № 5. С. 103–105. [Emelyanova A.N., Kizlo L.B. Clinical and epidemiologic particularities of tick-borne borreliosis in Transbaikal Region. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk) = Siberian Medical Journal (Irkutsk)*, 2012, vol. 112, no. 5, pp. 103–105. (In Russ.)]
10. Иванова А.В., Сафронов В.А., Попов Н.В., Куклев Е.В. Эпидемиологическое районирование территории Приволжского федерального округа по уровню потенциальной эпидемической опасности природных очагов геморрагической лихорадки с почечным синдромом // Проблемы особо опасных инфекций. 2020. № 1. С. 91–96. [Ivanova A.V., Safronov V.A., Popov N.V., Kuklev E.V. Epidemiological zoning of the Volga Federal District territory by the level of potential epidemic hazard of hemorrhagic fever with renal syndrome natural foci. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2020, no. 1, pp. 91–96. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2020-1-91-96
11. Калмыков А.А., Аминев Р.М., Корнеев А.Г., Поляков В.С. Эпидемиологический анализ причин роста заболеваемости ГЛПС военнослужащих в ЦВО в 2011 году // Медицинский альманах. 2012. № 3 (22). С. 96–99. [Kalmykov A.A., Aminov R.M., Korneev A.G., Polyakov V.S. The epidemiological analysis of the reasons of the increase of morbidity with hemorrhagic fever with renal syndrome of military men in Central Military Region in 2011. *Meditsinskiy al'manakh = Medical Almanac*, 2012, no. 3 (22), pp. 96–99. (In Russ.)]
12. Коротков Ю.С., Акулова Л.М., Хазова Т.Г., Килина А.И., Кисленко Г.С., Чунихин С.П. Циклические изменения численности таежного клеща в заповеднике «Столбы» // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 1992. № 3. С. 7–10. [Korotkov Yu.S., Akulova L.M., Khazova T.G., Kilina A.I., Kisenko G.S., Chunikhin S.P. Cyclic changes of the taiga ticks number in the “Stolby” reserve. *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni = Medical Parasitology and Parasitic Diseases*, 1992, no. 3, pp. 7–10. (In Russ.)]
13. Коротков Ю.С., Никитин А.Н., Антонова А.М. Роль климатических факторов в многолетней динамике заболеваемости населения г. Иркутска клещевым энцефалитом // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2007. № 3 (55), прил. С. 121–125. [Korotkov Yu.S., Nikitin A.N., Antonova A.M. Role of the climatic factors in long-term dynamics of tickborn encephalitis disease of Irkutsk population. *Byulleten' VSNTS SO RAMN = Bulletin of ESCC SB RAMS*, 2007, no. S3 (55), pp. 121–125. (In Russ.)]
14. Куличенко А.Н., Прислегина Д.А. Крымская геморрагическая лихорадка: климатические предпосылки изменений активности природного очага на юге Российской Федерации // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 1. С. 162–172. [Kulichenko A.N., Prislegina D.A. Climatic prerequisites for changing activity in the natural Crimean-Congo hemorrhagic fever focus in the South of the Russian Federation. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2019, vol. 9, no. 1, pp. 162–172. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2019-1-162-172
15. Леонтьев В.В. Динамика заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом населения г. Набережные Челны // Гигиена и санитария. 2015. Т. 94, № 3. С. 18–23. [Leontev V.V. The dynamics of the morbidity rate of hemorrhagic fever with renal syndrome in the population of the city of Naberezhnye Chelny. *Gigiyena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*, 2015, vol. 94, no. 3, pp. 18–23. (In Russ.)]
16. Лисак О.В., Козлова И.В., Сунцова О.В., Богомазова О.Л., Дорошенко Е.К., Чумаченко И.Г., Черноиванова О.О., Ревизор А.О. Современная эпидемиологическая ситуация в отношении трансмиссивных клещевых инфекций в северных районах Иркутской области // Acta Biomedica Scientifica. 2012. № 5 (87), Ч. 1. С. 97–101. [Lysak O.V., Kozlova I.V., Suntsova O.V., Bogomazova O.L., Doroshchenko E.K., Chumachenko I.G., Chernouvanova O.O., Revisor A.O. Modern epidemiology of vector-borne tick-borne infections in northern districts of the Irkutsk region. *Acta Biomedica Scientifica*, 2012, no. 5 (87), pt. 1, pp. 97–101. (In Russ.)]
17. Лифиренко Н.Г., Костина Н.В. К оценке возможного влияния климата на эпидемический процесс // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2008. Т. 10, № 2. С. 333–339. [Lifirenko N.G., Kostina N.V. To the mates of possible influence of climate on to the epidemiologic process. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN = Bulletin of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2008, vol. 10, no. 2, pp. 333–339. (In Russ.)]

18. Малецкая О.В., Прислегина Д.А., Таран Т.В., Платонов А.Е., Дубянский В.М., Волюнкина А.С., Василенко Н.Ф., Цапко Н.В. Природно-очаговые вирусные лихорадки на юге европейской части России. Лихорадка Западного Нила // Проблемы особо опасных инфекций. 2020. № 1. С. 109–114. [Maletskaya O.V., Prislegina D.A., Taran T.V., Platonov A.E., Dubyansky V.M., Volynkina A.S., Vasilenko N.F., Tsapko N.V. Natural focal viral fevers in the south of European part of Russia. West Nile fever. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2020, no. 1, pp. 109–114. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2020-1-109-114
19. Малецкая О.В., Таран Т.В., Прислегина Д.А., Платонов А.Е., Дубянский В.М., Волюнкина А.С., Василенко Н.Ф., Тохов Ю.Н., Цапко Н.В. Природно-очаговые вирусные лихорадки на юге европейской части России. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом // Проблемы особо опасных инфекций. 2019. № 4. С. 79–84. [Maletskaya O.V., Taran T.V., Prislegina D.A., Platonov A.E., Dubyansky V.M., Volynkina A.S., Vasilenko N.F., Tokhov Yu.N., Tsapko N.V. Natural focal viral fevers in the south of the European part of Russia. Hemorrhagic fever with renal syndrome. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2019, no. 4, pp. 79–84. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2019-4-79-84
20. Носков А.К., Трушина Ю.Н., Туранов А.О., Адельшин Р.В., Хаснатинов М.А., Трухина А.Г., Андаев Е.И. Клинико-эпидемиологические особенности иксодовых клещевых боррелиозов в Забайкальском крае // Проблемы особо опасных инфекций. 2014. № 4. С. 25–28. [Noskov A.K., Trushina Yu.N., Turanov A.O., Adel'shin R.V., Khasnatinov M.A., Trukhina A.G., Andaev E.I. Clinical-epidemiological peculiarities of the tick-borne borrelioses registered in the Trans-Baikal territory. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2014, no. 4, pp. 25–28. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2014-4-25-28
21. Оборин М.С., Артамонова О.А. Анализ географических закономерностей распространения клещевого энцефалита и лайм-боррелиоза на территории России // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2016. № 1 (135). С. 87–92. [Oborin M.S., Artamonova O.A. The analysis of geographical spread regularities of tick-borne encephalitis and lyme borreliosis in the territory of Russia. *Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta = Bulletin of Altai State Agrarian University*, 2016, no. 1 (135), pp. 87–92. (In Russ.)]
22. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году: государственный доклад. М.: Роспотребнадзор, 2018. 268 с. [On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2017: state report. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2018. 268 p. (In Russ.)]
23. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году: государственный доклад. М.: Роспотребнадзор, 2019. 254 с. [On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2018: state report. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2019. 254 p. (In Russ.)]
24. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году: государственный доклад. М.: Роспотребнадзор, 2020. 299 с. [On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2019: state report. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2020. 299 p. (In Russ.)]
25. Платонов А.Е. Влияние погодных условий на эпидемиологию трансмиссивных инфекций (на примере лихорадки Западного Нила в России) // Вестник РАМН. 2006. № 2. С. 25–29. [Platonov A.E. The influence of weather conditions on the epidemiology of vector-borne diseases by the example of West Nile fever in Russia. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2006, no. 2, pp. 25–29. (In Russ.)]
26. Платонов А.Е., Гриднева К.А., Долгин В.А., Колясникова Н.М., Платонова О.В., Титков А.В. Применение дистанционного спутникового мониторинга для контроля и прогноза заболеваемости природно-очаговыми трансмиссивными инфекциями // Современные проблемы дистанционного зондирования Земли из космоса. 2013. Т. 10, № 3. С. 21–32. [Platonov A.E., Gridneva K.A., Dolgin V.A., Kolyasnikova N.M., Platonova O.V., Titkov A.V. The use of satellite remote sensing for monitoring and forecasting of vector-borne infections. *Sovremennye problemy distantsionnogo zondirovaniya Zemli iz kosmosa = Current Problems in Remote Sensing of the Earth from Space*, 2013, vol. 10, no. 3, pp. 21–32. (In Russ.)]
27. Померанцев Б.И. Иксодовые клещи (Ixodoidea) // Фауна СССР. Паукообразные. Т. 4, вып. 2. М.: Изд-во АН СССР, 1950. № 2. 223 с. [Pomerantsev B.I. Ixodid ticks (Ixodoidea). Fauna of the USSR. Arachnids. M.: AN SSSR Publishing, 1950, no. 2, 223 p. (In Russ.)]
28. Прислегина Д.А., Дубянский В.М., Куличенко А.Н. Особо опасные арбовирусные лихорадки на юге России: совершенствование мониторинга с применением современных информационных технологий // Медицина труда и экология человека. 2019. № 4. С. 50–58. [Prislegina D.A., Dubyansky V.M., Kulichenko A.N. Particular dangerous arbovirus fevers in the south of Russia: improvement of monitoring with modern information technology application. *Meditsina truda i ekologiya cheloveka = Occupational Health and Human Ecology*, 2019, no. 4, pp. 50–58. (In Russ.)] doi: 10.24411/2411-3794-2019-10047
29. Прислегина Д.А., Дубянский В.М., Малецкая О.В., Куличенко А.Н., Василенко Н.Ф., Манин Е.А., Ковальчук И.В. Крымская геморрагическая лихорадка в Ставропольском крае: современные клинико-эпидемиологические аспекты и новый подход к прогнозированию заболеваемости // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2018. № 3. С. 49–56. [Prislegina D.A., Dubyansky V.M., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N., Vasilenko N.F., Manin E.A., Kovalchuk I.V. Crimean-Congo hemorrhagic fever in the Stavropol Region: contemporary clinical and epidemiological aspects and new approach to forecasting of morbidity. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2018, no. 3, pp. 49–56. (In Russ.)] doi: 10.24411/2305-3496-2018-13007
30. Путинцева Е.В., Алексейчик И.О., Чеснокова С.Н., Удовиченко С.К., Бородай Н.В., Никитин Д.Н., Агаркова Е.А., Батурич А.А., Шпак И.М., Фомина В.К., Несговорова А.В., Смелянский В.П., Виктор Д.В., Топорков А.В. Результаты мониторинга возбудителя лихорадки Западного Нила в Российской Федерации в 2019 г. и прогноз развития эпидемической ситуации на 2020 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2020. № 1. С. 51–60. [Putintseva E.V., Alekseychik I.O., Chesnokova S.N., Udovichenko S.K., Boroday N.V., Nikitin D.N., Agarkova E.A., Baturin A.A., Shpak I.M., Fomina V.K., Nesgovorova A.V., Smelyansky V.P., Viktorov D.V., Toporkov A.V. Results of the West Nile Fever agent monitoring in the Russian Federation in 2019 and the forecast of epidemic situation development in 2020. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2020, no. 1, pp. 51–60. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2020-1-51-60

31. Путинцева Е.В., Липницкий А.В., Алексеев В.В., Смелянский В.П., Антонов В.А., Мананков В.В., Погасий Н.И., Злепко А.В., Чайка А.Н., Крючкова Т.П., Савченко С.Т., Жуков К.В. Распространение лихорадки Западного Нила в мире и Российской Федерации в 2010 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2011. № 1 (107). С. 38–41. [Putintseva E.V., Lipnitskiy A.V., Alekseev V.V., Smelyanskiy V.P., Antonov V.A., Manankov V.V., Pogasiy N.I., Zlepko A.V., Chaika A.N., Kryuchkova T.P., Savchenko S.T., Zhukov K.V. Dissemination of the West Nile Fever in the Russian Federation and in the world in 2010. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2011, no. 1 (107), pp. 38–41. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2011-1(107)-38-41
32. Рубцова И.Ю., Малькова И.Л. Заболеваемость клещевым энцефалитом и заклещевленность территории Удмуртии как результат воздействия природных и антропогенных факторов // Вестник Воронежского государственного университета. Серия «География. Геоэкология». 2017. № 1. С. 46–54. [Rubtsova I.Yu., Mal'kova I.L. The disease incidence of tick-borne encephalitis and concentration of ticks in Udmurtia as a result of the impact of natural and anthropogenic factors. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Geografiya. Geoekologiya. = Proceedings of Voronezh State University. Series Geography. Geoecology*, 2017, no. 1, pp. 46–54. (In Russ.)]
33. Рудаков Н.В., Рудакова С.А. Клещевые трансмиссивные инфекции Сибири. Практическое руководство. Омск: ООО ИЦ «Омский научный вестник», 2019. 146 с. [Rudakov N.V., Rudakova S.A. Tick-borne vector-borne infections of Siberia. Practical guide. *Omsk: LLC Omskiy nauchnyy vestnik Publishing Center*, 2019. 146 p. (In Russ.)]
34. Савицкая Т.А., Трифонов В.А., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Пакскина Н.Д., Серова И.В., Иванова А.В., Сафронов В.А., Попов Н.В. Обзор современной эпидемиологической обстановки по заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в мире и прогноз заболеваемости на территории Российской Федерации в 2019 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2019. № 2. С. 30–36. [Savitskaya T.A., Trifonov V.A., Isaeva G.S., Reshetnikova I.D., Pakschina N.D., Serova I.V., Ivanova A.V., Safronov V.A., Popov N.V. Review of the current epidemiological situation on the incidence of hemorrhagic fever with renal syndrome in the world and forecast of the incidence for the territory of the Russian Federation in 2019. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2019, no. 2, pp. 30–36. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2019-2-30-36
35. Сафронов В.А., Смоленский В.Ю., Смелянский В.П., Савченко С.Т., Раздорский А.С., Топорков В.П. Оценка динамики эпидемических проявлений лихорадки Западного Нила в Волгоградской области в зависимости от климатических условий, предшествующих началу эпидемического сезона // Вопросы вирусологии. 2014. Т. 59, № 6. С. 42–46. [Safronov V.A., Smolenskij V.Ju., Smeljanskiy V.P., Savchenko S.T., Razdorskij A.S., Toporkov V.P. Assessment of epidemic manifestations of the West Nile fever in the Volgograd region depending on the climatic conditions. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2014, vol. 59, no. 6, pp. 42–46. (In Russ.)]
36. Ткаченко Е.А., Дзагурова Т.К., Бернштейн А.Д., Коротина Н.А., Окулова Н.М., Мутных Е.С., Иванов А.П., Ишмухаметов А.А., Юничева Ю.В., Пиликова О.М., Морозов В.Г., Транквилевский Д.В., Городин В.Н., Бахтина В.А., Соцкова С.Е. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (история, проблемы и перспективы изучения) // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016. Т. 15, № 3. С. 23–34. [Tkachenko E.A., Dzagurova T.K., Bernshtein A.D., Korotina N.A., Okulova N.M., Mutnikh E.S., Ivanov A.P., Ishmukhametov A.A., Yunicheva Yu.V., Pilikova O.M., Morozov V.G., Trankvilevskiy D.V., Gorodin V.N., Bakhtina V.A., Sotskova S.E. Hemorrhagic fever with renal syndrome (history, problems and research perspectives). *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2016, vol. 15, no. 3, pp. 23–34. (In Russ.)]
37. Тохов Ю.М., Дегтярев Д.Ю., Дубянский В.М. Иксодовые клещи (морфология, медицинское значение, регуляция численности). Ставрополь: ИП Светличная С.Г., 2015. 84 с. [Tokhov Yu.M., Degtyarev D.Yu., Dubyanskiy V.M. Ixodid ticks (morphology, medical significance, population regulation). *Stavropol: Svetlichnaya S.G. Individual Entrepreneur*, 2015. 84 p. (In Russ.)]
38. Трифонова Т.А., Марцев А.А. Оценка и прогнозирование эпидемиологической обстановки по иксодовому клещевому боррелиозу во Владимирской области // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2016. № 1. С. 58–62. [Trifonova T.A., Martsev A.A. Evaluation and prognosis of epidemiologic situation for lyme borreliosis in Vladimir region. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2016, no. 1, pp. 58–62. (In Russ.)] doi: 10.36233/0372-9311-2016-1-58-62
39. Трухачев В.И., Тохов Ю.М., Луцук С.Н., Дылев А.А., Толоконников В.П., Дьяченко Ю.В. Распространение и экологическая характеристика иксодовых клещей рода Hyalomma в экосистемах Ставропольского края // Юг России: экология, развитие. 2016. Т. 11, № 2. С. 59–69. [Trukhachev V.I., Tokhov Yu.M., Lutsuk S.N., Dylev A.A., Tolokonnikov V.P., Dyachenko Yu.V. Distribution and ecological characteristics of Hyalomma ixodid ticks in the ecosystems of the Stavropol Region. *Yug Rossii: ekologiya, razvitie = South of Russia: Ecology, Development*, 2016, vol. 11, no. 2, pp. 59–69. (In Russ.)] doi: 10.18470/1992-1098-2016-2-59-69
40. Шестопалов Н.В., Шашина Н.И., Германт О.М., Пакскина Н.Д., Царенко В.А., Веригина Е.В., Бойко Л.С. Информационное письмо «Природно-очаговые инфекции, возбудителей которых передают иксодовые клещи, и их неспецифическая профилактика в Российской Федерации (по состоянию на 01.01.2019)» // Дезинфекционное дело. 2019. № 1 (107). С. 37–44. [Shestopalov N.V., Shashina N.I., Germant O.M., Pakschina N.D., Tsarenko V.A., Verigina E.V., Boyko L.S. Information letter “Natural and focal infections, which agents are passed by ixodic ticks, and their nonspecific preventive measures in the Russian Federation (on 01.01.2019)”. *Dezinfektsionnoe delo = Disinfection Affairs*, 2019, no. 1 (107), pp. 37–44.
41. Ahmed T., Hyder M.Z., Liaqat I., Scholz M. Climatic Conditions: conventional and nanotechnology-based methods for the control of mosquito vectors causing human health issues. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2019, vol. 16, no. 17, 3165 p. doi: 10.3390/ijerph16173165
42. Amini M., Hanafi-Bojd A.A., Asghari S., Chavshin A.R. The potential of West Nile virus transmission regarding the environmental factors Using Geographic Information System (GIS), West Azerbaijan Province, Iran. *J. Arthropod. Borne. Dis.*, 2019, vol. 13, no. 1, pp. 27–38.
43. Ansari H., Shahbaz B., Izadi S., Zeinali M., Tabatabaee S.M., Mahmoodi M., Holakouie Naieni K., Mansournia M.A. Crimean-Congo hemorrhagic fever and its relationship with climate factors in southeast Iran: a 13-year experience. *J. Infect. Dev. Ctries.*, 2014, vol. 8, no. 6, pp. 749–757. doi: 10.3855/jidc.4020
44. Chung W.M., Buseman C.M., Joyner S.N., Hughes S.M., Fomby T.B., Luby J.P., Haley R.W. The 2012 West Nile encephalitis epidemic in Dallas Texas. *JAMA*, 2013, vol. 310, no. 3, pp. 297–307. doi: 10.1001/jama.2013.8267

45. Cornel A.J., Jupp P.G., Blackburn N.K. Environmental temperature on the vector competence of *Culex univittatus* (Diptera: Culicidae) for West Nile virus. *J. Med. Entomol.*, 1993, vol. 30, no. 2, pp. 449–456. doi: 10.1093/jmedent/30.2.449
46. Crowder D.W., Dykstra E.A., Brauner J.M., Duffy A., Reed C., Martin E., Peterson W., Carrière Y., Dutilleul P., Owen J.P. West Nile Virus prevalence across landscapes is mediated by local effects of agriculture on vector and host communities. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 1: e55006. doi: 10.1371/journal.pone.0055006
47. Daniel M., Maly M., Danielova V., Kříž B., Nuttall P. Abiotic predictors and annual seasonal dynamics of *Ixodes ricinus*, the major disease vector of Central Europe. *Parasites and Vectors*, 2015, vol. 8, no. 1: 478. doi: 10.1186/s13071-015-1092-y
48. Deichmeister J.M., Telang A. Abundance of West Nile virus mosquito vectors in relation to climate and landscape variables. *J. Vector. Ecol.*, 2011, vol. 36, no. 1, pp. 75–85. doi: 10.1111/j.19487134.2011.00143.x
49. Epp T.Y., Waldner C.L., Berke O. Predicting geographical human risk of West Nile virus — Saskatchewan, 2003 and 2007. *Can. J. Public Health*, 2009, vol. 100, no. 5, pp. 344–348. doi: 10.1007/BF03405266
50. Estrada-Peña A., Vatansever Z., Gargili A., Buzgan T. An early warning system for Crimean-Congo haemorrhagic fever seasonality in Turkey based on remote sensing technology. *Geospat. Health*, 2007, vol. 2, no. 1, pp. 127–135. doi: 10.4081/gh.2007.261
51. Hahn M.B., Monaghan A.J., Hayden M.H., Eisen R.J., Delorey M.J., Lindsey N.P., Nasci R.S., Fischer M. Meteorological condition associated with increased incidence of West Nile virus disease in the United States, 2004–2012. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2015, vol. 92, no. 5, pp. 1013–1022. doi: 10.4269/ajtmh.14-0737
52. Hartley D.M., Barker C.M., Le Menach A., Niu T., Gaff H.D., Reisen W.K. Effects of temperature on emergence and seasonality of West Nile Virus in California. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2012, vol. 86, no. 5, pp. 884–894. doi: 10.4269/ajtmh.2012.11-0342
53. Hauser G., Rais O., Moran Cadenas F., Gonseth Y., Bouzelboudjen M., Gern L. Influence of climatic factors on *Ixodes ricinus* nymph abundance and phenology over a long-term monthly observation in Switzerland (2000–2014). *Parasites and Vectors*, 2018, vol. 11, no. 1: 289. doi: 10.1186/s13071-018-2876-7
54. Hönl V., Švec P., Marek L., Mrkvička T., Dana Z., Wittmann M.V., Masar O., Szturcová D., Růžek D., Pfister K., Grubhoffer L. Model of risk of exposure to Lyme borreliosis and tick-borne encephalitis virus-infected ticks in the border area of the Czech Republic (South Bohemia) and Germany (Lower Bavaria and Upper Palatinate). *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2019, vol. 16, no. 7: 1173. doi: 10.3390/ijerph16071173
55. Ippoliti C., Candeloro L., Gilbert M., Goffredo M., Mancini G., Curci G., Falasca S., Tora S., Di Lorenzo A., Quaglia M., Conte A. Defining ecological regions in Italy based on a multivariate clustering approach: a first step towards a targeted vector borne disease surveillance. *PLoS One*, 2019, vol. 14, no. 7: e0219072. doi: 10.1371/journal.pone.0219072
56. Jiang F., Wang L., Wang S., Zhu L., Dong L., Zhang Z., Hao B., Yang F., Liu W., Deng Y., Zhang Y., Ma Y., Pan B., Han Y., Ren H., Cao G. Meteorological factors affect the epidemiology of hemorrhagic fever with renal syndrome via altering the breeding and hantavirus-carrying states of rodents and mites: a 9 years' longitudinal study. *Emerg. Microbes. Infect.*, 2017, vol. 6, no. 11: e104. doi: 10.1038/emi.2017.92
57. Keyel A.C., Elison Timm O., Backenson P.B., Prussing C., Quinones S., McDonough K.A., Vuille M., Conn J.E., Armstrong P.M., Andreadis T.G., Kramer L.D. Seasonal temperatures and hydrological conditions improve the prediction of West Nile virus infection rates in *Culex* mosquitoes and human case counts in New York and Connecticut. *PLoS One*, 2019, vol. 14, no. 6: e0217854. doi: 10.1371/journal.pone.0217854
58. Kinney R.M., Huang C.Y.-H., Whiteman M.C., Bowen R.A., Langevin S.A., Miller B.R., Brault A.C. Avian virulence and thermostable replication of the North American strain of West Nile virus. *J. Gen. Virol.*, 2006, vol. 87, pt. 12, pp. 3611–3622. doi: 10.1099/vir.0.82299-0
59. Kjær L.J., Soleng A., Edgar K.S., Lindstedt H., Paulsen K.M., Andreassen A.K., Korslund L., Kjelland V., Slettan A., Stuen S., Kjellander P., Christensson M., Teräväinen M., Baum A., Klitgaard K., Bødker R. Predicting and mapping human risk of exposure to *Ixodes ricinus* nymphs using climatic and environmental data, Denmark, Norway and Sweden, 2016. *Euro. Surveill.*, 2019, vol. 24, no. 9: 1800101. doi: 10.2807/15607917.ES.2019.24.9.1800101
60. Kjær L.J., Soleng A., Edgar K.S., Lindstedt H.E.H., Paulsen K.M., Andreassen A.K., Korslund L., Kjelland V., Slettan A., Stuen S., Kjellander P., Christensson M., Teräväinen M., Baum A., Klitgaard K., Bødker R. Predicting the spatial abundance of *Ixodes ricinus* ticks in southern Scandinavia using environmental and climatic data. *Sci. Rep.*, 2019, vol. 9, no. 1: 18144. doi: 10.1038/s41598-019-54496-1
61. Li C.P., Cui Z., Li S.L., Magalhaes R.J., Wang B.L., Zhang C., Sun H.L., Li C.Y., Huang L.Y., Ma J., Zhang W.Y. Association between hemorrhagic fever with renal syndrome epidemic and climate factors in Heilongjiang Province, China. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2013, vol. 89, no. 5, pp. 1006–1012. doi: 10.4269/ajtmh.12-0473
62. Li Y., Cazelles B., Yang G., Laine M., Huang Z.X.Y., Cai J., Tan H., Stenseth N.C., Tian H. Intrinsic and extrinsic drivers of transmission dynamics of hemorrhagic fever with renal syndrome caused by Seoul hantavirus. *PLoS. Negl. Trop. Dis.*, 2019, vol. 13, no. 9: e0007757. doi: 10.1371/journal.pntd.0007757
63. Marcantonio M., Rizzoli A., Metz M., Rosà R., Marini G., Chadwick E., Neteler M. Identifying the environmental conditions favouring West Nile Virus outbreaks in Europe. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 3: e0121158. doi: 10.1371/journal.pone.0121158
64. Mostafavi E., Chinikar S., Bokaei S., Haghdoost A. Temporal modeling of Crimean-Congo hemorrhagic fever in eastern Iran. *Int. J. Infect. Dis.*, 2013, vol. 17, no. 7, pp. 524–528. doi: 10.1016/j.ijid.2013.01.010
65. Mostafavi E., Haghdoost A., Irani A.D., Bokaei S., Chinikar S. Temporal modeling of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iran. *Int. J. Infect. Dis.*, 2013, vol. 17, no. 7, pp. e524–e528. doi: 10.1016/j.ijid.2013.01.010
66. Paz S., Malkinson D., Green M.S., Tsioni G., Papa A., Danis K., Sirbu A., Ceianu C., Katalin K., Ferenczi E., Zeller H., Semenza J.C. Permissive summer temperatures of the 2010 European West Nile fever upsurge. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 2: e56398. doi: 10.1371/journal.pon.0056398
67. Platonov A.E., Fedorova M.V., Karan L.S., Shopenskaya T.A., Platonova O.V., Zhuravlev V.I. Epidemiology of West Nile infection in Volgograd, Russia, in relation to climate change and mosquito (Diptera: Culicidae) bionomics. *Parasitol. Res.*, 2008, vol. 103, no. 1, pp. 45–53. doi: 10.1007/s00436-008-1050-0
68. Platonov A.E., Tolpin V.A., Gridneva K.A., Titkov A.V., Platonova O.V., Kolyasnikova N.M., Busani L., Rezza G. The incidence of West Nile disease in Russia in relation to climatic and environmental factors. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2014, vol. 11, no. 2, pp. 1211–1232. doi: 10.3390/ijerph110201211

69. Reisen W.K., Fang Y., Martinez V.M. Effects of temperature on the transmission of West Nile virus by *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, 2006, vol. 43, no. 2, pp. 309–317. doi: 10.1603/00222585(2006)043[0309:EOTOTT]2.0.CO;2
70. Ruiz M.O., Chaves L.F., Hamer G.L., Sun T., Brown W.M., Walker E.D., Haramis L., Goldberg T.L., Kitron U.D. Local impact of temperature and precipitation on West Nile virus infection in *Culex* species mosquitoes in northeast Illinois, USA. *Parasit. Vectors*, 2010, vol. 3, no. 1: 19. doi: 10.1186/1756-3305-3-19
71. Shaman J., Day J.F., Stieglitz M. Drought induced amplification and epidemic transmission of West Nile virus in southern Florida. *J. Med. Entomol.*, 2005, vol. 42, no. 2, pp. 134–141. doi: 10.1093/jmedent/42.2.134
72. Stilianakis N.I., Syrris V., Petroligkis T., Pärt P., Gewehr S., Kalaitzopoulou S., Mourelatos S., Baka A., Pervanidou D., Vontas J., Hadjichristodoulou C. Identification of climatic factors affecting the epidemiology of human West Nile virus infections in Northern Greece. *PLoS One*, 2016, vol. 11, no. 9: e0161510. doi: 10.1371/journal.pone.0161510
73. Tian H.Y., Yu P.B., Luis A.D., Bi P., Cazelles B., Laine M., Huang S.Q., Ma C.F., Zhou S., Wei J., Li S., Lu X.L., Qu J.H., Dong J.H., Tong S.L., Wang J.J., Grenfell B., Xu B. Changes in rodent abundance and weather conditions potentially drive hemorrhagic fever with renal syndrome outbreaks in Xi'an, China, 2005–2012. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2015, vol. 9, no. 3: e0003530. doi: 10.1371/journal.pntd.0003530
74. Vescio F.M., Busani L., Mughini-Gras L., Khoury C., Avellis L., Taseva E., Rezza G., Christova I. Environmental correlates of Crimean-Congo haemorrhagic fever incidence in Bulgaria. *BMC Public Health*, 2012, no. 12: 1116. doi: 10.1186/1471-2458-12-1116
75. Wimberly M.C., Lamsal A., Giacomo P.C., Chuang T.W. Regional variation of climatic influences on West Nile Virus outbreaks in the United States. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2014, vol. 91, no. 4, pp. 677–684. doi: 10.4269/ajtmh.14-0239
76. Xiao H., Huang R., Gao L.D., Huang C.R., Lin X.L., Li N., Liu H.N., Tong S.L., Tian H.Y. Effects of humidity variation on the Hantavirus infection and hemorrhagic fever with renal syndrome occurrence in subtropical China. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2016, vol. 94, no. 2, pp. 420–427. doi: 10.4269/ajtmh.15-0486
77. Xiao H., Tian H.Y., Gao L.D., Liu H.N., Duan L.S., Basta N., Cazelles B., Li X.J., Lin X.L., Wu H.W., Chen B.Y., Yang H.S., Xu B., Grenfell B. Animal reservoir, natural and socioeconomic variations and the transmission of hemorrhagic fever with renal syndrome in Chenzhou, China, 2006–2010. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2014, vol. 8, no. 1: e2615. doi: 10.1371/journal.pntd.0002615
78. Yigit G.K. An example of tick-Crimean Congo hemorrhagic fever (CCHF) in Eflani district, Karabuk, Turkey. *Sci. Res. Essays*, 2011, vol. 6, no. 11, pp. 2395–2402. doi: 10.5897/SRE11.574
79. Zhao Q., Yang X., Liu H., Hu Y., He M., Huang B., Yao L., Li N., Zhou G., Yin Y., Li M., Gong P., Liu M., Ma J., Ren Z., Wang Q., Xiong W., Fan X., Guo X., Zhang X. Effects of climate factors on hemorrhagic fever with renal syndrome in Changchun, 2013 to 2017. *Medicine (Baltimore)*, 2019, vol. 98, no. 9: e14640. doi: 10.1097/MD.00000000000014640

Авторы:

Прислегина Д.А., к.м.н., научный сотрудник лаборатории эпидемиологии, ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия; ФБУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия; **Дубянский В.М.**, д.б.н., зав. отделом эпизоотологического мониторинга и прогнозирования, ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия; ФБУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия; **Платонов А.Е.**, д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологии природно-очаговых инфекций ФБУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия; **Малецкая О.В.**, д.м.н., профессор, зам. директора по научной и противоэпидемической работе ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия.

Authors:

Prislegina D.A., PhD (Medicine), Researcher, Laboratory of Epidemiology, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russian Federation; Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation; **Dubyanskiy V.M.**, PhD, MD (Biology), Head of the Department of Epizootological Monitoring and Prognostication, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russian Federation; Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation; **Platonov A.E.**, PhD, MD (Biology), Professor, Head Researcher, Laboratory of Zoonoses, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation; **Maletskaya O.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Deputy Director for Scientific and Anti-Epidemic Work, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russian Federation.

Поступила в редакцию 09.11.2020
Отправлена на доработку 10.01.2021
Принята к печати 27.03.2021

Received 09.11.2020
Revision received 10.01.2021
Accepted 27.03.2021

АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ СРЕДСТВА ТЕРАПИИ ПЕРВИЧНЫХ ВИРУСНЫХ ПНЕВМОНИЙ

М.Ю. Щелканов^{1,2,3,4}, А.В. Цыбульский², В.Г. Дедков⁵, И.В. Галкина², В.В. Малеев⁶

¹ ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия

² Дальневосточный федеральный университет (Школа наук о жизни и биомедицины), г. Владивосток, Россия

³ Федеральный научный Центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения РАН, г. Владивосток, Россия

⁴ Национальный научный Центр морской биологии Дальневосточного отделения РАН, г. Владивосток, Россия

⁵ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

⁶ Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии, Москва, Россия

Резюме. Пандемия COVID-19, начавшаяся в марте 2020 г., вновь привлекла внимание к проблеме терапии первичных вирусных пневмоний (ПВП), когда поражение тканей нижних отделов респираторного тракта, включая функционально важные альвеолы, происходит в результате инфицирования клеток патогенами из царства *Virae*. В то время как лечение пневмоний бактериальной этиологии опирается на базовый подход, связанный с применением антибиотиков (эффективность которых требуется все чаще верифицировать в связи с «проклятием эффекта резистентности» — однако это не отменяет существование базового подхода), эффективное лечение ПВП осуществимо лишь при наличии этиотропных противовирусных препаратов, которых катастрофически недостаточно. В случае вируса гриппа А (*Articulavirales: Orthomyxoviridae, Alphainfluenzavirus*) этиотропные препараты известны со второй половины прошлого века. Однако консенсус среди клиницистов отсутствует по отношению к особо опасным коронавирусам (*Nidovirales: Coronaviridae, Betacoronavirus*) человека, под эгидой опасности которых развивается мировая эпидемиология XXI века: SARS-CoV (подвид *Sarbecovirus*), MERS-CoV (*Merbecovirus*), SARS-CoV-2 (*Sarbecovirus*). И следует готовиться к тому, что увеличение плотности населения и масштабирование процессов антропогенного воздействия на экосистемы увеличивает вероятность преодоления межвидовых барьеров природно-очаговыми вирусами и их проникновения в человеческую популяцию с неблагоприятными эпидемическими последствиями. Поэтому терапия ПВП уже в ближайшее время должна получить системное развитие. Платформой для разработки такой системы могли бы стать антимикробные пептиды (АМП), представляющие собой элементы неспецифического врожденного иммунитета к широкому кругу инфекционных патогенов: бактерий, микроскопических грибов и вирусов. В представленном обзоре обосновывается выбор указанной платформы и приводятся известные примеры успешного использования АМП в лечении ПВП и связанных с ними патологических состояний.

Ключевые слова: респираторное заболевание, пневмония, первичная вирусная пневмония, антимикробные пептиды, врожденный иммунитет, коронавирусы, COVID-19.

Адрес для переписки:

Щелканов Михаил Юрьевич
690922, Россия, г. Владивосток, о. Русский, п. Аякс, 10,
Дальневосточный федеральный университет.
Тел.: 8 924 529-71-09, 8 903 268-90-98.
E-mail: adorob@mail.ru

Contacts:

Mikhail Yu. Shchelkanov
690922, Russian Federation, Vladivostok, Russky Island, Ajax Bay, 10,
Far Eastern Federal University.
Phone: +7 924 529-71-09, +7 903 268-90-98.
E-mail: adorob@mail.ru

Для цитирования:

Щелканов М.Ю., Цыбульский А.В., Дедков В.Г., Галкина И.В., Малеев В.В.
Антимикробные пептиды как перспективные средства терапии
первичных вирусных пневмоний // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11,
№ 5. С. 837–852. doi: 10.15789/2220-7619-APA-1595

Citation:

Shchelkanov M.Yu., Cybulsky A.V., Dedkov V.G., Galkina I.V., Maleev V.V.
Antimicrobial peptides as promising drugs for treatment of primary viral
pneumonia // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet,
2021, vol. 11, no. 5, pp. 837–852. doi: 10.15789/2220-7619-APA-1595

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 18-29-09060 «Изучение интерферонов статуса, а также уровня экспрессии генов p53 и gadd45g у животных с лейкозом и раком молочной железы при проведении экспериментальной терапии препаратами рекомбинантных интерферонов I–II–III типов и индукторами интерферона на основе двуцепочечных РНК и ДНК» и 20-04-60212 «Комплексный эколого-вирусологический мониторинг коронавирусов в экосистемах Дальнего Востока».

This work was supported by RFBR grants 18-29-09060 «The study of the interferon status, as well as the level of expression of p53 and gadd45g genes, in animals with leukemia and breast cancer during experimental therapy with preparations of recombinant interferons I–II–III types and interferon inducers based on double-stranded RNA and DNA» and 20-04-60212 «Integrated ecological and virological monitoring of coronaviruses in the ecosystems of the Far East».

ANTIMICROBIAL PEPTIDES AS PROMISING DRUGS FOR TREATMENT OF PRIMARY VIRAL PNEUMONIA

Shchelkanov M.Yu.^{a,b,c,d}, Cybulsky A.V.^b, Dedkov V.G.^c, Galkina I.V.^b, Maleev V.V.^f

^a G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Vladivostok, Russian Federation

^b Far-Eastern Federal University, Vladivostok (School of Life Science and Biomedicine), Vladivostok, Russian Federation

^c Federal Scientific Center of East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation

^d National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation

^e St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

^f Central Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Rospotrebnadzor, Moscow, Russian Federation

Abstract. The COVID-19 pandemic which began in March 2020 has again drawn attention to the problem of treating primary viral pneumonia (PVP), wherein damage to the tissues of the lower respiratory tract including functionally important alveolocytes occurs as a result of cell infection by pathogens of the Virae Kingdom. Whereas treatment of bacterial pneumonia is based on the basic approach related to the use of antibiotics (which effectiveness needs to be verified more often than ever due to the “curse of the resistance effect” — that, however, does not cancel the essence of the basic approach), efficient PVP treatment is feasible only in case of available etiotropic, but catastrophically few, drugs. Such drugs in case of the influenza A virus (*Articulavirales: Orthomyxoviridae, Alphainfluenzavirus*) have been known since the second part of the XXth century. However, no consensus was achieved among clinicians regarding particularly dangerous human coronaviruses (*Nidovirales: Coronaviridae, Betacoronavirus*) which threat has driven the world epidemiology in the XXIst century: SARS-CoV (subgenus *Sarbecovirus*), MERS-CoV (*Merbecovirus*), SARS-CoV-2 (*Sarbecovirus*). And we should be prepared to the fact that increase in population density and scaling up of anthropogenic impact on ecosystems elevates a probability of overcoming interspecies barriers by natural focal viruses and their penetration into the human population with adverse epidemic consequences. Therefore, PVP therapy should be developed systematically in the nearest future. Antimicrobial peptides (AMP) as the components of non-specific innate immunity against a wide range of infectious pathogens: bacteria (Bacteria), microscopic fungi (Fungi) and viruses (Virae) may serve as a platform for developing such system. Our review justifies a way to select such platform and provides well-known examples of successfully used AMP in treatment of PVP and related pathological conditions.

Key words: respiratory disease, pneumonia, primary viral pneumonia, antimicrobial peptides, innate immunity, coronaviruses, COVID-19.

Респираторный тракт у всех млекопитающих осуществляет жизненно важную функцию газообмена и одновременно с этим представляет собой открытые ворота для проникновения различного рода патогенов. Одним из наиболее опасных осложнений острых респираторных заболеваний является пневмония — поражение тканей легких и развитие в них воспалительных процессов [22]. С этиологической точки зрения пневмонии можно разделить на две основные группы: вызванные патогенами бактериальной или вирусной этиологии. При этом, первичные вирусные пневмонии (ПВП) в отсутствие адекватного лечения, как правило, продолжаются в форме вторичных бактериальных пневмоний; и наоборот — первичные бактериальные пневмонии могут сопровождаться вирусными инфекциями [6, 13, 21, 22].

Лечение пневмоний бактериальной этиологии опирается на базисный подход, связанный с применением антибиотиков. Эффективность этого подхода нуждается в постоянной верификации вследствие появления и дальнейшего распространения резистентных бактериальных вариантов. Однако это не отменяет существование базисного подхода. Эффективное лечение ПВП осуществимо лишь при выполнении двух обязательных условий: 1) наличия этиотропных

препаратов; 2) отсутствия у актуального вирусного штамма устойчивости к применяемому этиотропному препарату. Например, против вируса гриппа А (*Articulavirales: Orthomyxoviridae, Alphainfluenzavirus*) в конце 1960-х гг. был разработан этиотропный препарат Ремантадин (производное адамантана), ингибирующий активность ионных каналов, которые формируются (M2)₄-тетрамерами вирусного белка M2 [2, 16, 29]. Однако уже к концу XX века эпидемические штаммы вируса гриппа А оказались в большинстве своем (70–90%) резистентны к Ремантадину вследствие мутаций в седьмом генетическом сегменте, кодирующем M2 [32]. Пандемический (2009–2010 гг.) вариант вируса гриппа А(H1N1) pdm09 с самого момента своего формирования в результате реассортации двух свиных генотипов этого вируса обладал резистентностью к Ремантадину [11, 13]. Однако к этому времени уже был внедрен этиотропный противогриппозный препарат Озельтамивир [5], который был эффективен против вируса гриппа А(H1N1) pdm09 [11, 13], но даже это не исключило развитие летальных ПВП как в эпидсезоне 2009–2010 гг. (когда противопандемический компонент в составе противогриппозной вакцины отсутствовал) [12, 15], так и в постпандемический период периоды [9, 10, 14].

Начало XXI века прошло под эгидой эпидемической опасности со стороны ПВП, этиологически связанных с коронавирусами (*Nidovirales: Coronaviridae, Betacoronavirus*) тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV — Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus) (подрод *Sarbecovirus*) [23, 28], ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV — Middle East respiratory syndrome-related coronavirus) (*Merbecovirus*) [24, 25], тяжелого острого респираторного синдрома 2-го типа (SARS-CoV-2 — Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2) (*Sarbecovirus*) [26, 30]. Особенно тяжелая ситуация сложилась с лечением COVID-19, связанным с SARS-CoV-2, который получил пандемическое распространение: на начальном этапе не только отсутствовал единый протокол, но и появился «мутный поток» малоэффективных препаратов, применение которых даже в терапии off-label вызывало сомнения у медицинского сообщества [26].

Вместе с тем следует готовиться к тому, что увеличение плотности населения и масштабирование процессов антропогенного воздействия на экосистемы увеличивает вероятность преодоления межвидовых барьеров природно-очаговыми вирусами и их проникновения в человеческую популяцию с неблагоприятными эпидемическими последствиями. Поэтому терапия ПВП уже в ближайшее время должна получить системное развитие. Платформой для разработки такой системы могли бы стать антимикробные пептиды (АМП), которые представляют собой пептидные молекулы из 10–150 аминокислотных остатков (а.о.) (чаще всего — 12–30 а.о.) и являются элементами неспецифического врожденного иммунитета к широкому кругу инфекционных патогенов: бактерий, микроскопических грибов и вирусов.

Пептидами по своему химическому составу являются и некоторые антибиотики, нарушающие целостность и функционирование мембран: например, грамицидин {A, B, CD, D, S}^{1,2} [20, 55], полимиксины [51]. Однако, в отличие от антибиотиков, АМП не только имеют бо-

лее широкий спектр применения³ (они эффективны в том числе и против вирусов), но и обладают более разнообразными биологическими эффектами⁴ и механизмами действия (табл.), многие из которых микроорганизмам крайне сложно компенсировать путем формирования резистентных⁵ вариантов [17, 35, 41, 46, 48].

По-видимому, АМП являются настолько древним и универсальным механизмом противодействия инфекциям, что встречаются у всех живых организмов. В настоящее время, АМП обнаружены у прокариот [68, 76, 99], растений [19, 56, 102], беспозвоночных [83, 94, 101] и позвоночных [80, 92, 106], включая человека [50, 92]. При этом в многоклеточных организмах практически все ткани способны продуцировать АМП в ответ на инфекцию, однако в различных компартментах организма имеется свой спектр АМП [92]. Колоссальные возможности открываются при изучении АМП морских беспозвоночных [47, 71, 79]: например, отечественный противовирусный препарат Ингавирин® [4, 7, 8] представляет собой аналог псевдопептида из нервной ткани морского зайца (*Aplysia californica*) — брюхоногого моллюска (*Gastropoda: Opisthobranchia, Aplysiidae*).

АМП синтезируются из L- или D-а.о.⁶ либо на рибосомах в составе более протяженных полипротеинов-предшественников с их последующим протеолизом и посттрансляционной модификацией (гликозилированием, фосфорилированием, галогенированием и т. п.) [17, 63], либо в крупных ферментных каскадах, в которых могут формироваться непротеиногенные аминокислотные остатки: например, ванкомицин [58], полимиксины [103].

Подавляющее большинство АМП амфипатичны, т. е. у них имеется гидрофобный и гидрофильный концы, благодаря чему такие молекулы могут взаимодействовать как с гидрофобными структурами (в частности, липидными мембранами), так и с физиологическими жидкостями. Чаще всего АМП заряжены положительно (т. е. являются катионными пептидами). Однако и анионные АМП имеют важ-

¹ Здесь и далее фигурные скобки заключают в себе вариативные компоненты термина: например, грамицидин {A, B} означает «грамицидин А и грамицидин В».

² Грамицидин S (от англ. Soviet — Советский), выделенный в 1942 г. в СССР из культуры *Bacillus brevis* var. G.B. [55], в русскоязычной литературе часто именуется «грамицидин С».

³ В специализированных базах данных — ADAM (A Database of AntiMicrobial peptides), APD (Antimicrobial Peptide Database), BioPD (Biologically active Peptide Database), CAMP (Collection of sequences and structures of AntiMicrobial Peptides), DBAASP (Database of Antimicrobial Activity and Structure of Peptides), LAMP (Linking AntiMicrobial Peptides) — представлено 190 антивирусных, 1153 противогрибковых и 2677 антибактериальных пептидов.

⁴ Описанные в настоящее время направления биологической активности АМП: 1) антибактериальная; 2) противогрибковая; 3) противовирусная; 4) противоопухолевая; 5) гемолитическая; 6) токсин-нейтрализующая (в том числе — в отношении бактериальных эндотоксинов); 7) антипаразитарная; 8) спермицидная; 9) инсектицидная; 10) хемотактическая; 11) ранозаживляющая; 12) антиоксидантная; 13) фермент-ингибирующая [3, 50, 63, 91, 99].

⁵ Более того, АМП рассматриваются как наиболее реальная возможность преодоления антибиотикорезистентности патогенных бактерий, в том числе — наиболее опасной мультирезистентности [17, 42, 82, 88].

⁶ В некоторых АМП правильное расположение L- и D-а.о. имеет принципиальное значение: например, грамицидин А, проникая в мембрану, сворачивается в спираль, в которой СО-группы чередующихся L- и D-а.о. направлены в разные стороны, что открывает поры диаметром 0,5–0,8 нм [20, 90].

ное биологическое значение: например, дермцидин, продуцируемый потовыми железами, играет заметную роль в антимикробной защите кожи [3, 104]; SP-{A, D} в составе легочного сурфактанта участвуют не только в противомикробной защите, но и в снижении поверхностного натяжения жидкости, заполняющей альвеолы, что препятствует их схлопыванию [22, 59]. Методы биоинформационного анализа и ЯМР-спектроскопии позволяют выделить 4 основных типа конформации АМП: 1) линейный пептид; 2) петлевой пептид, в котором замыкания формируются дисульфидными связями; 3) α -спираль; 4) β -складка, стабилизируемая дисульфидными связями [17, 20, 63, 70].

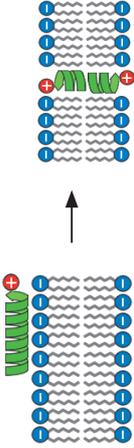
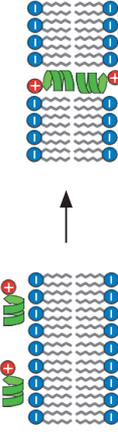
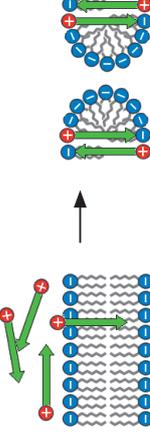
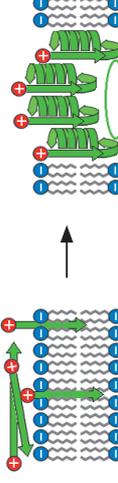
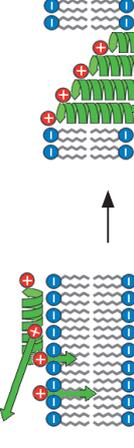
Катионные АМП могут взаимодействовать с отрицательно заряженными макромолекулами (ДНК, РНК, полисахаридами) и клеточными стенками прокариот, имеющих отрицательный поверхностный заряд из-за большого количества кислых фосфолипидов [34]. Эукариотические клетки содержат на своей поверхности гораздо меньшее количество фосфолипидов и других отрицательно заряженных молекул, а наличие активного ионного транспорта приводит к возникновению трансмембранного потенциала, или потенциала Нернста, положительного для внешней поверхности. Разность потенциалов составляет 30–100 мВ [1], однако градиент электрического поля, учитывая толщину мембраны в 5–10 нм, составляет значительную величину порядка 60–200 кВ/см. Это повышает селективность действия катионных АМП по отношению к бактериям, а также объясняет присутствие отрицательно заряженных полисахаридов и анионных белков в составе отделяемого слизистой, покрывающего респираторный тракт, и легочного сурфактанта, находящегося на поверхности альвеоцитов.

Оболочечные вирусы, захватывающие фрагмент липидного бислоя у хозяйской клетки [2, 16], не в состоянии поддерживать активный ионный транспорт, и потенциал Нернста спадает до нуля. Некоторые оболочечные вирусы содержат среди структурных белков виропорины, формирующие ионные каналы — например, (M2)₄ вируса гриппа А [31] или E₅ коронавирусов [28], — однако они не предназначены для поддержания трансмембранного потенциала: ионный канал, сформированный (M2)₄, открывается после проникновения вируса в цитоплазму клетки-мишени в составе эндосомы после ее закисления [29], а присутствие незначительного количества E₅ в вирионе коронавирусов является артефактом его сборки [24, 26]. Липидная оболочка вирионов имеет отрицательный электрический заряд, что облегчает им первичные дорецепторные этапы взаимодействия с клеткой-мишенью. Электростатический механизм

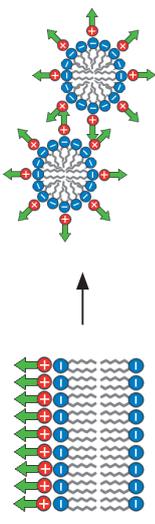
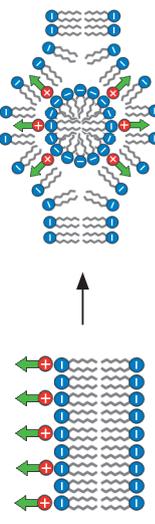
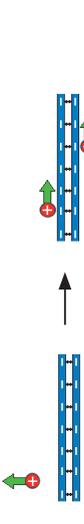
первичной адсорбции вирионов на поверхности потенциальной хозяйской клетки [33, 43, 53] является, по-видимому, настолько универсальным, что для подавляющего большинства вирусов (как оболочечных, так и безоболочечных) значения изоэлектрических точек (pI) их вирионов лежат в диапазоне 3,5–7,0 [67] — это эквивалентно наличию на поверхности отрицательного заряда при физиологических pH. В частности, для эпидемически актуального коронавируса тяжелого острого респираторного синдрома 2-го типа (SARS-CoV-2 — severe acute respiratory syndrome-related virus 2) (*Nidovirales: Coronaviridae, Betacoronavirus*, подрод *Sarbecovirus*) [26, 30] pI спайкового белка S, тримеры которого формируют наиболее заметные булавовидные пепломеры на поверхности вириона и осуществляют рецепторное взаимодействие [18, 26], равно 6,2 (*in silico*) [78] и 5,3 (после гликозилирования) [62].

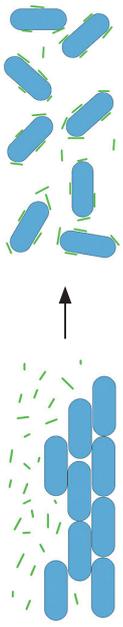
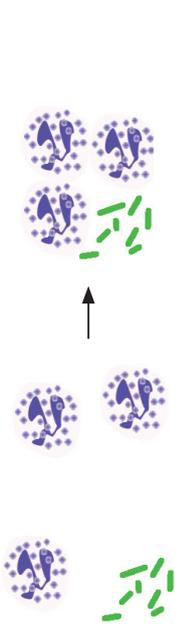
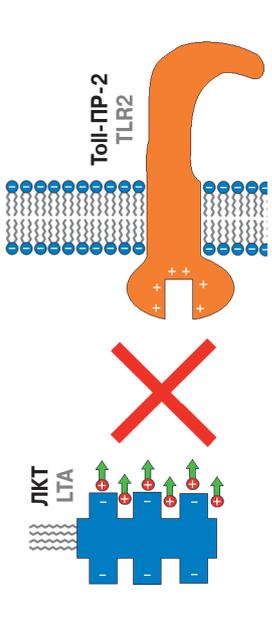
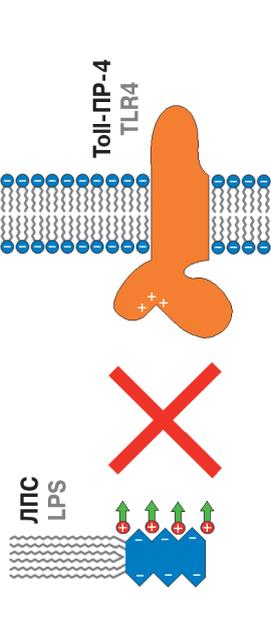
Таким образом, катионные АМП, нарушающие целостность липидных мембран, могут быть использованы против оболочечных вирусов. Исключение составляют те АМП, которые формируют в липидном бислое ионные каналы (табл.), поскольку оболочки вирионов тесно взаимодействуют с обращенными к ним гидрофобными фрагментами нуклеокапсида [2, 16], препятствуя формированию сквозного канала после сборки вириона. Примером катионного АМП с выраженной способностью разрушать оболочечные вирионы является мелиттин — 26-членный пептид (GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRGG), состоящий из двух α -спиральных фрагментов с «пролиновым разрывом» и положительно заряженной C-концевой «головкой» [81], — основной компонент (40–50% сухой массы) пчелиного яда [66]. В физиологических условиях мелиттин формирует тетрамеры, которые эффективно дестабилизируют липидные бислои, лишённые положительного потенциала. Поскольку физиологические процессы в инфицированной клетке переориентируются на продукцию вирусных белков, активность ионных насосов постепенно ослабевает, положительный трансмембранный потенциал снижается и мелиттин начинает лизировать, в первую очередь, инфицированные клетки. Противовирусная активность мелиттина показана в отношении как оболочечных, так и безоболочечных вирусов: аренавирусов (*Bunyavirales: Arenaviridae*) [36], виргавирусов (*Martellivirales: Virgaviridae*) [64], герпесвирусов (*Herpesvirales: Herpesviridae*) [98], ортомиксовирусов (*Articulavirales: Orthomyxoviridae*) [84], пикорнавирусов (*Picornavirales: Picornaviridae*) [84], пневмовирусов (*Mononegavirales: Pneumoviridae*) [84], рабдовирусов (*Mononegavirales: Rhabdoviridae*) [52], ретровирусов (*Ortervirales: Retroviridae*) [57, 89], флавивирусов (*Amarillovirales: Flaviviridae*) [74].

Таблица. Механизмы действия антимикробных пептидов (АМП)
Table. Mechanisms of action for antimicrobial peptides (AMPs)

| Взаимодействие АМП с клеткой-мишенью AMP interaction with target cell | | Механизм взаимодействия с клеткой-мишенью Mechanism of interaction with target cell | | Ссылка Reference |
|---|--|---|---|---------------------|
| Тип Type | Название модели Title of the model | Описание Description | Иллюстрация Illustration | |
| Нарушение целостности цитоплазматической мембраны Altered cytoplasmic membrane integrity | «Длинный туннель» "Long tunnel" | Ионный канал формируется единственной молекулой АМП, которая, встраиваясь в липидный бислой, принимает форму α -спирали и своей внутренней полостью связывает внутри- и внеклеточное пространство The ion channel is formed by a single AMP molecule, which embedded into the lipid bilayer, adapts an α -helix and its internal cavity connects the intra- and extracellular space |  | [3] |
| | «Стыковочный туннель» "Connecting tunnel" | Ионный канал формируется двумя молекулами АМП, которые формируют α -спирали в слое липидов и, взаимодействуя торцами этих α -спиралей, образуют единую внутреннюю полость, связывающую внутри- и внеклеточное пространство The ion channel is formed by two AMP molecules that form α -helices in the lipid layer and interact with the ends of these α -helices to form a single internal cavity that connects the intra- and extracellular space |  | [90] |
| | «Тороидальная пора» "Toroidal pore" | АМП формируют в липидном бислое его «гидрофобный сгиб», обрамляющий пору AMPs form a "hydrophobic fold" in the lipid bilayer that enframes the pore |  | [48] |
| | «Стенки бочонка» "Barrel walls" | АМП формируют стенки поры подобно стенке бочонка «без дна» и покрышки AMPs form the a barrel-like pore walls "lacking bottom and lid" |  | [48] |
| | «Тонущий плот» "Sinking raft" | Гидрофобные «хвосты» нескольких АМП, погруженные в липидный бислой, агрегируются и теряют растворимость в липидном окружении, создавая локальный дефект мембраны Hydrophobic "tails" of several AMPs immersed in the lipid bilayer aggregate and lose solubility in the lipid environment creating a local membrane defect |  | [82] |

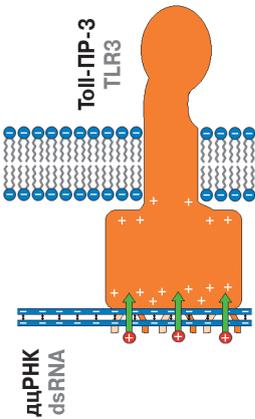
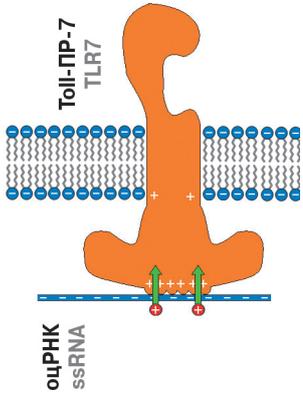
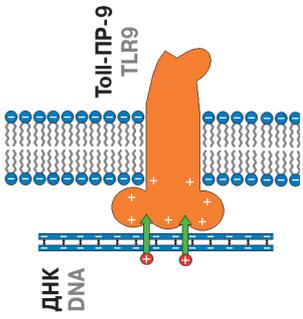
Продолжение таблицы. Механизмы действия антимикробных пептидов (АМП)
 Table. Mechanisms of action for antimicrobial peptides (AMPs) (continued)

| Взаимодействие АМП с клеткой-мишенью AMP interaction with target cell | | Механизм взаимодействия с клеткой-мишенью Mechanism of interaction with target cell | | Ссылка Reference |
|---|---|---|--|---------------------|
| Тип Type | Название модели Title of the model | Описание Description | Иллюстрация Illustration | |
| Нарушение целостности цитоплазматической мембраны Altered cytoplasmic membrane integrity | «Рвущий ковер» "Torn carpet" | АМП покрывают поверхность участка мембраны сплошным ковром и «разрывают» его на отдельные мицеллы AMPs cover the surface of the membrane region with a solid carpet and "disrupt" it into separate micelles |  | [56] |
| | «Внутренняя мицелла» "Internal micelle" | АМП формируют внутренний дефект в виде двуслойной мицеллы, нарушающей бислойную структуру мембраны AMPs form an internal defect in the form of a two-layer micelle that alters the membrane bilayer structure |  | [82] |
| Влияние на клеточную физиологию Influence on cell physiology | Связывание с ДНК DNA binding | АМП связываются с ядерной ДНК и нарушают процессы репликации и транскрипции AMPs bind to nuclear DNA and disrupt replication and transcription processes |  | [40] |
| | Связывание с РНК RNA binding | АМП связываются с цитоплазматической РНК и нарушают процесс трансляции AMPs bind to cytoplasmic RNA and disrupt the translation process |  | [40] |
| | Связывание с клеточными ферментами Binding to cell enzymes | АМП связываются с внутриклеточными ферментами и ингибируют их активность AMPs bind to intracellular enzymes to inhibit their activity |  | [3] |
| | «Внутренний деструктор» "Internal destructor" | АМП связываются с внутренними мембранами и нарушают их целостность по описанному выше механизму, препятствуя течению процессов нормальной клеточной физиологии AMPs bind to internal membranes and alter their integrity by the mechanisms described above and preventing ongoing normal cell physiology | см. выше механизмы дестабилизации внешней мембраны mechanisms of outer membrane destabilization see above | [82] |

| Взаимодействие АМП с клеткой-мишенью AMP interaction with target cell | | Механизм взаимодействия с клеткой-мишенью Mechanism of interaction with target cell | | Ссылка Reference |
|---|---|---|---|---------------------|
| Тип Type | Название модели Title of the model | Описание Description | Иллюстрация Illustration | |
| Модуляция межклеточных взаимодействий Modulation of intercellular interactions | Разрушение биопленок Destruction of biofilms | АМП связываются с молекулами клеточной адгезии и либо препятствуют формированию новых, либо разрушают существующие биопленки AMPs bind to cell adhesion molecules and either prevent their <i>de novo</i> formation or destroy existing biofilms |  | [105] |
| | Хемоаттракция Chemoattracting | АМП выступают в качестве хемоаттрактантов, привлекающих определенные субпопуляции иммунных клеток AMPs act as chemoattractants to recruit certain immune cell subpopulations |  | [97] |
| Модуляция активации Toll-подобных рецепторов Modulation of Toll-like receptor activation | «Выключение Toll-ПР-2» “TLR2 off” | АМП взаимодействуют с липотейхоевыми кислотами (ЛТК) и предотвращают их связывание с Toll-подобными рецепторами 2-го типа (Toll-ПР-2), препятствуя развитию воспаления AMPs interact with lipoteichoic acids (LTA) and abrogate their binding to Toll-like receptors 2 (TLR2) by preventing inflammation development |  | [86] |
| | «Выключение Toll-ПР-4» “TLR4 off” | АМП взаимодействуют с липополисахаридами (ЛПС) и предотвращают их связывание с Toll-подобными рецепторами 4-го типа (Toll-ПР-4), препятствуя развитию воспаления AMPs interact with lipopolysaccharides (LPS) and abrogate their binding to Toll-like receptors 4 (TLR4) by preventing inflammation development |  | [86] |

Окончание таблицы. Механизмы действия антимикробных пептидов (АМП)

Table. Mechanisms of action for antimicrobial peptides (AMPs) (continued)

| <p>Взаимодействие АМП с клеткой-мишенью AMP interaction with target cell</p> | <p>Механизм взаимодействия с клеткой-мишенью Mechanism of interaction with target cell</p> | <p>Ссылка Reference</p> |
|--|--|---|
| <p>Тип Type</p> | <p>Описание Description</p> | <p>Иллюстрация Illustration</p> |
| <p>«Стабилизация комплекса Toll-PP-3-дцРНК» "Stabilization of TLR3 dsRNA complex"</p> | <p>АМП взаимодействуют с двуцепочечными РНК (дцРНК) и с Toll-подобными рецепторами 3-го типа (Toll-PP-3), стабилизируя комплекс дцРНК-Toll-PP-3 AMPs interact with double-stranded RNAs (dsRNAs) as well as Toll-like type 3 receptor (TLR3) by stabilizing the dsRNA-TLR3 complex</p> |  |
| <p>«Стабилизация комплекса Toll-PP-7-оцРНК» "Stabilization of TLR7 ssRNA complex"</p> | <p>АМП взаимодействуют с одноцепочечными РНК (оцРНК) и с Toll-подобными рецепторами 7-го типа (Toll-PP-7), стабилизируя комплекс оцРНК-Toll-PP-7 AMPs interact with single-stranded RNAs (ssRNAs) as well as Toll-like receptors 7 (TLR7) by stabilizing the ssRNAs-TLR7 complex</p> |  |
| <p>Модуляция активации Toll-подобных рецепторов Modulation of Toll-like receptor activation</p> | <p>АМП взаимодействуют с фрагментами ДНК, содержащими большое количество CpG (метилированных динуклеотидов цитозин-гуанин), и с Toll-подобными рецепторами 9-го типа (Toll-PP-9), стабилизируя комплекс ДНК-Toll-PP-9 AMPs interact with DNA fragments containing large amounts of CpG (methylated cytosine-guanine dinucleotide) as well as Toll-like receptors 9 (TLR9) by stabilizing the DNA-TLR9 complex</p> |  |

Побочным действием мелиттина является его цитолитическая активность, однако, во-первых, она проявляется при достаточно высокой концентрации этого АМП, а во-вторых — в условиях *in vivo* здоровые слизистые защищены отрицательно заряженными полисахаридами и анионными АМП в составе отделяемого слизистой и легочного сурфактанта [66].

Преимуществом (но одновременно — и сложностью) применения АМП является проявление их биологической активности на различных уровнях системной организации. Например, мелиттин, помимо прямого противовирусного действия, активирует системы воспроизведения простагландинов в артериальных стенках, что приводит к увеличению активности простаглицина, расширяющего кровеносные сосуды [54, 85]. Кроме того, мелиттин нарушает процесс тромбообразования, угнетая активность тромбопластина и вызывая денатурацию фибриногена [73, 75]. В случае тяжелых ПВП, этиологически связанных, например, с вирусом гриппа А(H1N1)pdm09 [13, 27], SARS-CoV [23, 28], MERS-CoV [24, 25] или с SARS-CoV-2 [18, 26], спадение и тромбоз сосудов являются важными элементами патогенеза. В этих случаях сосудорасширяющее и противотромботическое действие мелиттина может иметь положительный эффект. В научной литературе имеются описания технологий доставки АМП в смеси с элементами сурфактанта в дистальные отделы респираторного тракта, в том числе — и в области коллапса легкого [38].

Некоторые АМП способны нейтрализовать вирусы, взаимодействуя со структурными белками, принимающими участие в проникновении вируса в клетку-мишень. Например, 16-мерный флулуп (WLVEFFVIFYFFRRRKK) связывается с вирусным гемагглютинином, препятствуя его взаимодействию с клеточными рецепторами — сиалозидами (полисахаридами, терминированными остатком сиаловой кислоты) [37]. Такие АМП по механизму своего действия сближаются с нейтрализующими антителами, точнее — с минимально возможными в структурном отношении миниантителами, воспроизводящими эффекторные части легких или тяжелых цепей Fab-фрагментов нейтрализующих антител [2, 16]. Современные молекулярно-генетические технологии позволяют выявлять подобные олигопептиды на основе анализа мРНК тяжелых и легких цепей нейтрализующих моноклональных антител и получать их затем путем химического синтеза.

Другим подходом к конструированию АМП, препятствующих проникновению вируса в клетку, может являться воспроизведение фрагментов вирусных белков, которые, обладая более высоким коэффициентом диффузии, могли бы эффективно конкурировать с вирионами за связывание с клеточными рецепторами или за иницирование фузии вирусной и клеточной мембран. Исследования в этом направлении активизированы в отношении SARS-CoV-2: к середине 2020 г. в базе данных DBAASP (<https://dbaasp.org>) или представлены уже 13 пептидов, способных ингибировать ранние этапы вирусной репродукции. Выраженный ингибирующий эффект в отношении коронавирусов имеют искусственно синтезированные липопептиды на основе 2-го гептадного повтора (HR2 — heptad repeat 2) S-белка, конъюгированного с холестерином или другими липосодержащими молекулами [61, 95, 107]. Ранее этот же подход был использован для создания АМП на основе HR1-пептида из S-белка коронавируса человека OC43⁷, который оказался эффективен по отношению к нескольким коронавирусам человека [96].

АМП могут имитировать элементы полимерного комплекса и нарушать его функционирование, встраиваясь в соответствующие молекулярные структуры. Примером АМП с таким механизмом противовирусного действия являются, например, N-концевые пептиды из субъединицы PB1 вируса гриппа А⁸ [65].

Цитокин-модулирующий потенциал АМП позволяет рассматривать их как перспективное средство контроля «цитокинового шторма» — системной воспалительной реакции в результате неконтролируемой продукции эндогенных иммуномодуляторов [26, 100]. В частности, тета-дефензины, представляющие собой макроциклические пептиды, способны модулировать выработку TNF α (Tumor Necrosis Factor type α — фактор некроза опухоли α) и других провоспалительных цитокинов [77]. Преимущество циклических дефензинов по сравнению с прочими АМП заключается в более высоком уровне стабильности и пролонгированном времени жизни этих молекул в физиологических условиях [45]. В организме человека имеются 6 генов тета-дефензинов, которые не экспрессируются вследствие наличия преждевременного стоп-кодона [60, 69]. Синтез искусственных тета-дефензинов человека (которые могли бы экспрессироваться естественным путем при отсутствии преждевременного стоп-кодона), названных ретроциклинами, позволил эксперименталь-

⁷ Коронавирус человека OC43 (HCoV43 — Human coronavirus OC43) в настоящее время рассматривается как вариант бетакоронавируса 1-го типа (BetaCoV-1 — Betacoronavirus 1) (*Nidovirales: Coronaviridae, Betacoronavirus*, подрод *Embecovirus*) [31].

⁸ Полимеразный комплекс вируса гриппа А формируется тремя белковыми субъединицами, кодируемыми отдельными генетическими сегментами: PB2 (сегмент 1), PB1 (2), PA (3) [28, 30, 32].

но продемонстрировать их активность в отношении вируса иммунодефицита человека 1-го типа (HIV-1 — Human immunodeficiency virus 1) (*Ortervirales: Retroviridae, Lentivirus*) [72, 87], альфагерпесвирус человека 2-го типа (HNV-2 — Human alphaherpesvirus 2) (*Herpesvirales: Herpesviridae, Simplexvirus*) [44] и вируса гриппа А [49]. Показано, что RTD-1 (Rhesus Theta-Defensin 1 — резус тета-дефенсин 1-го типа) защищает лабораторных мышей от летального исхода и обширных поражений легочной ткани при экспериментальной инфекции штаммом MA15 коронавируса тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV) (*Nidovirales: Coronaviridae, Betacoronavirus*, подрод *Sarbecovirus*), адаптированного к респираторному тракту мышей [93].

Широкое внедрение АМП в клиническую практику сталкивается с вполне преодолимыми сложностями. Во-первых, получение АМП методами пептидного синтеза остается достаточно дорогостоящим, однако их себестоимость может быть снижена путем масштабирования производства и в результате целенаправленного поиска более эффективных в экономическом плане схем синтеза.

Во-вторых, остаются недостаточно изученными механизмы действия АМП и возможные побочные эффекты их применения (особенно — при сочетанном использовании). Например, многие АМП в достаточно высоких дозах проявляют гемолитический эффект. Однако интенсификация фундаментальных и прикладных исследований АМП имеют хорошие шансы лишить эту проблему актуальности уже в ближайшее время.

В-третьих, массовое применение АМП приводит к положительной селекции резистентных вариантов микроорганизмов. И хотя даже в научной литературе можно встретить излишне оп-

тимистичные утверждения о том, что АМП позволяют не только ингибировать репродукцию антибиотикорезистентных микроорганизмов, но и вообще избавиться от «проклятия» эффекта резистентности, последнее, разумеется, неверно: способность представителей микромира с их обширными популяциями, стремительной сменой поколений и богатейшим опытом эволюционирования преодолевать любые попытки ограничить их экологические ниши не должна вызывать сомнений, по крайней мере, в среднесрочной перспективе. В частности, механизмы формирования резистентности к АМП могут включать: 1) протеолитическую деградацию пептидов; 2) продукцию молекул, нейтрализующих действие АМП путем специфического взаимодействия с ними; 3) изменение физико-химических свойств мишени; 4) дополнительное экранирование мишени; 5) подавление продукции АМП в организме [39]. Однако перечисленные механизмы резистентности потребуют появления множественных генетических мутаций, а следовательно дадут серьезный выигрыш по времени, что является еще одним преимуществом использования АМП.

Вакцина — это наиболее эффективное профилактическое средство в отношении любой вирусной инфекции. При этом обязательным условием эффективности вакцины является эпидемическая актуальность вакцинного штамма: именно поэтому вакцину невозможно заготовить заранее, и более того — приходится периодически пересматривать штаммовый состав вакцин, как это происходит ежегодно в случае с вирусом гриппа А [2, 26]. Создавая вакцину, научное сообщество — перефразируя У. Черчилля⁹ — «всегда готовится к уже начавшейся войне». Развитие платформы АМП позволяет адекватно готовиться к будущим угрозам.

Список литературы/References

1. Агаджанян Н.А., Смирнов В.М. Нормальная физиология. М.: МИА, 2009. 520 с. [Agadzhanian N.A., Smirnov V.M. Normal physiology. Moscow: MIA, 2009. 520 p. (In Russ.)]
2. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Руководство по вирусологии. Под ред. Д.К. Львова. М.: МИА, 2013. 1200 с. [Viruses and viral infections of humans and animals. Handbook of Virology. Ed. by D.K. Lvov. Moscow: Med. Inf. Agency, 2013. 1200 p. (In Russ.)]
3. Жаркова М.С., Орлов Д.С., Кокряков В.Н., Шамова О.В. Антимикробные пептиды млекопитающих: классификация, биологическая роль, перспективы практического применения // Вестник СПбГУ. 2014. Т. 3, № 1. С. 98–114. [Zharkova M.S., Orlov D.S., Kokryakov V.N., Shamova O.V. Mammalian antimicrobial peptides: classification, biological role, perspectives of practical use. Vestnik SPbGU = Bulletin of Saint-Petersburg State University, 2014, vol. 3, no. 1, pp. 98–114. (In Russ.)]
4. Колобухина Л.В., Малышев Н.А., Меркулова Л.Н., Бурцева Е.И., Щелканов М.Ю. Изучение эффективности и безопасности нового противовирусного препарата Ингавирин® при лечении больных гриппом // Русский медицинский журнал. 2008. Т. 16, № 22. С. 1502–1506. [Kolobukhina L.V., Malyshev N.A., Merkulova L.N., Burtseva E.I., Shchelkanov M.Yu. Investigation of efficiency and safety of new antiviral compound Ingavirin® for the treatment of patients with influenza. Russkii meditsinskii zhurnal = Russian Medical Journal, 2008, vol. 16, no. 22, pp. 1502–1506. (In Russ.)]
5. Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Бурцева Е.И., Щелканов М.Ю. Осельтамивир (Тамифлу™): возможность высокоэффективного лечения гриппа // Русский медицинский журнал. 2008. Т. 16, № 2. С. 69–73. [Kolobukhina L.V.,

⁹ «It is a joke in Britain to say that the War Office is always preparing for the last war.» («В Британии есть шутка, что Министерство обороны всегда готовится к прошедшей войне.») [Churchill W.S. The Second World War. London, 1953.]

- Merkulova L.N., Burtseva E.I., Shchelkanov M.Yu. Oseltamivir (Tamiflu™): a possibility for highly effective treatment of influenza. *Russkii meditsinskii zhurnal = Russian Medical Journal*, 2008, vol. 16, no. 2, pp. 69–73. (In Russ.)
6. Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Малышев Н.А., Кружкова И.С., Щелканов М.Ю., Бурцева Е.И., Исаева Е.И., Лаврищева В.В., Базарова М.В., Арсеньева Т.В., Амброси О.Е., Суточникова О.А., Чучалин А.Г., Львов Д.К. Стратегия ранней противовирусной терапии при гриппе как профилактика тяжелых осложнений // Пульмонология. Приложение. 2010. № 1. С. 9–14. [Kolobukhina L.V., Merkulova L.N., Malyshev N.A., Kruzhkova I.S., Shchelkanov M.Yu., Burtseva E.I., Isaeva E.I., Lavrishcheva V.V., Bazarova M.V., Arsenieva T.V., Ambrosi O.E., Sutochnikova O.A., Chuchalin A.G., Lvov D.K. A strategy of early antiviral therapy of influenza could prevent severe complications. *Pul'monologiya = Pulmonology (Suppl.)*, 2010, no. 1, pp. 9–14. (In Russ.)]
 7. Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Щелканов М.Ю., Бурцева Е.И., Шевченко Е.С., Лаврищева В.В., Базарова М.В., Сафонова О.А., Малышев Н.А., Львов Д.К., Суточникова О.А., Чучалин А.Г. Первый опыт применения Ингавирина при лечении больных гриппом, вызванным новым пандемическим вирусом А/Н1N1 swl // Consilium medicum. 2009. Т. 11, № 11. С. 3–6. [Kolobukhina L.V., Merkulova L.N., Shchelkanov M.Yu., Burtseva E.I., Shevchenko E.S., Lavrishcheva V.V., Bazarova M.V., Safonova J.A., Malyshev N.A., Lvov D.K., Sutochnikova O.A., Chuchalin A.G. The first experience of the use of Ingavirin for the treatment of patients with influenza caused by new pandemic virus A/H1N1 swl. *Consilium Medicum*, 2009, vol. 11, no. 11, pp. 3–6. (In Russ.)]
 8. Колобухина Л.В., Щелканов М.Ю., Меркулова Л.Н., Базарова М.В., Бурцева Е.И., Самохвалов Е.И., Альховский С.В., Прилипов А.Г., Федякина И.Т., Львов Д.Н., Прошина Е.С., Аристова В.А., Морозова Т.Н., Суточникова О.А., Пономаренко Р.А., Малышев Н.А., Маслов А.И., Чучалин А.Г. Этиотропная терапия гриппа: уроки последней пандемии // Вестник РАМН. 2011. № 5. С. 35–40. [Kolobukhina L.V., Shchelkanov M.Yu., Merkulova L.N., Bazarova M.V., Burtseva E.I., Samokhvalov E.I., Alkhovsky S.V., Prilipov A.G., Fedyakina I.T., Proshina E.S., Aristova V.A., Morozova T.N., Sutochnikova O.A., Ponomarenko R.A., Malyshev N.A., Maslov A.M., Chuchalin A.G. Etiotropic therapy of influenza: lessons from the last pandemic. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2011, no. 5, pp. 35–40. (In Russ.)]
 9. Лаврищева В.В., Бурцева Е.И., Хомяков Ю.Н., Шевченко Е.С., Оскерко Т.А., Иванова С.М., Данилевская М.М., Щелканов М.Ю., Федякина И.Т., Альховский С.В., Прилипов А.Г., Журавлева М.В., Колобухина Л.В., Малышев Н.А., Львов Д.К. Этиология летальных пневмоний в период развития пандемии, вызванной вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09 в России // Вопросы вирусологии. 2013. Т. 58, № 3. С. 17–21. [Lavrisheva V.V., Burtseva E.I., Khomyakov Yu.N., Shevchenko E.S., Oskerko T.A., Ivanova S.M., Danilevskaya M.M., Shchelkanov M.Yu., Fedyakina I.T., Alkhovsky S.V., Prilipov A.G., Zhuravleva M.V., Kolobukhina L.V., Malyshev N.A., Lvov D.K. Etiology of fatal pneumonia cause by influenza A(H1N1)pdm09 virus during the pandemic in Russia. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2013, vol. 58, no. 3, pp. 17–21. (In Russ.)]
 10. Львов Д.К., Богданова В.С., Кириллов И.М., Щелканов М.Ю., Бурцева Е.И., Бовин Н.В., Федякина И.Т., Прилипов А.Г., Альховский С.В., Самохвалов Е.И., Прошина Е.С., Кириллова Е.С., Сыроешкин А.В. Эволюция пандемического вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 в 2009–2016 гг.: динамика рецепторной специфичности первой субъединицы гемагглютинаина (HA1) // Вопросы вирусологии. 2019. Т. 64, № 2. С. 63–72. [Lvov D.K., Bogdanova V.S., Kirillov I.M., Shchelkanov M.Yu., Burtseva E.I., Bovin N.V., Fedyakina I.T., Prilipov A.G., Alkhovsky S.V., Samokhvalov E.I., Proshina E.S., Kirillova E.S., Syroeshkin A.V. Evolution of pandemic influenza virus A(H1N1)pdm09 in 2009–2016: dynamics of receptor specificity of the first hemagglutinin subunit (HA1). *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2019, vol. 64, no. 2, pp. 63–72. (In Russ.)] doi: 10.18821/0507-4088-2019-64-2-63-72
 11. Львов Д.К., Бурцева Е.И., Прилипов А.Г., Базарова М.В., Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Малышев Н.А., Дерябин П.Г., Федякина И.Т., Садыкова Г.К., Усачев Е.В., Щелканов М.Ю., Шевченко Е.С., Трушакова С.В., Иванова В.Т., Беякова Н.В., Оскерко Т.А., Алипер Т.И. Изоляция 24.05.2009 и депонирование в Государственную коллекцию вирусов (ГКВ N 2452 от 24.05.2009) первого штамма А/Moscow/01/2009(Н1N1) swl, подобного свиному вирусу А(Н1N1) от первого выявленного 21.05.2009 больного в г. Москве // Вопросы вирусологии. 2009. Т. 54, № 5. С. 10–14. [Lvov D.K., Burtseva E.I., Prilipov A.G., Bazarova M.V., Kolobukhina L.V., Merkulova L.N., Malyshev N.A., Deryabin P.G., Fedyakina I.T., Sadykova G.K., Usachev E.V., Shchelkanov M.Yu., Shevchenko E.S., Trushakova S.V., Ivanova V.T., Belyakova N.V., Oskerko T.A., Aliper T.I. The 24 May, 2009 isolation of the first A/IV-Moscow/01/2009 (H1N1) swl strain similar to swine A(H1N1) influenza virus from the first Moscow case detected on May 21, 2009, and its deposit in the state collection of viruses (SCV No. 2452 dated May 24, 2009). *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2009, vol. 54, no. 5, pp. 10–14. (In Russ.)]
 12. Львов Д.К., Бурцева Е.И., Прилипов А.Г., Богданова В.С., Щелканов М.Ю., Бовин Н.В., Самохвалов Е.И., Федякина И.Т., Дерябин П.Г., Колобухина Л.В., Штыря Ю.А., Шевченко Е.С., Малышев Н.А., Меркулова Л.Н., Базарова М.В., Маслов А.И., Ищенко Н.М., Исакова Е.А., Альховский С.В., Гребенникова Т.В., Садыкова Г.К., Львов Д.Н., Журавлева М.М., Ямникова С.С., Шляпникова О.В., Поглазов А.Б., Трушакова С.В., Лаврищева В.В., Аристова В.А., Прошина Е.С., Верещагин Н.Н., Кузьмичев А.Г., Яшкулов К.Б., Джембинов С.Д., Бушкиева Б.Ц., Елисеева С.М., Быстраков С.И., Соколова И.А., Джапаридзе Н.И., Леденев Ю.А., Росоловский А.П., Гареев Р.В., Болдырева В.В., Ананьев В.Ю., Баранов Н.И., Гореликов В.Н., Гарбуз Ю.А., Резник В.И., Иванов Л.И., Здановская Н.И., Сергеева Н.М., Подольнюк И.А., Еловский О.В., Громова М.А., Калаева Е.Е., Григорьев С.Н., Еремеева Ю.В., Довгаль М.В., Феделеш И.Ю., Сахарова Е.А., Буртник В.И., Авдошина Л.Н., Шапиро Н.П., Маслов Д.В., Янович В.А., Отт В.А., Лебедев Г.Б. Возможная связь летальной пневмонии с мутациями пандемического вируса гриппа А/Н1N1 swl в рецептор-связывающем сайте субъединицы HA1 гемагглютинаина // Вопросы вирусологии. 2010. Т. 55, № 4. С. 4–9. [Lvov D.K., Burtseva E.I., Prilipov A.G., Bogdanova V.S., Shchelkanov M.Yu., Bovin N.V., Samokhvalov E.I., Fedyakina I.T., Deryabin P.G., Kolobukhina L.V., Shtyrya Yu.A., Shevchenko E.S., Malyshev N.A., Merkulova L.N., Bazarova M.V., Maslov A.I., Ishchenko N.M., Iskhakova E.A., Alkhovsky S.V., Grebennikova T.V., Sadykova G.K., Lvov D.N., Zhuravleva M.M., Yamnikova S.S., Shlyapnikova O.V., Poglazov A.B., Trushakova S.V., Lavrishcheva V.V., Aristova V.A., Proshina E.S., Vereshchagin N.N., Kuzmichev A.G., Yashkulov K.B., Dzhambinov S.D.,

- Bushkueva V.Ts., Eliseyeva S.M., Bystrakova S.I., Sokolova I.A., Dzhaparidze N.I., Ledenev Yu.A., Rosolovsky A.P., Gareev R.P., Boldyreva V.V., Ananyev V.Yu., Baranov N.I., Gorelikov V.N., Garbuz Yu.A., Reznik V.I., Ivanov L.I., Zdanovskaya N.I., Sergeeva N.M., Podolyanko I.A., Elovsky O.V., Gromova M.A., Kalaeva E.E., Grigoriev S.N., Ereemeeva Yu.V., Dovgal M.V., Fedelech I.Yu., Sakharova E.A., Burtnik V.I., Avdoshina L.N., Shapiro N.P., Maslov D.V., Yanovich V.A., Ott V.A., Lebedev G.B. A possible association of fatal pneumonia with mutations of pandemic influenza A/H1N1 swl virus in the receptor-binding site of HA1 subunit. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2010, vol. 55, no. 4, pp. 4–9. (In Russ.)
13. Львов Д.К., Малышев Н.А., Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Бурцева Е.И., Щелканов М.Ю., Базарова М.В. Грипп, вызванный новым пандемическим вирусом A/H1N1 swl: клиника, диагностика, лечение. Методические рекомендации. М.: Департамент здравоохранения г. Москвы, 2009. 18 с. [Lvov D.K., Malyshev N.A., Kolobukhina L.V., Merkulova L.N., Burtseva E.I., Shchelkanov M.Yu., Bazarova M.V. Influenza provoked by new pandemic virus A/H1N1 swl: clinics, diagnostics, treatment. *Methodological recommendations. Moscow: Department of Healthcare of Moscow*, 2009. 18 p. (In Russ.)]
 14. Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Бовин Н.В., Малышев Н.А., Чучалин А.Г., Колобухина Л.В., Прилипов А.Г., Богданова В.С., Альховский С.В., Самохвалов Е.И., Федякина И.Т., Бурцева Е.И., Дерябин П.Г., Журавлева М.М., Шевченко Е.С., Лаврищева В.В., Львов Д.Н., Прошина Е.С., Стариков Н.С., Морозова Т.Н., Базарова М.В., Григорьева Т.А., Кириллов И.М., Шидловская Е.В., Келли Е.И., Маликов В.Е., Яшкуллов К.Б., Ананьев В.Ю., Баранов Н.И., Гореликов В.Н., Цой О.В., Гарбуз Ю.А., Резник В.И., Иванов Л.И., Феделеш И.Ю., Пономаренко Р.А., Сахарова Е.А., Лебедев Г.Б., Маслов А.И. Корреляция между рецепторной специфичностью штаммов пандемического вируса гриппа A(H1N1)pdm09, изолированных в 2009–2011 гг., структурой рецептор-связывающего сайта и вероятностью развития летальной первичной вирусной пневмонии // Вопросы вирусологии. 2012. Т. 57, № 1. С. 14–20. [Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Bovin N.V., Malyshev N.A., Chuchalin A.G., Kolobukhina L.V., Prilipov A.G., Bogdanova V.S., Alkhovsky S.V., Samokhvalov E.I., Fedyakina I.T., Burtseva E.I., Deryabin P.G., Zhuravleva M.M., Shevchenko E.S., Lavrishcheva V.V., Lvov D.N., Proshina E.S., Starikov N.S., Morozova T.N., Bazarova M.V., Grigorieva T.A., Kirillov I.M., Shidlovskaya E.V., Kelly E.I., Malikov V.E., Yashkulov K.B., Ananiev V.Yu., Baranov N.I., Gorelikov V.N., Tsoi O.V., Garbuz Yu.A., Reznik V.I., Ivanov L.I., Fedelech I.Yu., Ponomarenko R.A., Sakharova E.A., Lebedev G.B., Maslov A.I. Correlation between the receptor specificities of pandemic influenza A(H1N1)pdm09 virus strains isolated in 2009–2011 and the structure of the receptor-binding site and the probabilities of fatal primary virus pneumonia. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2012, vol. 57, no. 1, pp. 14–20. (In Russ.)]
 15. Львов Д.К., Яшкуллов К.Б., Прилипов А.Г., Бурцева Е.И., Щелканов М.Ю., Шляпникова О.В., Поглазов А.Б., Джамбинов С.Д., Федякина И.Т., Бушкиева Б.Ц., Львов Д.Н., Садыкова Г.К., Журавлева М.М., Альховский С.В., Самохвалов Е.И., Трушаква С.В., Лаврищева В.В., Верещагин Н.Н., Михалева Л.Б., Дарбакова Т.А., Лиманская О.С., Джaparidze Н.И., Имкенова Л.Н., Леденев Ю.А., Болдырева В.В., Иванов Л.И., Здановская Н.И. Обнаружение аминокислотных замен аспарагиновой кислоты на глицин и глутаминовую кислоту в рецептор-связывающем сайте гемоглинуина в штамме пандемического вируса гриппа H1N1 от больных с летальным исходом и со средне-тяжелой формой заболевания // Вопросы вирусологии. 2010. Т. 55, № 3. С. 15–18. [Lvov D.K., Yashkulov K.B., Prilipov A.G., Burtseva E.I., Shchelkanov M.Yu., Shlyapnikova O.V., Poglazov A.B., Sadykova G.K., Dzhambinov S.D., Fedyakina I.T., Bushkueva V.Ts., Lvov D.N., Zhuravleva M.M., Alkhovsky S.V., Samokhvalov E.I., Trushakova S.V., Lavrishcheva V.V., Vereshchagin N.N., Mikhaliyaeva L.B., Darbakova T.A., Limanskaya O.S., Dzhaparidze N.I., Imkenova L.N., Ledenev Yu.A., Boldyreva V.V., Ivanov L.I., Zdanovskaya N.I. Detection of amino acid substitutions of asparaginic acid for glycine and asparagine at the receptor-binding site of hemagglutinin in the variants of pandemic influenza A/H1N1 virus from patients with fatal outcome and moderate form of the disease. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2010, vol. 55, no. 3, pp. 15–18. (In Russ.)]
 16. Медицинская вирусология. Под ред. Д.К. Львов. М.: МИА, 2008. 656 с. [Medical Virology. Ed. by D.K. Lvov. *Moscow: Medical Information Agency*, 2008. 656 p. (In Russ.)]
 17. Мусин Х.Г. Антимикробные пептиды — потенциальная замена традиционным антибиотикам // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8, № 3. С. 295–308. [Musin Kh.G. Antimicrobial peptides — a potential replacement for traditional antibiotics. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2018, vol. 8, no. 3, pp. 295–308. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2018-3-295-308
 18. Никифоров В.В., Колобухина Л.В., Сметанина С.В., Мазанкова Л.Н., Плавунев Н.Ф., Щелканов М.Ю., Суранова Т.Г., Шахмарданов М.З., Бургасова О.А., Кардонова Е.В., Базарова М.В., Антипят Н.А., Серова М.А., Орлова Н.В., Забозлаев Ф.Г., Кружкова И.С., Кадышев В.А. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19): этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика. Учебно-методическое пособие. М.: Департамент здравоохранения города Москвы, 2020. 71 с. [Nikiforov V.V., Kolobukhina L.V., Smetanina S.V., Mazankova L.N., Plavunov N.F., Shchelkanov M.Yu., Suranova T.G., Shakhmardanov M.Z., Burgasova O.A., Kardonova E.V., Bazarova M.V., Antipyat N.A., Serova M.A., Orlova N.V., Zabozaev F.G., Kruzhkova I.S., Kadyshv V.A. Novel coronavirus infection (COVID-19): etiology, epidemiology, clinics, diagnostics, treatment, and prophylaxis. Educational and methodological guide. *Moscow: Department of Public Health of Moscow City*, 2020. 71 p. (In Russ.)]
 19. Одинцова Т.И., Слезина М.П., Истомина Е.А. Тионины растений: строение, биологические функции и перспективы использования в биотехнологии // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018. Т. 22, № 6. С. 667–675. [Odintsova T.I., Slezina M.P., Istomina E.A. Plant thionins: structure, biological functions and potential use in biotechnology. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektcii = Vavilov Journal of Genetics and Selection*, 2018, vol. 22, no. 6, pp. 667–675. (In Russ.)] doi: 10.18699/VJ18.409
 20. Пашковская А.А., Борисенко В., Вули Г.А., Мелик-Нубаров Н.С., Антоненко Ю.Н. Взаимодействие синтетических амфифильных полианионов с положительно заряженным пептидом грамицидином на плоской бислоидной липидной мембране // Биологические мембраны. 2004. Т. 21, № 1. С. 65–71. [Pashkovskaya A.A., Borisenko V., Woolley G.A., Melik-Nubarov N.S., Antonenko Y.N. Interaction of synthetic amphiphilic polyanions with positively-charged peptide gramicidin in planar bilayer lipid membrane. *Biologicheskie membrany = Biological Membranes*, 2004, vol. 21, no. 1, pp. 65–71. (In Russ.)]
 21. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Омариёв З.М. Эпидемиология и профилактика внебольничных пневмоний // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2019. Т. 8, № 2. С. 43–48. [Popova A.Yu., Yezhlova E.B.,

- Demina Yu.V., Omariev Z.M. Epidemiology and prevention of community-acquired pneumonia. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie = Infectious Diseases: News, Opinions, Discussions*, 2019, vol. 8, no. 2, pp. 43–48. (In Russ.)
22. Пульмонология. Национальное руководство. Под ред. А.Г. Чучалина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 800 с. [Pulmonology. National guidance. Ed. by A.G. Chuchalin. Moscow: GEOTAR-Media, 2016. 800 p. (In Russ.)]
 23. Чучалин А.Г. Тяжелый острый респираторный синдром // Терапевтический архив. 2004. № 3. С. 5–11. [Chuchalin A.G. Severe acute respiratory syndrome. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive*, 2004, no. 3, pp. 5–11. (In Russ.)]
 24. Щелканов М.Ю., Ананьев В.Ю., Кузнецов В.В., Шуматов В.Б. Ближневосточный респираторный синдром: когда вспыхнет тлеющий очаг? // Тихоокеанский медицинский журнал. 2015. № 2. С. 94–98. [Shchelkanov M.Yu., Ananiev V.Yu., Kuznetsov V.V., Shumatov V.B. Middle East respiratory syndrome: when will smouldering focus outbreak? *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2015, no. 2, pp. 94–98. (In Russ.)]
 25. Щелканов М.Ю., Ананьев В.Ю., Кузнецов В.В., Шуматов В.Б. Эпидемическая вспышка Ближневосточного респираторного синдрома в Республике Корея (май–июль 2015 г.): причины, динамика, выводы // Тихоокеанский медицинский журнал. 2015. № 3. С. 25–29. [Shchelkanov M.Yu., Ananiev V.Yu., Kuznetsov V.V., Shumatov V.B. Epidemic outbreak of Middle East respiratory syndrome in the Republic of Korea (May–July, 2015): reasons, dynamics, conclusions. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2015, no. 3, pp. 25–29. (In Russ.)]
 26. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Бургасова О.А., Кружкова И.С., Малеев В.В. COVID-19: этиология, клиника, лечение // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 421–445. [Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Burgasova O.A., Kruzhkov I.S., Maleev V.V. COVID-19: etiology, clinic, treatment. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 421–445. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-CEC-1473
 27. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Грипп: история, клиника, патогенез // Лечащий врач. 2011. № 10. С. 33–38. [Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Lvov D.K. Influenza: history, clinics, pathogenesis. *Lechaschi Vrach = The Attending Physician*, 2011, no. 10, pp. 33–38. (In Russ.)]
 28. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Коронавирусы человека (Nidovirales, Coronaviridae): возросший уровень эпидемической опасности // Лечащий врач. 2013. № 10. С. 49–54. [Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Lvov D.K. Human coronaviruses (Nidovirales, Coronaviridae): increased level of epidemic threat. *Lechaschi Vrach = The Attending Physician*, 2013, no. 10, pp. 49–54. (In Russ.)]
 29. Щелканов М.Ю., Попов А.Ф., Симакова А.И., Зенин И.В., Прошина Е.С., Кириллов И.М., Дмитриенко К.А., Шевчук Д.В. Патогенез гриппа: механизмы модуляции белками возбудителя // Журнал инфектологии. 2015. Т. 7, № 2. С. 31–46. [Shchelkanov M.Yu., Popov A.F., Simakova A.I., Zenin I.V., Proshina E.S., Kirillov I.M., Dmitrienko K.A., Shevchuk D.V. Influenza pathogenesis: mechanisms of modulation by agent proteins. *Zhurnal Infektologii = Journal Infectology*, 2015, vol. 7, no. 2, pp. 31–46. (In Russ.)] doi: 10.22625/2072-6732-2015-7-2-31-46
 30. Щелканов М.Ю., Попова А.Ю., Дедков В.Г., Акимкин В.Г., Малеев В.В. История изучения и современная классификация коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae) // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 221–246. [Shchelkanov M.Yu., Popova A.Yu., Dedkov V.G., Akimkin V.G., Maleev V.V. History of investigation and current classification of coronaviruses (Nidovirales: Coronaviridae). *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 221–246. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-HOI-1412
 31. Щелканов М.Ю., Федякина И.Т., Прошина Е.С., Пономаренко Р.А., Львов Д.Н., Чумаков В.М., Галкина И.В., Бурцева Е.И., Львов Д.К. Таксономическая структура Orthomyxoviridae: современное состояние и ближайшие перспективы // Вестник РАМН. 2011. № 5. С. 12–19. [Shchelkanov M.Yu., Fedyakina I.T., Proshina E.S., Lvov D.N., Ponomarenko R.A., Chumakov V.M., Burtseva E.I., Galkina I.V., Lvov D.K. Taxonomic structure of Orthomyxoviridae: current views and immediate prospects. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2011, no. 5, pp. 12–19. (In Russ.)]
 32. Щелканов М.Ю., Шибнев В.А., Финогенова М.П., Федякина И.Т., Гараев Т.М., Маркова Н.В., Кириллов И.М. Противовирусная активность производных адамантана в отношении вируса гриппа А(H1N1)pdm2009 на модели in vivo // Вопросы вирусологии. 2014. Т. 59, № 2. С. 37–40. [Shchelkanov M.Yu., Shibnev V.A., Finogenova M.P., Fedyakina I.T., Garaev T.M., Markova N.V., Kirillov I.M. The antiviral activity of adamantane derivatives against the influenza A(H1N1)pdm2009 model in vivo. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2014, vol. 59, no. 2, pp. 37–40. (In Russ.)]
 33. Щелканов М.Ю., Юдин А.Н., Бурунова В.В., Ярославцева Н.Г., Славский А.А., Ольшанский А.Я., Николаева И.А., Сидорович И.Г., Голиков В.А., Карамов Э.В. Применение метода главных компонент для анализа эффективности панелей эпитоп-имитирующих пептидов при серотипировании ВИЧ // Иммунология. 1999. Т. 20, № 3. С. 13–18. [Shchelkanov M.Yu., Yudin A.N., Burunova V.V., Yaroslavtseva N.G., Slavsky A.A., Olshansky A.Ya., Nikolaeva I.A., Sidorovich I.G., Golikov V.A., Karamov E.V. Application of the basic components method for analysis of effectiveness of epitope-mimicking peptides panels in HIV serotyping. *Immunologiya*, 1999, vol. 20, no. 3, pp. 13–18. (In Russ.)]
 34. Юсупова Р.И., Курмаева А.И., Потапова М.В., Кулагина Е.М., Барабанов В.П. Суспензия клеток микроорганизмов как коллоидная система. Часть 2. Поверхностный заряд и электрокинетические свойства дрожжевых и бактериальных суспензий // Вестник Казанского технологического университета. 2013. Т. 16, № 4. С. 189–191. [Yusupova R.I., Kurmaeva A.I., Potapova M.V., Kulagina E.M., Barabanov V.P. Microorganism cell suspension as colloid system. Part 2. Surface charge and electrokinetic properties of the yeast and bacterial suspensions. *Vestnik Kazanskogo Technologicheskogo Universiteta = Bulletin of Kazan National Research Technological University*, 2013, vol. 16, no. 4, pp. 189–191. (In Russ.)]
 35. Abe K., Nozaki A., Tamura K., Ikeda M., Naka K., Dansako H., Hoshino H., Tanaka K., Kato N. Tandem repeats of lactoferrin-derived anti-hepatitis C virus peptide enhance antiviral activity in cultured human hepatocytes. *Microbiol Immunol.*, 2007, vol. 51, no. 1, pp. 117–125. doi: 10.1111/j.1348-0421.2007.tb03882.x
 36. Albiol Matanic V.C., Castilla V. Antiviral activity of antimicrobial cationic peptides against Junin virus and herpes simplex virus. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2004, vol. 23, no. 4, pp. 382–389. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2003.07.022
 37. Alghair Z.K., Fernig D.G., Ebrahimi B. Enhanced inhibition of influenza virus infection by peptide-noble-metal nanoparticle conjugates. *Beilstein J. Nanotechnol.*, 2019, vol. 10, pp. 1038–1047. doi: 10.3762/bjnano.10.104

38. Banaschewski B.J.H., Veldhuizen E.J.A., Keating E., Haagsman H.P., Zuo Y.Y., Yamashita C.M., Veldhuizen R.A.W. Antimicrobial and biophysical properties of surfactant supplemented with an antimicrobial peptide for treatment of bacterial pneumonia. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2015, vol. 59, no. 6, pp. 3075–3083. doi: 10.1128/aac.04937-14
39. Band V.I., Weiss D.S. Mechanisms of antimicrobial peptide resistance in gram-negative bacteria. *Antibiotics (Basel)*, 2015, vol. 4, pp. 18–41. doi: 10.3390/antibiotics4010018
40. Brogden K.A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat. Rev. Microbiol.*, 2005, vol. 3, no. 3, pp. 238–250. doi: 10.1038/nrmicro1098
41. Chinchar V.G., Bryan L., Silphadaung U., Noga E., Wade D., Rollins-Smith L. Inactivation of viruses infecting ectothermic animals by amphibian and piscine antimicrobial peptides. *Virology*, 2004, vol. 323, no. 2, pp. 268–275. doi: 10.1016/j.virol.2004.02.029
42. Clancy C.J., Kalil A.C., Fowler V.G., Ghedin E., Kolls L.K., Nguyen M.H. Emerging and resistant infections. *Ann. Am. Thorac. Soc.*, 2014, vol. 11, no. S4, pp. 193–200. doi: 10.1513/annalsats.201402-069pl
43. Coldrich A., Aliscouper R.F., Dieser A.A., Freimann A. Interaction of laser beam with virus particles. *Brit. J. Laser Spectroscopy*, 1986, vol. 12, pp. 35–43. doi: 10.1186/1743-422x-11-20
44. Cole A.M., Wang W., Waring A.J., Lehrer R.I. Retrocyclins: using past as prologue. *Curr. Protein Pept. Sci.*, 2004, vol. 5, no. 5, pp. 373–381. doi: 10.2174/1389203043379657
45. Conibear A.C., Craik D.J. The chemistry and biology of theta defensins. *Angew Chem. Int. Ed. Engl.*, 2014, vol. 53, no. 40, pp. 10612–10623. doi: 10.1002/anie.201402167
46. Dean R.E., O'Brien L.M., Thwaite J.E., Fox M.A., Atkins H., Ulaeto D.O. A carpet-based mechanism for direct antimicrobial peptide activity against vaccinia virus membranes. *Peptides*, 2010, vol. 31, no. 11, pp. 1966–1972. doi: 10.1016/j.peptides.2010.07.028
47. Desriac F., Jegou C., Balnois E., Brillet B., Le Chevalier P., Fleury Y. Antimicrobial peptides from marine proteobacteria. *Mar. Drugs*, 2013, vol. 11, no. 10, pp. 3632–3660. doi: 10.3390/md11103632
48. Diamond G., Beckloff N., Weinberg A., Kisich K.O. The roles of antimicrobial peptides in innate host defense. *Curr. Pharm. Des.*, 2009, vol. 15, no. 21, pp. 2377–2392. doi: 10.2174/138161209788682325
49. Doss M., White M.R., Teclé T., Gantz D., Crouch E.C., Jung G., Ruchala P., Waring A.J., Lehrer R.I., Hartshorn K.L. Interactions of alpha-, beta-, and theta-defensins with influenza A virus and surfactant protein D. *J. Immunol.*, 2009, vol. 182, pp. 7878–7887. doi: 10.4049/jimmunol.0804049
50. Droin N., Hendra J.B., Ducoroy P., Solary E. Human defensins as cancer biomarkers and antitumor molecules. *J. Proteomics*, 2009, vol. 72, no. 6, pp. 918–927. doi: 10.1016/j.jprot.2009.01.002
51. Ezadi F., Ardebili A., Mirnejad R. Antimicrobial susceptibility testing for polymyxins: challenges, issues, and recommendations. *J. Clin. Microbiol.*, 2019, vol. 57, no. 4: e01390-18. doi: 10.1128/jcm.01390-18
52. Falco A., Barrajon-Catalan E., Menendez-Gutierrez M.P., Coll J., Micol V., Estepa A. Melittin-loaded immunoliposomes against viral surface proteins, a new approach to antiviral therapy. *Antivir. Res.*, 2013, vol. 97, no. 2, pp. 218–221. doi: 10.1016/j.antiviral.2012.12.004
53. Freimann R.K. Interactions between solvate envelopes of particles: III. Solvate envelope of influenza virions. *Brit. J. Phys. Chem.*, 1984, vol. 34, pp. 134–143.
54. Fujimoto M., Sakata T., Tsuruta Y., Iwagami S., Teraoka H. Glucocorticoid treatment reduces prostacyclin synthesis in response to limited stimuli. *Thromb. Res.*, 1991, vol. 61, no. 1, pp. 11–21. doi: 10.1016/0049-3848(91)90164-r
55. Gause G.F., Brazhnikova M.G. Gramicidin S origin and mode of action. *Lancet*, 1944, vol. 244, no. 6327, pp. 715–716.
56. Haney E.F., Straus S.K., Hancock R.E. Reassessing the host defense peptide landscape. *Front. Chem.*, 2019, vol. 7: 43. doi: 10.3389/fchem.2019.00043
57. Hood J.L., Jallouk A.P., Campbell N., Ratner L., Wickline S.A. Cytolytic nanoparticles attenuate HIV-1 infectivity. *Antivir. Ther.*, 2013, vol. 18, no. 1, pp. 95–103. doi: 10.3851/imp2346
58. Hubbard B.K., Walsh C.T. Vancomycin assembly: nature's way. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2003, vol. 42, no. 7, pp. 730–765. doi: 10.1074/jbc.rev119.006349
59. Lecaille F., Lalmanach G., Andraut P.M. Antimicrobial proteins and peptides in human lung diseases: a friend and foe partnership with host proteases. *Biochimie*, 2016, vol. 122, no. 151–168. doi: 10.1016/j.biochi.2015.08.014
60. Lehrer R.I., Cole A.M., Selsted M.E. θ -Defensins: cyclic peptides with endless potential. *J. Biol. Chem.*, 2012, vol. 287, no. 32, pp. 27014–27019. doi: 10.1074/jbc.r112.346098
61. Ling R., Dai Y., Huang B., Huang W., Yu J., Lu X., Jiang Y. In silico design of antiviral peptides targeting the spike protein of SARS-CoV-2. *Peptides*, 2020, vol. 130: 170328. doi: 10.1016/j.peptides.2020.170328
62. Mallik K. Use of isoelectric point for fast identification of anti-SARS-CoV-2 coronavirus proteins. *Preprints*, 2020: 2020050270. doi: 10.20944/preprints202005.0270.v1
63. Malmsten M. Antimicrobial peptides. *Ups. J. Med. Sci.*, 2014, vol. 119, no. 2, pp. 199–204. doi: 10.3109/03009734.2014.899278
64. Marcos J.F., Beachy R.N., Houghten R.A., Blondelle S.E., Perez-Paya E. Inhibition of a plant virus infection by analogs of melittin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, vol. 92, no. 26, pp. 12466–12469. doi: 10.1073/pnas.92.26.12466
65. Matusevich O.V., Egorov V.V., Gluzdikov I.A., Titov M.I., Zarubaev V.V., Shtrob A.A., Slita A.V., Dukov M.I., Shurygina P.S., Smirnova T.D., Kudryavtsev I.V., Vasin A.V., Kiselev O.I. Synthesis and antiviral activity of PBI component of the influenza A RNA polymerase peptide fragments. *Antiviral Res.*, 2015, vol. 113, pp. 4–10. doi: 10.1016/j.antiviral.2014.10.015
66. Memariani H., Memariani M., Moravvej H., Shahidi-Dadras M. Melittin: a venom-derived peptide with promising anti-viral properties. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2020, vol. 39, no. 1, pp. 5–17. doi: 10.1007/s10096-019-03674-0
67. Michen B., Graule T. Isoelectric points of viruses. *J. Appl. Microbiol.*, 2010, vol. 109, no. 2, pp. 388–397. doi: 10.1111/j.1365-2672.2010.04663.x
68. Nakatsuji T., Chen T.H., Narala S., Chun K.A., Two A.M., Yun T., Shafiq F., Kotol P.F., Bouslimani A., Melnik A.V., Latif H., Kim J.N., Lockhart A., Artis K., David G., Taylor P., Streib J., Dorrestein P.C., Grier A., Gill S.R., Zengler K., Hata T.R., Leung D.Y., Gallo R.L. Antimicrobials from human skin commensal bacteria protect against *Staphylococcus aureus* and are deficient in atopic dermatitis. *Sci. Transl. Med.*, 2017, vol. 9, no. 378: eaah4680. doi: 10.1126/scitranslmed.aah4680

69. Nguyen T.X., Cole A.M., Lehrer R.I. Evolution of primate theta-defensins: a serpentine path to a sweet tooth. *Peptides*, 2003, vol. 24, no. 11, pp. 1647–1654. doi: 10.1016/j.peptides.2003.07.023
70. Nguyen L.T., Haney E.F., Vogel H.J. The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action. *Trends Biotechnol.*, 2011, vol. 29, no. 9, pp. 464–472. doi: 10.1016/j.tibtech.2011.05.001
71. Oh R., Lee M.J., Kim Y.O., Nam B.H., Kong H.J., Kim J.W., Park J.Y., Seo J.K., Kim D.G. Myticusin-beta, antimicrobial peptide from the marine bivalve, *Mytilus coruscus*. *Fish Shellfish Immunol.*, 2020, vol. 99, pp. 342–352. doi: 10.1016/j.fsi.2020.02.020
72. Penberthy W.T., Chari S., Cole A.L., Cole A.M. Retrocyclins and their activity against HIV-1. *Cell Mol. Life Sci.*, 2011, vol. 68, no. 13, pp. 2231–2242. doi: 10.1007/s00018-011-0715-5
73. Peng H.T., Blostein M.D., Shek P.N. Characterization of in vitro hemostatic peptide effects by thromboelastography. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.*, 2012, vol. 18, no. 1, pp. 27–34. doi: 10.1177/1076029611412371
74. Picoli T., Peter C.M., Vargas G.D., Hubner S.O., de Lima M., Fischer G. Antiviral and virucidal potential of melittin and apamin against bovine herpesvirus type 1 and bovine viral diarrhea virus. *Pesq. Vet. Bras.*, 2018, vol. 38, no. 4, pp. 595–604. doi: 10.1590/1678-5150pvb-4758
75. Prado M., Solano-Trejos G., Lomonte B. Acute physiopathological effects of honeybee (*Apis mellifera*) envenoming by subcutaneous route in a mouse model. *Toxicon*, 2010, vol. 56, no. 6, pp. 1007–1017. doi: 10.1016/j.toxicon.2010.07.005
76. Saikia K., Chaudhary N. Antimicrobial peptides from C-terminal amphipathic region of *E. coli* FtsA. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.*, 2018, vol. 1860, no. 12, pp. 2506–2514. doi: 10.1016/j.bbmem.2018.09.011
77. Schaal J.B., Maretzky T., Tran D.Q., Tran P.A., Tongaonkar P., Blobel C.P., Ouellette A.J., Selsted M.E. Macrocyclic θ -defensins suppress tumor necrosis factor- α (TNF- α) shedding by inhibition of TNF- α -converting enzyme. *J. Biol. Chem.*, 2018, vol. 293, no. 8, pp. 2725–2734. doi: 10.1074/jbc.ra117.000793
78. Scheller C., Krebs F., Minkner R., Astner I., Gil-Moles M., Watzig H. Physicochemical properties of SARS-CoV-2 for drug targeting, virus inactivation and attenuation, vaccine formulation and quality control. *Electrophoresis*, 2020, vol. 41, no. 13–14, pp. 1137–1151. doi: 10.1002/elps.202000121
79. Sperstad S.V., Haug T., Blencke H.M., Styrvold O.B., Li C., Stensvåg K. Antimicrobial peptides from marine invertebrates: challenges and perspectives in marine antimicrobial peptide discovery. *Biotechnol Adv.*, 2011, vol. 29, no. 5, pp. 519–530. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.05.021
80. Subbalakshmi C., Sitaram N. Mechanism of antimicrobial action of indolicidin. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1998, vol. 160, pp. 91–96. doi: 10.1111/j.1574-6968.1998.tb12896.x
81. Terwilliger T.C., Eisenberg D. The structure of melittin. II. Interpretation of the structure. *J. Biol. Chem.*, 1982, vol. 257, no. 11, pp. 6016–6022.
82. Toke O. Antimicrobial peptides: new candidates in the fight against bacterial infections. *Curr. Trends Pept. Sci.*, 2005, vol. 80, no. 6, pp. 717–735. doi: 10.1002/bip.20286
83. Tonk M., Vilcinskas A., Rahnamaeian M. Insect antimicrobial peptides: potential tools for the prevention of skin cancer. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2016, vol. 100, pp. 7397–7405. doi: 10.1007/s00253-016-7718-y
84. Uddin M.B., Lee B.H., Nikapitiya C., Kim J.H., Kim T.H., Lee H.C., Kim C.G., Lee J.S., Kim C.J. Inhibitory effects of bee venom and its components against viruses in vitro and in vivo. *J. Microbiol.*, 2016, vol. 54, no. 12, pp. 853–866. doi: 10.1007/s12275-016-6376-1
85. Veldhuis J.D., Demers L.M. Mechanism(s) by which activation of protein kinase C is coupled to prostacyclin synthesis in granulosa cells. *Mol. Cell Endocrinol.*, 1989, vol. 63, no. 1–2, pp. 219–226. doi: 10.1016/0303-7207(89)90098-1
86. Veloso Jun. P.H.H., Simon K.S., de Castro R.J.A., Coelho L.C., Erazo F.A.H., de Souza A.C.B., das Neves R.C., Lozano V.F., Schwartz E.F., Tavares A.H., Mortari M.R., Junqueira-Kipnis A.P., Silva-Pereira I., Bocca A.L. Peptides ToAP3 and ToAP4 decrease release of inflammatory cytokines through TLR-4 blocking. *Biomed. Pharmacother.*, 2019, vol. 118: 109152. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109152
87. Venkataraman N., Cole A.L., Ruchala P., Waring A.J., Lehrer R.I., Stuchlik O., Pohl J., Cole A.M. Reawakening retrocyclins: ancestral human defensins active against HIV-1. *PLoS Biol.*, 2009, vol. 7, no. 4: e95. doi: 10.1371/journal.pbio.1000095
88. Vergis J., Malik S.S., Pathak R., Kumar M., Ramanjaneya S., Kurkure N.V., Barbudde S.B., Rawool D.B. Antimicrobial efficacy of indolicidin against multi-drug resistant enteroaggregative *Escherichia coli* in a *Galleria mellonella* model. *Front. Microbiol.*, 2019, vol. 10: 2723. doi: 10.3389/fmicb.2019.02723
89. Wachinger M., Kleinschmidt A., Winder D., von Pechmann N., Ludvigsen A., Neumann M., Holle R., Salmons B., Erfle V., Brack Werner R. Antimicrobial peptides melittin and cecropin inhibit replication of human immunodeficiency virus 1 by suppressing viral gene expression. *J. Gen. Virol.*, 1998, vol. 79, no. 4, pp. 731–740. doi: 10.1099/0022-1317-79-4-731
90. Wallace B.A. Structure of gramicidin A. *Biophys. J.*, 1986, vol. 49, no. 1, pp. 295–306. doi: 10.1016/s0006-3495(86)83642-6
91. Wang G., Li X., Wang Z. APD3: the antimicrobial peptide database as a tool for research and education. *Nuc. Acids Res.*, 2016, vol. 44, no. D1, pp. D1087–D1093. doi: 10.1093/nar/gkv1278
92. Wiesner J., Vilcinskas A. Antimicrobial peptides: The ancient arm of the human immune system. *Virulence*, 2010, vol. 1, no. 5, pp. 440–464. doi: 10.4161/viru.1.5.12983
93. Wohlford-Lenane C.L., Meyerholz D.K., Perlman S., Zhou H., Tran D., Selsted M.E., McCray P.B. Jr. Rhesus theta-defensin prevents death in a mouse model of severe acute respiratory syndrome coronavirus pulmonary disease. *J. Virol.*, 2009, vol. 83, no. 21, pp. 11385–11390. doi: 10.1128/jvi.01363-09
94. Wu Q., Patocka J., Kuca K. Insect antimicrobial peptides, a mini review. *Toxins (Basel)*, 2018, vol. 10, no. 11: 461. doi: 10.3390/toxins10110461
95. Xia S., Liu M., Wang C., Xu W., Lan Q., Feng S., Qi F., Bao L., Du L., Liu S., Qin C., Sun F., Shi Z., Zhu Y., Jiang S., Lu L. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion. *Cell Res.*, 2020, vol. 30, no. 4, pp. 343–355. doi: 10.1038/s41422-020-0305-x

96. Xia S., Yan L., Xu W., Agrawal A.S., Algaissi A., Tseng C.K., Wang Q., Du L., Tan W., Wilson I.A., Jiang S., Yang B., Lu L. A pan-coronavirus fusion inhibitor targeting the HR1 domain of human coronavirus spike. *Sci. Adv.*, 2019, vol. 5, no. 4: eaav4580. doi: 10.1126/sciadv.aav4580
97. Yang D., Chertov O., Oppenheim J.J. Participation of mammalian defensins and cathelicidins in anti-microbial immunity: receptors and activities of human defensins and cathelicidin (LL-37). *J. Leukoc. Biol.*, 2001, vol. 69, no. 5, pp. 691–697. doi: 10.1189/jlb.69.5.691
98. Yasin B., Pang M., Turner J.S., Cho Y., Dinh N.N., Waring A.J., Lehrer R.I., Wagar E.A. Evaluation of the inactivation of infectious Herpes simplex virus by host-defense peptides. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2000, vol. 19, no. 3, pp. 187–194. doi: 10.1007/s100960050457
99. Yazici A., Ortucu S., Taskin M., Marinelli L. Natural-based antibiofilm and antimicrobial peptides from microorganisms. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2018, vol. 18, no. 24, pp. 2102–2107. doi: 10.2174/1568026618666181112143351
100. Ye Q., Wang B., Mao J. The pathogenesis and treatment of the “Cytokine Storm” in COVID-19. *J. Infect.*, 2020, vol. 80, no. 6, pp. 607–613. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.037
101. Yi H.Y., Chowdhury M., Huang Y.D., Yu X.Q. Insect antimicrobial peptides and their applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2014, vol. 98, no. 13, pp. 5807–5822. doi: 10.1007/s00253-014-5792-6
102. Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature*, 2002, vol. 415: 389. doi: 10.1038/415389a
103. Zavascki A.P., Goldani L.Z., Li J., Nation R.L. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2007, vol. 60, pp. 1206–1215. doi: 10.1093/jac/dkm357
104. Zeth K., Sancho-Vaello E. The human antimicrobial peptides dermcidin and LL-37 show novel distinct pathways in membrane interactions. *Front. Chem.*, 2017, vol. 5: 86. doi: 10.3389/fchem.2017.00086
105. Zhang L.J., Gallo R.L. Antimicrobial peptides. *Curr. Biol.*, 2016, vol. 26, no. 1, pp. R14–R19. doi: 10.1016/j.cub.2015.11.017
106. Zhao H., Mattila J.P., Holopainen J.M., Kinnunen P.K. Comparison of the membrane association of two antimicrobial peptides, magainin 2 and indolicidin. *Biophys. J.*, 2001, vol. 81, no. 5, pp. 2979–2991. doi: 10.1016/s0006-3495(01)75938-3
107. Zhu Y., Yu D., Yan H., Chong H., He Y. Design of potent membrane fusion inhibitors against SARS-CoV-2, an emerging coronavirus with high fusogenic activity. *J. Virol.*, 2020, vol. 94, no. 14: e00635-20. doi: 10.1128/jvi.00635-20

Авторы:

Щелканов М.Ю., д.б.н., доцент, директор НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия; зав. лабораторией экологии микроорганизмов и международным научно-организационным центром Школы биомедицины Дальневосточного федерального университета, г. Владивосток, Россия; зав. лабораторией вирусологии Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения РАН, г. Владивосток, Россия; ведущий научный сотрудник Национального научного Центра морской биологии Дальневосточного отделения РАН, г. Владивосток, Россия;

Цыбульский А.В., к.м.н., доцент кафедры биохимии, микробиологии и биотехнологии, Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, Россия;

Дедков В.Г., к.м.н., зам. директора по научной работе, ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Галкина И.В., к.м.н., ведущий научный сотрудник Международного научно-образовательного Центра биологической безопасности Роспотребнадзора, Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, Россия;

Малеев В.В., д.м.н., профессор, академик РАН, советник директора по научной работе Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия.

Authors:

Shchelkanov M.Yu., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Director of G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of Rosпотребнадзор, Vladivostok, Russian Federation; Head of the Laboratory of Microorganism Ecology and International Scientific and Educational Center of Biological Security, School of Biomedicine, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation; Head of the Laboratory of Virology, Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation; Leader Researcher, National Scientific Center of Marine Biology of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation;

Cybulsky A.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation;

Dedkov V.G., PhD (Medicine), Deputy Director for Academic Affairs, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Galkina I.V., PhD (Medicine), Leading Researcher, International Scientific and Educational Center for Biological Security of Rosпотребнадзор, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation;

Maleev V.V., PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Advisor to the Director for Research, Central Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation.

РОЛЬ СТРЕПТОКИНАЗЫ В МОДЕЛИРОВАНИИ ПОСТСТРЕПТОКОККОВОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА

Л.А. Бурова¹, Е.А. Гаврилова², П.В. Пигаревский¹, Артем А. Тотолян¹

¹ ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

² ГБУЗ Госпиталь для ветеранов войн, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Постстрептококковый гломерулонефрит (PSGN) относится к осложнениям острой инфекции, вызванной *Streptococcus pyogenes* (стрептококком группы А, СГА). Данная патология изучается давно, но и сегодня предпринимаются попытки идентификации продуктов жизнедеятельности стрептококков, способных инициировать иммунопатологический процесс в почках. Наибольшее внимание уделяется стрептокиназе — ферменту, трансформирующему плазминоген крови в плазмин, способный в комплексе с плазминовым рецептором (NAP1r) повреждать структуру почечных гломерул, а также активировать систему комплемента. Цель исследования состояла в решении двух задач: в изучении способности стрептокиназы СГА трансформировать плазминоген различной видовой принадлежности в плазмин, а также в изучении его роли в развитии PSGN у кроликов с подкожно имплантированными сетчатыми тканевыми камерами. *Материалы и методы.* В работе использованы СГА типов M1, M12, M22 и их *ska*⁻ мутанты. Препараты чистого плазминогена получали из свежей плазмы крови человека, кролика или мыши с помощью хроматографии на колонках с лизин-сефарозой 4В. Для выявления способности стрептокиназы активировать плазминоген в плазмин к ее препарату в концентрации 1 мг/мл добавляли по 10 мкг очищенного плазминогена человека, кролика или мыши. Концентрацию плазмينا определяли фотометрически с использованием хроматогенного субстрата S-2251 (Chromogenix, США). С целью воспроизведения PSGN на кроликах им под кожу вживляли по четыре камеры; животных заражали путем введения культур СГА в камеры после полного заживления ран и наблюдали в течение трех недель. На 14-й день животных обрабатывали бензилпенициллином. Почку выживших кроликов подвергали иммуногистологическому анализу. *Результаты.* Стрептокиназа из СГА типа M1, M12 и M22 в опытах *in vitro* показала выраженную функциональную активность в отношении плазминогена человека, трансформируя его в плазмин: показатели оптической плотности при $\lambda = 405$ нм составляли 0,4–0,7 в сравнении с отрицательным контролем (ОП < 0,001). Стрептокиназа не активировала мышинный плазминоген (ОП = 0,001) и крайне слабо влияла на трансформацию кроличьего плазминогена (ОП = 0,002). В опытах на кроликах по индукции PSGN не удалось выявить участие стрептокиназы, поскольку не были обнаружены какие-либо различия в инициации гломерулонефрита как исходными штаммами, так и *ska*⁻ изогенными мутантами. Мутантные штаммы, дефицитные по гену, ответственному за синтез стрептокиназы, но сохранившие способность связывать IgG кролика и человека, вызывали изменения в ткани почек, характерные для PSGN. Проведен сравнительный анализ кроличьей и мышинной моделей PSGN; вы-

Адрес для переписки:

Бурова Лариса Александровна
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12,
ФГБНУ Институт экспериментальной медицины.
Тел.: 8 (812) 234-05-42.
E-mail: lburova@yandex.ru

Contacts:

Larisa A. Burova
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Academic
Pavlov str., 12, Institute of Experimental Medicine.
Phone: +7 (812) 234-05-42.
E-mail: lburova@yandex.ru

Для цитирования:

Burova L.A., Gavrilova E.A., Pigarevsky P.V., Totolian Artem A. A role of streptokinase in experimental post-streptococcal glomerulonephritis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 853–864. doi: 10.15789/2220-7619-ARO-1594

Citation:

Бурова Л.А., Гаврилова Е.А., Пигаревский П.В., Тотолян Артем А. Роль стрептокиназы в моделировании постстрептококкового гломерулонефрита // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 853–864. doi: 10.15789/2220-7619-ARO-1594

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 14-04-00390.

The study was supported by Grant No. 14-04-00390 of the Russian Foundation for Basic Research.

полненные по одной и той же схеме, они допускают противоположные выводы о роли стрептокиназы в развитии экспериментального гломерулонефрита. Обсуждается роль IgG Fc-связывающих белков СГА в генезе экспериментального постстрептококкового гломерулонефрита.

Ключевые слова: *Streptococcus pyogenes*, стрептокиназа, плазминоген, плазмин, IgG Fc-связывающая активность стрептококков, экспериментальный стрептококковый гломерулонефрит.

A ROLE OF STREPTOKINASE IN EXPERIMENTAL POST-STREPTOCOCCAL GLOMERULONEPHRITIS

Burova L.A.^a, Gavrilova E.A.^b, Pigarevsky P.V.^a, Totolian Artem A.^a

^a Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

^b Hospital for Veterans, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Post-streptococcal glomerulonephritis (PSGN) refers to the sequela of the acute infection, caused by *Streptococcus pyogenes* (group A streptococcus, GAS). This pathology has been studied for a long time, and today attempts are being made to identify the products of their life activity, able to initiate an immunopathological process in kidneys. Most attention has been paid to streptokinase, the enzyme transforming blood plasminogen into plasmin, capable, together with the plasmin receptor (NAP1r), of damaging the glomerular tissue, as well as activating the complement system. The aim of the study was to consider two tasks: to study the ability of the GAS-obtained enzyme to transform plasminogen of different species into plasmin as well as to study its role in the development of PSGN in rabbits having subcutaneously implanted tissue chambers. The animals were infected by inoculating GAS cultures into the chambers. **Materials and methods.** GAS strains of M types 1, 12, 22 and their *ska*⁻ isogenic mutants were used in the study. Purified plasminogen preparations were isolated from fresh human, rabbit or mouse plasma by using chromatographic column with Lysine Sepharose 4B. To reveal the ability of streptokinase to activate plasminogen into plasmin, its preparation at a concentration of 1 mg/ml was added to 10 µg of purified human, rabbit or mouse plasminogen. The concentration of plasmin was defined photometrically using S-2251 (Chromogenix, USA). To reproduce PSGN, four chambers were implanted under the skin in each rabbit; after the complete wound healing animals were infected and observed for three weeks. On day 14, the animals were treated with benzylpenicillin. The kidneys from survived rabbits were subjected to immunohistology analysis. **Results.** During *in vitro* experiments, M1, M12 and M22 GAS streptokinase showed distinct functional activity on human plasminogen, transforming it into plasmin: optical density indicators at $\lambda = 405$ nm were 0.4–0.7 compared with the negative control (OD < 0.001). Streptokinase did not activate mouse plasminogen (OD = 0.001) and exerted quite a weak effect on transformation of the rabbit plasminogen into plasmin (OD = 0.002). In experiments on PSGN induction in rabbits, we failed to detect streptokinase involvement, because no differences between initiation of glomerulonephritis by wild strains or *ska*⁻ isogenic mutants were identified. Mutant strains deficient in the gene responsible for streptokinase synthesis but retained ability to bind rabbit and human IgG, caused morphological changes in kidney tissue, specific for PSGN. In addition, a comparative analysis of PSGN “rabbit” and “mouse” models developed by the same technology, was carried out and led to opposing conclusions regarding a role of streptokinase in pathogenesis of experimental glomerulonephritis. The role of IgG Fc-binding activity of GAS in development of experimental PSGN is discussed.

Key words: *Streptococcus pyogenes*, streptokinase, plasminogen, plasmin, streptococcal IgG Fc-binding proteins, experimental streptococcal glomerulonephritis.

Введение

Данные медицинской науки и практики позволяют рассматривать стрептококковую инфекцию и вызываемые ею осложнения в качестве одной из глобальных проблем современного здравоохранения. Важную роль в этой патологии человека играет *Streptococcus pyogenes*, штаммы которого входят в серологическую группу А (СГА), объединяющую около 150 М-типов возбудителя. Они вызывают такие заболевания как тонзиллофарингит, скарлатина, пиодермия, некротический фасциит и миозит, сепсис, синдром токсического шока и другие проявления острой стрептококковой инфекции, не говоря уже об иммунопатологических процессах по типу ревматического

поражения сердца и острого постстрептококкового гломерулонефрита (PSGN). В отношении патогенеза этой формы гломерулонефрита большинство авторов придерживается представлений об иммунокомплексной природе ее развития [7, 11, 17, 33]. Усилия исследователей направлены на идентификацию микробного фактора, обеспечивающего так называемую «нефритогенность» штаммов СГА. Она приводит к воспалению, дегенерации и деструкции ткани почечных клубочков и в итоге к образованию аутоантигенных субстанций. Основное место среди кандидатов в ведущие факторы нефритогенности отводится стрептокиназе, поскольку этот экскретируемый продукт СГА способен расщеплять плазминоген крови в сериновую протеиназу — плазмин.

По мнению ряда авторов [16, 20, 28], он является иницирующим звеном в генезе гломерулонефрита. Было показано, что введение СГА, экспрессирующего стрептокиназу гено-типа *ska1* или *ska2* [21, 22, 23, 27], мышам линии BALB/c в подкожно имплантированные камеры сопровождается морфологическими изменениями в почках, лейкоцитарной инфильтрацией ткани гломерул, пролиферацией клеток мезангия и депозицией С3-компонента комплемента и IgG на базальной мембране клубочков. У некоторых животных обнаружены антитела к стрептокиназе, а также ее депозиция на базальной мембране [28]. Следует, однако, отметить, что во избежание ошибок в трактовке экспериментов по моделированию PSGN постулат о ведущей роли стрептокиназы в его генезе следует обязательно сопроводить доказательством ее способности активировать плазмин, расщепляя плазминоген экспериментального животного.

Неоднозначность данных, регистрируемых в разных экспериментах по изучению иммунопатологических процессов стрептококковой этиологии, может быть вызвана рядом обстоятельств. Во-первых, сложностью структуры микробной клетки, богатством активных компонентов, участвующих во взаимодействии патогена и хозяина; во-вторых, многоплановостью ответных реакций инфицированного организма; и, в-третьих, состоянием его иммунной системы. С этим связаны различные проявления постстрептококковых осложнений. Понять их можно тем полнее, чем ближе опытная модель к естественному процессу у человека [4]. Очевидно, что взаимосвязанность многих факторов затрудняет определение вклада каждого из них в патологию. Именно поэтому среди многих факторов перехода острой инфекции в иммунопатологию важно суметь определить ведущий, отделив его от факторов, поддерживающих развитие патологии. Ранее в опытах по индукции PSGN была обнаружена способность аутоантител к IgG экспериментального животного (кролика) повреждать почечные гломерулы [1, 2, 3, 5, 6, 9]. Формирование анти-IgG антител, а затем и иммунных комплексов типа IgG-анти-IgG, было вызвано введением кроликам массивных доз убитых микробных тел (10^8 – 10^9 КФЕ/мл) СГА, способных связывать IgG хозяина за счет поверхностных IgG Fc-связывающих белков микроба и последующей антигенной трансформации связанного IgG. Мутантные штаммы СГА, лишённые указанных белков, не вызывали патологический процесс в почечной ткани. Эти исследования позволили определить IgG Fc+ состояние СГА как ведущее условие, обуславливающее его нефритогенность [12, 13, 15].

С учетом вышеизложенного были определены задачи настоящего исследования:

- изучить способность стрептокиназы ряда М-типов СГА трансформировать плазминоген различного видового происхождения в плазмин в качестве важного звена в генезе PSGN;
- смоделировать гломерулонефрит у кроликов введением в имплантированные под кожу камеры IgG Fc-связывающих СГА, продуцирующих и не продуцирующих стрептокиназу.

Решение этих задач позволит дать сравнительную оценку разным подходам по моделированию PSGN и попытаться определить патогенетическое значение отдельных факторов процесса, например стрептокиназы.

Материалы и методы

Бактериальные штаммы. В работе были использованы следующие стрептококки группы А: штаммы M1 (40/58) и M12 (1800) из коллекции WHO Streptococcal Reference Laboratory (Национальный институт общественного здоровья, Прага, Чехия); штамм M22 (AL168), выделенный от больного фарингитом, полученный от доктора Lindahl G. (Отдел медицинской микробиологии, Лундский университет, Швеция); изогенные мутанты *ska*⁻ типов M1 и M22, полученные от доктора Sjobring U. (Отдел медицинской микробиологии, Лундский университет, Швеция). Штаммы хранили при -70°C в среде Тодда–Хьюита (Todd-Hewitt Broth, THB) с 20% эмбриональной телячьей сывороткой. Для их культивирования также использовали среду Тодда–Хьюита (Difco, США; Hi-Media, Индия).

Препараты. В иммуноморфологических тестах использовали кроличью сыворотку с антителами к С3-компоненту комплемента человека, перекрестно реагирующую с С3 кролика (Dako, Дания); поликлональные козы антитела к TNF α кролика (AMS Biotechnology, США), поликлональные мышинные антитела к IL-1 β кролика и поликлональные козы антитела к IL-6 человека (Biosource International, США). Также использовали моноспецифические антисыворотки к IgG кролика, козы и мыши, меченые пероксидазой (Sigma-Aldrich, США).

Выделение и очистка стрептокиназы. Для выделения стрептокиназы из культур СГА типов M1, M12 или M22 использовали пролонгированную инкубацию микробов: 2 мл 18–20-часовой культуры вносили в 200 мл подогретой до 37°C среды THB с 2% дрожжевого экстракта и дополнительно инкубировали еще 8–10 ч. Надосадок, полученный после 25 мин центрифугирования при 12 000g и 4°C , фильтровали через фильтры 0,45 мкм (Millipore, США) и концентрирова-

ли в 10 раз с помощью мембран Amicon PM-10 (Millipore, США). Сконцентрированный супернатант со скоростью 6 мл/ч наносили на HiTrap NHS-активированную аффинную колонку, конъюгированную с плазминогеном человека. Для элюции использовали 0,1 М раствор глицина pH 2,0. Объем собираемых фракций не превышал 200 мкл; каждую фракцию с наивысшим показателем оптической плотности при длине волны 280 нм исследовали в вестерн-блоте на наличие стрептокиназы.

Вестерн-блот анализ для выявления стрептокиназы. 10 мл 18-часовой культуры исследуемых СГА центрифугировали и 1 мл каждого надосадка переносили в пробирки, куда добавляли 500 мкл 10% трихлоруксусной кислоты и смесь выдерживали в течение 1 ч при 4°C. Для получения осадка пробирки центрифугировали в течение 10 мин при 14 000 об/мин. К осадку добавляли 20 мкл SDS-буфера, перемешивали на мешалке типа Vortex трижды по 45 с до полного растворения осадка. 15 мкл образца исследовали SDS-электрофорезом в 10%-ном полиакриламидном геле по методике Neville D. [27]. Для электропереноса использовали PVDF-мембраны согласно методике Tombin H. и соавт. [36]. После электропереноса мембраны помещали в PBS с 0,25% Tween-20 и 0,25% желатины и инкубировали с моноклональными антителами к стрептокиназе, разведенными 1:1000 в блокирующем буфере. После отмывания к мембране добавляли ¹²⁵I-протеин G в концентрации 200 000 cpm/мл. Отмытую и высушенную мембрану для выявления стрептокиназы помещали в кассету Phosphor Imager. Радиоактивность определяли с помощью компьютерной программы STORM 840 Phosphor Screen. При исследовании фракций с аффинной Hi-Trap колонки на наличие стрептокиназы образцы после нейтрализации до pH 7,0–7,2 добавлением 1 М раствора NaOH наносили в 10% SDS-полиакриламидный гель в объеме 15 мкл. Остальные этапы (электрофорез, электроперенос и обработка мембран) аналогичны описанному выше.

Очистка плазминогена различной видовой специфичности. Плазминоген получали из свежей плазмы крови человека, кролика или мыши. Отцентрифугированную в течение 1 ч при 40°C и 20 000g плазму смешивали с лизин-сефарозой 4B (GE Healthcare, США) и смесь выдерживали 2 ч при 40°C. Затем ее переносили в хроматографическую колонку, которую отмывали PBS из расчета 5–10 мл на 1 мл исходного объема плазмы и повторно PBS с 0,5 М NaCl из расчета 1–2 мл на 1 мл исходного объема плазмы. Для элюции плазминогена использовали 0,2 М раствор ε-аминокапроновой кислоты

(Sigma Aldrich, США). Объем фракций не превышал 2,0–2,5 мл. Чистоту полученных фракций с плазминогеном контролировали путем SDS-электрофореза в 10% полиакриламидном геле и хранили при температуре –70...–80°C. Допускалось лишь однократное их размораживание во избежание потери препаратом функциональной активности.

Тест на функциональную активность плазминогена. К 2 мкл коммерческой стрептокиназы С (Streptase, Sigma-Aldrich, США) в концентрации 1 мг/мл добавляли 10 мкг очищенного плазминогена человека, кролика или мыши. Смесь инкубировали 1 ч при 37°C. К концу срока инкубации для выявления плазмина в смесь добавляли специфический хроматогенный субстрат (S-2251, Chromogenix, Sigma) в объеме 1 мл. Инкубацию смеси продолжали еще в течение одного часа, после чего определяли оптическую плотность (ОП) раствора при λ = 405 нм. Показатели ОП контрольных проб, содержащих только плазминоген различной видовой принадлежности или с одной стрептокиназой, не должны были превышать 0,001, что указывало на отсутствие в растворе плазмина. При модификации плазминогена в плазмин в результате действия исследуемой стрептокиназы показатели ОП при λ = 405 нм равнялись или превышали 0,1. При тестировании разных образцов стрептокиназы к элюатам с HiTrap аффинной колонки в объеме 5, 10 или 20 мкл добавляли 10 мкг плазминогена человека, кролика или мыши. Остальные этапы анализа аналогичны описанному выше [10].

Радиоиммунологический метод определения IgG Fc-связывающей активности СГА. IgG Fc-связывающую активность бактериальных клеток определяли по их способности связывать IgG человека, меченный ¹²⁵I [14]. Йодирование препаратов IgG человека проводили с использованием ¹²⁵I производства радиохимического центра Amersham (Англия) и объединения «Изотоп» (Россия) по методу Greenwood F.C. и соавт. [18]. В исследованиях был использован коммерческий IgG человека фирмы Kabi (Швеция). Кроличий и мышинный IgG были выделены из пула соответствующих сывороток методом аффинной хроматографии на колонке с сефарозой 4B, конъюгированной с протеином G.

Суть теста состояла в следующем: 1,0–1,5 мкг IgG, меченного ¹²⁵I, добавляли к 200 мкл стандартной взвеси СГА (10⁹ КФЕ/мл) и замеряли общую радиоактивность смеси. После 60 мин инкубации при комнатной температуре, центрифугирования и отмывания осадка раствором PBS с 0,1% Tween-20 измеряли радиоактивность осадка. IgG Fc-связывающую активность исследуемого штамма рассчитывали в процентах связанного

IgG ¹²⁵I от добавленного общего IgG ¹²⁵I. Разница между двумя параллельными тест-пробирками не должна была превышать 3%. За позитивный принимали штамм, связывающий >10%, а за негативный — < 5% меченного IgG.

Иммуноморфологическое исследование почечной ткани кроликов. Фиксированные в 4%-ном параформальдегиде (12 ч) и депарафинированные тканевые срезы подвергали иммуноморфологическому анализу. На них наносили соответствующие антитела (к IgG, С3-компоненту комплемента или к цитокинам) в разведении 1:50 в 0,01 М фосфатном буфере (PBS, pH 7,4) с 1% BSA и выдерживали 1 ч при комнатной температуре. После отмывания в PBS срезы инкубировали 1 час с антителами, мечеными пероксидазой, так называемыми вторыми антителами. В качестве субстрата применяли 0,05%-ный диаминобензидин-тетрагидрохлорид и 0,03%-ную перекись водорода в PBS и после 20 мин контакта срезы промывали дистиллированной водой и заключали в глицерин-желатину.

Фиксацию кроличьего IgG в срезах выявляли козьими моноспецифическими антителами к IgG кролика с последующей обработкой срезов антителами к козьему IgG, мечеными пероксидазой. Депозицию-С3 компонента комплемента определяли обработкой срезов первоначально кроличьей сывороткой к С3-компоненту человека, а затем моноспецифической сывороткой к кроличьему IgG, меченному пероксидазой. Для выявления цитокинов срезы обрабатывали мышинными антителами к IL-1β кролика, козьими антителами к IL-6 человека и козьими антителами к TNFα кролика соответственно. В качестве вторых антител использовали антикозий или антмышинный IgG, меченные пероксидазой. Для окрашивания срезов использовали гематоксилин-эозин. Срезы изучали в микроскопе Axiomat (Opton, Германия). Анализ каждого образца ткани включал оценку изменений при низком и среднем увеличении (×100–600). Материал, обработанный иммунными сыворотками, исследовали при увеличении ×900–1100 для выявления депозитов IgG и С3-комплемента, а также провоспалительных цитокинов.

Результаты

Способность стрептокиназы трансформировать плазминоген различной видовой специфичности в плазмин

Согласно современным представлениям повреждение гломерул при PSGN у человека развивается по следующей схеме: стрептокиназа, продуцируемая СГА, трансформирует плазминоген крови в плазмин — протеолитический

фермент. Последний, в совокупности с нефрит-ассоциированным плазминовым рецептором (NAP1r), разрушает белки ткани и приводит к формированию аутоантигенов и синтезу противотканевых антител. Процесс сопровождается деградацией внеклеточного матрикса гломерул, продукцией провоспалительных цитокинов, депозицией С3-компонента комплемента и различных иммунных комплексов. Исходя из вышеизложенного, при моделировании PSGN на животных крайне необходимо контролировать ход ответных реакций организма, и в первую очередь трансформацию плазминогена того или иного вида животного в плазмин. В соответствии с этим, нами выполнена серия опытов по способности стрептокиназы, выделенной из различных М-типов (M1, M12 и M22) СГА, трансформировать плазминоген разного происхождения в плазмин. Чистоту полученных с колонки лизин-сефарозы 4В фракций плазминогена выявляли методом SDS электрофореза в полиакриламидном геле. Результаты приведены на рис. 1.

Все три М-типа СГА активно продуцировали стрептокиназу, однако наибольшей активностью обладали штаммы типов M1 и M22. Результат анализа в вестерн-блоте препаратов стрептокиназы, выделенных из стрептококков типа M1, представлен на рис. 2. Положительные в вестерн-блоте фракции стрептокиназы ис-

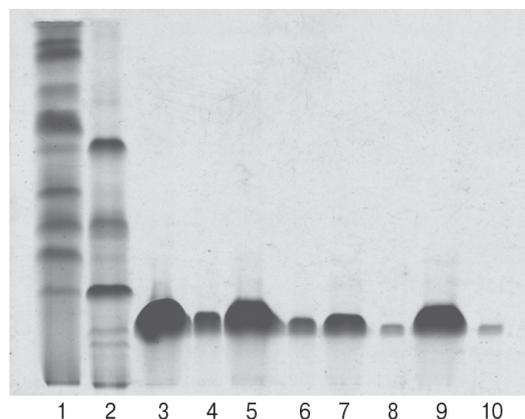


Рисунок 1. Чистота препаратов плазминогена различной видовой принадлежности в SDS-электрофорезе в полиакриламидном геле
Figure 1. Purity of species-specific plasminogen preparations in SDS-PAGE

Примечания. 1 — стандарт белков высокого молекулярного веса, 2 — стандарт белков низкого молекулярного веса, 3–6 — фракции плазминогена человека, 7–8 — фракции плазминогена мыши, 9–10 — фракции плазминогена кролика.

Notes. 1 — standard for high molecular weight proteins, 2 — standard for low molecular weight proteins, 3–6 — fractions of human plasminogen, 7–8 — mouse plasminogen fractions, 9–10 — rabbit plasminogen fractions.

следовали в функциональном тесте с плазминогеном различной видовой специфичности. Стрептокиназа из СГА этих М-типов проявила четко выраженную активность только в отношении плазминогена человека, трансформируя его в плазмин: ОП при $\lambda = 405$ нм составляла 0,4–0,7 по сравнению с отрицательной контрольной пробой (ОП < 0,001). Стрептокиназа не активировала мышиный плазминоген — ОП не превышал 0,001. В отношении плазминогена кролика отмечалось некоторое превышение показателей ОП (0,002), что рассматривалось как крайне слабая его активация. Типичный пример одного из многих испытаний активности стрептокиназы приведен в табл. 1. Стрептокиназа из СГА М1 (стрептокиназа А), как и стрептокиназа С (коммерческий препарат Streptase), трансформировали в плазмин только плазминоген человека: показатели ОП составляли 0,5112 и 0,6947 при $\lambda = 405$ нм соответственно. Обе стрептокиназы не действовали на плазминоген мыши и вызывали незначительное повышение ОП

(0,0019 и 0,0115) при добавлении к плазминогену кролика, что соответствовало минимальной концентрации плазмينا в растворе: 0,002 и 0,01 мг в пересчете на 1 мл. Полученные данные фактически позволяют допустить, что система «плазминоген–плазмин» не участвует ни в инициации, ни в развитии PSGN у мышей и оставляют слабую надежду на ее вовлечение в процесс у кроликов.

Индукция гломерулонефрита у кроликов с использованием подкожно имплантированных тканевых камер

Более строгие аргументы в пользу высказанного выше тезиса были получены в опытах по моделированию PSGN непосредственно на кроликах с использованием метода, ранее примененного для воспроизведения процесса на мышах [29]. «Живые» культуры *ska*⁺ штаммов СГА и их *ska*⁻ мутантных клонов вводили кроликам в камеры, вживленные под кожу. Создавая таким образом локальные очаги стрептококковой инфекции, экспериментатор обеспечивал долговременное поступление в организм животного секретуемых продуктов СГА, в частности стрептокиназы. Кроме того, испытываемые штаммы обладали выраженной продукцией IgG Fc-связывающих белков, также способных в силу их молекулярной массы, близкой к таковой для стрептокиназы (45 kDa), проникать в организм хозяина. Напомним, что IgG Fc-связывающие белки обладают уникальной способностью связывать IgG ограниченного числа видов (человека, кролика и свиньи, но не мыши [24, 25]). Ранее нам удалось показать роль этих же белков в инициации развития PSGN у кроликов, сходного по морфологии с проявлениями постстрептококкового гломерулонефрита у человека [3, 5, 12].

Сетчатые стальные камеры цилиндрической формы и размером 1,8 × 2,2 см (рис. 3), из-

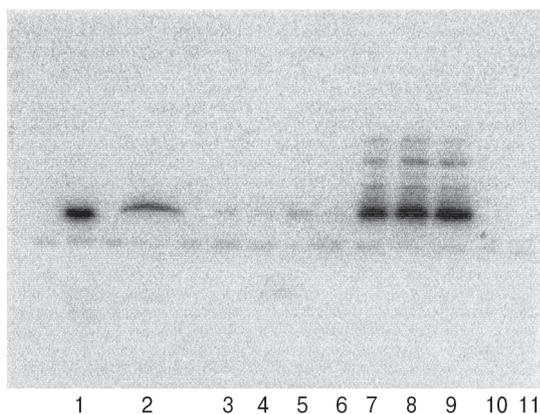


Рисунок 2. Исследование фракций стрептокиназы, выделенной из стрептококка типа М1 (40/58), элюированных с HiTrap NHS-активированной аффинной колонки

Figure 2. Study of streptokinase fractions isolated from GAS type M1 (40/58) eluted from HiTrap NHS-activated affinity column

Примечания. 1 — препарат коммерческой стрептокиназы С (Streptase) — контроль; 2 — супернатант культуральной жидкости стрептококка типа М1 (40/58), обработанный 10%-ной трихлоруксусной кислотой для осаждения стрептокиназы; 3–11 — фракции, элюированные с HiTrap NHS-активированной аффинной колонки и исследованные в вестерн-блоте на наличие стрептокиназы: 3–6 и 10–11 — отрицательные, 7–9 — положительные на наличие стрептокиназы фракции.

Notes. 1 — commercial streptokinase C (Streptase) — control; 2 — culture fluid supernatant of GAS type M1 (40/58), treated with 10% trichloroacetic acid for streptokinase precipitation; 3–11 — fractions eluted from HiTrap NHS-activated affinity column and tested in Western blot for streptokinase: 3–6 and 10–11 — negative fractions, 7–9 — positive fractions for streptokinase.

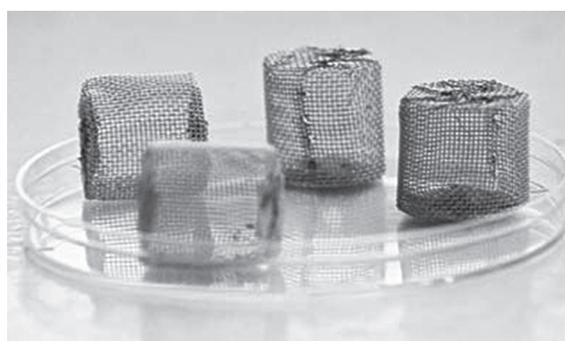


Рисунок 3. Тканевые камеры, использованные для подкожной имплантации кроликам

Figure 3. Tissue chambers used for subcutaneous implantation in rabbits

готовленные в мастерской Университета Умео (Швеция), использовали для вживления под кожу кроликам весом 3,5–4,0 кг (по четыре на кролика) в условиях обезболивания и под контролем ветеринарного врача Института экспериментальной медицины. Через 4 недели после снятия швов, при условии заживления ран

и отсутствия воспаления в области имплантата (в противном случае кролик исключался из опыта), в камеры вводили суспензии СГА типов М1, М22 и их *ska*⁻ мутантов. Характеристика штаммов приведена в табл. 2. Все они обладали высокой IgG-связывающей активностью в отношении IgG человека (34–78,5%) и кролика

Таблица 1. Активация плазминогена различной видовой специфичности в присутствии стрептокиназы С и стрептокиназы, выделенной из стрептококка типа М1 (40/58)

Table 1. Activation of species-specific plasminogen in the presence of streptokinase C and streptokinase isolated from streptococcus type M1 (40/58)

| Номер образца Sample number | Исследуемый препарат Studied preparation | Показатели оптической плотности при $\lambda = 405$ нм Optical density at $\lambda = 405$ nm | Концентрация белка (плазмина) в мг/мл Protein (plasmin) concentration in mg/ml |
|--------------------------------|---|---|---|
| 1 | Плазминоген человека 10 мкг + стрептокиназа М1 (40/58) Human plasminogen 10 μ g + streptokinase M1 (40/58) | 0,5112 | 0,5 |
| 2 | Плазминоген человека 5 мкг + стрептокиназа М1 (40/58) Human plasminogen 5 μ g + streptokinase M1 (40/58) | 0,3823 | 0,38 |
| 3 | Плазминоген кролика 20 мкг + стрептокиназа М1 (40/58) Rabbit plasminogen 20 μ g + streptokinase M1 (40/58) | 0,0019 | 0,002 |
| 4 | Плазминоген мыши 20 мкг + стрептокиназа М1 (40/58) Mouse plasminogen 20 μ g + streptokinase M1 (40/58) | 0,001 | 0 |
| 5 | Streptase + плазминоген человека 10 мкг Streptase + human plasminogen 10 μ g | 0,6947 | 0,7 |
| 6 | Streptase + плазминоген кролика 20 мкг Streptase + rabbit plasminogen 20 μ g | 0,0115 | 0,01 |
| 7 | Streptase + плазминоген мыши 20 мкг Streptase + mouse plasminogen 20 μ g | 0,0003 | 0 |
| 8 | Плазминоген человека 10 мкг Human plasminogen 10 μ g | -0,0015 | 0 |
| 9 | Плазминоген кролика 20 мкг Rabbit plasminogen 20 μ g | -0,0026 | 0 |
| 10 | Плазминоген мыши 20 мкг Mouse plasminogen 20 μ g | -0,0029 | 0 |
| 11 | Стрептокиназа М1 (40/58) 20 мкл Streptokinase M1 (40/58) 20 μ g | -0,0046 | 0 |
| 12 | Streptase 10 мкл Streptase 10 μ g | -0,0052 | 0 |

Таблица 2. Характеристика штаммов стрептококков группы А, использованных в экспериментах на кроликах с имплантированными тканевыми камерами

Table 2. Characteristics of GAS strains used in experiments on rabbits with implanted tissue chambers

| Вводимые стрептококковые штаммы Inoculated streptococcal strains | Связывание IgG, % Binding of IgG, % | | | Продукция стрептокиназы* Streptokinase production* |
|---|--|-------------------|----------------|---|
| | человека human | кролика rabbit | мыши mouse | |
| М1 (40/58) | 78,5 \pm 2,1 | 54,8 \pm 1,5 | 3,0 \pm 0,3 | + |
| М1 (40/58) <i>ska</i> ⁻ | 75,0 \pm 1,7 | 54,0 \pm 2,0 | 3,0 \pm 0,08 | - |
| М22 (AL 168) | 34,0 \pm 1,5 | 22,0 \pm 1,4 | 3,0 \pm 0,09 | + |
| М22 (AL 168) <i>ska</i> ⁻ | 34,5 \pm 1,3 | 21,5 \pm 1,3 | 3,0 \pm 0,2 | - |

Примечания. *Наличие стрептокиназы выявляли в культуральных супернатантах, осажденных 10% трихлоруксусной кислотой, с помощью вестерн-блота. Нитроцеллюлозную мембрану для выявления стрептокиназы обрабатывали моноклональными антителами к стрептокиназе С и протеину G, меченным ¹²⁵I. Продукция стрептококками стрептокиназы: (+) — выраженная, (-) — отсутствует.

Note. *The presence of streptokinase was detected in culture supernatants sedimented with 10% trichloroacetic acid using a Western blot. The nitrocellulose membrane was treated with monoclonal antibodies to streptokinase C and protein G labeled ¹²⁵I to detect streptokinase. Expression of streptokinase by streptococci: (+) — pronounced, (-) — absent.

(22–54,8%), но не IgG мыши (3%). Исходные штаммы СГА в отличие от *ska*⁻ мутантов продуцировали стрептокиназу.

Штаммы были испытаны на вирулентность на белых беспородных мышях весом 8–10 г: по 5 мл 18-часовых культур центрифугировали 20 мин при 3000 об/мин; осадки взвешивали в исходных объемах PBS и использовали для приготовления 10-кратных разведений. Каждое разведение по 0,5 мл вводили 5 мышам в полость брюшины. Вирулентность оценивали по числу павших через 24 ч мышей из числа зараженных. Количество КФЕ стрептококков, вызвавших 100% гибель мышей, принимали за летальную дозу — ЛД₁₀₀. Высокая летальность для мышей была выявлена у штамма типа М1 и его *ska*⁻ мутанта: ЛД₁₀₀ составляла 10³ КФЕ. Штаммы типа М22 были авирулентны: доза в 10⁸ КФЕ не вызывала гибель мышей.

Для введения в камеры использовали 18-часовые культуры СГА, выращенные в среде ТНВ: 100 мкл в стационарной фазе роста микробов переносили в 10 мл свежей, подогретой до 37°C среды для последующей инкубации в течение 5–6 ч до экспоненциальной фазы роста; после центрифугирования микробные клетки отмывали и ресуспендировали в 10 мл PBS. Непосредственно перед введением в камеры готовили следующие разведения микробов: 10⁷ КФЕ/мл для исходных и 10⁸ КФЕ/мл для мутантных штаммов. Более высокая концентрация мутантных бактерий обусловлена более длительной начальной фазой их роста. Живые СГА высевались из тканевых камер до 11-го дня с момента инфицирования кроликов с максимумом на 3-й день. На этот период приходилась и наибольшая летальность кроликов от стрептококка

типа М1 и его *ska*⁻ мутанта по сравнению с кроликами, которым вводили штаммы типа М22. На 14-й день из камер бактерии больше не высеивались. На 16-й день всем выжившим кроликам инъецировали внутримышечно бензилпенициллин из расчета 10 мг на 1 кг веса. На 21-й день кроликов обескровливали, а их почки забирали для иммуногистологического анализа.

Всего в опыт были взяты 30 кроликов с имплантированными камерами. Суммарные итоги экспериментов приведены в табл. 3. Очевидно, что моделирование гломерулонефрита у кроликов с имплантированными камерами было сопряжено с гибелью животных, которая связана с высокой вирулентностью либо токсигенностью культур, а также с невозможностью по условиям опытов применять антибиотики в течение почти двух недель после введения микробов в камеры. Высокая летальность совпала с введением вирулентных штаммов типа М1 — выжило по 2 кролика из 10 в опыте и контроле. Из числа кроликов, зараженных штаммами типа М22, выжило по четыре кролика из пяти зараженных. Высокая вирулентность для кроликов может ограничивать использование данной модели при изучении нефритогенной потенции высоковирулентных штаммов СГА.

Технология создания очагов инфекции в имплантированных камерах позволяет сосредоточить внимание на роли экстрацеллюлярных продуктов микроба, а не на иных клеточно-ассоциированных патогенетических факторах бактерий, к которым можно отнести и IgG Fc-связывающие М-белки СГА. Иницирующая роль последних в генезе PSGN была неоднократно показана в наших многолетних опытах [1, 2, 3, 13]. Введение кроликам убитых IgG Fc-

Таблица 3. Индукция экспериментального гломерулонефрита у кроликов при введении стрептококков типа М1 или М22 и их *ska*⁻ мутантов в имплантированные подкожно тканевые камеры

Table 3. Induction of experimental glomerulonephritis in rabbits by injections of M1 or M22 type streptococci and their *ska*⁻ mutants into implanted subcutaneous tissue chambers

| Штаммы стрептококков Strains of streptococci | Количество прооперированных кроликов Number of operated rabbits | Число кроликов с гломерулонефритом*/ число выживших кроликов Number of rabbits with glomerulonephritis*/number of surviving rabbits | Депозиция IgG и С3 Deposition IgG and C3 | Продукция IL-1β, IL-6, TNFα Production IL-1β, IL-6, TNFα |
|---|--|--|---|---|
| M1 (40/58) | 10 | 2/2 | + | + |
| M1 (40/58) <i>ska</i>⁻ | 10 | 2/2 | + | + |
| M22 (AL168) | 5 | 3/4 | + | + |
| M22 (AL168) <i>ska</i>⁻ | 5 | 4/4 | + | + |

Примечания. *Кролики, у которых при гистологическом и иммуноморфологическом анализе почечной ткани были выявлены четкие морфологические изменения, характеризующие развитие иммунного воспаления и мембранозно-пролиферативного гломерулонефрита. Степень выраженности депозиции IgG, С3-комплемента и продукции интерлейкинов: (+) — выраженная.

Note. *Rabbits with verified histological and clear immunomorphological renal tissue morphological changes that characterize the development of immune inflammation and membranous-proliferative glomerulonephritis. Level of deposited IgG, C3 complement and interleukin expression: (+) — pronounced.

позитивных бактерий СГА ряда М-типов, отмытых от внеклеточных продуктов, вызывало в почках изменения, типичные для мембранозно-пролиферативного PSGN с лимфоцитарной инфильтрацией ткани, депозицией IgG, С3-комплемента и продукцией провоспалительных цитокинов. В контрольных опытах, с использованием убитых природных или мутантных IgG Fc-негативных клонов СГА, такие проявления отсутствовали [13]. Допускалось, что связывание IgG животного сопровождалось его аутоантигенным преобразованием и синтезом анти-IgG антител к собственным IgG животного (с титром 1:80–1:640), ведущим к развитию иммунокомплексного повреждения мембран гломерул. Полученные результаты позволили перейти к опытам по моделированию PSGN с помощью «живых» культур СГА в качестве более адекватного подхода. Подтверждением сказанному стали воспалительные процессы в гломерулах, что подтверждалось обнаружением депозитов С3-комплемента и IgG, а также продукцией провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6 и TNF α (табл. 3).

Обсуждение

Основными факторами патогенности СГА являются типовые М-белок и так называемые М-подобные белки. Оценивая их роль в патологии, следует отметить, что они способны противостоять фагоцитозу микроба в организме хозяина, реагировать с широким спектром сывороточных белков человека: IgG, IgA, альбумином, фибронектином, плазминогеном и различными компонентами системы комплемента [7, 8, 17]. Среди них важное место занимают поверхностные белки, реагирующие с Fc-фрагментом нативного IgG человека и некоторых млекопитающих — IgG Fc-связывающие белки СГА. Гены, контролируемые М- и М-подобные белки, локализованы в пределах одного *Mga*-регулона, в значительной мере определяющего патогенность СГА [19].

Сегодня исследователи имеют хорошую возможность для сравнительного анализа как минимум двух моделей PSGN: мышинной и кроличьей [4, 29], тем более что в них использован один и тот же принцип — создание локального очага СГА-инфекции во вживленных под кожу животным камерах. Несмотря на внешнее сходство использованных моделей и ряда патоморфологических проявлений обоих процессов, обращают на себя внимание значительные расхождения в интерпретации и в выводах, в первую очередь в трактовке роли стрептокиназы в развитии экспериментального стрептококкового гломерулонефрита. В опытах на кроликах, в отличие от мышинной

модели, штаммы СГА, дефицитные по стрептокиназе, обладавшие способностью связывать IgG кролика и человека, но не мыши, вызывали деструктивно-дегенеративные изменения в почечной ткани, характерные для гломерулонефрита. В мышинной модели предпочтение отдается в известной мере спорному тезису о стрептокиназе как инициаторе процесса [20, 27, 28, 29]. При этом ее участие на других этапах патогенеза PSGN вряд ли должно оспариваться. Кроличья модель с использованием убитых и «живых» СГА разработана в отделе молекулярной микробиологии ИЭМ. Она не только вновь подтвердила роль IgG Fc-связывающих М-подобных белков в инициации экспериментального гломерулонефрита [13], но и позволила отрицать участие в нем стрептокиназы как в опытах со взвесью убитых бактерий, обладающих IgG Fc-активностью, так и в опытах с введением живых бактерий в подкожные камеры. На это однозначно указывает наличие патологических изменений в опытах со *ska*⁻ мутантными клонами, сохранившими IgG Fc⁺ фенотип. В то же время мышинная модель, описанная в работах S. Holm и соавт. [20, 27, 28, 29], вряд ли может дать ответ на вопрос об иницирующей роли стрептокиназы в патогенезе PSGN, поскольку положительный ответ на него нуждается в более строгом обосновании. Тем не менее в данной работе были найдены только статистически достоверные различия в проявлении ряда признаков гломерулонефрита между группами мышей, зараженных *ska*⁺ и *ska*⁻ клонами штамма NZ131. При этом признаки PSGN (окклюзия капилляров, депозиция С3-комплемента, протеинурия) обнаруживались в ряде случаев не только у мышей, зараженных *ska*⁻ клоном, но и у контрольных мышей, которым не вводили ничего либо вводили физиологический раствор. Непонятно, каким образом стрептокиназа могла иницировать PSGN, если она не способна модифицировать в плазмин мышинный плазминоген, что было показано как в настоящем исследовании, так и в описанном ранее [32]. В модели на мышах обнаруживалась выраженная адсорбция стрептокиназы на гломерулах; именно с этим свойством стрептокиназы авторы связывали ее нефритогенность, хотя обнаружение данного продукта на клубочках почек могло отражать лишь депозицию иммунных комплексов, содержащих данный фермент. Развитие PSGN у мышей нельзя объяснить и с позиций феномена IgG Fc-рецепции, поскольку, как известно, штаммы СГА не связывают мышинный IgG [24, 25], что подтвердилось и в настоящей работе. Исходя из изложенного, вопрос о механизме моделирования PSGN на мышах остается открытым.

В этом плане более целесообразным является использование модели экспериментального поражения гломерул на кроликах с живыми камерами, которая обеспечила возможность ответить сразу на оба вопроса относительно роли стрептокиназы и IgG Fc-статуса СГА. С этой целью кроликов заражали стрептококками группы А типов M1 или M22 и их *ska*⁻ мутантами; при этом все использованные штаммы активно связывали IgG кролика и человека. Данные опыты однозначно исключили стрептокиназу, но не IgG-связывающие белки, из числа факторов инициации PSGN, так как не было выявлено различий в проявлениях гломерулонефрита, вызванных исходными и мутантными штаммами. Мутантные штаммы, дефицитные по гену, ответственному за синтез стрептокиназы, но сохранившие способность связывать IgG кролика и человека, сохраняли способность вызывать иммунное воспаление в ткани почек, характерное для гломерулонефрита. С этих позиций развитие экспериментального гломерулонефрита можно объяснить IgG-связывающей активностью СГА, как это ранее было показано в опытах с убитыми IgG Fc⁺ штаммами СГА и их изогенными мутантами [12, 13, 15].

Нами была также предпринята попытка изучить способность стрептокиназы из разных M-типов СГА трансформировать плазминоген различного видового происхождения в плазмин как важный этап в генезе PSGN. С этой целью были выделены препараты очищенного плазминогена из плазмы крови человека, кролика и мыши. Стрептокиназа, выделенная из СГА типов M1, M12 и M22, в опытах *in vitro* показала четко выраженную функциональную активность только в отношении плазминогена человека, трансформируя его в плазмин и слабо воздействуя на плазминоген кролика. На основании этих данных невозможно объяснить роль стрептокиназы в развитии гломерулонефрита у мышей. По-видимому, для решения подобных вопросов более подходящим может оказаться использование «гуманизированных» трансгенных мышей, экспрессирующих плазминоген человека [35].

Критический анализ проблемы моделирования PSGN отнюдь не исключает участия стрептокиназы в генезе данного заболевания. Речь идет лишь о том, является ли она пусковым механизмом, иницирующим процесс, или служит важным звеном развития патологии. Достаточно убедительные данные японских исследователей [30, 31], полученные на клиническом материале, свидетельствуют о непосредственном участии этого фермента СГА в PSGN, поскольку он активирует плазмин путем расщепления плазминогена, что ведет к форми-

рованию комплекса плазмин–NAP1r с протеолитическим действием в отношении структуры гломерул. Наши опыты по моделированию гломерулонефрита позволяют рассматривать эту активность как вторичную — она проявляется тем глубже, чем значительнее первичное поражение ткани почек, вызванное иммунными комплексами IgG–анти-IgG, индуцированными IgG Fc⁺ белками СГА. Нефритогенная активность подобных иммунных комплексов вряд ли может вызвать сомнение, она была доказана еще пионерами этого направления в первой половине прошлого века [7, 33, 34].

Заключение

Исследование способности стрептокиназы, выделенной из различных M-типов СГА (M1, M12 и M22), трансформировать плазминоген различной видовой принадлежности в плазмин в опытах *in vitro* показало четко выраженную функциональную активность стрептокиназы в отношении только плазминогена человека. Стрептокиназа не способна была активировать мышинный плазминоген и крайне слабо активировала плазминоген кролика. Для выяснения роли стрептокиназы в индукции экспериментального гломерулонефрита у кроликов использована модель, при которой в имплантированные подкожно тканевые камеры инъецировали стрептококки группы А типов M1 или M22 и их *ska*⁻ мутанты. Данными опытами не установлена роль стрептокиназы в инициации патологического процесса в почечной ткани, так как не было выявлено различия в развитии гломерулонефрита между исходными штаммами стрептококков типов M1 и M22 и их *ska*⁻ изогенными мутантами. На кроличьей модели с использованием живых СГА, вводимых в подкожно имплантированные камеры, была подтверждена роль IgG Fc-связывающих M-подобных белков в инициации экспериментального гломерулонефрита. Проведен сравнительный анализ условий по моделированию PSGN на двух видах лабораторных животных — мышах и кроликах — с оценкой их преимуществ и недостатков.

Благодарности

Авторы выражают благодарность доктору Schalen С. за приобретение для данного исследования тканевых камер, а также доктору Sjobring U. (Отдел медицинской микробиологии, Лундский университет, Швеция) за возможность выполнения в его лаборатории опытов по способности стрептокиназы ряда M-типов СГА трансформировать плазминоген различного видового происхождения в плазмин.

Список литературы/References

1. Бурова Л.А., Гаврилова Е.А., Пигаревский П.В., Селиверстова В.Г., Нагорнев В.А., Шален К., Тотолян Артем А. Способность стрептококков группы А типа М12 связывать иммунные комплексы и их роль в патогенезе постстрептококкового гломерулонефрита // Медицинская иммунология. 2006. Т. 8, № 5–6. С. 623–630. [Burova L.A., Gavrilova E.A., Pigarevskiy P.V., Seliverstova V.G., Nagornev V.A., Schalen K., Totolian Artem A. Capacity of group A type M12 streptococci to bind immune complexes and their role in pathogenesis of post-streptococcal glomerulonephritis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2006, vol. 8, no. 5–6, pp. 623–630. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2006-5-6-623-630
2. Бурова Л.А., Королева И.В., Тотолян Артем А. Выявление и оценка биологической активности рецепторов у штаммов стрептококков, выделенных от носителей и больных // Вестник Академии медицинских наук СССР. 1989. № 6. С. 30–34. [Burova L.A., Koroleva I.V., Totolian Artem A. Identification and evaluation of the biological activity of receptors in streptococcal strains isolated from carriers and patients. *Vestnik Akademii medicinskih nauk SSSR = Bulletin of the Medical Sciences Academy of the USSR*, 1989, no. 6, pp. 32–37. (In Russ.)]
3. Бурова Л.А., Тотолян А.А. Роль стрептококковых Fc рецепторов для IgG в формировании микробного очага и развитии иммунопатологических состояний // Ревматология. 1988. № 3. С. 9–12. [Burova L.A., Totolian A.A. The role of streptococcal Fc receptors for IgG in the formation of a microbial focus and the development of immunopathological conditions. *Revmatologiya = Rheumatology*, 1988, no. 3, pp. 9–12. (In Russ.)]
4. Гаврилова Е.А. Сравнительная оценка экспериментальных моделей изучения патогенеза острого постстрептококкового гломерулонефрита // Медицинский академический журнал. 2004. Т. 3, № 4. С. 34. [Gavrilova E.A. Comparative evaluation of experimental models for studying the pathogenesis of acute post-streptococcal glomerulonephritis. *Meditsinskiy akademicheskij zhurnal = Medical Academic Journal*, 2004, vol. 3, no. 4, p. 34. (In Russ.)]
5. Тотолян А.А., Бурова Л.А. Fc-рецепторные белки *Streptococcus pyogenes* и патогенез постинфекционных осложнений (критический обзор) // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2014. № 3. С. 78–90. [Totolian Artem A., Burova L.A. Fc-receptor proteins of *Streptococcus pyogenes* and pathogenesis of post-infection complications. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2014, no. 3, pp. 78–90. (In Russ.)]
6. Тотолян А.А., Бурова Л.А., Нагорнев В.А., Пигаревский П.В. Анализ механизмов развития иммунопатологического постстрептококкового гломерулонефрита (APSGN) // Терапевтический архив. 2008. Т. 80, № 6. С. 90–95. [Totolian A.A., Burova L.A., Nagornev V.A., Pigarevskiy P.V. Analysis of mechanisms of development of immunopathological post-streptococcal glomerulonephritis (APSGN). *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive*, 2008, vol. 80, no. 6, pp. 90–95. (In Russ.)]
7. Тотолян А.А., Бурова Л.А., Пигаревский П.В. Экспериментальный постстрептококковый гломерулонефрит. СПб.: Издательство «Человек», 2019. 108 с. [Totolian A.A., Burova L.A., Pigarevskiy P.V. Experimental post-streptococcal glomerulonephritis. *St. Petersburg: "Chelovek" Publishing House*, 2019. 108 p. (In Russ.)]
8. Тотолян Артем А. Патогенность стрептококков и ее молекулярные и генетические механизмы. Л., Наука, 1988. 18 с. [Totolian Artem A. Pathogenicity of streptococci and its molecular and genetic mechanisms. *Leningrad: Nauka*, 1988. 18 p. (In Russ.)]
9. Тотолян Артем А., Бурова Л.А. Критический анализ предполагаемых механизмов патогенеза постстрептококкового гломерулонефрита // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2001, Т. 3, № 4. С. 316–323. [Totolian Artem A., Burova L.A. Critical analysis of the proposed mechanisms of pathogenesis of post-streptococcal glomerulonephritis. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2001, vol. 3, no. 4, p. 316–323. (In Russ.)]
10. Bajaj S.P., Castellino F.J. Activation of human plasminogen by equimolar levels of streptokinase. *J. Biol. Chem.*, 1977, vol. 252, pp. 492–498.
11. Barabas A.Z., Cole C.D., Lafreniere R., Weir D.M. Immunopathological events initiated and maintained by pathogenic IgG autoantibodies in an experimental autoimmune kidney disease. *Autoimmunity*, 2012, vol. 45, no. 7, pp. 495–509. doi: 10.3.109/089.934.2012.70281216
12. Burova L., Pigarevskiy P., Duplik N., Snegova V., Suvorov A., Schalen C., Totolian A. Immune complex binding *Streptococcus pyogenes* type M12/emml2 in experimental glomerulonephritis. *JMM*, 2013, vol. 62, pt. 9, pp. 1272–1280. doi: 10.1099/jmm.0.059196-0
13. Burova L., Thern A., Pigarevskiy P., Gladilina M., Seliverstova V., Gavrilova E., Nagornev V., Schalen C., Totolian A. Role of group A streptococcal IgG-binding proteins in triggering experimental glomerulonephritis in the rabbit. *APMIS*, 2003, vol. 111, pp. 955–962. doi: 10.1034/j.1600-0463.2003.1111007.x
14. Burova L.A., Christencen P., Grubb R., Schalen C., Svensson M.-L., Beltukov P.P., Totolian Artem A. Anti-immunoglobulins in experimental streptococcal immunization: relation to bacterial growth conditions and Fc-receptors. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.*, 1985, vol. 93, pp. 19–23. doi: 10.1111/j.1699-0463.1985.tb02916.x
15. Burova L.A., Pigarevskiy P.V., Seliverstova V.G., Gupalova T.V., Schalen C., Totolian A.A. Experimental post-streptococcal glomerulonephritis elicited by IgG Fc-binding M family proteins and blocked by IgG Fc-fragment. *APMIS*, 2012, vol. 120, pp. 221–230. doi: 10.1111/j.1600-0463.2011.02826.x
16. Cu G.A., Mezzano S., Bannan J.D., Zabriskie J.B. Immunohistochemical and serological evidence for the pole of streptococcal proteinase in acute post-streptococcal glomerulonephritis. *Kidney Int.*, 1998, vol. 54, no. 3, pp. 819–826. doi: 10.1046/j.1523-1755.1998.00052.x
17. Cunningham M.W. Pathogenesis of group A streptococcal infections. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2000, vol. 13, no. 3, pp. 470–511. doi: 10.1128/cmr.13.3.470-511.2000
18. Greenwood F.C., Hunter W.M., Glover J.S. The preparation of ¹²⁵I-labelled human growth hormone of high specific activity. *Biochem. J.*, 1963, vol. 89, no. 1, pp. 114–123. doi: 10.1042/bj0890114

19. Heat D.G., Cleary P.P. Fc-receptor and M-protein genes of group A streptococci are products of gene duplication. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1989, vol. 86, no. 12, pp. 4741–4745. doi: 10.1073/pnas.86.12.4741
20. Holm S.E. Hypothesis on the pathogenesis of post-streptococcal glomerulonephritis based on recent clinical and experimental research. *Zbl Bact. Hug.*, 1990, vol. 274, no. 3, pp. 325–332. doi: 10.1016/s0934-8840(11)80689-4
21. Huang T.T., Malke H., Ferretti J.J. The streptokinase gene of group A streptococci: cloning, expression in *Escherichia coli*, and sequence analysis. *Mol. Microbiol.*, 1989, vol. 3, no. 2, pp. 197–205. doi: 10.1111/j.1365-2958.1989.tb01808.x
22. Johnston K.H., Chaiban J.I., Wheeler R.C. Analysis of the variable domain of the streptokinase gene from streptococci associated with post-streptococcal glomerulonephritis. *Zbl Bact.*, 1992, vol. 22, pp. 339–342.
23. Malke H. Polymorphism of the SK gene: implication for the pathogenesis of post-streptococcal glomerulonephritis. *J. Med. Microbiol. Virol. Parasitol. Infect. Dis.*, 1993, vol. 278, pp. 3686–3693. doi: 10.1016/S0934-8840(11)80842-X
24. Myhre E.B., Kronvall G. Binding of murine myeloma proteins of different Ig classes and subclasses to Fc-reactive surface structures in gram-positive cocci. *Scand. J. Immunol.*, 1980, vol. 11, pp. 37–46. doi: 10.1111/j.1365-3083.1980.tb00206.x
25. Myhre E.B., Kronvall G. Specific binding of bovine, ovine, caprine and equine IgG subclasses to defined types of immunoglobulin receptors in gram-positive cocci. *Comp. Immun. Microb. Infect. Dis.*, 1981, vol. 4, no. 3–4, pp. 317–328. doi: 10.1016/0147-9571(81)90018-7
26. Neville D.M. Jr. Molecular weight determination of protein–dodecyl sulphate complexes by gel electrophoresis in a discontinuous buffer system. *J. Biol. Chem.*, 1971, vol. 246, pp. 6328–6334. doi: 10.1111/j.1365-3083.1980.tb00206.x
27. Nordstrand A., McShan W.M., Ferretti J.J., Stig E., Holm S.E., Norgren M. Allele substitution of the streptokinase gene reduces the nephritogenic capacity of group A streptococcal strain NZ131. *Infect. Immun.*, 2000, vol. 68, no. 3, pp. 1019–1025. doi: 10.1128/iai.68.3.1019-1025.2000.
28. Nordstrand A., Norgren M., Ferretti J.J., Holm S.E. Pathogenic mechanism of acute poststreptococcal glomerulonephritis. *Scand. J. Infect. Dis.*, 1999, vol. 31, no. 6, pp. 523–537. doi: 10.1080/00365549950164382
29. Nordstrand A., Norgren M., Holm S.E. An experimental model for acute glomerulonephritis in mice. *APMIS*, 1996, vol. 104, pp. 805–816. doi: 10.1111/j.1699-0463.1996.tb04946.x.
30. Oda T., Yoshizawa N., Yamakami K., Tamura K., Kuroki A., Sugisaki T., Sawanobori E., Higashida K., Ohtomo Y., Hotta O., Kumagai H. Localization of nephritis-associated plasmin receptor in acute poststreptococcal glomerulonephritis. *Hum. Pathol.*, 2010, vol. 41, no. 9, pp. 1276–1285. doi: 10.1016/j.humpath.2010.02.006.
31. Oda T., Yoshizawa N., Yamakami K., Yutaka Sakurai Y., Hanako Takechi H., Yamamoto K., Oshima N., Kumagai H. The role of nephritis-associated plasmin receptor (NAPlr) in glomerulonephritis associated with streptococcal infection. *J. Biomed. Biotechnol.*, vol. 2012, no. 6: 417675. doi: 10.1155/2012/417675
32. Okada K., Katano T., Kamogashira T., Zahn R.J., Morimito Y., Kagami S., Yasutomo K., Kuhara T., Kuroda Y. Streptokinase gene variable region classification in streptococci: lack of correlation with post-streptococcal glomerulonephritis. *Clin Nephrol.*, 1995, vol. 44, no. 1, pp. 8–13.
33. Rodrigues-Iturbe B., Haas M. Post-streptococcal glomerulonephritis. In: *Streptococcus pyogenes: basic biology to clinical manifestations* / Ed. by J.J. Ferretti, D.L. Stevens, V.A. Fischetti. Oklahoma City: University of Oklahoma, Health Sciences Center, 2017, pp. 869–892.
34. Rodriguez-Iturbe B., Musser J.M. The current state of poststreptococcal glomerulonephritis. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2008, vol. 19, no. 10, pp. 1855–1864. doi: 10.1681/asn.200801009
35. Sun H., Ringdahl U., Homeister J.W., Fay W.P., Engleberg N.C., Yang A.Y., Rozek L.S., Wang X., Sjöbring U., Ginsburg D. Plasminogen is a critical host pathogenicity factor for group A streptococcal infection. *Science, New Series*, vol. 305, no. 5688, pp. 1283–1286. doi: 10.1126/science.1101245
36. Tombin H., Staehelin T., Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1979, vol. 76, pp. 4350–4354. doi: 10.1073/pnas.76.9.4350

Авторы:

Булова Л.А., д.м.н., ведущий научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии, ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;
Гаврилова Е.А., к.м.н., зав. кардиологическим отделением ГБУЗ Госпиталь для ветеранов войн, Санкт-Петербург, Россия;
Пигаревский П.В., д.б.н., руководитель отдела общей морфологии, ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;
Тотolian Артем А., академик РАН, д.м.н., главный научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Burova L.A., PhD, MD (Medicine), Leading Researcher, Department of Molecular Microbiology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation;
Gavrilova E.A., PhD (Medicine), Head of the Cardiology Department, Hospital for Veterans, St. Petersburg, Russian Federation;
Pigarevsky P.V., PhD, MD (Biology), Head of the Department of General Morphology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation;
Totolian Artem A., RAS full member, PhD, MD (Medicine), Head Researcher, Department of Molecular Microbiology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 17.04.2021
 Принята к печати 28.03.2021

Received 17.04.2021
 Accepted 28.03.2021

SALMONELLA-INDUCED CHANGES OF THE RAT INTESTINAL MICROBIOTA

Yu.V. Bukina, N.N. Polishchuk, H.V. Bachurin, O.S. Cherkovskaya, O.L. Zynych, O.L. Lazaryk, M.B. Bezugly

Zaporozhye State Medical University, Zaporozhye, Ukraine

Abstract. The gut microbiome profoundly affects the body functioning: it participates in host protection against pathogenic microorganisms, metabolic events, inhibition of inflammatory responses, formation of innate and adaptive immune response in the intestinal mucosa. One of the causes altering microbiota community is due to antibiotics. Therefore, the processes of antibiotics interaction together with *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* with representatives of normal intestinal microflora are of particular interest. **Materials and methods.** The quantitative and qualitative analysis of the wall microbiota composition in rats was evaluated by bacteriological method, the statistical data analysis was performed using the software StatSoft Statistica v.12. **Results and discussion.** Inoculation of vancomycin and *S. enteritidis*, *S. typhimurium* in groups II, III, IV resulted in quantitatively decreased *E. coli* level by 10-, 7- and 110-fold, respectively ($p \leq 0.05$). The count of *P. aeruginosa* decreased markedly only in the group III ($p \leq 0.05$). The count of *Bacteroides* spp. members was profoundly decreased by several thousand times (group II) as well as 70- and 87-fold (groups III and IV), respectively ($p \leq 0.05$). The count of *E. faecalis* and *E. faecium* decreased by 861-, 6- and several thousand times (groups II, III, IV), respectively ($p \leq 0.05$). The count of *Proteus* spp. markedly decreased in group II by 27-fold and rapidly increased in group IV ($p \leq 0.05$). Group III revealed a sharp decline in level of *Enterobacter* spp. and *Klebsiella* spp. by 847- and 150-fold, whereas in group II they were increased by 7- and 46-fold, respectively ($p \leq 0.05$). The count of *Staphylococcus* spp. decreased by 10-fold only in group II. The level of *Clostridium* spp. decreased by several thousand times (group II) and by 5,500 times (group IV) ($p \leq 0.05$). The count of *Lactobacillus* spp. decreased by several thousand times (group II). The count of *Bifidobacterium* spp. members significantly decreased by 10.9-fold and by several thousand times (groups III, IV). The level of *Peptostreptococcus anaerobius* profoundly decreased in all three study groups ($p \leq 0.05$). The level of *Salmonella* spp. increased in group II by 49 times, but markedly increased in groups III and IV ($p \leq 0.05$). Inoculation of *Salmonella* after vancomycin pretreatment caused dramatic change in the microbiota composition in groups V and VI, namely: increased count of *E. coli* by 65- and 105-fold, markedly increased level of *P. aeruginosa* in group V and VI — by 3-fold. In addition, these groups also showed decreased level of *Bacteroides* spp. by 9- and 10-fold ($p \leq 0.05$). The count of *E. faecalis* and *E. faecium* decreased dramatically only in group V ($p \leq 0.05$). The count of *Proteus* spp. decreased by 17 times in group V as well as in group VI ($p \leq 0.05$). A sharp increase in level of *Enterobacter* spp. and *Klebsiella* spp. members was observed in groups V and VI ($p \leq 0.05$). However, representatives of *Peptostreptococcus anaerobius* in groups V and VI decreased by 20 and 9 times, respectively ($p \leq 0.05$). The count of *Salmonella* spp. decreased only in group V by 7 times ($p \leq 0.05$). Inoculating experimental animals with *B. fragilis* conditioned with *S. enteritidis*, *S. typhimurium* and pretreated with vancomycin resulted in markedly decreased level of *E. coli* in group VII and VIII by 538 times ($p \leq 0.05$). The count of *P. aeruginosa* in groups VII and VIII decreased profoundly, whereas level of *Bacteroides* spp. members was reciprocally increased ($p \leq 0.05$). The level of *Lactobacillus* spp. decreased by 10.3 times only in group VI. The count of *E. faecalis* and *E. faecium* increased by 10 and 19 times in groups VII and VIII, respectively, whereas level of *Proteus* spp. decreased only in group VII by 322 times ($p \leq 0.05$). In addition, a sharp decrease in level

Адрес для переписки:

Букина Юлия Вячеславовна
69035, Украина, г. Запорожье, пр. Маяковского, 26,
Запорожский государственный медицинский университет.
Тел.: +3 (8096) 400-46-26, +3 (8095) 512-09-29.
E-mail: lingvus25@gmail.com

Contacts:

Yuliia V. Bukina
69035, Ukraine, Zaporozhye, Maiakovskiy pr., 26,
Zaporozhye State Medical University.
Phone: +3 (8096) 400-46-26, +3 (8095) 512-09-29.
E-mail: lingvus25@gmail.com

Для цитирования:

Букина Ю.В., Полищук Н.Н., Бачурин Г.В., Черковская О.С., Зинич Е.Л., Лазарик А.Л., Безуглый М.Б. Сальмонелла-индуцированные изменения кишечного микробиома крыс // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 865–874. doi: 10.15789/2220-7619-SIC-1507

Citation:

Bukina Yu.V., Polishchuk N.N., Bachurin H.V., Cherkovskaya O.S., Zynych O.L., Lazaryk O.L., Bezugly M.B. Salmonella-induced changes of the rat intestinal microbiota // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 865–874. doi: 10.15789/2220-7619-SIC-1507

of *Enterobacter* spp. and *Klebsiella* spp. members ($p \leq 0.05$) was found in groups VII and VIII. The count of *Peptostreptococcus anaerobius* and *Lactobacillus* spp. members was markedly increased by 7-, 12-, several thousand-fold and 40 times (groups VII and VIII, respectively) ($p \leq 0.05$). The count of *S. enteritidis* and *S. typhimurium* in groups VII and VIII decreased rapidly ($p \leq 0.05$). **Conclusion.** Inoculation of *B. fragilis* can be used in treatment of inflammatory bowel diseases or disorders with impaired gut barrier function.

Key words: *parietal microbiota, microbiome, vancomycin, Salmonella, bacteroids, rats.*

САЛЬМОНЕЛЛА-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОМА КРЫС

Букина Ю.В., Полищук Н.Н., Бачурин Г.В., Черковская О.С., Зинич Е.Л., Лазарик А.Л., Безуглый М.Б.

Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье, Украина

Резюме. Микробиом кишечника существенно влияет на функционирование организма: он участвует в защите организма от патогенных микроорганизмов, в процессах обмена веществ, торможении воспалительных реакций, в формировании врожденного и адаптивного иммунного ответа в слизистой оболочке кишечника. Одной из причин изменения микробиоты является использование антибиотиков. Поэтому процессы взаимодействия антибиотиков, *Salmonella enteritidis* и *Salmonella typhimurium*, с представителями нормальной микрофлоры кишечника представляют особый интерес. **Материалы и методы.** Проведен количественный и качественный анализ состава микробиоты стенки у крыс бактериологическим методом, а также статистический анализ данных с использованием программы StatSoft Statistica v.12. **Результаты и обсуждение.** При введении ванкомицина и *S. enteritidis*, *S. typhimurium* в группы II, III, IV наблюдалось снижение количественного содержания кишечной палочки в 10, 7 и 110 раз соответственно ($p \leq 0,05$). Количество *P. aeruginosa* значительно уменьшилось только в третьей группе ($p \leq 0,05$). Количество представителей *Bacteroides* spp. значительно уменьшилось в несколько тысяч раз (группа II) и в 70 и 87 раз (группы III и IV) ($p \leq 0,05$). Содержание *E. faecalis* и *E. faecium* уменьшилось в 861, 6 и в несколько тысяч раз (группы II, III, IV) ($p \leq 0,05$). Количество *Proteus* spp. значительно уменьшился во II группе в 27 раз и быстро увеличился в IV группе ($p \leq 0,05$). Группа III показала резкое снижение содержания представителей *Enterobacter* spp. и *Klebsiella* spp. в 847 и 150 раз, а во II группе наблюдается увеличение их числа в 7 и 46 раз соответственно ($p \leq 0,05$). Количество *Staphylococcus* spp. снизилось в 10 раз только во II группе. Количественное содержание *Clostridium* spp. снизилось в несколько тысяч раз (группа II) и в 5,5 раз (группа IV) ($p \leq 0,05$). Количество *Lactobacillus* spp. уменьшилось в несколько тысяч раз (группа II). Количество представителей *Bifidobacterium* spp. значительно снизилось в 10,9 раз и в несколько тысяч раз (группы III, IV). Количественное содержание *Peptostreptococcus anaerobius* значительно уменьшилось во всех трех группах исследования ($p \leq 0,05$). Содержание *Salmonella* spp. увеличилось во II группе в 49 раз, а значительное увеличение наблюдалось в III и IV группах ($p \leq 0,05$). Введение сальмонеллы на фоне предварительной обработки ванкомицином вызывает резкое изменение состава микробиоты в группах V и VI, а именно увеличение количества кишечной палочки в 65 и 105 раз, значительное увеличение содержания *P. aeruginosa* в V группе, а в VI — в 3 раза. Также в этих группах наблюдается уменьшение количества *Bacteroides* spp. 9 и 10 раз ($p \leq 0,05$). Содержание *E. faecalis* и *E. faecium* значительно снизилось только в пятой группе ($p \leq 0,05$). Количество *Proteus* spp. уменьшается в 17 раз в группе V, а также значительно снижается в группе VI ($p \leq 0,05$). Резкое увеличение количества представителей *Enterobacter* spp. и *Klebsiella* spp. наблюдалось в группах V и VI ($p \leq 0,05$). Однако представителей *Peptostreptococcus anaerobius* в V и VI группах стало меньше в 20 и 9 раз соответственно ($p \leq 0,05$). Количество *Salmonella* spp. снизилось только в V группе в 7 раз ($p \leq 0,05$). При введении подопытным животным *B. fragilis*, получавшим *S. enteritidis* и *S. typhimurium* на фоне предварительной обработки ванкомицином, отмечалось значительное снижение уровня кишечной палочки в группе VII, а в VIII — в 538 раз ($p \leq 0,05$). Количество *P. aeruginosa* в группах VII и VIII значительно уменьшилось, а число представителей *Bacteroides* spp. естественно увеличивается ($p \leq 0,05$). Содержание *Lactobacillus* spp. снизилось в 10,3 раза только в VI группе. Содержание *E. faecalis* и *E. faecium* увеличилось в 10 и 19 раз в VII и VIII группах соответственно, а количество *Proteus* spp. уменьшилось только в VII группе в 322 раза ($p \leq 0,05$). Также в VII и VIII группах наблюдалось резкое снижение количества представителей *Enterobacter* spp. и *Klebsiella* spp. ($p \leq 0,05$). Число представителей *Peptostreptococcus anaerobius* и *Lactobacillus* spp. значительно увеличилось в 7, 12 раз и в несколько тысяч и 40 раз (группы VII и VIII соответственно) ($p \leq 0,05$). Количество *S. enteritidis* и *S. typhimurium* в VII и VIII группах интенсивно снижалось ($p \leq 0,05$). **Выводы.** Введение *B. fragilis* может быть использовано при лечении воспалительных заболеваний кишечника или заболеваний с нарушением барьерной функции кишечника.

Ключевые слова: пристеночная микробиота, микробиом, ванкомицин, сальмонелла, бактериоды, крысы.

The intestinal microbiome significantly affects the functioning of the body: it participates in metabolic processes, inhibition of proinflammatory reactions, in the formation of innate and adaptive immune response in the intestinal mucosa [7, 13, 16, 31]. The most important function of the intestinal microbiome is to protect the body from pathogenic microorganisms — pathogens of bacterial intestinal infections [30, 37]. It is known that dysbiotic changes in the intestine lead to increased susceptibility to pathogenic bacteria, such as *Salmonella* [12, 19], which are the etiological factor of gastroenteritis [35]. One of the most common causes of microbiota changes is the use of antibiotics [5, 24, 40]. Therefore, of particular interest are the processes of interaction of antibiotics, *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* with representatives of the normal intestinal microbiota [1, 4, 38]. Therefore, in our work, vancomycin was used to induce dysbiotic changes in the intestinal microflora, which acts against gram-positive bacteria and does not affect gram-negative (*Salmonella*). We also paid attention to determining the quantitative and species composition of the microbiota in *Salmonella*-induced intestinal inflammation, which created the basis for further study of the molecular mechanisms of interaction of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* with microbiota and gut-associated lymphoid tissue (GALT). The aim of the study is to analyze changes in the quantitative and species composition of the microbiota of the small intestine in rats with *Salmonella*-induced inflammation of the intestine on the background of the introduction of vancomycin and *B. fragilis*.

Materials and methods

Experiments to determine the quantitative and species content of microorganisms in the parietal intestinal microbiota were performed on 120 rats (males) of the line “Wistar” on the basis of the bacteriological department of the microbiological laboratory of Zaporozhye State Medical University in the bound of scientific research 0118U007141 “Molecular genetic analysis of changes in the transcript of the genes of the immune response and intestinal microbiome in the conditions of experimental pathology and the development of methods for their correction”. Acclimatization of animals (quarantine) lasted 7 days before the study. All experiments were conducted in the autumn–winter period in the vivarium of Zaporozhye State Medical University. Rats were kept at temperature of 18–21°C, in natural light during daylight from 7am to 5pm, with free access to food and water. Experimental work with rodents was carried out in accordance with the provisions of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986). All rodents, except group I (con-

trol, intact), received vancomycin and/or suspension of microorganisms. In order to quickly internalize the bacteria in the intestinal mucosa, the suspension with *Salmonella* was administered orally using a probe with a volume of 5 ml size 16–18, length 5–7.5 mm, tip size 2.25. Vancomycin was administered to animals at the rate of 50 mg per kg of body weight, suspensions of microorganisms in amount of 15 ml with a concentration of 3×10^8 CFU/g. Thus, to simulate the imbalance of the intestinal microflora, only vancomycin (TEVA, Hungary, No. UA/8995/01/02) was introduced to group II rodents, *S. enteritidis* suspension was introduced to group III, and *S. typhimurium* suspension was introduced to group IV. Animals V and VI of experimental groups received vancomycin on the first day, but group V after 24 h was administered a suspension of *S. enteritidis*, and rats of group VI — a suspension of *S. typhimurium*. Rodents of groups VII and VIII were also given vancomycin on the first day, but group VII received *S. enteritidis* suspension on the second day and *B. fragilis* on the third day, while group VIII rats received a suspension of *S. typhimurium* on the second day, and on the third — *B. fragilis*. As a material for bacteriological studies of the intestinal microbiota used swabs from the ileum of rats. Experimental studies were conducted according to the author’s method. To isolate the parietal microflora from the ileum, 0.1 ml of swabs were inoculated on nutrient media. Isolation and identification of *Salmonella* was performed according to the order of the Ministry of Health of the Ukraine No. 425 of 24.05.2013 “On approval of guidelines “Methods of isolation and identification of *Salmonella*”. For *Salmonella* used a magnesium enrichment medium in which the swabs were dissolved 1:10. Seedings from the obtained suspensions were performed on bismuth sulfite agar (BSA) and Endo medium immediately and after 24 h of incubation in a thermostat at 37°C, after which Endo medium was incubated for 20 h, BSA — 48 h at 37°C. HiCrome™ nutrient media and HiMedia differential diagnostic media (India) were used to isolate different species of microorganisms. Biochemical identification was performed according to the “Determinant of Bacteria Bergi” (1997), in accordance with the instructional and methodological documents and data of modern literature [11]. Identification of members of the genus *Pseudomonas* was performed in accordance with the methodical recommendations “Biological Characteristics and Microbiological Identification of Non-Fermenting Gram-Negative bacteria” (Kharkov, 2010). Determination of bacteroids and peptostreptococci was performed in accordance with the methodical recommendations “Laboratory diagnosis of purulent-inflammatory diseases caused by asporogenic anaerobic microorganisms” (Kharkov, 2000). Belonging of bacteria to the genus *Enterococcus* was carried out in accordance with the methodical recommendations “Microbiological diagnosis

of streptococcal, enterococcal and peptostreptococcal infections” (Kharkov, 2007). The experimental work used strains of *S. enteritidis* and *S. typhimurium*, which were obtained from the Museum of Microorganism Strains “Ukrainian Center for Disease Control and Monitoring” of the Ministry of Health of the Ukraine (Kyiv) and culture of *Bacteroides fragilis* isolated from the intestines of intact rodents. The affiliation of this strain to the genus *Bacteroides* was established by cultural characteristics, as well as by PCR (bactopol kit for determining *Bacteroides fragilis*, *vulgatus*, the-

taiotaomicron, *ovatus*). The isolate was confirmed as *Bacteroides fragilis* on a number of biochemical grounds.

Counting the number of microorganisms was performed according to the formula:

$$M = N \times 10n + 1,$$

where M is the number of microorganisms in 1 g of the test material, N is the number of colonies grown on agar, n is the degree of dilution of the test material.

Table 1. Quantitative content of microorganisms (CFU/g) in the parietal content of the small intestine in rats with the introduction of vancomycin and *S. enteritidis*, *S. typhimurium*

| Groups of microorganisms | Groups of experimental animals | | | | | |
|---|---|--|--|--|--|--|
| | Control (n = 15) | Vancomycin (n = 15) | <i>S. enteritidis</i> (n = 15) | <i>S. typhimurium</i> (n = 15) | Vancomycin + <i>S. enteritidis</i> (n = 15) | Vancomycin + <i>S. typhimurium</i> (n = 15) |
| | The number of microorganisms [Me (Q ₂₅ -Q ₇₅)], CFU/g | | | | | |
| <i>E. coli</i> | 2,2 × 10 ⁵ (1,0 × 10 ⁵ - 5,2 × 10 ⁵) | 2,1 × 10 ⁴ (1,6 × 10 ⁴ - 9,0 × 10 ⁴)* | 3,0 × 10 ⁴ (1,2 × 10 ⁴ - 8,0 × 10 ⁴)* | 2,0 × 10 ³ (1,8 × 10 ³ - 2,4 × 10 ³)* | 1,95 × 10 ⁶ (1,2 × 10 ⁶ - 2,8 × 10 ⁶) ^a | 2,1 × 10 ⁵ (1,5 × 10 ⁵ - 2,9 × 10 ⁵) ^b |
| <i>P. aeruginosa</i> | 7,05 × 10 ⁴ (2,4 × 10 ⁴ - 1,5 × 10 ⁵) | 8,7 × 10 ⁴ (3,0 × 10 ⁴ - 3,2 × 10 ⁵) | 2,2 × 10 ¹ (1,6 × 10 ¹ - 3,2 × 10 ¹)* | 1,25 × 10 ⁵ (5,0 × 10 ⁴ - 2,0 × 10 ⁵) | 2,2 × 10 ⁶ (1,4 × 10 ⁵ - 3,5 × 10 ⁶) ^a | 3,7 × 10 ⁵ (2,1 × 10 ⁵ - 1,8 × 10 ⁶) ^b |
| <i>Bacteroids spp.</i> | 1,65 × 10 ⁵ (1,2 × 10 ⁴ - 3,6 × 10 ⁵) | 4,0 × 10 ¹ (1,3 × 10 ¹ - 1,0 × 10 ²)* | 2,35 × 10 ³ (2,1 × 10 ³ - 3,1 × 10 ³)* | 1,9 × 10 ³ (1,2 × 10 ³ - 2,1 × 10 ³)* | 2,6 × 10 ² (1,8 × 10 ² - 4,0 × 10 ²) ^a | 1,85 × 10 ² (1,2 × 10 ² - 3,3 × 10 ²) ^b |
| <i>E. faecalis</i> and <i>E. faecium</i> | 1,55 × 10 ⁵ (4,0 × 10 ⁴ - 5,0 × 10 ⁵) | 1,8 × 10 ² (4,4 × 10 ¹ - 4,3 × 10 ²)* | 2,45 × 10 ⁴ (1,8 × 10 ⁴ - 4,0 × 10 ⁴)* | 1,1 × 10 ² (2,9 × 10 ¹ - 1,4 × 10 ²)* | 2,3 × 10 ¹ (2,1 × 10 ¹ - 3,1 × 10 ¹) ^a | 2,0 × 10 ² (1,1 × 10 ² - 3,6 × 10 ²) |
| <i>Proteus spp.</i> | 6,84 × 10 ⁴ (3,4 × 10 ⁴ - 2,4 × 10 ⁵) | 2,5 × 10 ³ (1,4 × 10 ³ - 3,7 × 10 ³)* | 1,5 × 10 ⁵ (4,1 × 10 ⁴ - 2,2 × 10 ⁵) | 1,5 × 10 ⁸ (4,2 × 10 ⁷ - 2,0 × 10 ⁸)* | 8,7 × 10 ³ (4,0 × 10 ³ - 2,4 × 10 ⁴) ^a | 2,7 × 10 ¹ (1,6 × 10 ¹ - 1,0 × 10 ²) ^b |
| <i>Enterobacter spp.</i> | 3,05 × 10 ⁵ (1,1 × 10 ⁵ - 4,5 × 10 ⁵) | 2,25 × 10 ⁶ (1,6 × 10 ⁶ - 4,0 × 10 ⁶)* | 3,6 × 10 ² (2,1 × 10 ² - 6,0 × 10 ²)* | 2,05 × 10 ² (1,8 × 10 ² - 3,0 × 10 ²)* | 1,9 × 10 ⁶ (4,0 × 10 ⁵ - 3,6 × 10 ⁶) ^a | 2,8 × 10 ⁶ (2,4 × 10 ⁶ - 6,3 × 10 ⁶) ^b |
| <i>Klebsiella spp.</i> | 4,05 × 10 ⁴ (2,0 × 10 ⁴ - 4,3 × 10 ⁵) | 1,85 × 10 ⁶ (4,4 × 10 ⁵ - 2,4 × 10 ⁶)* | 2,7 × 10 ² (1,8 × 10 ² - 4,0 × 10 ²)* | 2,85 × 10 ² (1,8 × 10 ² - 4,0 × 10 ²)* | 2,2 × 10 ⁶ (6,0 × 10 ⁵ - 3,6 × 10 ⁶) ^a | 2,45 × 10 ⁶ (1,4 × 10 ⁶ - 3,6 × 10 ⁶) ^b |
| <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> | 9,35 × 10 ⁵ (3,2 × 10 ⁵ - 1,7 × 10 ⁶) | 2,7 × 10 ² (1,8 × 10 ⁵ - 4,0 × 10 ⁵)* | 5,55 × 10 ² (4,4 × 10 ² - 1,2 × 10 ³)* | 2,6 × 10 ² (2,0 × 10 ² - 3,7 × 10 ²)* | 2,7 × 10 ¹ (2,1 × 10 ¹ - 3,8 × 10 ¹) ^a | 2,9 × 10 ¹ (1,9 × 10 ¹ - 4,2 × 10 ¹) ^b |
| <i>Staphylococcus spp.</i> | 2,6 × 10 ⁵ (1 × 10 ⁵ - 5 × 10 ⁵) | 2,65 × 10 ⁴ (1 × 10 ⁴ - 8 × 10 ⁴)* | 2 × 10 ⁵ (1 × 10 ⁵ - 3 × 10 ⁵) | 2,1 × 10 ⁵ (2 × 10 ⁵ - 7,2 × 10 ⁵) | 0 | 2 × 10 ⁵ (6 × 10 ⁴ - 3,2 × 10 ⁵) |
| <i>Clostridium spp.</i> | 5,5 × 10 ⁹ (1 × 10 ⁶ - 1 × 10 ⁸) | 1 × 10 ⁴ (1 × 10 ⁴ - 1 × 10 ⁵)* | 1 × 10 ⁶ (1 × 10 ⁶ - 1 × 10 ⁸) | 1 × 10 ⁶ (1 × 10 ⁴ - 1 × 10 ⁶)* | 1 × 10 ⁶ (1 × 10 ⁶ - 1 × 10 ⁸) | 5,05 × 10 ⁵ (1 × 10 ⁴ - 1 × 10 ⁶) |
| <i>Lactobacillus spp.</i> | 1,6 × 10 ⁶ (1 × 10 ⁶ - 8 × 10 ⁶) | 3,5 × 10 ⁴ (2 × 10 ⁴ - 2,8 × 10 ⁵)* | 2,05 × 10 ⁶ (5,2 × 10 ⁵ - 4 × 10 ⁶) | 3,45 × 10 ⁶ (8 × 10 ⁵ - 6 × 10 ⁶) | 6,2 × 10 ⁵ (2 × 10 ⁵ - 2 × 10 ⁶) | 2 × 10 ⁵ (1 × 10 ⁵ - 2,5 × 10 ⁵) ^b |
| <i>Bifidobacterium spp.</i> | 5,5 × 10 ⁶ (1 × 10 ⁶ - 1 × 10 ⁸) | 0 | 5,05 × 10 ⁵ (1 × 10 ⁴ - 1 × 10 ⁶)* | 1 × 10 ⁴ (1 × 10 ⁴ - 5 × 10 ⁵)* | 0 | 1 × 10 ⁴ (1 × 10 ⁴ - 5 × 10 ⁵) |
| <i>Candida</i> | 1,25 × 10 ⁵ (2 × 10 ⁴ - 2 × 10 ⁵) | 2,2 × 10 ⁴ (2 × 10 ⁴ - 4 × 10 ⁴) | 5,5 × 10 ⁵ (2 × 10 ⁴ - 8 × 10 ⁶) | 0 | 1,05 × 10 ⁶ (2 × 10 ⁵ - 7 × 10 ⁶) | 0 |
| <i>Salmonella spp.</i> | 6,9 × 10 ¹ (4,3 × 10 ¹ - 2,3 × 10 ²) | 3,4 × 10 ³ (2,5 × 10 ³ - 4,3 × 10 ³)* | 2,2 × 10 ⁶ (1,0 × 10 ⁶ - 4,0 × 10 ⁶)* | 1,45 × 10 ⁵ (1,0 × 10 ⁵ - 4,0 × 10 ⁵)* | 3,0 × 10 ⁵ (2,0 × 10 ⁵ - 4,4 × 10 ⁵) ^a | 4,0 × 10 ⁵ (2,0 × 10 ⁵ - 2,2 × 10 ⁶) |

Note. * — the significance of differences in the parameters $p \leq 0.05$ in relation to the control; ^a — reliability of parameters in relation to the group of *S. enteritidis* ($p \leq 0.05$); ^b — reliability of parameters in relation to the group *S. typhimurium* ($p \leq 0.05$).

Statistical analysis of the results was performed using licensed computer programs Microsoft Excel 2010 and StatSoft Statistica v.12. When analyzing the distributions of quantitative data, the level of the central tendency — the median (Me), and the level of variance — the interquartile range in the form of 25 and 75 percentiles were determined. The calculation of the significance of the differences between the mean values was evaluated using the nonparametric Mann–Whitney test (U-test).

The criterion of statistical significance was the level of $p \leq 0.05$.

Results and discussion

The data obtained during the studies showed that with the introduction of vancomycin and bacterial agents, the quantitative and qualitative composition of the representatives of the parietal microbiota changed dramatically (Table 1). Thus, in groups II,

Table 2. Quantitative composition of the parietal microbiota of the ileum of rats with the introduction of *Salmonella*, *B. fragilis* on the background of vancomycin

| Groups of microorganisms | Groups of experimental animals | | | |
|--|---|---|--|--|
| | Vancomycin + <i>S. enteritidis</i> (n = 15) | Vancomycin + <i>S. typhimurium</i> (n = 15) | Vancomycin + <i>S. enteritidis</i> + <i>B. fragilis</i> (n = 15) | Vancomycin + <i>S. typhimurium</i> + <i>B. fragilis</i> (n = 15) |
| | The number of microorganisms [Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)], CFU/g | | | |
| <i>E. coli</i> | 1,95 × 10 ⁶ (1,2 × 10 ⁶ – 2,8 × 10 ⁶) | 2,1 × 10 ⁵ (1,5 × 10 ⁵ – 2,9 × 10 ⁵) | 1,35 × 10 ² (2,9 × 10 ¹ – 1,8 × 10 ²)* | 3,9 × 10 ² (2,0 × 10 ² – 6,0 × 10 ²)* |
| <i>P. aeruginosa</i> | 2,2 × 10 ⁶ (1,4 × 10 ⁵ – 3,5 × 10 ⁶) | 3,7 × 10 ⁵ (2,1 × 10 ⁵ – 1,8 × 10 ⁶) | 2,05 × 10 ² (1,2 × 10 ² – 3,0 × 10 ²)* | 1,9 × 10 ² (1,4 × 10 ² – 4,0 × 10 ²)* |
| <i>Bacteroids</i> spp. | 2,6 × 10 ² (1,8 × 10 ² – 4,0 × 10 ²) | 1,85 × 10 ² (1,2 × 10 ² – 3,3 × 10 ²) | 4,15 × 10 ⁵ (2,1 × 10 ⁵ – 3,2 × 10 ⁶)* | 8,8 × 10 ⁶ (4,0 × 10 ⁶ – 2,0 × 10 ⁷)* |
| <i>E. faecalis</i> and <i>E. faecium</i> | 2,3 × 10 ¹ (2,1 × 10 ¹ – 3,1 × 10 ¹) | 2,0 × 10 ² (1,1 × 10 ² – 3,6 × 10 ²) | 2,4 × 10 ² (1,2 × 10 ³ – 5,6 × 10 ³)* | 3,75 × 10 ³ (2,5 × 10 ³ – 7,0 × 10 ³)* |
| <i>Proteus</i> spp. | 8,7 × 10 ³ (4,0 × 10 ³ – 2,4 × 10 ⁴) | 2,7 × 10 ¹ (1,6 × 10 ¹ – 1,0 × 10 ²) | 2,7 × 10 ¹ (1,2 × 10 ¹ – 3,2 × 10 ¹)* | 7,9 × 10 ¹ (6,0 × 10 ¹ – 1,2 × 10 ²) |
| <i>Enterobacter</i> spp. | 1,9 × 10 ⁶ (4,0 × 10 ⁵ – 3,6 × 10 ⁶) | 2,8 × 10 ⁶ (2,4 × 10 ⁶ – 6,3 × 10 ⁶) | 4,3 × 10 ² (1,3 × 10 ² – 7,0 × 10 ²)* | 2,3 × 10 ² (1,8 × 10 ² – 2,9 × 10 ²)* |
| <i>Klebsiella</i> spp. | 2,2 × 10 ⁶ (6,0 × 10 ⁵ – 3,6 × 10 ⁶) | 2,45 × 10 ⁶ (1,4 × 10 ⁶ – 3,6 × 10 ⁶) | 2,3 × 10 ² (1,4 × 10 ² – 4,0 × 10 ²)* | 1,6 × 10 ² (1,2 × 10 ² – 2,8 × 10 ²)* |
| <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> | 2,7 × 10 ¹ (2,1 × 10 ¹ – 3,8 × 10 ¹) | 2,9 × 10 ¹ (1,9 × 10 ¹ – 4,2 × 10 ¹) | 1,9 × 10 ² (1,5 × 10 ¹ – 2,1 × 10 ²) | 3,45 × 10 ² (3,0 × 10 ¹ – 5,2 × 10 ²)* |
| <i>Staphylococcus</i> spp. | 0 | 2 × 10 ⁵ (6 × 10 ⁴ – 3,2 × 10 ⁵) | 2,25 × 10 ⁵ (1,6 × 10 ⁵ – 3,2 × 10 ⁵) | 2,65 × 10 ⁵ (1,5 × 10 ⁵ – 5 × 10 ⁵) |
| <i>Clostridium</i> spp. | 1 × 10 ⁶ (1 × 10 ⁶ – 1 × 10 ⁸) | 5,05 × 10 ⁵ (1 × 10 ⁴ – 1 × 10 ⁶) | 1 × 10 ⁵ (1 × 10 ⁴ – 1 × 10 ⁶) | 1 × 10 ⁴ (1 × 10 ⁴ – 1 × 10 ⁶) |
| <i>Lactobacillus</i> spp. | 6,2 × 10 ⁵ (2 × 10 ⁵ – 2 × 10 ⁶) | 2 × 10 ⁵ (1 × 10 ⁵ – 2,5 × 10 ⁵) | 1,7 × 10 ⁷ (2,3 × 10 ⁶ – 2,9 × 10 ⁷)* | 8 × 10 ⁶ (4 × 10 ⁶ – 4 × 10 ⁷)* |
| <i>Bifidobacterium</i> spp. | 0 | 1 × 10 ⁴ (1 × 10 ⁴ – 5 × 10 ⁵) | 0 | 0 |
| <i>Candida</i> | 1,0 ⁵ × 10 ⁶ (2 × 10 ⁵ – 7 × 10 ⁶) | 0 | 0 | 0 |
| <i>Salmonella</i> spp. | 3,0 × 10 ⁵ (2,0 × 10 ⁵ – 4,4 × 10 ⁵) | 4,0 × 10 ⁵ (2,0 × 10 ⁵ – 2,2 × 10 ⁶) | 1,0 × 10 ¹ (1,2 × 10 ¹ – 2,9 × 10 ¹)* | 9,0 × 10 ¹ (5,0 × 10 ¹ – 1,4 × 10 ²)* |

Note. * — the significance of differences in the parameters $p \leq 0.05$ in relation to the groups Vancomycin + *S. enteritidis* and Vancomycin + *S. typhimurium*.

III, IV there was a decrease in the number of *E. coli* by 10, 7 and 110 times, respectively ($p \leq 0.05$), and the frequency of selection of this species was 10 and 14% (groups II, III). The results of studies conducted by scientists showed that the content of *E. coli* after administration of vancomycin to rats decreased several thousand times, and a decrease was observed in *Salmonella* infection 2 times [26]. The number of *P. aeruginosa* decreased significantly only in the third group ($p \leq 0.05$). At the same time, Carroll et al. (2010) in their work showed a 2-fold increase in the number of pseudomonads when administered to rats *S. enteritidis* [41]. The number of representatives of *Bacteroides* spp. significantly decreased several thousand times (group II) and 70 and 87 times (groups III and IV) ($p \leq 0.05$) (Table 1). Our data are consistent with the results of researchers who studied the composition of the parietal microflora of the intestine of rats and showed a sharp decrease in bacteroids in 2 times with the introduction of vancomycin, as well as several thousand times with the introduction of *Salmonella* [2]. During similar experiments, Parkes et al. (2012) concluded that after the introduction of vancomycin and *Salmonella*, the amount of *E. faecalis*, *E. faecium* decreased by a small amount [23]. As a result of our studies, the frequency of enterococci was 16% and only in group II, and the level of *E. faecalis* and *E. faecium* decreased by 861, 6 and several thousand times (groups II, III, IV) ($p \leq 0.05$). The number of *Proteus* spp. significantly decreased in group II 27 times and increased rapidly in group IV ($p \leq 0.05$). However, proteases were isolated with a frequency of 22 and 78% in groups III, IV (Table 3). According to the literature data when administered to mice vancomycin, as well as *Salmonella*, the content of *Proteus* spp. increased by 4 and 48 times [22], which is similar to the data obtained during our experiment. In group III there was a sharp decrease in the content of *Enterobacter* spp. and *Klebsiella* spp. in 847 and 150 times, and in group II there was an increase

in their number by 7 and 46 times, respectively ($p \leq 0.05$). The frequency of selection of these representatives was 87% and only in group II. Turnbaugh P.J. et al. (2006) showed in their studies that when vancomycin was administered to rats, the number of members of the *Enterobacteriaceae* family was reduced in 3 times [34]. At the same time, according to Sekirov I. et al. (2008), with the introduction of vancomycin the number of *Enterobacteria* increased 11 times, and with the introduction of *Salmonella* decreased by 2 times [27], which is consistent with our data. The quantitative composition of *Peptostreptococcus anaerobius* decreased significantly in all three experimental groups ($p \leq 0.05$). A group of scientists from America found a 10-fold reduction in the content of peptostreptococci of this species [25], while Kerckhoffs A.P. et al. (2009) in his experiments showed a 5-fold reduction in *P. anaerobius* with the introduction of vancomycin, and their complete absence with *Salmonella* [14]. At the same time, the number of staphylococci in group II decreased 10 times. No significant changes were found when calculating the content of clostridia and lactobacilli, only in group II we found a slight decrease of 550 times in bacteria of the genus *Clostridium* and 46 times in *Lactobacillus*. However, lactobacilli were isolated with a frequency of 2.72, 85% in all three experimental groups. In their studies, Nagpal R. et al. (2018) demonstrated similar changes in the intestinal microbiota in rats with the development of dysbiosis [21]. The frequency of isolation of opportunistic microflora such as: staphylococci, bifidobacteria, *Candida*, was 10, 77, 81; 9% (group II) and 5.68% (group II and III), respectively. The content of representatives of *Salmonella* spp. increased in group II by 49 times and, also, its significant growth was observed in groups III and IV ($p \leq 0.05$). According to the results of studies conducted by European scientists, after treatment of rats with vancomycin, there was a slight increase in *Salmonella*, and

Table 3. Frequency of excretion of microorganisms in the parietal contents of the intestine of rats with the introduction of vancomycin and *S. enteritidis*, *S. typhimurium*

| Groups of microorganisms | Groups of experimental animals | | | | | |
|-----------------------------|--|---------------------|--------------------------------|--------------------------------|---|---|
| | Control (n = 15) | Vancomycin (n = 15) | <i>S. enteritidis</i> (n = 15) | <i>S. typhimurium</i> (n = 15) | Vancomycin + <i>S. enteritidis</i> (n = 15) | Vancomycin + <i>S. typhimurium</i> (n = 15) |
| | Frequency of excretion (%) of microorganisms | | | | | |
| <i>E. coli</i> | 100 | 10 | 14 | 0 | 35 | 95 |
| <i>Staphylococcus</i> spp. | 100 | 10 | 77 | 81 | 0 | 95 |
| <i>Enterococcus</i> spp. | 100 | 0 | 16 | 0 | 0 | 19 |
| <i>Bifidobacterium</i> spp. | 100 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Lactobacillus</i> spp. | 100 | 2 | 72 | 85 | 30 | 6 |
| <i>Klebsiella</i> spp. | 10 | 87 | 0 | 0 | 19 | 15 |
| <i>Proteus</i> spp. | 10 | 0 | 22 | 78 | 0 | 0 |
| <i>Candida</i> | 30 | 5 | 68 | 0 | 57 | 0 |

Note. * — significant differences compared to reference group (RG).

when rats became infected, this figure increased by 1029 times [10], which does not contradict our results.

As a result of comparison of the parameters obtained with the introduction of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* in rats on a single dose of vancomycin, there was a sharper change in the quantitative and species composition of the microbiota than with the introduction of *Salmonella* without antibiotics. Thus, in groups V and VI, there was an increase in the amount of *E. coli* in 65 and 105 times ($p \leq 0.05$), and the frequency of their release in these groups was 35 and 95%. This does not contradict the results of Stecher B. et al. (2010), who demonstrated that after administration of *S. enteritidis* and *S. typhimurium* to mice under antibiotic therapy, the amount of *E. coli* increased 2 times [29]. A significant increase in the content of *P. aeruginosa* was observed in the fifth group, and in the sixth, only 3 times ($p \leq 0.05$). Ferreira R.B. et al. (2011), when examining patients with infectious intestinal diseases, found a slight decrease in the number of pseudomonads [9]. The frequency of lactobacilli in groups V and VI was 30 and 6%, but their number did not change significantly and was isolated from the material from rats of group VI, these indicators corresponded to a decrease of 17 times (Table 3). The results of Lleal M. et al. (2019), in the study of the intestinal microflora of rats, also indicate a decrease in the number of representatives of this genus [15].

According to data provided by Turnbaugh P.J. et al. (2006), when administered to mice antibiotics and *Salmonella*, the number of representatives of *Bacteroides* spp. in the parietal contents of the intestine, decreased in 4 times [33]. These data do not contradict the results of our studies, where the introduction of vancomycin and *Salmonella*, in groups V and VI, also showed a decrease in the number of *Bacteroides* spp. In 9 and 10 times ($p \leq 0.05$) (see

Table 1). The level of *E. faecalis* and *E. faecium* decreased significantly only in the fifth group ($p \leq 0.05$), and in group VI the frequency of their release was 19% (Table 3). The number of *Proteus* spp. significantly decreased in 17 times in group V and, also, a significant decrease was observed in group VI ($p \leq 0.05$). According to the literature in mice with the introduction of antibiotics also showed increased susceptibility to infectious agents, which led to a decrease in indigenous groups of microorganisms, including *Proteus* spp., which confirms our data [36].

A sharp increase in the content of *Enterobacter* spp. and *Klebsiella* spp. was observed in groups V and VI ($p \leq 0.05$). The frequency of secretion of *Klebsiella* in the parietal contents in these groups was 19 and 15%, respectively. Song H.J. et al. (2009) in their studies showed that in patients with *Salmonella*-induced inflammation, on the background of antibiotic therapy, the number of *Enterobacteria* and *Klebsiella* increased in 6 times, which is fully consistent with our results [28]. According to the literature, when co-administered to rats vancomycin and *Salmonella*, the number of peptostreptococci decreased in 5 times [20]. These data do not contradict our results, which also showed a decrease in the content of *Peptostreptococcus anaerobius* in groups V and VI in 20 and 9 times, respectively ($p \leq 0.05$). The frequency of excretion in the parietal content of fungi of the genus *Candida* was 57% (group V) and staphylococci — 95% in the VI experimental group (Table 3). The amount of *Salmonella* spp. significantly decreased only in group V in 7 times ($p \leq 0.05$). However, the data obtained by Barthel M. et al. (2003), when conducting a similar experiment on mice, talk about an increase in *Salmonella* in the parietal contents of the small intestine in 3 and 5 times [3].

During the experiment, we obtained the results of bacteriological studies, which showed pronounced

Table 4. The frequency of excretion of microorganisms in the parietal contents of the intestine of rats with the introduction of *Salmonella*, *B. fragilis* on the background of vancomycin

| Groups of microorganisms | Groups of experimental animals | | | |
|-----------------------------|--|---|--|--|
| | Vancomycin + <i>S. enteritidis</i> (n = 15) | Vancomycin + <i>S. typhimurium</i> (n = 15) | Vancomycin + <i>S. enteritidis</i> + <i>B. fragilis</i> (n = 15) | Vancomycin + <i>S. typhimurium</i> + <i>B. fragilis</i> (n = 15) |
| | Frequency of excretion (%) of microorganisms | | | |
| <i>E. coli</i> | 35 | 95 | 0 | 0 |
| <i>Staphylococcus</i> spp. | 0 | 95 | 0 | 68 |
| <i>Enterococcus</i> spp. | 0 | 19 | 10 | 13 |
| <i>Bifidobacterium</i> spp. | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Lactobacillus</i> spp. | 30 | 6 | 27 | 40 |
| <i>Klebsiella</i> spp. | 19 | 15 | 0 | 0 |
| <i>Proteus</i> spp. | 0 | 0 | 0 | 29 |
| <i>Candida</i> | 57 | 0 | 0 | 0 |

Note. * — difference of parameters in relation to Vancomycin + *S. enteritidis* and Vancomycin + *S. typhimurium* groups.

changes in the quantitative and species composition of the parietal microbiota when administered to experimental animals *B. fragilis* (Table 2). Thus, a significant decrease in the content of *E. coli* was observed in group VII, and in VIII — 538 times ($p \leq 0.05$). The number of *P. aeruginosa* in groups VII and VIII decreased significantly, and the number of representatives of *Bacteroides* spp. naturally increased significantly ($p \leq 0.05$).

The quantitative content of *E. faecalis* and *E. faecium* increased in 10 and 19 times in groups VII and VIII ($p \leq 0.05$), and the amount of *Proteus* spp. decreased only in group VII in 322 times ($p \leq 0.05$). The frequency of enterococci in these groups was 10 and 13%, and *Proteus* — 29% and only in group VIII. Also, in groups VII and VIII there was a sharp decrease in the content of *Enterobacter* spp. and *Klebsiella* spp. ($p \leq 0.05$). The number of representatives of *Peptostreptococcus anaerobius* significantly increased in 7 and 12 times (groups VII and VIII) ($p \leq 0.05$). Also, bacteriological examination of the intestinal contents of rats revealed an increase in the number of lactobacilli in several thousand (VII) and 40 times (VIII), and their frequency in these experimental groups was 27 and 40%, respectively. El Aidy S. et al., 2012 in their studies showed an increase in the number of indigenous microflora due to its correction of *B. fragilis* [8]. The frequency of staphylococcal excretion was found in 68% and only in group VIII (Table 4). With regard to *S. enteritidis* and *S. typhimurium*, in groups VII and VIII there was a marked decrease in their number ($p \leq 0.05$) (Table 2).

Our results indicate the possibility of using *B. fragilis* to correct *Salmonella*-induced changes in the intestinal microbiome. We observed a decrease in the level of *Salmonella* spp., *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., as well as an increase in *Bacteroides* spp., *E. faecalis*, *E. faecium* and *Peptostreptococcus anaerobius*. The ability of *B. fragilis* to influence the quantitative content of microorganisms in the development of *Salmonella*-induced inflammatory bowel disease has been shown in a number of other works [6].

B. fragilis is one of the main producers of short-chain fatty acids (SCFA), which activate cells through free fatty acid receptor 2 (FFAR2), which is expressed in immune system cells, intestinal epitheliocytes and plays an important role in immune regulation, meta-

bolic homeostasis and reduction of colitis-associated inflammation [17, 32]. In addition, polysaccharide A of *B. fragilis* is an important inducer of Treg cell differentiation [18, 40].

Conclusion

1. The data obtained in this study indicate that antibiotic-induced changes in the quantitative and qualitative composition of the parietal microbiota are due to the effect of vancomycin on gram-positive microorganisms. There was a decrease in the number of autochthonous obligate anaerobic bacterias (bacteroids), clostridias, elimination of enterococci, peptostreptococci, staphylococci, bifidobacterias, lactobacilli and an increase in the number of enterobacterias, proteus, *Klebsiella* and *Salmonella*. Reducing the number of *E. coli* and *Bacteroides* spp. with the introduction of *S. enteritidis* and *S. typhimurium* was accompanied by an increase in the parietal contents of the intestine of microorganisms such as *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Peptostreptococcus anaerobius*, which may have occurred due to the latter for intestinal microbiomatter.

2. The introduction of *S. enteritidis* and *S. typhimurium*, on the background of pretreatment with vancomycin, caused a sharp change in the composition of the microbiota in the parietal contents of the small intestine: an increase in *Salmonella* spp., *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., and also a sharp decrease in the number of *Bacteroides* spp., *E. faecalis*, *E. faecium*, *Proteus* spp., *Lactobacillus* spp., *Peptostreptococcus anaerobius*. These data suggest that the vancomycin-induced imbalance of the parietal intestinal microbiota facilitates the penetration and colonization of pathogenic microorganisms (*S. enteritidis* and *S. typhimurium*) and promotes the development of intestinal diseases.

3. When administered to experimental animals *B. fragilis*, which received *S. enteritidis* or *S. typhimurium* on the background of pretreatment with vancomycin, there was a change in the quantitative composition of the microbiota in the parietal contents of the small intestine, namely: a decrease in *Salmonella* spp., *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., as well as an increase in *Bacteroides* spp., *E. faecalis*, *E. faecium*, *Lactobacillus* spp. and *Peptostreptococcus anaerobius*.

References

1. Букина Ю.В., Камышный А.М., Полищук Н.Н., Топол И.А. Сальмонелла-индуцированные изменения кишечной микробиоты и транскриптома генов иммунного ответа на фоне введения ванкомицина и *Bacteroides fragilis* // Патология. 2017. Т. 14, № 1 (39). С. 12–19. [Bukina Y.V., Kamyshnyi A.M., Polishchuk N.N., Topol I.A. Salmonella-induced changes in the gut microbiota and immune response genes transcriptome during administration of vancomycin and *Bacteroides fragilis*. *Patologiya = Pathology*, 2017, vol. 14, no. 1 (39), pp. 12–19. (In Russ.)] doi: 10.14739/2310-1237.2017.1.97504
2. Awoniyi M., Miller S.I., Wilson C.B., Hajjar A.M., Smith K.D. Homeostatic regulation of Salmonella-induced mucosal inflammation and injury by IL-23. *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 5: e37311. doi: 10.1371/journal.pone.0037311

3. Barthel M., Hapfelmeier S., Quintanilla-Martinez L. Pretreatment of mice with streptomycin provides a *Salmonella enterica* serovar Typhimurium colitis model that allows analysis of both pathogen and host. *Infect. Immun.*, 2003, vol. 71, pp. 2839–2858. doi: 10.1128/iai.71.5.2839-2858.2003
4. Cani P.D., Possemiers S., Van de Wiele T., Guiot Y., Everard A., Rottier O. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut*, 2009, vol. 58, pp. 1091–1093. doi: 10.1136/gut.2008.165886
5. Cho I., Yamanishi S., Cox L., Methé B.A., Zavadil J., Li K. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature*, 2012, vol. 488, pp. 621–626. doi: 10.1038/nature11400
6. Corrêa-Oliveira R., Fachi J.L., Vieira A., Sato F.T., Vinolo M.A. Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids. *Clin. Transl. Immunol.*, 2016, vol. 22, no. 5 (4): e73. doi: 10.1038/cti.2016.17
7. Deplancke B., Gaskins Deplancke H.R. Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001, vol. 73, pp. 1131–1141. doi: 10.1093/ajcn/73.6.1131S
8. El Aidy S., van Baarlen P., Derrien M., Lindenbergh-Kortleve D.J., Hooiveld G., Levenez F. Temporal and spatial interplay of microbiota and intestinal mucosa drive establishment of immune homeostasis in conventionalized mice. *Mucosal Immunol.*, 2012, pp. 5567–5579. doi: 10.1038/mi.2012.32
9. Ferreira R.B., Gill N., Willing B.P., Antunes L.C., Russell S.L., Croxen M.A., Finlay B.B. The intestinal microbiota plays a role in *Salmonella*-induced colitis independent of pathogen colonization. *PLoS One*, 2011, no. 6 (5): e20338. doi: 10.1371/journal.pone.0020338
10. Grassl G., Finlay B. Pathogenesis of enteric *Salmonella* infections. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, 2008, vol. 24, pp. 22–26. doi: 10.1097/MOG.0b013e3282f21388
11. Identification of Prokaryotes. In: Bergey's manual of systematic bacteriology. Volume 3: The Firmicutes. Ed. by Vos P., Garrity G., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K.-H., Whitman W. New York: Springer-Verlag New York, 2009. P. 1422.
12. Jernberg C., Löfmark S., Edlund C., Jansson J.K. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *ISME J.*, 2007, vol. 1, pp. 56–66. doi: 10.1038/ismej.2007.3.
13. Kau A.L., Ahern P.P., Griffin N.W., Goodman A.L., Gordon J.I. Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature*, 2011, vol. 474, no. 7351, pp. 327–336. doi: 10.1038/nature10213
14. Kerckhoffs A.P., Samson M., van der Rest M.E. Lower Bifidobacteria counts in both duodenal mucosa-associated and fecal microbiota in irritable bowel syndrome patients. *World J. Gastroenterol.*, 2009, vol. 15, no. 23, pp. 2887–2892. doi: 10.3748/wjg.15.2887
15. Léal M., Sarrabayrouse G., Willamil J., Santiago A., Pozuelo M., Manichanh C. A single faecal microbiota transplantation modulates the microbiome and improves clinical manifestations in a rat model of colitis. *EBioMedicine*, 2019, vol. 48, pp. 630–641. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.10.002
16. Macpherson N.L., Harris Macpherson A.J. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004, vol. 4, no. 6, pp. 478–485. doi: 10.1038/nri1373
17. Maslowski K.M., Vieira A.T., Ng A., Kranich J., Sierro F., Yu D., Schilter H.C., Rolph M.S., Mackay F., Artis D., Xavier R.J., Teixeira M.M., Mackay C.R. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature*, 2009, vol. 29, no. 7268, pp. 1282–1286. doi: 10.1038/nature08530
18. Miki T., Goto R., Fujimoto M., Okada N., Hardt W.D. The bactericidal lectin RegIII β prolongs gut colonization and enteropathy in the streptomycin mouse model for salmonella diarrhea. *Cell Host. Microbe*, 2017, vol. 21, no. 2, pp. 195–207. doi: 10.1016/j.chom.2016.12.008
19. Monack D.M., Bouley D.M., Falkow S.J. *Salmonella typhimurium* persists within macrophages in the mesenteric lymph nodes of chronically infected Nramp1 $^{+/-}$ mice and can be reactivated by IFN γ neutralization. *J. Exp. Med.*, 2004, vol. 199, no. 2, pp. 231–241. doi: 10.1084/jem.20031319
20. Mu H., Bai H., Sun F., Liu Y., Lu Ch., Qiu Y., Chen P., Yang Y., Kong L., Duan J. Pathogen-targeting glycovesicles as a therapy for salmonellosis. *Nat. Commun.*, 2019, vol. 10: 4039. doi: 10.1038/s41467-019-12066-z
21. Nagpal R., Wang S., Solberg Woods L.C. Comparative microbiome signatures and short-chain fatty acids in mouse, rat, non-human primate, and human feces. *Front Microbiol.*, 2018, vol. 9: 2897. doi: 10.3389/fmicb.2018.02897
22. Panda S., Elkhader I., Casellas F., López Vivancos J., García Cors M., Santiago A., Cuenca S., Guarner F., Manichanh C. Short-term effect of antibiotics on human gut microbiota. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 4: e95476. doi: 10.1371/journal.pone.0095476
23. Parkes G.C., Rayment N.B., Hudspeth B.N. Distinct microbial population exist in the mucosal-associated microbiota of subgroups of irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil.*, 2012, vol. 24, no. 1, pp. 31–39. doi: 10.1111/j.1365-2982.2011.01803.x
24. Pérez-Cobas A.E., Artacho A., Knecht H., Ferrús M.L., Friedrichs A., Ott S.J. Differential effects of antibiotic therapy on the structure and function of human gut microbiota. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 11: e80201. doi: 10.1371/journal.pone.0080201
25. Rakoff-Nahoum S., Paglino J., Eslami-Varzaneh F. Recognition of commensally microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell*, 2004, vol. 118, no. 2, pp. 229–241. doi: 10.1016/j.cell.2004.07.002
26. Santos R.L., Raffatellu M., Bevins C.L., Adams L.G., Tselis R.M., Baumler A.J. Life in the inflamed intestine, *Salmonella* style. *PubMed*, 2009, vol. 17, no. 11, pp. 498–506. doi: 10.1016/j.tim.2009.08.008
27. Sekirov I., Tam N.M., Jogova M., Robertson M.L., Li Y. Antibiotic-induced perturbations of the intestinal microbiota alter host susceptibility to enteric infection. *PubMed*, 2008, vol. 76, no. 10, pp. 4726–4736. doi: 10.1128/IAI.00319-08
28. Song H.J., Shim K.N., Jung S.A., Choi H.J., Lee M.A., Ryu K.H., Kim S.E., Yoo K. Antibiotic-associated diarrhea. *Korean J. Intern. Med.*, 2008, vol. 23, pp. 9–15. doi: 10.3904/kjim.2008.23.1.9
29. Stecher B., Chaffron S., Käppeli R., Hapfelmeier S., Friedrich S., Weber T.C., Kirundi J., Suar M., McCoy K.D., von Mering C., Macpherson A.J., Hardt W.D. Like will to like: abundances of closely related species can predict susceptibility to intestinal colonization by pathogenic and commensal bacteria. *PLoS Pathog*, 2010, vol. 6, no. 1: e1000711. doi: 10.1371/journal.ppat.1000711
30. Stecher B., Hardt W.D. Mechanisms controlling pathogen colonization of the gut. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2011, vol. 14, no. 1, pp. 82–91. doi: 10.1016/j.mib.2010.10.003

31. Stecher B., Hardt W.D. The role of microbiota in infectious disease. *Trends Microbiol.*, 2008, vol. 16, no. 3, pp. 107–114. doi: 10.1016/j.tim.2007.12.008
32. Surana N.K., Kasper D.L. The yin yang of bacterial polysaccharides: lessons learned from *B. fragilis* PSA. *Immunol. Rev.*, 2012, vol. 245, no. 1, pp. 13–26. doi: 10.1111/j.1600-065X.2011.01075.x
33. Taylor D.N., McKenzie R., Durbin A., Carpenter C., Atzinger C.B., Haake R., Bourgeois A.L. Rifaximin, a nonabsorbed oral antibiotic, prevents shigellosis after experimental challenge. *Clin. Infect. Dis.*, 2006, vol. 42, no. 9, pp. 1283–1288. doi: 10.1086/503039
34. Turnbaugh P.J., Ley R.E., Mahowald M.A., Magrini V., Mardis E.R. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 2006, vol. 444, no. 7122, pp. 1027–1031. doi: 10.1038/nature05414
35. Ubeda C., Pamer E.G. Antibiotics, microbiota and immune defense. *Trends Immunol.*, 2012, vol. 33, no. 9, pp. 459–466. doi: 10.1016/j.it.2012.05.003
36. Ubeda C., Taur Y., Jenq R.R., Equinda M.J., Son T., Samstein M., Viale A., Socoli N.D., van den Brink M.R., Kamboj M., Pamer E.G. Vancomycin-resistant *Enterococcus* domination of intestinal microbiota is enabled by antibiotic treatment in mice and precedes bloodstream invasion in humans. *J. Clin. Invest.*, 2010, vol. 120, no. 12, pp. 4332–4341. doi: 10.1172/JCI43918
37. Vollaard E.J., Clasener H.A. Colonization resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1994, vol. 38, no. 3, pp. 409–414. doi: 10.1128/aac.38.3.409
38. Wlodarska M., Willing B., Keeney K.M., Menendez A., Bergstrom K.S., Gill N. Antibiotic treatment alters the colonic mucus layer and predisposes the host to exacerbated *Citrobacter rodentium*-induced colitis. *Infect. Immun.*, 2011, vol. 79, no. 4, pp. 1536–1545. doi: 10.1128/IAI.01104-10
39. Zeng H., Chi H. Metabolic control of regulatory T cell development and function. *Trends Immunol.*, 2015, vol. 36, no. 1, pp. 3–12. doi: 10.1016/j.it.2014.08.003
40. Zhang Y., Limaye P.B., Renaud H.J., Klaassen C.D. Effect of various antibiotics on modulation of intestinal microbiota and bile acid profile in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2014, vol. 277, no. 2, pp. 138–145. doi: 10.1016/j.taap.2014.03.009
41. Carroll I.M., Chang Y.H., Park J. Luminal and mucosal-associated intestinal microbiota in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Gut Pathogenes.*, 2010, vol. 2: 19. doi: 10.1186/1757-4749-2-19

Авторы:

Букина Ю.В., ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье, Украина;

Полищук Н.Н., к.м.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и вирусологии, Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье, Украина;

Бачурин Г.В., д.м.н., доцент, зав. кафедрой урологии, Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье, Украина;

Черковская О.С., к.м.н., доцент кафедры факультетской хирургии, Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье, Украина;

Зинич Е.Л., к.м.н., доцент кафедры анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии, Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье, Украина;

Лазарик А.Л., к.м.н., доцент кафедры анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии, г. Запорожье, Украина;

Безуглый М.Б., к.м.н., доцент кафедры офтальмологии, Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье, Украина.

Authors:

Bukina Yu.V., Assistant, Microbiology, Virology and Immunology Department, Zaporozhye State Medical University, Zaporozhye, Ukraine;

Polishchuk N.N., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Zaporozhye State Medical University, Zaporozhye, Ukraine;

Bachurin H.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Department of Urology, Zaporozhye State Medical University, Zaporozhye, Ukraine;

Cherkovskaya O.S., PhD (Medicine), Associate Professor, Faculty Surgery Department, Zaporozhye State Medical University, Zaporozhye, Ukraine;

Zynych O.L., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Human Anatomy, Operative Surgery and Topographic Anatomy, Zaporozhye State Medical University, Zaporozhye, Ukraine;

Lazaryk O.L., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Human Anatomy, Operative Surgery and Topographic Anatomy, Zaporozhye State Medical University, Zaporozhye, Ukraine;

Bezugly M.B., PhD (Medicine), Associate Professor, Ophthalmology Department, Zaporozhye State Medical University, Zaporozhye, Ukraine.

РЕЗУЛЬТАТЫ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОГРАММЫ ЭЛИМИНАЦИИ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В НА СЕВЕРО-ЗАПАДЕ РОССИИ

Л.В. Лялина^{1,2}, Е.В. Эсауленко^{1,3}, Е.В. Хорькова⁴, К.Е. Новак³, Ю.В. Останкова¹, Е.Н. Серикова¹, Д.В. Васильев⁵, Е.С. Горзий^{1,2}, М.Ю. Буцкая^{1,3}, И.В. Крицкая⁶, Л.В. Буц⁷, Е.В. Гребенкина⁸, Е.В. Байдакова^{9,10}, Н.А. Смирнова¹¹, М.А. Красноперова¹², Н.С. Кольцов¹³, Л.М. Котович¹⁴, Е.Л. Калинина¹⁵, Р.Р. Галимов¹⁶, Н.В. Кирхар¹⁷, Е.А. Черепанова¹⁸, Арег А. Тотолян¹

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Ленинградский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Санкт-Петербург, Россия

⁵ СПб ГБУЗ Городская поликлиника № 48, Санкт-Петербург, Россия

⁶ Управление Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу, Санкт-Петербург, Россия

⁷ Управление Роспотребнадзора по Ленинградской области, Санкт-Петербург, Россия

⁸ Управление Роспотребнадзора по Новгородской области, г. Великий Новгород, Россия

⁹ Управление Роспотребнадзора по Архангельской области, г. Архангельск, Россия

¹⁰ ФГБОУ ВО Северный государственный медицинский университет Минздрава России, г. Архангельск, Россия

¹¹ Управление Роспотребнадзора по Вологодской области, г. Вологда, Россия

¹² Управление Роспотребнадзора по Калининградской области, г. Калининград, Россия

¹³ Управление Роспотребнадзора по Мурманской области, г. Мурманск, Россия

¹⁴ Управление Роспотребнадзора по Республике Карелия, г. Петрозаводск, Россия

¹⁵ Управление Роспотребнадзора по Псковской области, г. Псков, Россия

¹⁶ Управление Роспотребнадзора по Республике Коми, г. Сыктывкар, Россия

¹⁷ Управление Роспотребнадзора по Ненецкому автономному округу, г. Нарьян-Мар, Россия

¹⁸ ФБУЗ Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Резюме. Введение. Вакцинация способствовала снижению заболеваемости острым гепатитом В на территориях Северо-Запада России. Актуальность проблемы сохраняется в связи с высокой заболеваемостью хроническим гепатитом В. Это определило необходимость разработки в Северо-Западном федеральном округе программы элиминации гепатита В, которая была утверждена руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в 2013 г. Цель исследования — охарактеризовать результаты реализации программы элиминации острого вирусного гепатита В на территории СЗФО. *Материалы и методы.* Проведен анализ заболеваемости острым и хроническим гепатитом В в регионах Северо-Запада России в 2010–2020 гг.

Адрес для переписки:

Лялина Людмила Владимировна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера.
Тел.: 8 921 584-63-85 (моб.).
E-mail: lyalina@pasteurorg.ru

Contacts:

Lyudmila V. Lyalina
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 921 584-63-85 (mobile).
E-mail: lyalina@pasteurorg.ru

Для цитирования:

Лялина Л.В., Эсауленко Е.В., Хорькова Е.В., Новак К.Е., Останкова Ю.В., Серикова Е.Н., Васильев Д.В., Горзий Е.С., Буцкая М.Ю., Крицкая И.В., Буц Л.В., Гребенкина Е.В., Байдакова Е.В., Смирнова Н.А., Красноперова М.А., Кольцов Н.С., Котович Л.М., Калинина Е.Л., Галимов Р.Р., Кирхар Н.В., Черепанова Е.А., Тотолян Арег А. Результаты реализации программы элиминации вирусного гепатита В на Северо-Западе России // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 875–886. doi: 10.15789/2220-7619-ROT-1785

Citation:

Lyalina L.V., Esaulenko E.V., Khorkova E.V., Novak K.E., Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Vasiliev D.V., Gorziy E.S., Butskaya M.J., Kritskaya I.V., Buts L.V., Grebenkina E.V., Baydakova E.V., Smirnova N.A., Krasnoperova M.A., Koltsov N.S., Kotovich L.M., Kalinina E.L., Galimov R.R., Kirkhar N.V., Cherepanova E.A., Totolian Areg A. Results of implementation of viral hepatitis B elimination program in the North-West Russia // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 875–886. doi: 10.15789/2220-7619-ROT-1785

Для определения генотипов и субгенотипов вируса исследовано 160 образцов плазмы крови пациентов с острым гепатитом В с использованием молекулярно-генетических методов (ПЦР, секвенирование). Изучена распространенность скрытого гепатита В в различных группах населения. Проведена оценка показателей охвата вакцинацией против гепатита В и серологического мониторинга иммунитета среди взрослых. *Результаты.* В период реализации программы заболеваемость острым гепатитом В на территории округа снизилась в 4,5 раза, в 2020 г. в 5 регионах не выявлено случаев заболевания, в 6 субъектах показатели составили менее 1,0 на 100 тыс. населения. Заболеваемость хроническим гепатитом В снизилась в 2,6 раза. Охват прививками детей в возрасте до 17 лет на всех территориях в 2020 г. составил более 95%, взрослых — более 90%. Установлена циркуляция вируса гепатита В двух генотипов — D и A, с доминированием генотипа D (91,8%), субгенотипа D2 (47,8%). Распространенность скрытого гепатита В среди мигрантов составила 6,5%, беременных — 4,9%, пациентов отделений гемодиализа — 1,7%. *Заключение.* Реализация программы элиминации острого вирусного гепатита В на Северо-Западе России способствовала увеличению показателей охвата вакцинацией взрослого населения и снижению заболеваемости острыми и хроническими формами этой инфекции.

Ключевые слова: вирусный гепатит В, заболеваемость, генотипы, вакцинация, элиминация.

RESULTS OF IMPLEMENTATION OF VIRAL HEPATITIS B ELIMINATION PROGRAM IN THE NORTH-WEST RUSSIA

Lyalina L.V.^{a,b}, Esaulenko E.V.^{a,c}, Khorkova E.V.^d, Novak K.E.^c, Ostankova Yu.V.^a, Serikova E.N.^a, Vasiliev D.V.^c, Gorziy E.S.^{a,b}, Butskaya M.J.^{a,c}, Kritskaya I.V.^f, Buts L.V.^g, Grebenkina E.V.^h, Baydakova E.V.^{i,j}, Smirnova N.A.^k, Krasnoperova M.A.^l, Koltsov N.S.^m, Kotovich L.M.ⁿ, Kalinina E.L.^o, Galimov R.R.^p, Kirkhar N.V.^q, Cherepanova E.A.^r, Totolian Areg A.^a

^a St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

^b North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation

^c St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

^d Leningrad Regional Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, St. Petersburg, Russian Federation

^e Polyclinic No. 48, St. Petersburg, Russian Federation

^f Rosпотребнадзор Office for St. Petersburg, St. Petersburg, Russian Federation

^g Rosпотребнадзор Office for Leningrad Region, St. Petersburg, Russian Federation

^h Rosпотребнадзор Office for Novgorod Region, Velikiy Novgorod, Russian Federation

ⁱ Rosпотребнадзор Office for Arkhangelsk Region, Arkhangelsk, Russian Federation

^j Northern State Medical University of the Ministry of Health of Russian Federation, Arkhangelsk, Russian Federation

^k Rosпотребнадзор Office for Vologda Region, Vologda, Russian Federation

^l Rosпотребнадзор Office for Kaliningrad Region, Kaliningrad, Russian Federation

^m Rosпотребнадзор Office for Murmansk Region, Murmansk, Russian Federation

ⁿ Rosпотребнадзор Office for the Republic of Karelia, Petrozavodsk, Russian Federation

^o Rosпотребнадзор Office for Pskov Region, Pskov, Russian Federation

^p Rosпотребнадзор Office for Komi Republic, Syktyvkar, Russian Federation

^q Rosпотребнадзор Office for Nenets Autonomous Okrug, Naryan-Mar, Russian Federation

^r Federal Center of Hygiene and Epidemiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. *Introduction.* Vaccination contributed to reduce the incidence of acute hepatitis B in the territories of the North-West Russia. The urgency of this problem remains due to the high incidence of chronic hepatitis B. This accounted for the need to develop a hepatitis B elimination program in the district discussed that was approved in 2013 by the head of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing. Objective is to characterize the results of the program for the elimination of acute hepatitis B virus implemented in the North-Western Federal District. *Materials and methods.* The 2010–2020 incidence rate of acute and chronic hepatitis B virus (HBV) infection in the regions of the North-West Russia was carried out. To determine HBV genotypes and subgenotypes, 160 blood plasma samples from patients with acute hepatitis B were studied using molecular genetic methods (PCR, sequencing). The prevalence of latent hepatitis B in various population groups was assessed. The 2016–2020 hepatitis B vaccination coverage and relevant serological monitoring in adults was carried out. *Results.* While implementing the program, it was found that the incidence rate of acute hepatitis B in the district decreased by 4.5-fold, revealing in 2020 no cases of the disease in 5 regions, with incidence rate in the 6 subfederal units being lower than 1.0 per 100,000 population. Moreover, the incidence rate for chronic hepatitis B decreased by 2.6 times. The 2020 vaccination coverage of children under 17 and adults in all territories comprised more than 95% and 90%, respectively. In addition, it was shown the circulation of genotypes D and A of hepatitis B virus is dominated by genotype D (91.8%), subgenotype D2 (47.8%). The prevalence of latent hepatitis B among migrants was 6.5%, pregnant women — 4.9%, hemodialysis patients — 1.7%. *Conclusion.* Implementation of the program on elimination of acute viral hepatitis B in the territory of the North-West Russia contributed to raise in the vaccination coverage in adult population and lowered incidence rate of acute and chronic HBV infection.

Key words: hepatitis B virus, morbidity, genotypes, vaccination, elimination.

Введение

Инфекция, вызываемая вирусом гепатита В (ВГВ), является одной из основных причин хронических заболеваний печени, включая цирроз и гепатоцеллюлярную карциному [18]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в мире насчитывается более 257 млн больных хроническим вирусным гепатитом В (ХВГВ) и ежегодно умирает около 1,5 млн человек, что делает эту нозологическую форму одним из лидеров по заболеваемости и смертности [14, 15]. Особую актуальность представляет сочетание вирусных гепатитов с другими социально значимыми инфекциями. По оценкам специалистов, коморбидные состояния влияют на клинические проявления и течение болезни, снижают эффективность терапии, ухудшают прогноз заболевания и характеризуются высокой летальностью, значительно превышающей таковую при моноинфекциях [1, 8]. Важной проблемой с точки зрения лабораторной диагностики, клинической и эпидемиологической значимости является скрытый (HBsAg-негативный) гепатит В. Высокая распространенность скрытого гепатита В в Северо-Западном федеральном округе (СЗФО) установлена среди ВИЧ-инфицированных лиц [9, 12].

Основной мерой профилактики вирусного гепатита В является вакцинация, она эффективно предотвращает инфицирование и развитие хронических форм заболевания [20]. Внедрение вакцинации против гепатита В в национальные программы иммунизации привело к значительному сокращению передачи вируса гепатита В в ранее высокоэндемичных странах [17]. Вакцинопрофилактика способствовала предупреждению 210 млн случаев хронического гепатита В, и ожидается, что к 2030 г. можно будет предотвратить 1,1 млн летальных исходов [16]. В Российской Федерации (РФ), благодаря вакцинации, достигнуты результаты, позволившие значительно сократить уровень заболеваемости острым вирусным гепатитом В (ОВГВ). За годы вакцинации против этой инфекции в России количество привитых превысило 100 млн человек [7].

Бремя высокого экономического ущерба, обусловленного вирусными гепатитами, стало обоснованием для решения новых задач по принятию действенных мер борьбы с распространением гепатита В на современном этапе. В 2016 г. ВОЗ опубликована «Глобальная стратегия сектора здравоохранения по вирусному гепатиту на 2016–2021 гг.». Целевые показатели стратегии включают к 2030 г. снижение заболеваемости гепатитом В на 90% к исходным данным 2015 г., снижение смерт-

ности (число случаев смерти от вирусного гепатита В и С) на 65% по сравнению с 2015 г., охват вакцинацией в детском возрасте (охват третьей дозой вакцины) 90% детей грудного возраста, охват дозой вакцины против ВГВ при рождении или иные формы предупреждения передачи инфекции от матери ребенку — 90% [3].

1 января 2006 г. в Российской Федерации стартовал национальный проект «Здоровье». Реализация мероприятий по массовой иммунопрофилактике вирусного гепатита В способствовала снижению заболеваемости ОВГВ на всех территориях страны, включая СЗФО. Результаты реализации проекта свидетельствуют о высокой иммунологической эффективности массовой вакцинации против гепатита В [11]. Обширный опыт вакцинопрофилактики гепатита В свидетельствует об активном ее влиянии на эпидемический процесс и о том, что данная стратегия защиты населения от этой инфекции верна [2].

На фоне достигнутых успехов по снижению заболеваемости ОВГВ на территориях Северо-Запада России сохранялся высокий уровень заболеваемости населения ХВГВ, в 2,5 раза превышающий показатель по стране в целом. В августе 2013 г. руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, была утверждена программа элиминации острого вирусного гепатита В на территории СЗФО [6]. Цель и основные задачи программы включают элиминацию индигенных (местных) случаев ОВГВ, поэтапное снижение заболеваемости ОВГВ до 0 или < 1 на 100 тыс. населения, снижение заболеваемости ХВГВ, достижение 90% охвата взрослого (до 55 лет) населения вакцинацией против гепатита В в 100% субъектов СЗФО к 2020 г. Для реализации программы была проведена большая организационно-методическая работа, создана окружная комиссия специалистов, на базе Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера организована работа по этой проблеме ряда лабораторий (вирусных гепатитов, эпидемиологии, иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции, молекулярной иммунологии), ежегодно проводятся региональные совещания специалистов для обсуждения актуальных вопросов, результатов выполнения программы и определения задач на следующий период.

Цель исследования — охарактеризовать результаты реализации программы элиминации острого вирусного гепатита В на территориях СЗФО.

Материалы и методы

Проведен ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости острым и хроническим гепатитом В на территории СЗФО за период 2006–2020 гг., в регионах округа — за период 2010–2020 гг. Для анализа использованы формы федерального статистического наблюдения № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», № 5 «Сведения о профилактических прививках», № 6 «Сведения о контингентах детей и взрослых, привитых против инфекционных заболеваний», оперативная информация о регистрации ОВГВ, отчеты медицинских организаций и управлений Роспотребнадзора в субъектах СЗФО о результатах вакцинации против гепатита В и серологического мониторинга иммунитета.

Для определения генотипов и субгенотипов ВГВ проведено исследование образцов плазмы крови (HBsAg-положительные) от 160 пациентов с диагнозом ОВГВ, которые были собраны на территориях СЗФО в период 2015–2019 гг. ДНК ВГВ в плазме крови и вирусная нагрузка определялись методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Генотипирование выполнено с использованием реагентов «АмплиСенс® HBV-генотип-FL». Секвенирование фрагментов проводили на генетическом анализаторе ABI-PRISM 3100 (Applied Biosystems, США).

Серологический мониторинг иммунитета к вирусу гепатита В осуществляли в соответствии с действующими нормативно-методическими документами, использован метод иммуноферментного анализа (ИФА). На примере Ленинградской области изучены результаты се-

рологического мониторинга иммунитета среди населения и медицинских работников в 2016–2020 гг., в том числе у 532 обследованных лиц с известным вакцинальным статусом.

Статистическую обработку данных проводили с использованием продукта WinPeri (версия 11.65). При оценке статистической значимости различий сравниваемых показателей учитывали 95% доверительный интервал (ДИ). Для прогнозирования заболеваемости ОВГВ в Ленинградской области использована интегрированная модель авторегрессии и скользящего среднего (Autoregressive integrated moving average — ARIMA), которая применялась для прогнозирования заболеваемости другими социально значимыми инфекциями [19].

Исследование одобрено локальным этическим комитетом Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера в 2013 г. Перед началом клинико-лабораторного обследования все участники были ознакомлены с целью, методикой исследования и подписали информированное согласие.

Результаты

В период с 2006 по 2010 г. заболеваемость ОВГВ в СЗФО была выше, чем в РФ: в 2006 г. показатели составили 8,4 (95% ДИ 7,9–8,9) и 7,0 (95% ДИ 6,9–7,2) на 100 тыс. населения соответственно, различия статистически значимы ($p < 0,05$) (рис. 1). За годы реализации программы элиминации ОВГВ в округе отмечается существенное снижение заболеваемости. С 2015 г. показатели были менее 1 на 100 тыс. населения,

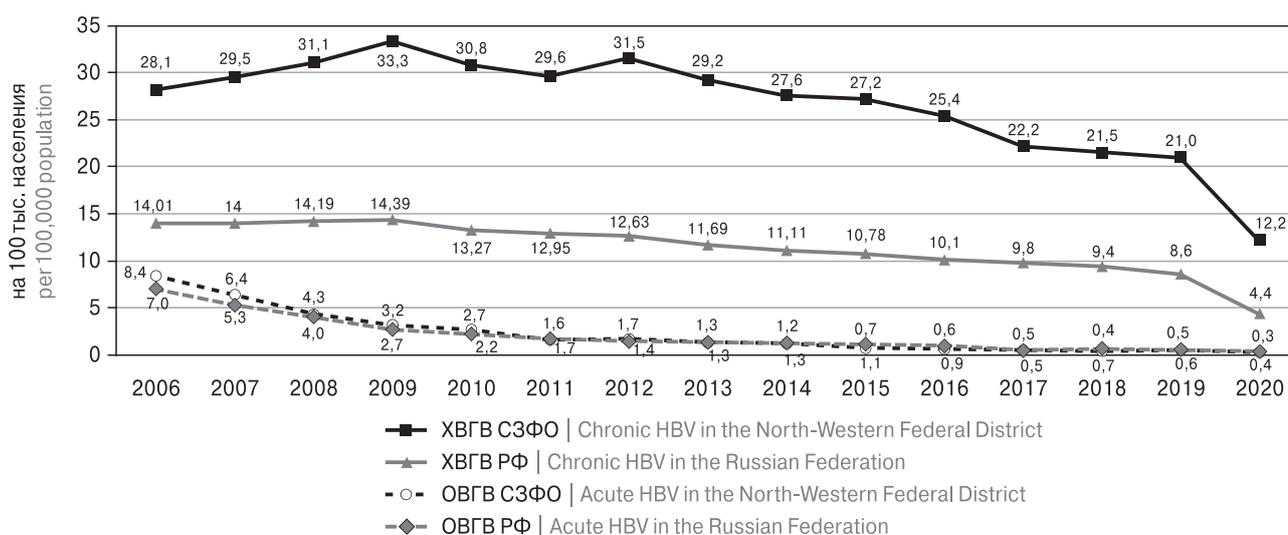


Рисунок 1. Заболеваемость острым и хроническим вирусным гепатитом В в Российской Федерации и Северо-Западном федеральном округе, 2006–2020 гг.

Figure 1. 2006–2020 incidence rate of acute and chronic hepatitis B in the Russian Federation and North-Western Federal District

в 2020 г. они оказались примерно одинаковыми: в СЗФО — 0,29 (95% ДИ 0,2–0,4), РФ — 0,35 (95% ДИ 0,3–0,4).

Заболеваемость хроническим вирусным гепатитом В на территории СЗФО была в 2–2,7 раза выше по сравнению с РФ в целом в течение всего изученного периода. С 2014 г. интенсивность эпидемического процесса имеет выраженную тенденцию к снижению. В 2020 г. уровень заболеваемости ХВГВ в округе составил 12,2 (95% ДИ 11,6–12,8), в РФ — 4,4 (95% ДИ 4,3–4,5) на 100 тыс. населения, различия статистически значимы ($p < 0,05$).

Резкое снижение заболеваемости ХВГВ в 2020 г. может быть связано с неблагоприятной эпидемической ситуацией в мире и РФ по новой коронавирусной инфекции COVID-19. Специалисты отмечают значительное снижение показателей тестирования на маркеры вирусных гепатитов.

Анализ данных о заболеваемости ОВГВ на конкретных территориях СЗФО свидетельствует об успешной реализации программы элиминации. По итогам 2020 г. в пяти регионах округа не было регистрации случаев острого гепатита В и в шести субъектах регистрировались единичные случаи заболевания, показатели заболеваемости составили менее 1,0 на 100 тыс. населения (табл. 1). На территории Псковской области заболевания ОВГВ не регистрировались в течение трех последних лет, в Ленинградской области — в течение четырех лет.

В 2020 г. случаи заболевания ОВГВ не регистрировались на территориях Ленинградской, Псковской, Мурманской, Калининградской областей и Ненецкого автономного округа.

Анализ данных эпидемиологического обследования очагов ОВГВ в СЗФО показал, что основным путем передачи инфекции в современный период является половой — его доля составила 42% от общего числа заболевших, на контактно-бытовой путь передачи приходится 14%, инъекционное введение психотропных веществ — 8%, в 36% путь передачи возбудителя не был установлен.

В возрастной структуре больных ОВГВ на территории СЗФО преобладают взрослые, их доля достигала от 96,3% в 2016 г. до 100% в 2017 г. и 2020 г. Среди детей за период 2016–2020 гг. зарегистрировано 9 случаев острого гепатита В (3 в 2016 г., 4 в 2018 г., 2 в 2019 г.), что связано с высокими показателями охвата вакцинацией и другими мерами профилактики передачи инфекции от матери ребенку.

Удельный вес мужчин и женщин среди больных ОВГВ составил 66,4 и 33,6% соответственно. Регистрируются преимущественно местные случаи заболевания — 90,3%. Источник инфекции в очагах установлен в 8,5% случаев. Из чис-

ла установленных источников возбудителя для больных острым гепатитом В в 94,4% заражение произошло от больных ХВГВ, в 5,6% — от «носителей» HBsAg.

Основная часть случаев заболевания ОВГВ в СЗФО за анализируемый период зарегистрирована среди не привитых против этой инфекции (73,4%), доля заболевших с неизвестным вакцинальным статусом составила 23,4%, доля привитых — 3,2% (9 случаев за пять лет). В период с 2016 по 2020 г. на территории СЗФО зарегистрировано 4 случая заболевания ОВГВ с летальным исходом среди не привитых против этой инфекции.

Одной из важных задач эпидемиологического надзора на этапе элиминации инфекции является прогнозирование заболеваемости. Результаты прогнозирования заболеваемости ОВГВ в Ленинградской области представлены в табл. 2. Сравнение фактической и прогнозируемой заболеваемости в 2006–2016 гг. с учетом доверительных интервалов свидетельствует о высокой степени совпадения результата, что демонстрирует достаточную чувствительность выбранного метода прогнозирования. Статистически значимых различий в прогнозируемых и фактических показателях заболеваемости не выявлено.

Результаты реализации программы элиминации ОВГВ показали необходимость концентрации усилий на хронических формах инфекции. При анализе ситуации по регионам СЗФО установлено, что высокая актуальность проблемы ХВГВ в округе определяется заболеваемостью в условиях мегаполиса Санкт-Петербурга (рис. 2). В 2020 г. на других территориях округа показатели заболеваемости варьировали от минимального значения в Мурманской области — 0,16 (95% ДИ 0,0–0,9) — до максимального в Ненецком автономном округе — 11,37 (95% ДИ (3,7–26,4) на 100 тыс. В Санкт-Петербурге заболеваемость была выше уровня по округу в 2,4 раза, по РФ — в 7,5 раз и составила 26,17 на 100 тыс. населения (95% ДИ 24,8–27,5). На всех территориях, в том числе в Санкт-Петербурге, отмечается тенденция к снижению заболеваемости ХВГВ.

В Ленинградской области в период реализации программы элиминации уровень заболеваемости ХВГВ снизился с 11,7 до 4,4 на 100 тыс. населения. В 2013 г. самый высокий показатель заболеваемости отмечен в возрастной группе 30–39 лет — 19,29 на 100 тыс. населения (95% ДИ 14,4–25,4), самый низкий в группе 15–19 лет — 2,69 на 100 тыс. населения (95% ДИ 0,3–9,7). В 2019 и 2020 гг. на фоне снижения заболеваемости различия в интенсивности эпидемического процесса в возрастных группах сглаживаются (рис. 3).

В рамках реализации программы элиминации ОВГВ на территории СЗФО были проведены молекулярно-генетические исследования для

Таблица 1. Заболеваемость острым вирусным гепатитом В на территориях Северо-Западного федерального округа в 2010–2020 гг.
 Table 1. 2010–2020 morbidity of acute viral hepatitis B in the territories of North-Western Federal District

| Территория Territory | Показатель Incidence | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 | 2019 | 2020 |
|--|---|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI |
| Республика Карелия Republic of Karelia | абс. number of cases | 11 | 1 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| | на 100 тыс. населения per 100,000 population | 1,60 | 0,16 | 0,62 | 0,47 | 0,63 | 0,63 | 0,63 | 0,16 | 0,16 | 0,16 | 0,32 |
| | 95% ДИ 95% CI | 0,3–1,2 | 0,0–0,9 | 0,2–1,6 | 0,1–1,4 | 0,2–1,6 | 0,2–1,6 | 0,2–1,6 | 0,0–0,9 | 0,0–0,9 | 0,0–0,9 | 0,0–1,2 |
| Республика Коми Komi Republic | абс. number of cases | 16 | 12 | 7 | 8 | 11 | 12 | 8 | 5 | 3 | 4 | 0 |
| | на 100 тыс. населения per 100,000 population | 1,68 | 1,33 | 0,78 | 0,90 | 1,26 | 1,38 | 0,93 | 0,59 | 0,35 | 0,48 | 0,0 |
| | 95% ДИ 95% CI | 1,0–2,9 | 0,7–2,3 | 0,3–1,6 | 0,4–1,8 | 0,6–2,3 | 0,7–2,4 | 0,4–1,8 | 0,2–1,4 | 0,1–1,0 | 0,1–1,2 | 0,0–0,0 |
| Архангельская область Arkhangelsk Region | абс. number of cases | 5 | 7 | 9 | 3 | 0 | 4 | 6 | 2 | 4 | 0 | 1 |
| | на 100 тыс. населения per 100,000 population | 0,41 | 0,59 | 0,76 | 0,26 | 0,00 | 0,35 | 0,53 | 0,18 | 0,36 | 0,0 | 0,09 |
| | 95% ДИ 95% CI | 0,1–1,0 | 0,2–1,2 | 0,3–1,4 | 0,1–0,7 | 0,0–0,0 | 0,1–0,9 | 0,2–1,1 | 0,0–0,6 | 0,1–0,9 | 0,0–0,0 | 0,0–0,5 |
| Ненецкий автономный округ Nenets Autonomous Okrug | абс. number of cases | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | на 100 тыс. населения per 100,000 population | 0,00 | 2,38 | 0,00 | 2,35 | 0,00 | 0,00 | 2,29 | 0 | 2,27 | 0,0 | 0,0 |
| | 95% ДИ 95% CI | 0,0–0,0 | 0,1–13,1 | 0,0–0,0 | 0,1–13,0 | 0,0–0,0 | 0,0–0,0 | 0,1–12,7 | 0,0–0,0 | 0,1–12,7 | 0,0–0,0 | 0,0–0,0 |
| Вологодская область Vologda Region | абс. number of cases | 15 | 4 | 8 | 9 | 9 | 4 | 5 | 10 | 1 | 10 | 2 |
| | на 100 тыс. населения per 100,000 population | 1,23 | 0,33 | 0,67 | 0,75 | 0,75 | 0,34 | 0,42 | 0,84 | 0,08 | 0,85 | 0,17 |
| | 95% ДИ 95% CI | 0,7–2,1 | 0,1–0,9 | 0,1–1,3 | 0,3–1,4 | 0,3–1,4 | 0,1–0,9 | 0,1–1,0 | 0,4–1,6 | 0,8–0,5 | 0,4–1,6 | 0,0–0,6 |
| Калининградская область Kaliningrad Region | абс. number of cases | 27 | 19 | 45 | 25 | 24 | 14 | 8 | 13 | 2 | 5 | 4 |
| | на 100 тыс. населения per 100,000 population | 2,88 | 2,02 | 4,77 | 2,63 | 2,49 | 1,45 | 0,82 | 1,32 | 0,2 | 0,50 | 0,40 |
| | 95% ДИ 95% CI | 1,9–4,2 | 1,2–3,2 | 3,5–6,4 | 1,7–3,9 | 1,6–3,7 | 0,8–2,4 | 0,4–1,6 | 0,7–2,3 | 0,0–0,7 | 0,2–1,2 | 0,1–1,0 |
| Ленинградская область Leningrad Region | абс. number of cases | 48 | 28 | 32 | 28 | 8 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | на 100 тыс. населения per 100,000 population | 2,94 | 1,63 | 1,85 | 1,61 | 0,48 | 0,34 | 0,06 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| | 95% ДИ 95% CI | 2,1–3,7 | 1,1–2,4 | 1,3–2,6 | 1,1–2,3 | 0,2–0,9 | 1,2–7,4 | 0,0–0,3 | 0,0–0,0 | 0,0–0,0 | 0,0–0,0 | 0,0–0,0 |
| Мурманская область Murmansk Region | абс. number of cases | 7 | 8 | 5 | 3 | 4 | 2 | 1 | 2 | 2 | 3 | 0 |
| | на 100 тыс. населения per 100,000 population | 0,83 | 1,01 | 0,63 | 0,38 | 0,52 | 0,26 | 0,6 | 0,26 | 0,26 | 0,41 | 0,0 |
| | 95% ДИ 95% CI | 0,4–1,8 | 0,4–2,0 | 0,2–1,5 | 0,1–1,1 | 0,1–1,3 | 0,0–0,9 | 0,0–0,7 | 0,0–1,0 | 0,0–1,0 | 0,1–1,2 | 0,0–0,0 |

| Территория Territory | Показатель Incidence | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 | 2019 | 2020 |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI |
| Новгородская область Novgorod Region | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | 18 2,80 1,7-4,5 10 | 14 2,21 1,2-3,7 2 | 11 1,74 0,9-3,1 6 | 5 0,80 0,3-1,9 1 | 3 0,48 0,1-1,4 7 | 3 0,46 0,1-1,4 4 | 3 0,49 0,1-1,4 0 | 4 0,65 0,2-1,7 1 | 2 0,33 0,1-1,2 0 | 3 0,50 0,1-1,5 0 | 1 0,17 0,0-0,9 0 |
| | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | 1,44 0,7-2,7 209 | 0,30 0,0-1,1 118 | 0,90 0,3-2,0 108 | 0,15 0,0-0,8 91 | 1,07 0,4-2,2 89 | 0,61 0,2-1,6 43 | 0,00 0,0-0,0 42 | 0,16 0,0-0,9 32 | 0,0 0,0-0,0 36 | 0,0 0,0-0,0 38 | 0,0 0,0-0,0 30 |
| Санкт-Петербург St. Petersburg | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | 4,55 3,7-4,9 366 | 2,42 2,0-2,9 214 | 2,19 1,8-2,6 235 | 1,82 1,5-2,2 177 | 1,73 1,4-2,1 159 | 0,83 0,6-1,1 96 | 0,81 0,6-1,1 81 | 0,61 0,4-0,9 70 | 0,68 0,5-0,9 52 | 0,71 0,5-1,0 64 | 0,56 0,4-0,8 40 |
| | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | 2,72 2,4-3,0 | 1,57 1,4-1,8 | 1,72 1,5-2,0 | 1,29 1,1-1,5 | 1,15 1,0-1,3 | 0,69 0,6-0,8 | 0,58 0,5-0,7 | 0,5 0,4-0,6 | 0,37 0,3-0,5 | 0,46 0,4-0,5 | 0,29 0,2-0,4 |
| Северо-Западный Федеральный округ North-Western Federal District | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | 2,72 2,4-3,0 | 1,57 1,4-1,8 | 1,72 1,5-2,0 | 1,29 1,1-1,5 | 1,15 1,0-1,3 | 0,69 0,6-0,8 | 0,58 0,5-0,7 | 0,5 0,4-0,6 | 0,37 0,3-0,5 | 0,46 0,4-0,5 | 0,29 0,2-0,4 |
| | абс. number of cases на 100 тыс. населения per 100,000 population 95% ДИ 95% CI | 2,72 2,4-3,0 | 1,57 1,4-1,8 | 1,72 1,5-2,0 | 1,29 1,1-1,5 | 1,15 1,0-1,3 | 0,69 0,6-0,8 | 0,58 0,5-0,7 | 0,5 0,4-0,6 | 0,37 0,3-0,5 | 0,46 0,4-0,5 | 0,29 0,2-0,4 |

определения генотипов и субгенотипов ВГВ, циркулирующих среди пациентов с острыми формами инфекции. По результатам исследования 160 образцов плазмы крови, собранных практически со всех территорий округа, выявлена циркуляция ВГВ двух генотипов — D и A, с доминированием генотипа D (91,8%). ВГВ генотипа A встречался достоверно реже — в 8,2% случаев ($p = 0,001$). Среди субгенотипов ВГВ наиболее часто выделялся D2, доля которого в общей структуре составила почти половину — 47,8%, D1 и D3 встречались в 19,8 и 24,2% случаев соответственно, ВГВ генотипа A был представлен субтипом A2.

Одной из важных задач реализации программы элиминации гепатита В на Северо-Западе России является изучение распространенности скрытого вирусного гепатита В. Специалистами ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера разработан метод, позволяющий выявлять ВГВ в плазме крови при низкой вирусной нагрузке. В результате применения этого метода была установлена высокая распространенность скрытого гепатита В среди ВИЧ-инфицированных лиц в СЗФО и других групп риска, в которых выявление скрытого гепатита В может иметь большое значение (пациенты отделений гемодиализа, доноры, беременные, трудовые мигранты). Среди пациентов, получающих заместительную терапию с использованием программного гемодиализа, ДНК ВГВ выявляли в 2,8% случаев, в том числе 1,7% случаев составил HBsAg-негативный гепатит В с низкой вирусной нагрузкой. По результатам обследования 142 беременных женщин (естественная беременность) распространенность скрытого гепатита В составила 4,9% случаев. При исследовании образцов плазмы крови 493 иностранных граждан, проходивших медицинское освидетельствование для получения разрешений на работу, ДНК ВГВ выявлена в 8,9%, в том числе 6,5% случаев относились к скрытой (HBsAg-негативной) форме.

Одним из самых важных направлений реализации программы элиминации ОВГВ в СЗФО является поддержание высоких показателей охвата населения профилактическими прививками против вирусного гепатита В. Охват своевременной вакцинацией против этой инфекции детей в возрасте 12 месяцев более 95% в 2020 г. достигнут в 10 субъектах СЗФО.

Охват прививками взрослых в возрасте 18–35 лет в 2020 г. на всех территориях СЗФО составил более 95%, за исключением одного субъекта. Два региона достигли показателей охвата иммунизацией 99% и более (Новгородская область — 99,4%, Санкт-Петербург — 99,0%). Охват прививками взрослых в группе 36–59 лет на территориях СЗФО в 2020 г. находился в диа-

Таблица 2. Результаты прогнозирования заболеваемости острым вирусным гепатитом В на территории Ленинградской области в 2006–2020 гг.

Table 2. Results of forecasting the incidence of acute viral hepatitis B in Leningrad Region in 2006–2020

| Год Year | Регистрируемая заболеваемость ОГВ на 100 тыс. населения Recorded incidence of acute HBV per 100,000 population | Нижняя граница ДИ Lower limit of CI | Верхняя граница ДИ Upper limit of CI | Прогнозируемая заболеваемость ОГВ на 100 тыс. населения Predicted incidence of acute HBV per 100,000 population | Нижняя граница ДИ Lower limit of CI | Верхняя граница ДИ Upper limit of CI |
|-------------|--|---|---|--|---|---|
| 2005 | 11,05 | 9,5 | 12,8 | | | |
| 2006 | 10,62 | 9,1 | 12,3 | 7,801595 | 3,5431288 | 17,177408 |
| 2007 | 9,63 | 8,1 | 11,2 | 7,497994 | 3,4052415 | 16,509005 |
| 2008 | 4,89 | 3,9 | 6,1 | 6,7990087 | 3,087783 | 14,970112 |
| 2009 | 3,37 | 2,5 | 4,4 | 3,452408 | 1,5678891 | 7,6018456 |
| 2010 | 2,94 | 2,1 | 3,7 | 2,3792562 | 1,0805178 | 5,2389439 |
| 2011 | 1,63 | 1,1 | 2,4 | 2,075669 | 0,9426448 | 4,5704842 |
| 2012 | 1,85 | 1,3 | 2,6 | 1,1507916 | 0,5226181 | 2,5339943 |
| 2013 | 1,61 | 1,1 | 2,3 | 1,3061141 | 0,5931564 | 2,8760023 |
| 2014 | 0,46 | 1,2 | 0,9 | 1,1366714 | 0,5162056 | 2,5029027 |
| 2015 | 0,34 | 0,1 | 0,7 | 0,3247622 | 0,1474862 | 0,7151196 |
| 2016 | 0,06 | 0,0 | 0,3 | 0,2400415 | 0,1090114 | 0,528567 |
| 2017 | 0,00 | 0,0 | 0,0 | 0,1694703 | 0,0554984 | 0,5174945 |
| 2018 | 0,00 | 0,0 | 0,0 | 0,1196468 | 0,030488 | 0,4695397 |
| 2019 | 0,00 | 0,0 | 0,0 | 0,0844711 | 0,0174212 | 0,4095779 |
| 2020 | 0,00 | 0,0 | 0,0 | 0,0596369 | 0,0102084 | 0,3483946 |

пазоне от 75,4 (1 регион) до 96,2%. При этом следует отметить значительный рост объемов иммунизации в данной возрастной группе по сравнению с 2013 г.

На всех территориях СЗФО ежегодно проводится серологический мониторинг состояния коллективного иммунитета к ВГВ в соответствии с действующими нормативно-методическими документами. Анализ результатов исследований в 2016–2020 гг. показал, что во всех

регионах отмечаются высокие показатели серонегативных лиц среди взрослого населения, значительно превышающие 10%. В качестве примера приводим результаты изучения вакцинального статуса у серонегативных лиц в Ленинградской области (рис. 4).

Анализ полученных результатов показал, что примерно 5% обследованных лиц, как среди населения, так и среди медицинских работников, оказались серонегативными в срo-

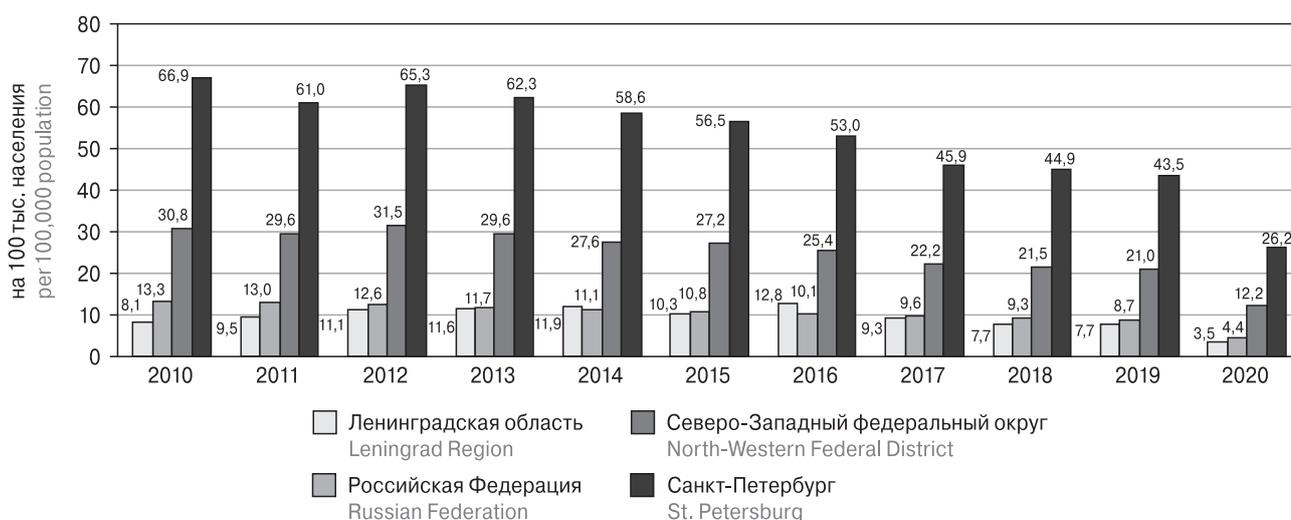
**Рисунок 2. Заболеваемость хроническим гепатитом В в Российской Федерации, Северо-Западном федеральном округе, Санкт-Петербурге и Ленинградской области в 2010–2020 гг.**

Figure 2. 2010–2020 incidence rate of chronic hepatitis B in the Russian Federation, North-Western Federal District, St. Petersburg and Leningrad Region

ки менее 1 года после получения третьей дозы вакцины против гепатита В. У 29% этот период составил от 1 года до 5 лет, среди медицинских работников 45,6% обследованных оказались серонегативными через 6–10 лет. Эти результаты демонстрируют гетерогенность популяции по способности формировать и удерживать поствакцинальный иммунитет.

Обсуждение

Результаты реализации программы элиминации острого вирусного гепатита В на территориях СЗФО России свидетельствуют об успешном ее выполнении и эффективности. Программа предусматривала поэтапное снижение заболеваемости за счет совершенствования вакцинопрофилактики инфекции, лабораторной диагностики, системы эпидемиологического надзора [6]. В период выполнения программы отмечено значительное снижение заболеваемости не только острым, но и хроническими гепатитом В на фоне увеличения числа лиц, охваченных прививками против этой инфекции. В 2020 г. из 11 территорий СЗФО в 6 регионах показатели заболеваемости ОВГВ были менее 1,0 на 100 тыс. населения, и на 5 территориях округа случаи острого гепатита В не регистрировались (Ленинградская, Псковская, Мурманская, Калининградская области и Ненецкий автономный округ).

В ходе реализации программы элиминации установлены генотипы и субгенотипы ВГВ, циркулирующие среди впервые выявленных больных острыми формами инфекции. Известно, что популяция ВГВ гетерогенна и включает 10 генотипов, обозначаемых латинскими прописными буквами от А до J, распространенность которых имеет географические

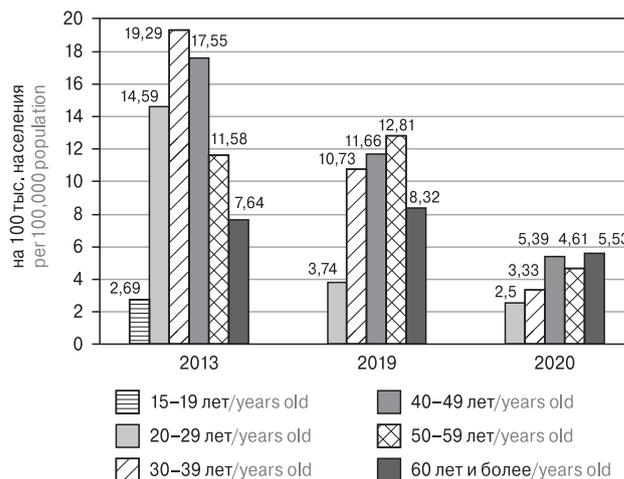


Рисунок 3. Заболеваемость хроническим гепатитом В различных возрастных групп населения Ленинградской области в 2013, 2019, 2020 гг.

Figure 3. 2013, 2019, 2020 incidence rate of chronic hepatitis B in different age groups in the Leningrad Region

и этнические особенности. Генотипы вируса играют важную роль в исходе инфекции [4, 13]. Генотип D доминирует в странах Восточной Европы, включая РФ. Исследования по определению генотипов ВГВ у проживающих в СЗФО хронически инфицированных пациентов, проведенные ранее (2000–2008 гг.), показали преобладание генотипа D: у пациентов Санкт-Петербурга — 96%, Ленинградской области — 78%. В остальных случаях установлен ВГВ генотипа А [5]. Данное распределение генотипов вируса характерно и для других регионов Европейской части России — 90%, генотипы А и С регистрируются значительно реже.

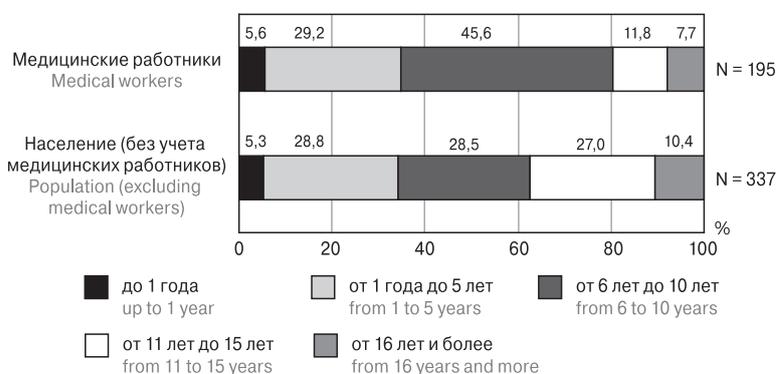


Рисунок 4. Количество лет от даты получения третьей прививки против вирусного гепатита В до получения результата серологического мониторинга менее 10 МЕ/л в Ленинградской области, 2016–2020 гг.

Figure 4. Length of interval between hepatitis B virus dose 3 and serological monitoring data lower than 10 IU/l in the Leningrad Region, 2016–2020

Важные результаты были получены при изучении распространенности скрытого гепатита В в группах высокого риска инфицирования. По мнению специалистов, скрытый гепатит В — это результат реализации различных сценариев взаимодействия вируса и иммунной системы, выражающихся в крайне разнообразных с точки зрения результатов определения лабораторных маркеров картинах [9]. Распространенность скрытого гепатита В в разных географических регионах различается, но преимущественно коррелирует с распространенностью в регионе манифестного гепатита В.

Заключение

Разработка программы элиминации ОВГВ на территории СЗФО была обоснована, с одной стороны, успехами вакцинопрофилактики

этой инфекции, которая обеспечила снижение заболеваемости ОВГВ, с другой — высокой заболеваемостью ХВГВ. Реализация программы способствовала увеличению показателей охвата вакцинацией взрослого населения и снижению заболеваемости острыми и хроническими формами этой инфекции. За годы реализации программы накоплен уникальный опыт, который может быть полезен для других регионов РФ.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Список литературы/References

1. Азовцева О.В., Пантелеев А.М., Карпов А.В., Архипов Г.С., Вебер В.Р., Беляков Н.А., Архипова Е.И. Анализ медико-социальных факторов, влияющих на формирование и течение коинфекции ВИЧ, туберкулеза и вирусного гепатита // *Инфекция и иммунитет*. 2019. Т. 9, № 5–6. С. 787–799. [Azovtseva O.V., Panteleev A.M., Karpov A.V., Arkhipov G.S., Weber V.R., Belyakov N.A., Arkhipova E.I. Analysis of medical and social factors affecting the formation and course of co-infection HIV, tuberculosis and viral hepatitis. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2019, vol. 9, no. 5–6, pp. 787–799. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2019-5-6-787-799
2. Акимкин В.Г., Семенов Т.А. Эпидемиологическая и иммунологическая эффективность вакцинации медицинских работников против гепатита В // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2017. Т. 16, № 4. С. 52–57. [Akimkin V.G., Semenenko T.A. epidemiological and immunological efficacy of health workers vaccination against Hepatitis B. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2017, vol. 16, no. 4, pp. 52–57. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2017-16-4-52-57
3. ВОЗ. Глобальная стратегия сектора здравоохранения по вирусному гепатиту на 2016–2021 гг.: на пути к ликвидации вирусного гепатита. Женева: ВОЗ, 2016. 56 с. [WHO. Global health sector strategy on viral hepatitis 2016–2021: towards ending viral hepatitis. Geneva: WHO, 2016. 56 p. (In Russ.)]
4. Гасич Е.Л., Еремин В.Ф., Немира А.С. Молекулярная эпидемиология генотипов вируса гепатита В, изолированных в Республике Беларусь // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессия*. 2016. Т. 8, № 4. С. 43–54. [Gasich E.L., Eremin V.F., Nemira A.S. Molecular epidemiology of hepatitis B virus genotypes isolated in Belarus. *VICH-infektsiya i immunosupressia = HIV-infection and Immunosuppression*, 2016, vol. 8, no. 4, pp. 43–54. (In Russ.)] doi: 10.22328/2077-9828-2016-8-4-43-54
5. Елпаева Е.А., Порецкова Е.А., Писарева М.А., Ковеленов А.Ю., Аликян И.С., Гальбрайт Р.Б., Грудинин М.П., Эсауленко Е.В. Генотипическая характеристика вируса гепатита В у хронически инфицированных больных // *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2009. Т. 15, № 15. С. 55–58. [Elpaeva E.A., Poretskova E.A., Pisareva M.A., Kovelenov A.Yu., Alikyan A.U., Galbreikh R.B., Grudin M.P., Yesaulenko E.V. Genotypic characteristics of hepatitis B virus in chronically infected patients. *Dal'nevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii = Far Eastern Journal of Infectious Pathology*, 2009, vol. 15, no. 15, pp. 55–58. (In Russ.)]
6. Жебрун А.Б., Мукомолов С.Л., Лялина Л.В., Тотолян А.А. Программа элиминации острого вирусного гепатита В на территории Северо-Западного федерального округа Российской Федерации. СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2016. 20 с. [Zhebrun A.B., Mukomolov S.L., Lyalina L.V., Totolian A.A. Program for the elimination of acute viral hepatitis in the Northwestern Federal District of the Russian Federation. *St. Petersburg Pasteur Institute*, 2016. 20 p. (In Russ.)]
7. Михайлов М.И., Кюрегян К.К., Малинникова Е.Ю., Исаева О.В., Карлсен А.А., Потемкин И.А., Кичатова В.С., Аль-Шараби Шукри А.С., Догатов Д.И., Корзая Л.И., Игнат'ева М.Е., Поляков А.Д. Вирусные гепатиты: прогнозы и проблемы // *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2019. Т. 9, № 1. С. 71–80. [Mikhailov M.I., Kyuregyan K.K., Malinnikova E.Yu., Isaeva O.V., Karlsen A.A., Potemkin I.A., Kichatova V.S., Al-Sharabi Shukri A.S., Dogadov D.I., Korzaya L.I., Ignat'eva M.E., Poliakov A.D. Viral hepatitis: prognosis and problems. *Epidemiologia i infektsionnye bolezni. Aktual'nye voprosy = Epidemiology and Infectious Diseases. Current Issues*, 2019, vol. 9, no. 1, pp. 71–80. (In Russ.)]
8. Нечаев В.В., Иванов А.К., Сакра А.А., Романова Е.С., Лялина Л.В., Пожидаева Л.Н. Хронические вирусные гепатиты, туберкулез и ВИЧ-инфекция как сочетанные заболевания: от теории к практике // *Журнал инфектологии*. 2017. Т. 9, № 4. С. 126–132. [Nechaev V.V., Ivanov A.K., Sakra A.A., Romanova E.S., Lyalina L.V., Pozhidaeva L.N. Chronic viral hepatitis, tuberculosis and HIV infection as co-infections: from theory to practice. *Zhurnal infekologii = Journal Infectology*, 2017, vol. 9, no. 4, pp. 126–132. (In Russ.)] doi: 10.22625/2072-6732-2017-9-4-126-132
9. Останкова Ю.В., Семенов А.В., Зуева Е.Б., Тотолян Арег А. Выявление и молекулярно-генетическая характеристика вируса гепатита В среди ВИЧ-инфицированных пациентов в Архангельске // *Вопросы вирусологии*. 2019. Т. 64, № 3.

- C. 105–111. [Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Zueva E.B., Totolian Areg A. Identification and molecular-genetic characteristics of the hepatitis B virus among HIV-infected patients in Arkhangelsk. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2019, vol. 64, no. 3, pp. 105–111. (In Russ.)] doi: 10.18821/0507-4088-2019-64-3-105-111
10. Останкова Ю.В., Семенов А.В., Тоголян Арег А. Выявление вируса гепатита В в плазме крови при низкой вирусной нагрузке // Клиническая лабораторная диагностика. 2019. Т. 64, № 10. С. 635–640. [Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Totolian Areg A. Detection of hepatitis B virus in blood plasma at low viral load. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2019, vol. 64, no. 10, pp. 635–640. (In Russ.)] doi: 10.18821/0869-2084-2019-64-10-635-640
 11. Шулакова Н.И., Лыткина И.Н., Акимкин В.Г., Ершова О.Н., Шахгильдян И.В., Кистенева Л.Б., Кузина Л.Е., Чернявская О.П. Иммунологическая эффективность массовой вакцинопрофилактики против гепатита В в рамках реализации приоритетного Национального проекта “Здоровье” в отдельных регионах Российской Федерации // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2015. Т. 20, № 4. С. 4–7. [Shulakova N.I., Lytkina I.N., Akimkin V.G., Ershova O.N., Shahgildyan I.V., Kisteneva L.B., Kuzina L.E., Chernyavskaya O.P. Immunological effectiveness of mass vaccine prophylaxis against hepatitis B within the framework of the National Priority Project “Health” in some regions of the Russian Federation. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases*, 2015, vol. 20, no. 4, pp. 4–7. (In Russ.)] doi: 10.17816/EID40845
 12. Эсауленко Е.В., Цинзерлинг В.А., Карев В.Е., Шибаева Е.О. Окультный хронический гепатит В: клинико-морфологические сопоставления // Вестник Новгородского государственного университета. 2016. Т. 97, № 6. С. 80–84. [Esaulenko E.V., Zinserling V.A., Karev V.E., Shibaeva E.O. Occult chronic hepatitis B: clinical and morphological comparisons. *Vestnik Novgorodskogo gosudarstvennogo universiteta = Herald of Novgorod State University*, 2016, vol. 97, no. 6, pp. 80–84. (In Russ.)]
 13. Baclig M.O., Reyes K.G., Liles V.R., Gopez-Cervantes J. Association of hepatitis B genotypes with clinical profile of patients with chronic hepatitis B. *Int. J. Mol. Epidemiol. Genet.*, 2020, vol. 11, no. 2, pp. 26–30.
 14. Hu J., Cheng J., Tang L., Hu Z., Luo Y., Li Y., Zhou T., Chang J., Guo J.T. Virological basis for the cure of chronic Hepatitis B. *ACS Infect. Dis.*, 2019, vol. 5, no. 5, pp. 659–674. doi: 10.1021/acsinfectdis.8b00081
 15. Jefferies M., Rauff B., Rashid H., Lam T., Rafiq S. Update on global epidemiology of viral hepatitis and preventive strategies. *World J. Clin. Cases*, 2018, vol. 6, no. 3, pp. 589–599. doi: 10.12998/wjcc.v6.i13.589
 16. Nayagam S., Thursz M., Sicuri E., Conteh L., Wiktor S., Low-Beer D., Hallett T. Requirements for global elimination of hepatitis B: a modelling study. *Lancet Infect. Dis.*, 2016, vol. 16, no. 12, pp. 1399–1408. doi: 10.1016/S1473-3099(16)30204-3
 17. Nelson N.P., Easterbrook P.J., McMahon B.J. Epidemiology of hepatitis B virus infection and impact of vaccination on disease. *Clin. Liver Dis.*, 2016, vol. 20, no. 4, pp. 607–628. doi: 10.1016/j.cld.2016.06.006
 18. Ringelhan M., McKeating J.A., Protzer U. Viral hepatitis and liver cancer. *Philos Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 2017, vol. 372, no. 1732: 20160274. doi: 10.1098/rstb.2016.0274
 19. Seto W.K., Lo Y.R., Pawlotsky J.M., Yuen M.F. Chronic hepatitis B virus infection. *Lancet*, 2018, vol. 392, no. 10161, pp. 2313–2324. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31865-8
 20. Wang H., Tian C.W., Wang W.M., Luo X.M. Time-series analysis of tuberculosis from 2005 to 2017 in China. *Epidemiol. Infect.*, 2018, vol. 146, no. 8, pp. 935–939. doi: 10.1017/S0950268818001115

Авторы:

Лялина Л.В., д.м.н., профессор, зав. лабораторией эпидемиологии инфекционных и неинфекционных заболеваний ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; профессор кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Эсауленко Е.В., д.м.н., профессор, зав. лабораторией вирусных гепатитов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; зав. кафедрой инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Authors:

Lyalina L.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Epidemiology of Infectious and Non-infectious Diseases, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Professor of Department of Epidemiology, Parasitology and Desinfectology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;
Esaulenko E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Viral Hepatitis Laboratory, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Head of the Department of Adult Infectious Diseases and Epidemiology, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;

- Хорькова Е.В.**, зам. главного врача СПб ГБУЗ Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Санкт-Петербург, Россия;
- Новак К.Е.**, к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;
- Останкова Ю.В.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
- Серикова Е.Н.**, научный сотрудник лаборатории вирусологии и иммунологии ВИЧ-инфекции ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
- Васильев Д.В.**, врач-эпидемиолог СПб ГБУЗ Городская поликлиника № 48, Санкт-Петербург, Россия;
- Горзий Е.С.**, лаборант-исследователь лаборатории эпидемиологии инфекционных и неинфекционных заболеваний ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
- Буцкая М.Ю.**, аспирант кафедры инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;
- младший научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
- Крицкая И.В.**, зам. начальника отдела эпидемиологического надзора Управления Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу, Санкт-Петербург, Россия;
- Буц Л.В.**, начальник отдела эпидемиологического надзора Управления Роспотребнадзора по Ленинградской области, Санкт-Петербург, Россия;
- Гребенкина Е.В.**, зам. начальника отдела эпидемиологического надзора Управления Роспотребнадзора по Новгородской области, г. Великий Новгород, Россия;
- Байдакова Е.В.**, главный специалист-эксперт отдела эпидемиологического надзора Управления Роспотребнадзора по Архангельской области, г. Архангельск, Россия; ассистент кафедры гигиены и медицинской экологии ФГБОУ ВО Северный государственный медицинский университет Минздрава России, г. Архангельск, Россия;
- Смирнова Н.А.**, зам. начальника отдела эпидемиологического надзора Управления Роспотребнадзора по Вологодской области, г. Вологда, Россия;
- Красноперова М.А.**, главный специалист-эксперт отдела эпидемиологического надзора и санитарной охраны территории Управления Роспотребнадзора по Калининградской области, г. Калининград, Россия;
- Кольцов Н.С.**, начальник отдела эпидемиологического надзора Управления Роспотребнадзора по Мурманской области, г. Мурманск, Россия;
- Котович Л.М.**, временно исполняющий обязанности руководителя Управления Роспотребнадзора по Республике Карелия, г. Петрозаводск, Россия;
- Калинина Е.Л.**, начальник отдела эпидемиологического надзора Управления Роспотребнадзора по Псковской области, г. Псков, Россия;
- Галимов Р.Р.**, начальник отдела эпидемиологического надзора Управления Роспотребнадзора по Республике Коми, г. Сыктывкар, Россия;
- Кирхар Н.В.**, руководитель Управления Роспотребнадзора по Ненецкому автономному округу, г. Нарьян-Мар, Россия;
- Черепанова Е.А.**, зам. заведующей отделом обеспечения эпидемиологического надзора ФБУЗ Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия;
- Тотолян Арег А.**, академик РАН, д.м.н., профессор, зав. лабораторией молекулярной иммунологии; директор ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
- Khorkova E.V.**, Head Physician Deputy, Center for the Prevention and Treatment of AIDS and Infectious Diseases, St. Petersburg, Russian Federation;
- Novak K.E.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Adult Infectious Diseases and Epidemiology, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;
- Ostankova Yu.V.**, PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
- Serikova E.N.**, Researcher, Laboratory of Virology and Immunology of HIV Infection, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
- Vasiliev D.V.**, Epidemiologist Polyclinic No. 48, St. Petersburg, Russian Federation;
- Gorziy E.S.**, Investigator, Laboratory of Epidemiology of Infectious and Non-infectious Diseases, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
- Butskaya M.J.**, PhD Student, Department of Infectious Diseases of Adults and Epidemiology, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation; Junior Researcher, Viral Hepatitis Laboratory, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
- Kritskaya I.V.**, Deputy Head of the Epidemiological Surveillance Department, Rospotrebnadzor Office for Saint-Petersburg, St. Petersburg, Russian Federation;
- Buts L.V.**, Head of the Epidemiological Surveillance Department, Rospotrebnadzor Office for Leningrad Region, St. Petersburg, Russian Federation;
- Grebinkina E.V.**, Deputy Head of the Epidemiological Surveillance Department, Rospotrebnadzor Office for Novgorod Region, Velikiy Novgorod, Russian Federation;
- Baydakova E.V.**, Chief Special Expert, Epidemiological Surveillance Department, Rospotrebnadzor Office for Arkhangelsk Region, Arkhangelsk, Russian Federation; Assistant Professor, Hygiene and Medicine Ecology Department, Northern State Medical University of the Ministry of Health of Russian Federation, Arkhangelsk, Russian Federation;
- Smirnova N.A.**, Deputy Head of the Epidemiological Surveillance Department, Rospotrebnadzor Office for Vologda Region, Vologda, Russian Federation;
- Krasnoperova M.A.**, Chief Special Expert, Department of Epidemiological Surveillance and Sanitary Protection, Rospotrebnadzor Office for Kaliningrad Region, Kaliningrad, Russian Federation;
- Koltsov N.S.**, Head of the Epidemiological Surveillance Department, Rospotrebnadzor Office for Murmansk Region, Murmansk, Russian Federation;
- Kotovitch L.M.**, Acting Head of Rospotrebnadzor Office for the Republic of Karelia, Petrozavodsk, Russian Federation;
- Kalinina E.L.**, Head of the Epidemiological Surveillance Department, Rospotrebnadzor Office for Pskov Region, Pskov, Russian Federation;
- Galimov R.R.**, Head of the Epidemiological Surveillance Department, Rospotrebnadzor Office for the Komi Republic, Syktuykar, Russian Federation;
- Kirkhar N.V.**, Head of Rospotrebnadzor Office for the Nenets Autonomous Okrug, Naryan-Mar, Russian Federation;
- Cherepanova E.A.**, Deputy Head of the Epidemiological Surveillance Department, Federal Hygienic and Epidemiological Center of Rospotrebnadzor, Moscow, Russian Federation;
- Totolian Areg A.**, RAS Full Member, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Molecular Immunology; Director, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

HERD IMMUNITY TO SARS-CoV-2 AMONG THE POPULATION OF THE REPUBLIC OF BELARUS AMID THE COVID-19 PANDEMIC

A.Yu. Popova^a, A.A. Tarasenko^b, V.Yu. Smolenskiy^a, S.A. Egorova^c, V.S. Smirnov^c, A.M. Dashkevich^d, T.N. Svetogor^d, I.N. Glinskaya^d, A.L. Skuranovich^d, A.M. Milichkina^c, A.M. Dronina^e, E.O. Samoilovich^e, I.V. Khamitova^c, G.V. Semeiko^e, T.V. Amvrosyeva^e, N.P. Shmeleva^e, L.V. Rubanik^e, O.P. Esmanchik^f, I.A. Karaban^b, V.G. Drobyshevskaya^c, G.V. Sadovnikova^g, M.V. Shilovich^g, E.A. Podushkina^g, V.V. Kireichuk^h, O.A. Petrova^c, S.V. Bondarenkoⁱ, I.F. Salazhkovaⁱ, L.M. Tkachⁱ, L.P. Shepelevich^k, N.L. Avtukhova^l, V.M. Ivanov^c, A.S. Babilo^l, M.V. Navyshnaya^l, N.N. Belyaev^c, E.V. Zueva^c, L.A. Volosar^k, V.N. Verbov^c, I.V. Likhachev^c, T.O. Zagorskaya^l, N.F. Morozova^m, Z.R. Korobova^c, A.V. Gubanova^c, Areg A. Totolian^c

^a Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation

^b Ministry of Health, Minsk, Belarus

^c St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

^d Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Belarus

^e Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus

^f Polyclinic No. 39, Minsk, Belarus

^g Brest Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Brest, Belarus

^h Vitebsk Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Vitebsk, Belarus

ⁱ Gomel Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Gomel, Belarus

^j Grodno Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Grodno, Belarus

^k Minsk City Center for Hygiene and Epidemiology, Minsk, Belarus

^l Minsk Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Belarus

^m Mogilev Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Mogilev, Belarus

Abstract. Objective was to investigate the SARS-CoV-2 collective immunity status of the population of Belarus within the context of the COVID-19 pandemic. *Materials and methods.* The work was carried out according to the methodology for assessing SARS-CoV-2 population immunity, developed by Rospotrebnadzor Russia and the Ministry of Health of Belarus with the participation of the St. Petersburg Pasteur Institute, taking into account WHO recommendations.

Адрес для переписки:

Смирнов Вячеслав Сергеевич
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера.
Тел.: 8 (911) 948-59-22 (моб.).
E-mail: vssmi@mail.ru

Contacts:

Vyacheslav S. Smirnov
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (911) 948-59-22 (mobile).
E-mail: vssmi@mail.ru

Для цитирования:

Попова А.Ю., Тарасенко А.А., Смоленский В.Ю., Егорова С.А., Смирнов В.С., Дашкевич А.М., Светогор Т.Н., Глинская И.Н., Скуранович А.Л., Миличкина А.М., Дронина А.М., Самойлович Э.О., Хамитова И.В., Семейко Г.В., Амвросьева Т.В., Шмелева Н.П., Рубаник Л.В., Есмачик О.П., Карaban И.А., Дробышевская В.Г., Садовникова Г.В., Шилович М.В., Подушкина Е.А., Кирейчук В.В., Петрова О.А., Бондаренко С.В., Салажкова И.Ф., Ткач Л.М., Шепелевич Л.П., Автухова Н.Л., Иванов В.М., Бабилло А.С., Навышная М.В., Беляев Н.Н., Зуева Е.В., Волосарь Л.А., Вербов В.Н., Лихачев И.В., Загорская Т.О., Морозова Н.Ф., Коробова З.Р., Губанова А.В., Тоголян Арег А. Коллективный иммунитет к SARS-CoV-2 населения Республики Беларусь в условиях пандемии COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 887–904. doi: 10.15789/2220-7619-HIT-1798

Citation:

Popova A.Yu., Tarasenko A.A., Smolenskiy V.Yu., Egorova S.A., Smirnov V.S., Dashkevich A.M., Svetogor T.N., Glinskaya I.N., Skuranovich A.L., Milichkina A.M., Dronina A.M., Samoilovich E.O., Khamitova I.V., Semeiko G.V., Amvrosyeva T.V., Shmeleva N.P., Rubanik L.V., Esmanchik O.P., Karaban I.A., Drobyshevskaya V.G., Sadovnikova G.V., Shilovich M.V., Podushkina E.A., Kireichuk V.V., Petrova O.A., Bondarenko S.V., Salazhkova I.F., Tkach L.M., Shepelevich L.P., Avtukhova N.L., Ivanov V.M., Babilo A.S., Navyshnaya M.V., Belyaev N.N., Zueva E.V., Volosar L.A., Verbov V.N., Likhachev I.V., Zagorskaya T.O., Morozova N.F., Korobova Z.R., Gubanova A.V., Totolian Areg A. Herd immunity to SARS-CoV-2 among the population of the Republic of Belarus amid the COVID-19 pandemic // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 887–904. doi: 10.15789/2220-7619-HIT-1798

The Bioethics Committee of Belarus and the local ethics committee of the St. Petersburg Pasteur Institute approved the study. Selection of participants was carried out using a questionnaire method and online technology (internet, cloud server). Volunteers were randomized into seven age groups (years of age): 1–17; 18–29; 30–39; 40–49; 50–59; 60–69; and 70+. Regional randomization ensured proportional representation of volunteers from each region, and no more than 30 people were included from one enterprise. In accordance with manufacturer instructions, blood plasma samples were analyzed for: IgG antibodies (Abs) to the SARS-CoV-2 nucleocapsid (Nc) using a quantitative ELISA test system; and IgG Abs to the receptor binding domain (RBD) of the SARS-CoV-2 S (spike) surface glycoprotein using a qualitative ELISA test system. Statistical processing was carried out using Excel 2010 and other software. Statistical differences were designated as significant when $p < 0.05$, unless otherwise indicated. **Results.** The level of seroprevalence, in terms of Abs to Nc among the Belarusian population, was 38.4% (95% CI 37.6–45.4). The highest Ab levels were found among individuals in older age groups (50–70+ years old). The lowest were found in children 1–17 years old and in young people 18–39 years old. The distribution of seroprevalence across Belarusian regions was relatively homogeneous, with the exception of the Minsk Region, where a statistically significant decrease in the indicator was noted. In terms of profession, the largest share of seropositive individuals was found among transportation workers; the smallest was found in business. The moderate COVID-19 incidence has not led to a dramatic increase in the number of contacts. The base reproduction number (R_0) was 1.3. In the Republic of Belarus, there was a moderate level of asymptomatic COVID-19 among seropositive individuals (45.3% [95% CI 44.0–46.7]). This form of infection was observed most often among children aged 1–17 years old (65.0% [95% CI 61.3–68.6]). In parallel with seroprevalence assessment, SARS-CoV-2 vaccination was carried out. We used two vaccines: Gam-COVID-Vac (also known as Sputnik V, developed by Gamaleya National Center for Epidemiology and Microbiology, Russia); and BBIBP-CorV (Sinopharm, PRC). Vaccination against SARS-CoV-2 was accompanied by an increase in the level of anti-RBD Abs (95% [95% CI 94.7–96.7]). Taking into account the vaccination of a subset of the population with BBIBP-CorV, the overall herd immunity, inferred from the analyzed indicators (presence of anti-Nc or anti-RBD Abs), was 47.1% (95% CI 46.3–48.0). **Conclusion.** COVID-19 in Belarus was characterized by a moderately pronounced course of the epidemic process. The threshold level of herd immunity to SARS-CoV-2 has not yet been reached, as a result of which the conditions for progression of the epidemic remain.

Key words: coronaviruses, SARS-CoV-2, COVID-19, morbidity, seroprevalence, asymptomatic course, Republic of Belarus, population, vaccination, anti-nucleocapsid antibodies, anti-RBD antibodies, Gam-COVID-Vac vaccine (Sputnik V), BBIBP-CorV vaccine.

КОЛЛЕКТИВНЫЙ ИММУНИТЕТ К SARS-CoV-2 НАСЕЛЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ COVID-19

Попова А.Ю.¹, Тарасенко А.А.², Смоленский В.Ю.¹, Егорова С.А.³, Смирнов В.С.³, Дашкевич А.М.⁴, Светогор Т.Н.⁴, Глинская И.Н.⁴, Скуранович А.Л.⁴, Миличкина А.М.³, Дронина А.М.⁵, Самойлович Э.О.⁵, Хамитова И.В.³, Семейко Г.В.⁵, Амвросьева Т.В.⁵, Шмелева Н.П.⁵, Рубаник Л.В.⁵, Есманчик О.П.⁶, Карабан И.А.², Дробышевская В.Г.³, Садовникова Г.В.⁷, Шилович М.В.⁷, Подушкина Е.А.⁷, Кирейчук В.В.⁸, Петрова О.А.³, Бондаренко С.В.⁹, Салажкова И.Ф.⁹, Ткач Л.М.¹⁰, Шепелевич Л.П.¹¹, Автухова Н.Л.¹², Иванов В.М.³, Бабило А.С.¹², Навышная М.В.¹², Беляев Н.Н.³, Зуева Е.В.³, Волосарь Л.А.¹¹, Вербов В.Н.³, Лихачев И.В.³, Загорская Т.О.¹², Н.Ф. Морозова¹³, Коробова З.Р.³, Губанова А.В.³, Тотолян Арег А.³

¹ Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия

² Министерство здравоохранения, г. Минск, Беларусь

³ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ГУ Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Минск, Беларусь

⁵ Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, г. Минск, Беларусь

⁶ Городская поликлиника № 39, г. Минск, Беларусь

⁷ ГУ Брестский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Брест, Беларусь

⁸ ГУ Витебский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Витебск, Беларусь

⁹ ГУ Гомельский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Гомель, Беларусь

¹⁰ ГУ Гродненский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Гродно, Беларусь

¹¹ ГУ Минский городской центр гигиены и эпидемиологии, г. Минск, Беларусь

¹² ГУ Минский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Минск, Беларусь

¹³ УЗ Могилевский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Могилев, Беларусь

Резюме. Задача — изучить коллективный иммунный статус населения Беларуси против SARS-CoV-2 в контексте пандемии COVID-19. *Материалы и методы.* Работа проводилась по методике оценки иммунитета населения SARS-CoV-2, разработанной Роспотребнадзором России и Минздравом Беларуси при участии Санкт-Петербургского института Пастера с учетом рекомендаций ВОЗ. Комитет по биоэтике Беларуси и локальный этический комитет Санкт-Петербургского института Пастера одобрили исследование. Отбор участников проводился анкетным методом и онлайн-технологиями (Интернет, облачный сервер).

Добровольцы были рандомизированы на семь возрастных групп (лет): 1–17 лет, 18–29, 30–39, 40–49, 50–59, 60–69 и 70+. Региональная рандомизация обеспечила пропорциональное представительство волонтеров от каждого региона, и от одного предприятия было включено не более 30 человек. В соответствии с инструкциями производителя образцы плазмы крови были проанализированы на IgG-антитела (Abs) к нуклеокапсиду SARS-CoV-2 (Nc) с использованием количественной тест-системы ELISA и на IgG-антитела к рецептор-связывающему домену (RBD) поверхностного гликопротеина SARS-CoV-2 S (шип) с использованием качественной тест-системы ELISA. Статистическая обработка проводилась в программе Excel 2010 и в ряде других. Статистические различия считались значимыми при $p < 0,05$, если не указано иное. **Результаты.** Уровень распространенности серотипов по отношению Abs к Nc среди населения Беларуси составил 38,4% (95% ДИ 37,6–45,4), самые высокие уровни Ab были зарегистрированы среди лиц в старших возрастных группах (50–70+ лет), самые низкие – у детей 1–17 лет и у молодежи 18–39 лет. Распределение серопревалентности по регионам Беларуси было относительно однородным, за исключением Минской области, где было отмечено статистически значимое снижение показателя. В профессиональном отношении наибольшая доля серопозитивных лиц была обнаружена среди транспортных работников, наименьшая – в сфере предпринимательства. Умеренная заболеваемость COVID-19 не привела к резкому увеличению числа контактов. Базовый номер репродукции (R_0) равнялся 1,3. В Республике Беларусь среди серопозитивных лиц отмечен средний уровень бессимптомного COVID-19 (45,3% [95% ДИ 44,0–46,7]). Эта форма заражения чаще всего наблюдалась у детей в возрасте от 1 до 17 лет (65,0% [95% ДИ 61,3–68,6]). Параллельно с оценкой серологической распространенности проводилась вакцинация против SARS-CoV-2. Мы использовали две вакцины: Gam-COVID-Vac (также известный как «Спутник V», разработанный Национальным исследовательским центром эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Россия) и BBIBP-CorV (Sinopharm, КНР). Вакцинация против SARS-CoV-2 сопровождалась повышением уровня антител к RBD (95% [95% ДИ 94,7–96,7]). Принимая во внимание вакцинацию подгруппы населения BBIBP-CorV, общий коллективный иммунитет, выведенный из анализируемых показателей (наличие антител против Nc или против RBD), составил 47,1% (95% ДИ 46,3–48,0). **Заключение.** COVID-19 в Беларуси характеризовался умеренно выраженным течением эпидемического процесса. Пороговый уровень коллективного иммунитета к SARS-CoV-2 еще не достигнут, вследствие чего сохраняются условия для развития эпидемии.

Ключевые слова: коронавирусы, SARS-CoV-2, COVID-19, заболеваемость, серологическая распространенность, бессимптомное течение, Республика Беларусь, численность населения, вакцинация, антинуклеокапсидные антитела, антитела против RBD, вакцина Gam-COVID-Vac (Sputnik V), вакцина BBIBP-CorV.

Introduction

The Republic of Belarus is a country located practically at the center of Europe. In fact, the Republic's territory includes Europe's geographical center (55°30'N, 28°48'E). It is quite natural that the novel coronavirus infection (COVID-19), which began in the Chinese city of Wuhan and almost instantly spread throughout the world, could not bypass an entire Eastern European country like Belarus. The first COVID-19 case was detected on February 28, 2020 in a student who arrived from Iran [1]. In the following month, predominantly sporadic cases were recorded. Only on March 30, 2020, were 58 infections detected in a single day for the first time [3].

Two days later, the first wave of the disease started. The peak incidence, of 969 primarily infected people per day, fell on May 17, 2020 (Fig. 1). Following that, there was a gradual decrease in the number of infected people, reaching a plateau from August 5 to 21, when the number of new cases did not exceed 100–127 people per day. Starting from August 21, 2020, an uptrend formed. Incidence grew rapidly and reached a maximum (1,972 people/day) on January 13, 2021. This figure was 2-fold higher than the maximum of the first rise. A subsequent, uneven decrease was observed in the period until July 15, 2021 (the ob-

servation period). However, at the end of this period, the number of new cases per day on different days ranged from 600 to 1,300 people. In aggregate, as of July 22, 2021: the incidence rate in the Republic was 4.7‰; and the number of deaths was 0.8% of the total number of infected [3].

Arrows mark the sampling period for determining the level of Ab to SARS-CoV-2 Nc (14.05.2021–19.05. 2021, the 19th–20th week of the year). The black solid line shows the trend curve described by the 6th degree polynomial equation. The regression equation and coefficient of determination (R^2) are shown on the graph.

A feature of Belarus is the tactics aimed at minimizing restrictive government measures [20, 39]. In the country, a 14-day self-isolation was introduced for persons arriving from abroad or having contact with COVID-19 patients. In addition, the use of protective masks and observance of social distancing in public places (public transport, trade establishments, etc.) were strongly recommended. Distance learning and schedule changes in schools and universities were also used [39, 51]. No other restrictive government measures were applied in the Republic. As the official statistics show, the refusal to introduce global restrictions did not cause a significant increase in the number of cases, the number of which remains

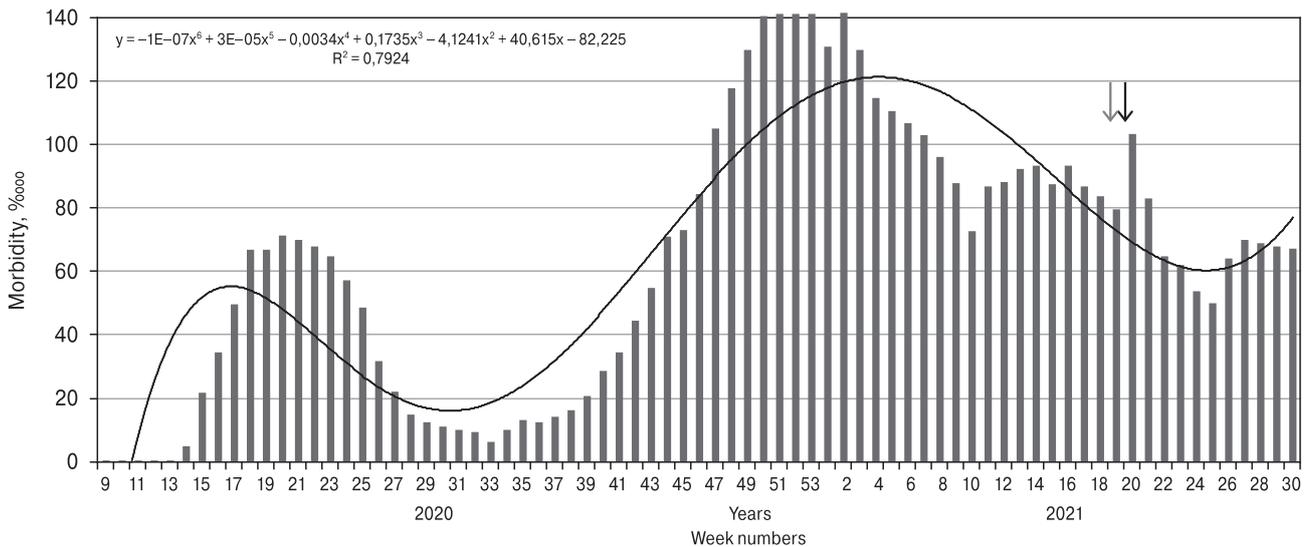


Figure 1. COVID-19 morbidity dynamics of the Belarusian population during the pandemic, 2020–2021

at about 50.00‰. In the global ranking of countries, Belarus ranks 51st in terms of morbidity.

A likely reason for the relatively low COVID-19 incidence may be low population density (45.5 per km²). In neighboring countries, this level was lower only in Latvia and the Smolensk Region of Russia (29.0 and 18.5 per km², respectively). Ukraine (75.8 per km²), Poland (121.1 per km²), and the Czech Republic (135.7 per km²) feature much higher population densities [5]; their incidence values were from 1.1 to 3.3-fold higher than that of Belarus. It is logical to assume that, in the context of relatively low morbidity, seroprevalence may also be low. A significant decrease in the intensity of contacts with residents of foreign countries, as well as the initiation of vaccination against SARS-CoV-2, may have positively affected the epidemic situation. Unfortunately, we could not find any published data specifically on this issue.

The objective of the study was to investigate the (SARS-CoV-2) population immunity structure in Belarus at the 15th month of the COVID-19 pandemic.

Materials and methods

Formation and randomization of the cohort of volunteers

The study was organized and carried out within a framework for scientific cooperation between countries of Eastern Europe, Transcaucasia, and Central Asia. The framework is in accordance with a Russian Government Order (dated 06.18.2021, No. 1658-p.) and decisions by: the head of the Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare (Rospotrebnadzor); and the Deputy Minister of Health, Chief State Sanitary Doctor, of Belarus. A cross-sectional cohort randomized study of SARS-CoV-2 herd immunity was carried out according to a program developed by Rospotrebnadzor with the participation of the St. Petersburg Pasteur Institute, taking into account WHO recommendations [52]. The study was conducted on May 14–19, 2021 (weeks 19–20 of the year). In all stages of the study (organizing, collecting, and analyzing results), cloud (Internet) technologies were used [15].

Table 1. Distribution of volunteers by region

| Region | Population | Number of individuals studied | Representation % (95% CI) |
|----------------|------------------|-------------------------------|---------------------------|
| Brest Region | 1,347,000 | 1,690 | 0.13 (0.12–0.13) |
| Vitebsk Region | 1,133,000 | 1,648 | 0.15 (0.14–0.15) |
| Grodno Region | 1,025,000 | 1,685 | 0.16 (0.15–0.17) |
| Gomel Region | 1,386,000 | 1,606 | 0.12 (0.11–0.12) |
| Mogilev Region | 1,023,000 | 1,718 | 0.17 (0.16–0.18) |
| Minsk Region | 147,2000 | 1,602 | 0.11 (0.10–0.11) |
| Minsk | 2,020,000 | 2,977 | 0.14 (0.14–0.15) |
| Total | 9,408,440 | 12,926 | 0.14 (0.14–0.14) |

In accordance with the chosen methodology, the first step was the formation and subsequent randomization of a volunteer cohort by means of questionnaires. Each volunteer, or their legal representative, was familiarized with the goals and conditions of the upcoming study and signed an informed consent. The study was organized in accordance with the provisions of the Declaration of Helsinki and approved by the Bioethics Committee of Belarus (protocol No. 2, dated 13.05.2021) and the local ethics committee of the St. Petersburg Pasteur Institute (protocol No. 64, dated 26.05.2020). In accordance with the specific equation of the De Moivre–Laplace Theorem [16], 12,926 people, from all regions of Belarus, were selected to participate in the study. Volunteers were randomized according to their place of residence, taking into account proportional representation from each region of the Republic (Table 1).

In total, 0.14% (95% CI 0.13–0.14) of the total population was selected for the cohort of volunteers throughout Belarus. In regions of the Republic, the representation varied from 0.11 to 0.17%. Although the differences in SARS-CoV-2 seroprevalence between regions turned out to be statistically significant, it is unlikely that the range of mean values (0.06%) in the subpopulations could have a significant impact on the state of seroprevalence in the Republic with a population of 9,349 million people. The cohort of volunteers consisted of 4,375 men and 8,551 women (a ratio of approximately 1:2). In addition to regional randomization, the cohort was stratified into seven age groups (Table 2).

Vaccination against SARS-CoV-2

Some of the volunteers took part in coronavirus vaccination launched in Belarus. The program used two vaccines. The first, Gam-COVID-Vac (Sputnik V), was developed by the Gamaleya National Center for Epidemiology and Microbiology (Moscow, Russia) [35, 56]. It is a vector, heterologous 2-component vaccine containing: recombinant adenovirus type 26 (rAd26); and a vector of recombinant adenovirus type 5 (rAd5). Both components carry the SARS-CoV-2 spike glycoprotein gene (rAd26-S, rAd5-S). The second vaccine was an inactivated design, BBIBP-CorV, manufactured by Sinopharm Group Co., Ltd., (Shanghai, PRC) [50, 54]. Vaccinations were carried out in accordance with their instructions for use. As a consequence of their compositions, immunity resulting from vaccination with Sputnik V is mainly aimed at binding the RBD of the spike protein [32], while the BBIBP-CorV vaccine (inactivated) induces Abs against all viral antigens [37].

Analysis of volunteers for the presence of SARS-CoV-2 antibodies

All volunteers in the formed cohort underwent blood sampling from the cubital vein (3 ml into va-

Table 2. Age structure of the surveyed volunteer cohort

| Age group, in years | Surveyed | | |
|---------------------|-----------------|---------------------|-------|
| | absolute number | % of total surveyed | |
| 1–17 | 1,727 | 13.4 | |
| Including | 1–6 | 199 | 11.5* |
| | 7–13 | 803 | 46.5* |
| | 14–17 | 725 | 42.0* |
| 18–29 | 1,761 | 13.6 | |
| 30–39 | 1,862 | 14.4 | |
| 40–49 | 1,900 | 14.7 | |
| 50–59 | 1,958 | 15.2 | |
| 60–69 | 1,911 | 14.8 | |
| 70+ | 1,807 | 13.9 | |
| Total | 12,926 | 100.0 | |

Note. Since children feature different stages of general immune development 1–17 years old children group was divided into three subgroups to refine analysis: 1–6; 7–13; and 14–17 years old * — pediatric subgroup values are percentage of the overall group (1–17 years old).

cutainers containing EDTA). Blood plasma samples, after separation from the cellular component, were used for the quantitative determination of IgG Abs to the Nc (SARS-CoV-2) antigen by enzyme immunoassay, using a reagent kit manufactured by the St. Petersburg Pasteur Institute. In addition, vaccinated volunteers were qualitatively analyzed for the presence of anti-RBD Abs using a reagent kit developed by the Gamaleya National Center for Epidemiology and Microbiology.

Statistical analysis

Data processing was performed using Excel 2010. Confidence intervals (95% CI) were calculated by the method of A. Wald and J. Wolfowitz [49], with correction by the method of A. Wald and J. Wolfowitz [49], with correction by A. Agresti and B.A. Coull [18]. Correlation analysis was performed according to Spearman's method. The statistical significance of differences was calculated by the z-test, using an online calculator [2].

Results

Age distribution of Nc antigen seroprevalence in the Belarusian population

The share of residents with Abs to SARS-CoV-2 Nc (seroprevalence), in Belarus as a whole at 15 months after epidemic onset, was 38.4% (95% CI 37.6–39.3) (Table 3). Seroprevalence among men (39.7% [95% CI 38.3–41.2]) was higher than that among women (37.8% [95% CI 36.8–38.8]). Statistical differences are significant at $p < 0.05$.

The largest shares of seropositive persons were noted among volunteers in 3 older groups: 50–59;

Table 3. Seroprevalence of anti-Nc antibodies in different volunteer age groups

| Age group, years | Total studied (N) | Seropositive (n) | Seroprevalence, % (95% CI) |
|------------------|-------------------|------------------|----------------------------|
| 1–17 | 1,727 | 677 | 39.2 (33.3–41.6) |
| Including | 1–6 | 199 | 29.6 (23.4–36.5) |
| | 7–13 | 803 | 42.2 (38.8–45.7) |
| | 14–17 | 725 | 38.5 (34.9–42.1) |
| 18–29 | 1,761 | 490 | 27.8 (21.7–30.0)* |
| 30–39 | 1,862 | 546 | 29.4 (25.6–31.4)* |
| 40–49 | 1,900 | 699 | 36.8 (34.4–39.0) |
| 50–59 | 1,958 | 922 | 47.1 (44.6–51.3)* |
| 60–69 | 1,911 | 853 | 44.6 (41.7–46.9)* |
| 70+ | 1,807 | 778 | 43.1 (38.4–45.4)* |
| Overall | 12,926 | 4,965 | 38.4 (37.6–45.4) |

Note. * — statistically significant differences with the final value of seroprevalence in the cohort, upward or downward. In all comparison pairs, the level of statistical significance by the z-test was $p < 0.001$.

60–69; and 70+ years old (Table 3). Differences from the overall cohort mean were statistically significant at $p < 0.001$. The lowest seroprevalence indicators were found in the groups 18–29 and 30–39 years old. Differences from the cohort mean were statistically significant at $p < 0.001$. Unlike most regions of Russia [6], in Belarus, there was no predominant seroprevalence among children. There was a slightly higher level of seropositivity among children aged 7–13 years. However, the differences were statistically insignificant in comparison with the overall data ($0.05 > p > 0.1$). At the same time, a statistically significant increase in the proportion of seropositive volunteers in older groups may indicate a greater infection in this category of people with coronavi-

rus against the background of a limited set of non-pharmacological interventions in the context of an increase in COVID-19 incidence [39]. For a more accurate assessment of the age structure of seropositivity, the distribution of volunteers by level of Ab to SARS-CoV-2 Nc was determined (Table 4, Fig. 2).

The proportion of volunteers with an Ab level of 100–186 U/ml was 12.2% (95% CI 10.7–13.8) among children 1–17 years old and decreased to 6.2% (95% CI 5.1–7.4) among people aged 70+ years. The differences were statistically significant at $p < 0.0001$. The age dependence had a negative trend and was described by the regression equation $y = 0.0712x^4 - 1.2894x^3 + 7.9167x^2 - 19.373x + 25$, with a coefficient of determination of $R^2 = 0.90$. The ma-

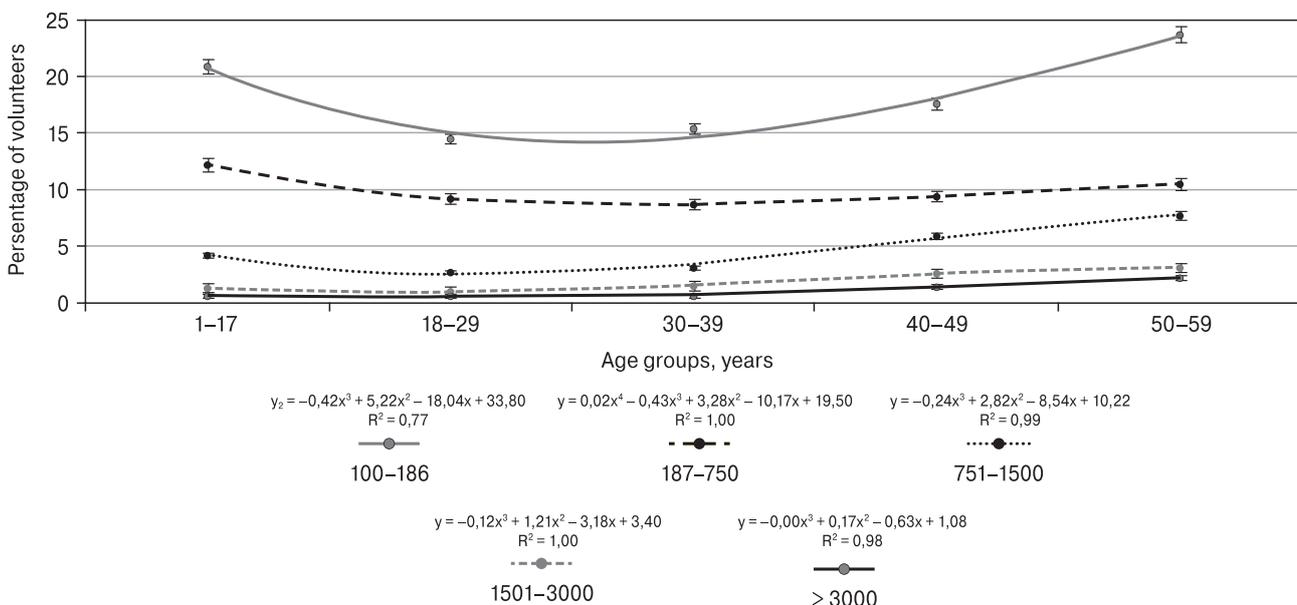


Figure 2. Distribution of the shares of volunteers in different age groups by antibodies to Nc antigens level

Legend: Ab sero-interval groups; colored dots with black vertical lines (confidence intervals) — the proportion of seropositive volunteers who have Abs to SARS-CoV-2 Nc in their blood in the corresponding interval; solid colored lines — forecast trends related to the corresponding sero-interval group. In the upper part of the diagram, the regression equations and R^2 determination coefficients are presented (in colors matching those of the corresponding sero-interval group). The numerical values of the points are given in Table 4.

jority of seropositive volunteers had low Ab levels in the range 187–750 U/ml. Among individuals in this group, there were: elevations in children 1–17 years old (20.9% (95% CI 19.0–22.8) $p < 0.05$) and those 50–59 years old (23.7% (95% CI 20.1–25.6) $p < 0.0001$); and decreased Ab levels in the age groups of 18–19 years old (14.5% (96% CI 12.8–16.2) $p < 0.0001$) and 30–39 years old (15.4% (95% CI 13.8–17.1) $p < 0.0001$).

An attempt to build a linear trend turned out to be unsatisfactory, since R^2 was -0.11 . Use of a 5th order polynomial was more successful ($y = 0.0808x^5 - 1.517x^4 + 9.9769x^3 - 26.621x^2 + 24.404x + 14.5$), with R^2 of 0.91. Interestingly, in this group, the regression also had a negative direction, although not as pronounced as in the first group (Fig. 2). Two processes described were observed in individuals with very low or low Abs to SARS-CoV-2 Nc.

A change in trend was noted in volunteers with average Ab values ranging from 750 to 1500 U/ml. When approximated by the least squares method, the slope coefficient ($tg\alpha$) was: -0.8 in the Ab sero-interval group 100–186 U/ml; and $tg\alpha$ was 0.5 in the Ab sero-interval group 186–150 U/ml. This indicates that the lowest Ab levels are inherent in children and individuals aged 18–29 years. As age increases, Ab levels increase. This increase started at the 186–750 U/ml Ab level and reached its maximum in the group with Abs in the 751–1500 U/ml range ($tg\alpha = 1.0$). In addition, the minimum level was noted among 18–29 year olds (2.7% [95% CI 2.0–3.5] $p < 0.0001$) (Fig. 2, green dots). Consistent with a linear prognosis, Ab levels increased with age (Fig. 2). Among persons 40–49 years old, there were 5.9% (95% CI 4.8–7.0). In the group of 60–69 years old, their share increased to 9.6% (95% CI 8.3–11.0) ($p < 0.0001$). Finally, among volunteers aged 70+ years, there was a statistically insignificant decrease (8.3% [95% CI 7.0–9.6]).

In the last two groups (Ab levels 1,501–3,000 and > 3000 U/ml), a similar tendency was observed even with a decrease in the arithmetic value of the proportion of seropositivity (Table 4). Thus, the interage distribution, of the proportion of seropositive individuals within the same serological interval, showed: a decrease in Ab levels among young and middle-aged people; and a statistically significant increase among older volunteers. This relationship between age and the level of anti-Nc Abs can be considered one of the features of SARS-CoV-2, which has been established in other studies [47, 55]. One of the probable reasons for this phenomenon may be more severe COVID-19 courses due to the widespread prevalence of premorbid pathology and decreased immune responsiveness in elderly and senile people [4, 34].

Regional seroprevalence structure of the Belarusian population

The study of population seroprevalence was conducted in all seven administrative regions of the Republic (Table 5).

Table 4. Age group distribution of antibodies to SARS-CoV-2 Nc, by titer range

| Age group, in years | anti-Nc IgG Ab range, U/ml | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|----------------------------|----------------------|--------------|-------------------------|------------|----------------------|-------------|----------------------|------------|----------------------|----------------|-------------------------|---------------|
| | 100–186 | | 187–750 | | 751–1,500 | | 1,501–3,000 | | > 3,000 | | 0–99 (absence) | | Total |
| | n | % (95% CI) | n | % (95% CI) | n | % (95% CI) | n | % (95% CI) | n | % (95% CI) | n | % (95% CI) | |
| 1–17 | 210 | 12.2 (10.6–13.8) | 361 | 20.9 (19.0–22.8) | 73 | 4.2 (3.3–5.3) | 23 | 1.3 (0.8–2.0) | 10 | 0.6 (0.3–1.1) | 1,050 | 60.8 (58.5–63.1) | 1,727 |
| 18–29 | 163 | 9.3 (7.9–10.7) | 253 | 14.4 (12.8–16.1) | 47 | 2.7 (2.0–3.5) | 17 | 1.0 (0.6–1.5) | 10 | 0.6 (0.3–1.0) | 1,271 | 72.2 (70.0–78.0) | 1,761 |
| 30–39 | 162 | 8.7 (7.5–10.1) | 287 | 15.4 (13.8–17.1) | 57 | 3.1 (2.3–3.9) | 28 | 1.5 (1.0–2.2) | 12 | 0.6 (0.3–1.1) | 1,316 | 70.7 (69.0–74.5) | 1,862 |
| 40–49 | 179 | 9.4 (8.1–10.8) | 332 | 17.5 (15.8–19.3) | 112 | 5.9 (4.9–7.0) | 50 | 2.6 (2.0–3.4) | 26 | 1.4 (0.9–2.0) | 1,201 | 63.2 (60.9–65.6) | 1,900 |
| 50–59 | 206 | 10.5 (9.2–12.0) | 463 | 23.6 (21.8–25.5) | 149 | 7.6 (6.5–8.9) | 60 | 3.1 (2.3–3.9) | 44 | 2.2 (1.6–3.0) | 1,036 | 52.9 (49.0–55.4) | 1,958 |
| 60–69 | 129 | 6.8 (5.7–8.0) | 375 | 19.6 (17.8–21.4) | 184 | 9.6 (8.3–11.0) | 84 | 4.4 (3.6–5.4) | 81 | 4.2 (3.3–5.2) | 1,058 | 55.4 (53.1–58.2) | 1,911 |
| 70+ | 112 | 6.2 (5.1–7.4) | 346 | 19.2 (17.3–21.0) | 149 | 8.2 (7.0–9.6) | 88 | 4.9 (3.9–6.0) | 83 | 4.6 (3.7–5.7) | 1,029 | 56.9 (54.6–59.2) | 1,807 |
| Overall | 1,161 | 9.0 (8.5–9.5) | 2,417 | 18.7 (18.0–19.4) | 772 | 6.0 (5.5–6.4) | 350 | 2.7 (2.4–3.0) | 266 | 2.1 (1.8–2.3) | 7,961 | 61.6 (60.7–62.4) | 12,926 |

Note. n — number of volunteers. A negative result was designated as 0–99 U/ml.

Table 5. Morbidity and SARS-CoV-2 seroprevalence in volunteers living in different regions of Belarus

| Location | Population density, per km ² | Studied volunteers | | Seroprevalence, % (95% CI) | Morbidity, ‰ |
|----------------|---|--------------------|--------------|----------------------------|--------------|
| | | Total | Seropositive | | |
| Brest Region | 41 | 1,690 | 698 | 41.3 (34.4–43.7) | 61.0 |
| Vitebsk Region | 28 | 1,648 | 587 | 35.6 (33.3–38.0) | 86.8 |
| Grodno Region | 40 | 1,685 | 709 | 42.1 (35.0–44.5) | 61.7 |
| Gomel Region | 34 | 1,606 | 635 | 39.5 (37.1–42.0) | 48.5 |
| Mogilev Region | 35 | 1,718 | 685 | 39.9 (33.7–42.2) | 77.8 |
| Minsk Region | 37 | 1,602 | 544 | 34.0 (31.6–36.3)* | 93.5 |
| Minsk | 5761 | 2,977 | 1,107 | 37.2 (35.5–38.9) | 130.4 |
| Overall | 45 | 12,926 | 4,965 | 38.4 (37.6–39.3) | 80.9 |

Note. * — statistically significant difference with the overall value.

Among the surveyed Belarusian regions, higher seroprevalence (relative to the average for the Republic) was noted in the Grodno and Brest regions. They were, however, statistically insignificant. The lowest seroprevalence was found among volunteers in the Minsk Region (differences were statistically significant at $p < 0.0001$). A slightly higher proportion of seropositive volunteers was found in Minsk, while in other regions there was a significant morbidity. At first glance, there is no statistically significant relationship between morbidity and seroprevalence, which somewhat contradicts previously obtained results in other territories [9, 11, 12].

We tried to assess the presence of any relationship between morbidity and population density, assuming that these two indicators may be correlated. Such a dependence does exist with: a correlation coefficient of $r = 0.64$ ($0.05 > p < 0.1$); a descending straight trend line ($y = -0.292 \ln(x) + 1.7687$); and a determination coefficient of $R^2 = 0.41$. The connection turned out to be weak ($0.05 > p < 0.1$) (Fig. 3).

Based on these data, it can be concluded that an increase in seroprevalence is accompanied by a decrease

in the incidence rate per 100,000 population. This conclusion is quite consistent with published ideas that: as the level of herd immunity grows in the population, the rate of spread of the disease decreases until its complete cessation [23, 42, 43]. The relationship between population density and seroprevalence turned out to be slightly more significant. The trend line is an ascending straight line: $y = 0.2904 \ln(x) + 1.7182$; correlation coefficient 0.70 ($0.05 > p < 0.1$); and a determination coefficient of $R^2 = 0.47$ (Fig. 4).

In this case, the regression line was ascending. This reflects the well known fact in epidemiology that there is a direct relationship between population density and morbidity. Demographically, Belarus is a territory with a relatively evenly distributed population. As noted earlier, the average population density in the country is 45 per km². An exception to the trend is the capital of the Republic, Minsk, where the population density is 5819 per km² (126.5-fold higher than the national average). Interestingly, even with such a density, the seroprevalence level (37.2% [95% CI 35.5–38.9]) does not differ from the national average (38.4% [95% CI 37.6–39.3]).

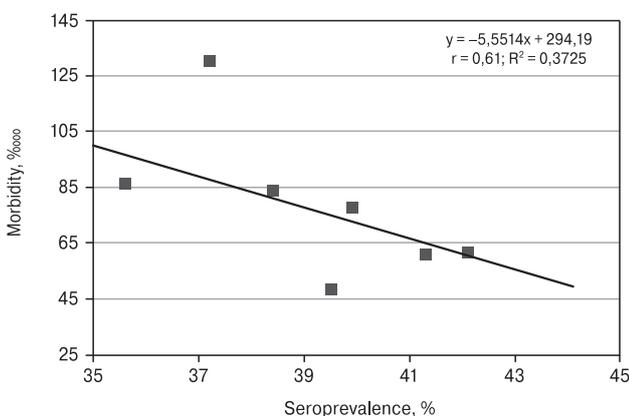


Figure 3. Correlation between morbidity and seroprevalence

Note. On the x and y axes, morbidity and seroprevalence are expressed as log₁₀. The correlation coefficient (r), the determination coefficient R², and the regression equation are shown.

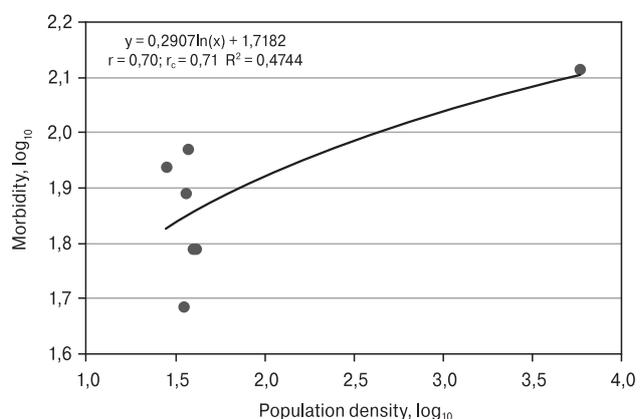


Figure 4. Correlation between morbidity rate and population density

Note. On the x and y axes, incidence and population density are expressed as log₁₀. The correlation coefficient (r), determination coefficient R², and the regression equation are shown.

Thus, the performed correlation analysis confirmed the presence of a statistically significant relationship between population density and morbidity, as well as between population density and seroprevalence. The latter phenomenon was revealed in other territories as well [13]. The desire to break this connection is precisely what caused the widespread use of self-isolation regimes in Belarus [22, 24, 26]. It can be assumed that the nature of the relationship between population density and morbidity is, to some extent, due to the late introduction of restrictive anti-epidemic measures to protect the population from SARS-CoV-2 [39].

The structure of (SARS-CoV-2 Nc) seroprevalence by profession

A factor such as profession can have a significant impact on the level of seroprevalence. There is an extensive list of professions that involve constant, broad contact with the surrounding population. Visual, and often tactile, contact with those around them are typical for workers in: healthcare; education; trade; transportation; catering; consumer services (hair salons, massage parlors, spas); and a number of other professions, such as manufacturing, were working remotely or in self-isolation isn't feasible [21, 30, 39, 46]. In Belarus, a survey of SARS-CoV-2 Ab seroprevalence was carried out among representatives of 12 professional groups (Table 6).

The distribution of seroprevalence, among 8,241 working-age volunteers in 12 professional groups, was generally quite homogeneous (Table 5). Unlike other researchers, we were unable to identify predominant

seroprevalence values in healthcare [8, 19] or education [14] professional groups. A higher SARS-CoV-2 seroprevalence was found among transport workers: 45.2% (95% CI 41.6–52.5; $p < 0.0001$). It can be assumed that this group of volunteers was dominated by employees of public transport enterprises who have frequent contact with passengers. The lowest seroprevalence was noted among business professionals: 32.0% (95% CI 28.1–36.2; $p < 0.0001$). In the remaining groups, statistically significant differences from the group mean were not found (Table 5). Thus, analysis of seroprevalence by professional group did not find substantial differences in Belarus as a whole.

Seroprevalence among COVID-19 convalescents and their contacts

Among the volunteers who participated in the study, 4,056 people indicated in the questionnaire that they had suffered from COVID-19 (31.4% [95% CI 30.6–32.2]). In the entire group of convalescents, the number of seropositive was 2,611 (64.4% [95% CI 62.6–65.8]). Correlated with the cumulative number of infections in Belarus as a whole (as of May 19, 2021), the total number of convalescents in the cohort was 1.07% (95% CI 1.03–1.10).

Keeping in mind that each patient in the latent and/or manifest period is highly likely to be a spreader of infection, it is reasonable to assume that a certain number of people have been in contact with patients [42, 43]. The share of such persons may vary and largely depends on the effectiveness of restrictive administrative measures. During the survey process (questionnaire), 4,967 people (38.4% [95% CI 37.6–39.3]) were identified with verified patient and/or convalescent contact. Among them, the number of seropositive persons was 2,043 (41.3% [95% CI 39.7–42.5]).

Table 6. SARS-CoV-2 seroprevalence among different professions groups

| Professions | Number of individuals studied | Seropositive individuals | Seroprevalence, % (95% CI) |
|----------------|-------------------------------|--------------------------|----------------------------|
| Healthcare | 1,504 | 570 | 37.9 (35.4–40.4) |
| Science | 91 | 33 | 36.3 (26.4–47.0) |
| Business | 540 | 173 | 32.0 (28.1–36.2)* |
| Education | 1,126 | 440 | 39.1 (36.2–42.0) |
| The Arts | 148 | 56 | 37.8 (30.0–46.2) |
| Manufacturing | 1,201 | 457 | 38.1 (35.3–40.9) |
| Transportation | 328 | 151 | 46.0 (40.5–51.6)* |
| Armed Forces | 99 | 39 | 39.4 (29.7–49.7) |
| Civil Service | 365 | 147 | 40.3 (35.2–45.5) |
| Office Work | 1,675 | 614 | 36.7 (34.3–39.0) |
| Unemployed | 340 | 116 | 34.1 (29.1–39.4) |
| Other | 823 | 275 | 33.4 (30.2–36.7) |
| Overall | 8,241 | 3,071 | 37.3 (36.2–38.3) |

Note. * — statistically significant differences from the mean ($p < 0.0001$).

Table 7. Age distribution of SARS-CoV-2 seropositive volunteers with an asymptomatic COVID-19 course

| Age group, years | Number of seropositive individuals | | Asymptomatic seropositive individuals, % (95% CI) |
|------------------|------------------------------------|----------------------|---|
| | total | asymptomatic courses | |
| 1–17 | 677 | 440 | 65.0 (61.3–68.6)* |
| 16–29 | 490 | 248 | 50.6 (46.1–55.1) |
| 30–39 | 546 | 258 | 47.2 (43.0–52.0) |
| 40–49 | 699 | 265 | 37.9 (34.3–41.6) |
| 50–59 | 922 | 349 | 37.8 (34.7–41.1) |
| 60–69 | 853 | 308 | 36.1 (32.9–39.4) |
| 70+ | 778 | 383 | 49.2 (45.7–52.8) |
| Overall | 4,964 | 2,251 | 45.3 (44.0–46.7) |

Note. * — statistically significant difference from the cohort mean.

Distribution of asymptomatic COVID-19 forms among seropositive volunteers

In the surveyed cohort, asymptomatic individuals with a positive PCR test result were not identified. Antibodies to (SARS-CoV-2) Nc were identified in 4,964 people (38.4% [95% CI 37.6–39.2]). Of them, 2,251 people (45.3% [95% CI 44.0–46.7]) had no symptoms or indications of COVID-19, except for the aforementioned antibodies. This group of individuals was classified as seropositive volunteers with an asymptomatic course of infection (Table 7).

In a number of Russian regions, the share of asymptomatic, seropositive individuals ranged from 90 to 100% [7]. The share of such persons in Belarus, however, was about 2.2-fold lower (Table 6). The largest number of asymptomatic volunteers was found in the group 1–17 years old ($p < 0.0001$). Some higher seropositivity values were noted in the groups 16–29 years old and 70+ years old, but they were statistically insignificant ($p = 0.1$).

Seroprevalence among vaccinated individuals

Among the volunteer cohort who participated in the program assessing SARS-CoV-2 seroprevalence in the population, 1,735 people received SARS-CoV-2 vaccines. Twenty six volunteer samples were invalid. Therefore, further analysis was carried out of 1709 vaccinated volunteers (1,542 immunized with Sputnik V, 167 immunized with BBIBP-CorV).

The BBIBP-CorV vaccine induces Abs to all antigens of the SARS-CoV-2 complex. In response to Sputnik V vaccination, only Abs against the RBD are produced (not against Nc) [35, 54]. Among Sputnik V-vaccinated volunteers, however, about 20% were found to have anti-Nc Abs. Presumably, they were formed as a result of a transmitted asymptomatic

infection. This assumption is in satisfactory agreement with the data on Nc seropositivity in the entire cohort, which amounted to 38.4% (95% CI 37.6–45.4) (Table 1). Although the proportion of seropositive individuals is, in general, statistically significantly higher than those vaccinated (Table 8), it includes unvaccinated children and convalescents (who are recommended to observe a 3–6 month delay in vaccination). Considering that the Sputnik V vaccine does not induce anti-Nc Abs by nature of its design, we interpreted their presence in vaccinated volunteers as a sign of post-infectious immunity. Accordingly, anti-RBD Abs were attributed to post-vaccination immunity.

BBIBP-CorV vaccine, being polyvalent, naturally induced production of Abs against the entire viral antigen range. The proportion of Nc seropositive following BBIBP-CorV vaccination was 2.8-fold higher than that with Sputnik V. In this regard, it is logical to assume that the real contribution of the Chinese-made vaccine to the proportion of those seropositive for Nc Abs in immunized volunteers may be about 42%. Of course, this is a purely speculative conclusion that requires additional verification. In addition, this 42% refers to only 167 individuals vaccinated BBIBP-CorV. When recalculated for the entire vaccinated cohort, the additional contribution to the total proportion of individuals with anti-Nc plasma Abs will be only 4.1% (95% CI 3.2–5.1). This does not statistically differ from the proportion of individuals in which immunity from both Ab classes is absent.

As for Abs to the RBD, no surprises were noted. Both vaccines created comparable immunity with seroprevalence levels from 94.0% (95% CI 89.3–97.1) to 96.0% (95% CI 94.9–96.9); differences between the indicators were not statistically significant (Table 8). Thus, these vaccines used in the Republic

Table 8. Seroprevalence in the surveyed volunteers vaccinated against SARS-CoV-2

| Vaccine | Total vaccinated | Post-infectious immunity is present (anti-Nc IgG antibodies) | | Post-vaccination immunity is present (anti-RBD IgG antibodies) | | Absence of immunity* | |
|----------------|------------------|--|-------------------------|--|-------------------------|----------------------|----------------------|
| | | n | % (95% CI) | n | % (95% CI) | n | % (95% CI) |
| Sputnik V | 1542 | 357 | 23.2 (21.1–25.3) | 1,480 | 96.0 (94.9–96.9) | 56 | 3.6 (2.8–4.7) |
| BBIBP-CorV | 167 | 109 | 65.3 (57.5–72.5)** | 157 | 94.0 (89.3–97.1) | 8 | 4.8 (2.1–9.2) |
| Overall | 1,709 | 466 | 27.3 (25.2–29.5) | 1,637 | 95.8 (94.7–96.7) | 64 | 3.7 (2.9–4.8) |

Note. * — there is neither post-infectious nor post-vaccination immunity, ** — the presence of anti-Nc Abs in those vaccinated with BBIBP-CorV cannot be unambiguously interpreted as a consequence of prior infection.

Table 9. Presence of IgG antibodies to various SARS-CoV-2 proteins in volunteers vaccinated with Sputnik V (N = 1,542)

| Sputnik V vaccine | | anti-Nc IgG antibodies | |
|--|--------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| | | present (n = 357) | absent (n = 1,185) |
| IgG antibodies to the RBD domain (S protein), number of volunteers | present (n = 1480) | 351 22.8% (95% CI 20.7–25.0) | 1,129 73.2% (95% CI 70.9–75.4) |
| | absent (n = 62) | 6 0.4% (95% CI 0.1–0.8) | 56 3.5% (95% CI 2.8–4.7) |

Table 10. Presence of IgG antibodies to various SARS-CoV-2 proteins in volunteers vaccinated with BBIBP-CorV (N = 167)

| BBIBP-CorV vaccine | | anti-Nc IgG antibodies | |
|--|-------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| | | present (n = 109) | absent (n = 58) |
| IgG antibodies to the RBD domain (S protein), number of volunteers | present (n = 157) | 107 64.1% (95% CI 56.3–71.3) | 50 29.9% (95% CI 23.5–37.3) |
| | absent (n = 10) | 2 1.2% (95% CI 0.2–4.3) | 8 4.8% (95% CI 2.1–9.2) |

of Belarus have shown high efficiency in terms of Ab production to the RBD of SARS-CoV-2.

Further analysis was carried out only in relation to those immunized with Sputnik V, the composition of which allows: the most complete assessment of the contribution of vaccination to the structure of herd immunity (Table 9); and to compare these data with BBIBP-CorV vaccination results (Table 10). The number of persons with post-vaccination SARS-CoV-2 immunity induced by Sputnik V was 1,129.

Similar calculations for the BBIBP-CorV vaccine showed that its contribution to post-vaccination immunity was 0.4% (95% CI 0.3–0.5). The contribution of the BBIBP-CorV vaccine to Nc Ag immunity, calculated according to the principle above, was 0.9% (95% CI 0.7–1.9). The total contribution of Abs to the BBIBP-CorV vaccine to SARS-CoV-2 herd immunity was: $0.4 + 0.9 = 1.3\%$.

Taking into account the sum of post vaccination immunity from Sputnik V (1129 people) and the number of seropositive individuals with post infectious immunity (4,965 people), relative to the total cohort (12,926), the final indicator of SARS-CoV-2 herd immunity was 47.1% (95% CI 46.3–48.0). This is the average level of seroprevalence in the population of the Republic of Belarus.

Discussion

Based on the overall results of the study, it can be concluded that the epidemic process, of novel coronavirus infection in Belarus, can be characterized as moderately intense. This is manifested as a high proportion of convalescents, although it is worth noting that a noticeable morbidity did not lead to the activation of transmission or the appearance of a significant number of contact persons. The age structure of seroprevalence, in contrast to a number of Russian regions [10, 11, 13, 41], was characterized by a statistically significant increase in the indicator among persons in older age groups (50–70+ years; $p < 0.0001$) (Table 3). When quantifying Abs SARS-CoV-2 Nc, it was shown that: the minimum Ab levels (100 to 750 U/ml) prevailed among volunteers in the age groups 1–17 and 18–29 years old; and the maximum levels (751 to 3000+ U/ml) were identified among persons aged 50 to 70+ years. This is probably, to a certain extent, associated with a more severe disease course in elderly and senile people [4, 28, 44].

When analyzing the relationship between seroprevalence and morbidity, an inverse correlation was found (rank correlation coefficient 0.61, $p < 0.05$; Fig. 3). Other features were revealed when assessing the influence of occupational factors on seroprevalence. Unlike other territories [27, 33, 38, 48], a predominant seroprevalence among medical workers was not established in Belarus. At the same time, there was a statistically significant increase in the proportion of seropositive people among transport workers.

The analysis of seroprevalence among convalescents and contact persons may be of some interest. First of all, attention is drawn to a rather large share of volunteers who indicated a COVID-19 illness, which amounted to 4,056 people. Of them, 2,611 people were seropositive for Abs SARS-CoV-2 Nc (64.4% [95% CI 62.6–65.8]). Naturally, a question arises about the reasons behind the lack of Abs among the remaining 35%. The answer likely lies in the work of Wu et al. [53], in which it was shown that about 30% of convalescents produce specific Abs in titers below detection thresholds. However, if physical protection measures are not followed, they are able to spread the virus through exhaled air, coughing, or sneezing [25, 45].

In the study, verified contacts with patients or convalescents were found in 4967 people. Of them, 2,043 had Abs to SARS-CoV-2 Nc (41.3% [95% CI 39.7–42.5]). Thus, light protection methods did not prevent SARS-CoV-2 transmission in the susceptible population; transmission was slowed, although probably not as effectively as would be expected according to mathematical models [23].

Among seropositive persons, a significant proportion are so-called asymptomatic cases, in which the disease proceeds without any clinical manifestations, leaving behind only a trace in the form of specific Abs [36]. This is most common among children [31]. There are at least two asymptomatic case types. Firstly, asymptomatic individuals can be defined as those without any signs of COVID-19 other than a positive PCR test. There were no such volunteers in the surveyed cohort. It is believed that such people are able to shed coronavirus longer than symptomatic COVID-19 patients, thus reducing the effectiveness of anti-epidemic measures [36]. The second asymptomatic type includes people without any signs of COVID-19, with the exception of Abs to SARS-CoV-2. Some of them may subsequently

develop a manifest infection, while others will remain asymptomatic (albeit with low level IgG Abs).

Among seropositive volunteers, the asymptomatic share was 45.3% (95% CI 44.0–46.7), which is approximately 2-fold lower than in Russia and other territories [7, 36]. It can be assumed that this is due to the low level of viral transmission among the population.

The implementation of a COVID-19 vaccination program in the Republic of Belarus started in December, 2020. Two vaccines were used: the Sputnik V vector, heterologous vaccine (Moscow, Russia); and the BBIBP-CorV inactivated vaccine (Sinopharm, PRC). As of May 19, 2021, 3.5% (95% CI 3.49–3.51) of the population were vaccinated in Belarus. In other words, no more than 57,000 people a month were vaccinated for six months. At the time of this writing, the proportion of vaccinated persons had increased 4.5-fold and amounted to 15.7% (95% CI 15.68–15.72). Among the volunteers, 1709 people were vaccinated (1542 with Sputnik V, 167 with BBIBP-CorV). Both vaccines showed almost equal efficacy in terms of anti-RBD Abs. A significantly higher response to Nc antigen was found in BBIBP-CorV vaccinated individuals. This is expected as the Chinese (polyvalent, inactivated) vaccine naturally induces a larger spectrum of Abs than the Russian Sputnik V (monovalent, vector) vaccine. Despite the small scale of vaccination within the surveyed cohort, it contributed to an increase in the level of herd immunity, on average, up to 47.1% (95% CI 46.3–48.0).

The achieved level of immunity is still far from the minimum threshold [42]. The base reproduction number (R_0) calculated for Belarus, a value characterizing the rate of spread of infection and the formation of herd immunity [44], was about 1.3. The value of R_0 among volunteers, at first glance, is mathematically small. However, one cannot fully rely on it, since it does not take into account: the real prevalence of infection among the population; the effectiveness of non-specific protective measures (distancing, protective masks, self-isolation, etc.); or vaccination.

Taking into account available mathematical modeling methods for COVID-19 morbidity, an R_0 of 3.0 to 3.5 is likely more realistic [17, 23]. This means that the minimum threshold for SARS-CoV-2 immunity cannot be less than 60–65%. Indeed, an extreme point of view has been expressed by A. Pollard, who believes that herd immunity is generally unattainable [29]. The truth, however, is probably somewhere in between. Even with vaccination of up to 80–90% of the country, COVID-19, if it does not completely disappear, will likely transform into another seasonal, acute respiratory viral infection. Achieving this limit is only possible with a significant increase in the rate of vaccination of the population.

Thus, at 15 months following the onset of the COVID-19 pandemic, the herd immunity of the Belar-

ussian population amounted to 38.4% (95% CI 37.6–45.4). Statistically significant differences between regions of the Republic were not noted, with the exception of a lower proportion of seropositive persons in the Minsk Region ($p < 0.0001$).

When assessing the age distribution of Nc seroprevalence (Abs to SARS-CoV-2 Nc), a significantly higher proportion of seropositive persons was noted among the older generation (50–70+ years). Further, low levels were found among younger volunteers (1–39 years old).

There was a statistically significant inverse relationship between morbidity and seroprevalence ($r = 0.61$; $p < 0.05$). The highest seroprevalence was observed in transportation workers (47.0% [95% CI 41.6–52.5]), and the lowest was noted in business (32.0% [95% CI 28.1–36.2]). The relatively high number of convalescents, 4,056 (31.4% [95% CI 30.6–32.2]), did not lead to a significant increase in the number of contact persons, amounting to 4,967 people (38.4% [95% CI 37.6–39.3]). A characteristic feature of Belarus is the low level of viral transmission from convalescents to healthy individuals. The base reproduction number (R_0) was 1.3, which is less than in most other countries and territories.

The Republic is characterized by a low proportion of asymptomatic forms of infection among seropositive volunteers (45.3% [95% CI 44.0–46.7]), with a statistically significant predominance of such forms among children 1–17 years old (65.0% [95% CI 61.3–68.6]). The obtained results show that the chosen tactics of combating the novel coronavirus have affected the epidemic process in certain ways, but have not led to the formation of an optimal level of herd immunity. The SARS-CoV-2 vaccination deployed in Belarus has contributed to the formation of a high level of anti-RBD immunity. However, the rate of vaccination clearly has not led to a rapid growth in herd immunity so far, which poses a threat of further COVID-19 epidemic growth.

Acknowledgments

The authors are grateful to the staff of the St. Petersburg Pasteur Institute for their help in studying the biological material for this article: M.S. Voshchev, E.S. Glazkov, A.R. Danilchenko, and also E.S. Ramsay for valuable help (translation, editing) in preparing the text of the article.

Funding

The work was financed from the state budgets of Belarus and Russia.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflicts of interest.

References

1. В Беларуси зарегистрирован завозной случай коронавируса. Министерство здравоохранения Республики Беларусь. [An imported case of coronavirus has been registered in Belarus. Ministry of Health of the Republic of Belarus (*In Russ.*)] URL: <http://minzdrav.gov.by/ru/sobytiya/v-belarusi-zaregistririvan-zavoznoy-sluchay-koronavirusa> (10.08.2021)
2. Калькулятор значимых различий (z-test). Исследовательская компания RADAR. [Significant Difference Calculator (z-test). RADAR research company. (*In Russ.*)] URL: https://radar-research.ru/software/z-test_calculator (07.10.2021)
3. Коронавирус-монитор: интерактивная карта распространения и статистика COVID-19. [Coronavirus monitor: interactive map of distribution and statistics of COVID-19 (*In Russ.*)] URL: <https://coronavirus-monitor.info> (10.08.2021)
4. Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Смирнов В.С. Особенности патогенеза и течения COVID-19 у лиц пожилого и старческого возраста // Успехи геронтологии. 2020. Т. 33, № 6. С. 1032–1042. [Kuznik B.I., Khavinson V.K., Smirnov V.S. Features of pathogenesis and COVID-19 course for the elderly and old age. *Uspekhi gerontologii = Advances in Gerontology*, 2020, vol. 33, no. 6, pp. 1032–1042. (*In Russ.*)] doi: 10.34922/AE.2020.33.6.003
5. Население Беларуси. Countrymeters. [Population of Belarus. Countrymeters (*In Russ.*)] URL: <https://countrymeters.info/ru/Belarus> (10.08.2021)
6. Попова А.Ю., Андреева Е.Е., Бабура Е.А., Балахонов С.В., Башкетова Н.С., Бугоркова С.А., Буланов М.В., Валеуллина Н.Н., Горяев Д.В., Детковская Н.Н., Ежлова Е.Б., Зайцева Н.Н., Историк О.А., Ковальчук И.В., Козловских Д.Н., Комбарова С.Ю., Курганова О.П., Ломовцев А.Э., Лукичева Л.А., Лялина Л.В., Мельникова А.А., Микаилова О.М., Носков А.К., Носкова Л.Н., Оглезнева Е.Е., Осмоловская Т.П., Пяташина М.А., Пеньковская Н.А., Самойлова Л.В., Смирнов В.С., Степанова Т.Ф., Троценко О.Е., Тотолян А.А. Особенности серопревалентности к нуклеокапсиду SARS-CoV-2 у детей в период эпидемии COVID-19 2020 года // Педиатрия. 2021. Т. 100, № 3. С. 97–106. [Popova A.Yu., Andreeva E.E., Babura E.A., Balakhonov S.V., Bashketova N.S., Bugorkova S.A., Bulanov M.V., Valeullina N.N., Goryaev D.V., Detkovskaya N.N., Ezhlova E.B., Zaitseva N.N., Istorik O.A., Koval'chuk I.V., Kozlovskikh D.N., Kombarova S.Yu., Kurganova O.P., Lomovtsev A.E., Lukicheva L.A., Lyalina L.V., Mel'nikova A.A., Mikailova O.M., Noskov A.K., Noskova L.N., Oglezneva E.E., Osmolovskaya T.P., Patyashina M.A., Pen'kovskaya N.A., Samoilo L.V., Smirnov V.S., Stepanova T.F., Trotsenko O.E., Totolian A.A. Peculiarities of SARS-CoV-2 nucleocapsid in children during the COVID-19 epidemic of 2020. *Pediatrya = Pediatrics*, 2021, vol. 100, no. 3, pp. 97–106. (*In Russ.*)] doi: 10.24110/0031-403X-2021-100-3-97-106
7. Попова А.Ю., Андреева Е.Е., Бабура Е.А., Балахонов С.В., Башкетова Н.С., Буланов М.В., Валеуллина Н.Н., Горяев Д.В., Детковская Н.Н., Ежлова Е.Б., Зайцева Н.Н., Историк О.А., Ковальчук И.В., Козловских Д.Н., Комбарова С.Ю., Курганова О.П., Кутырев В.В., Ломовцев А.Э., Лукичева Л.А., Лялина Л.В., Мельникова А.А., Микаилова О.М., Носков А.К., Носкова Л.Н., Оглезнева Е.Е., Осмоловская Т.П., Пяташина М.А., Пеньковская Н.А., Самойлова Л.В., Смирнов В.С., Степанова Т.Ф., Троценко О.Е., Тотолян А.А. Особенности формирования серопревалентности населения Российской Федерации к нуклеокапсиду SARS-CoV-2 в первую волну эпидемии COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 2. С. 297–323. [Popova A.Yu., Andreeva E.E., Babura E.A., Balakhonov S.V., Bashketova N.S., Bulanov M.V., Valeullina N.N., Goryaev D.V., Detkovskaya N.N., Ezhlova E.B., Zaitseva N.N., Istorik O.A., Kovalchuk I.V., Kozlovskikh D.N., Kombarova S.Yu., Kurganova O.P., Kutyrev V.V., Lomovtsev A.E., Lukicheva L.A., Lyalina L.V., Melnikova A.A., Mikailova O.M., Noskov A.K., Noskova L.N., Oglezneva E.E., Osmolovskaya T.P., Patyashina M.A., Penkovskaya N.A., Samoilo L.V., Smirnov V.S., Stepanova T.F., Trotsenko O.E., Totolian A.A. Features of developing SARS-CoV-2 nucleocapsid protein population-based seroprevalence during the first wave of the COVID-19 epidemic in the Russian Federation. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 2, pp. 297–323. (*In Russ.*)] doi: 10.15789/2220-7619-FOD-1684
8. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Андреева Е.Е., Комбарова С.Ю., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Алешкин А.В., Кобзева Ю.В., Игнатова Е.Н., Осадчая М.Н., Назаренко Е.В., Антипова Л.Н., Басов А.А., Затевалов А.М., Новикова Л.И., Бочкарева С.С., Лиханская Е.Т., Ломоносова В.И., Тотолян А.А. Коллективный иммунитет к SARS-CoV-2 жителей Москвы в эпидемический период COVID-19 // Инфекционные болезни. 2020. Т. 18, № 1. С. 8–16. [Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Andreeva E.E., Kombarova S.Yu., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Aleshkin A.V., Kobzeva Yu.V., Ignatova E.N., Osadchaia M.N., Nazarenko E.V., Antipova L.N., Basov A.A., Zatevalov A.M., Novikova L.I., Bockhareva S.S., Likhanskaia E.T., Lomonosova V.I., Totolian A.A. SARS-CoV-2 herd immunity in Moscow citizens during COVID-19 epidemic period. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 8–16. (*In Russ.*)] doi: 10.20953/1729-9225-2020-4-8-16
9. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Балахонов С.В., Чеснокова М.В., Дубровина В.И., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Трухина А.Г., Пережогин А.Н., Пятидесятникова А.Б., Брюхова Д.Д., Киселева Н.О., Гефан Н.Г., Гаврилова О.В., Гаврилова Т.А., Ломоносова В.И., Тотолян А.А. Опыт исследования серопревалентности к вирусу SARS-CoV-2 населения Иркутской области в период вспышки COVID-19 // Проблемы особо опасных инфекций. 2020. № 3. С. 106–113. [Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Balakhonov S.V., Chesnokova M.V., Dubrovina V.I., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Trukhina A.G., Perezhogin A.N., Pyatidesyatnikova A.B., Bryukhova D.D., Kiseleva N.O., Gefan N.G., Gavrilova O.V., Gavrilova T.A., Lomonosova V.I., Totolian A.A. Experience in studying seroprevalence to SARS-CoV-2 virus in the population of the Irkutsk Region during COVID-19 outbreak. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2020, no. 3, pp. 106–113. (*In Russ.*)] doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-106-113
10. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Башкетова Н.С., Фридман Р.К., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Чхинджерия И.Г., Гречанинова Т.А., Агапов К.А., Арсентьева Н.А., Баженова Н.А., Бацунов О.К., Данилова Е.М., Зуева Е.В., Комкова Д.В., Кузнецова Р.Н., Любимова Н.Е., Маркова А.Н., Хамитова И.В., Ломоносова В.И., Ветров В.В., Миличкина А.М., Дедков В.Г., Тотолян А.А. Популяционный иммунитет к SARS-CoV-2 среди населения Санкт-Петербурга в период эпидемии COVID-19 // Проблемы особо опасных инфекций. 2020. Т. 3. С. 124–130. [Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Bashketova N.S., Fridman R.K., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Chkhindzheriya I.G., Grechaninova T.A., Agapov K.A., Arsent'eva N.A., Bazhenova N.A., Batsunov O.K., Danilova E.M., Zueva E.V., Komkova D.V., Kuznetsova R.N., Lyubimova N.E., Markova A.N., Hamitova I.V., Lomonosova V.I., Vetrov V.V., Milichkina A.M., Dedkov V.G., Totolian A.A. Population immunity to SARS-CoV-2 among the population of Saint-Petersburg during the COVID-19 epidemic. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2020, T. 3, pp. 124–130. (*In Russ.*)] doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-124-130

- Agapov K.A., Arsent'eva N.A., Bazhenova N.A., Batsunov O.K., Danilova E.M., Zueva E.V., Komkova D.V., Kuznetsova R.N., Lyubimova N.E., Markova A.N., Khamitova I.V., Lomonosova V.I., Vetrov V.V., Milichkina A.M., Dedkov V.G., Totolian A.A. Herd immunity to SARS-CoV-2 among the population in Saint-Petersburg during the COVID-19 epidemic. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2020, vol. 3, pp. 124–130. (In Russ.) doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-124-130
11. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Историк О.А., Мосевич О.С., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Черный М.А., Балабышева Н.С., Логинова И.С., Владимиров О.С., Самоглядова И.С., Васев Н.А., Румянцева С.В., Чупалова Е.Ю., Селиванова Г.В., Муравьева М.В., Тимофеева Л.В., Ханкишиева Э.Н., Тылчевская В.Д., Никитенко Н.Д., Костеницкая Т.И., Виркунен Н.В., Климкина И.М., Кузьмина Т.М., Дегтяренко Н.В., Базунова А.И., Филиппова Л.А., Пальчикова Н.А., Кукшкин А.В., Арсентьева Н.А., Бацунов О.К., Богумильчик Е.А., Воскресенская Е.А., Дробышевская В.Г., Зуева Е.В., Кокорина Г.И., Курова Н.Н., Любимова Н.Е., Ферман Р.С., Хамдулаева Г.Н., Хамитова И.В., Хорькова Е.В., Миличкина А.М., Дедков В.Г., Тотолян А.А. Оценка популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 среди населения Ленинградской области в период эпидемии COVID-19 // Проблемы особо опасных инфекций. 2020. № 3. С. 114–123. [Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Istorik O.A., Mosevich O.S., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Cherny M.A., Balabyshva N.S., Loginova I.S., Vladimirova O.S., Samoglyadova I.S., Vasev N.A., Rumyantseva S.V., Chupalova E.Yu., Selivanova G.V., Muraviova M.V., Timofeeva L.V., Khankishieva E.N., Tylchevskaya V.D., Nikitenko N.D., Kostenskaya T.I., Virkunen N.V., Klimkina I.M., Kuzmina T.M., Degtyarenko N.V., Bazunova A.I., Filippova L.A., Palchikova N.A., Kukshkin A.V., Arsentieva N.A., Batsunov O.K., Bogumilchik E.A., Voskresenskaya E.A., Drobyshevskaya V.G., Zueva E.V., Kokorina G.I., Kurova N.N., Lyubimova N.E., Ferman R.S., Khamdulaeva G.N., Khamitova I.V., Khorkova E.V., Milichkina A.M., Dedkov V.G., Totolian A.A. Assessment of the herd immunity to SARS-CoV-2 among the population of the Leningrad Region during the COVID-19 epidemic. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2020, no. 3, pp. 114–123. (In Russ.) doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-114-123
 - 12. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Микаилова О.М., Комбарова С.Ю., Костина М.А., Алешкин А.В., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Гвазава К.Р., Козлов А.В., Чапов Е.В., Сычев Д.А., Хаттатова Н.В., Басов А.А., Затевалов А.М., Новикова Л.И., Бочкарева С.С., Лиханская Е.И., Шарова А.А., Ломоносова В.И., Тотолян А.А. Структура серопревалентности к вирусу SARS-CoV-2 среди жителей Московской области в период эпидемической заболеваемости COVID-19 // Инфекционные болезни. 2020. Т. 18, № 4. С. 17–26. [Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Mikailova O.M., Kombarova S.Yu., Kostina M.A., Aleshkin A.V., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Gvazava K.R., Kozlov A.V., Chapov E.V., Sychev D.A., Khattatova N.V., Basov A.A., Zatevalov A.M., Novikova L.I., Bochkareva S.S., Likhanskaya E.I., Sharova A.A., Lomonosova V.I., Totolian A.A. Characteristics of SARS-CoV-2 virus seroprevalence in population of Moscow Region during COVID-19 epidemic. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases*, 2020, vol. 18, no. 4, pp. 17–26. (In Russ.) doi: 10.20953/1729-9225-2020-4-17-26
 - 13. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Смирнов В.С., Лялина Л.В., Козловских Д.Н., Лучинина С.В., Романов С.В., Валеуллина Н.Н., Диконская О.В., Чиркова Г.Г., Малых О.Л., Пономарева А.В., Чистякова И.В., Киячина А.С., Юровских А.И., Котова А.А., Тотолян А.А. Особенности серопревалентности к SARS-CoV-2 населения Среднего и Южного Урала в ранний период пандемии COVID-19 // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2021. Т. 20, № 3. С. 8–18. [Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Smirnov V.S., Lyalina L.V., Kozlovskikh D.N., Luchinina S.V., Romanov S.V., Valeullina N.N., Dikonskaya O.V., Chirkova G.G., Malykh O.L., Ponomareva A.V., Chistyakova I.V., Kilyachina A.S., Yurovskikh A.I., Kotova A.A., Totolian A.A. Peculiarities of seroprevalence to SARS-CoV-2 in the population of the Middle and Southern Urals during the early period of the COVID-19 pandemic. *Epidemiologiya i vaksino-profilaktika = Epidemiology and Vaccine Prevention*, 2021, vol. 20, no. 3, pp. 8–18. (In Russ.) doi: 10.31631/2073-3046-2021-20-3-8-18
 - 14. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Троценко О.Е., Зайцева Т.А., Лялина Л.В., Гарбуз Ю.А., Смирнов В.С., Ломоносова В.И., Балахонцева Л.А., Котова В.О., Базыкина Е.А., Бутакова Л.В., Сапега Е.Ю., Алейникова Н.В., Бебенина Л.А., Лосева С.М., Каравянская Т.Н., Тотолян А.А. Уровень серопревалентности к SARS-CoV-2 среди жителей Хабаровского края на фоне эпидемии COVID-19 // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2021. Т. 98, № 1. С. 7–17. [Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Trotsenko O.E., Zaitseva T.A., Lyalina L.V., Garbuz Yu.A., Smirnov V.S., Lomonosova V.I., Balakhontseva L.A., Kotova V.O., Bazykina E.A., Butakova L.V., Sapega E.Yu., Aleinikova N.V., Bebenina L.A., Loseva S.M., Karavyanskaya T.N., Totolian A.A. The seroprevalence of SARS-CoV-2 among residents of the Khabarovsk Krai during the COVID-19 epidemic. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2021, vol. 98, no. 1, pp. 7–17. (In Russ.) doi: 10.36233/0372-9311-92
 - 15. Попова А.Ю., Тотолян А.А. Методология оценки популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 в условиях пандемии COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 4. С. 609–616. [Popova A.Yu., Totolian A.A. Methodology for assessing herd immunity to the SARS-CoV-2 virus in the context of the COVID-19 pandemic. *Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet*, 2021, vol. 11, no. 4, pp. 609–616. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-MFA-1770
 - 16. Расчет необходимой численности выборки. В кн.: Батракова Л.Г. Теория статистики. [Calculation of the required sample size. In: Batrakova L.G. Statistics theory (In Russ.)] URL: https://bstudy.net/672834/sotsiologiya/raschet_neobhodimoy_chislennosti_vyborki Accessed (07.15.2021)
 - 17. Adamik B., Bawiec M., Bezborodov V., Bock W., Bodych M., Burgard J. P., Götz T., Krueger T., Migalska A., Pabjan B., Ożański T., Rafajłowicz E., Rafajłowicz W., Skubalska-Rafajłowicz E., Ryfczyńska S., Szczurek E., Szymański P. Mitigation and herd immunity strategy for COVID-19 is likely to fail. *medRxiv*, 2020, preprint no. 20043109. doi: 10.1101/2020.03.25.20043109
 - 18. Agresti A., Coull B.A. Approximate is better than “exact” for interval estimation of binomial proportions. *Am. Stat.*, 1998, vol. 52, no. 2, pp. 119–126. doi: 10.2307/2685469
 - 19. Akinbami L.J., Vuong N., Petersen L.R., Sami S., Patel A., Lukacs S.L., Mackey L., Grohskopf L.A., Shehu A., Atas J. SARS-CoV-2 seroprevalence among healthcare, first response, and public safety personnel, Detroit Metropolitan Area, Michigan, USA, May–June 2020. *Emerg. Infect. Dis.*, 2020, vol. 26, no. 12, pp. 2863–2871. doi: 10.3201/eid2612.203764

20. Åslund A. Responses to the COVID-19 crisis in Russia, Ukraine, and Belarus. *Eurasian Geogr. Econ.*, 2020, pp. 1–14. doi: 10.1080/15387216.2020.1778499
21. Baker M.G., Peckham T.K., Seixas N.S. Estimating the burden of United States workers exposed to infection or disease: a key factor in containing risk of COVID-19 infection. *PLoS One*, 2020, vol. 15, no. 4: e0232452. doi: 10.1371/journal.pone.0232452
22. Baril-Tremblay D., Marlats C., Ménager L. Self-isolation. *J. Math. Econ.*, 2021, vol. 93: 102483. doi: 10.1016/j.jmateco.2021.102483
23. Britton T., Ball F., Trapman P. A mathematical model reveals the influence of population heterogeneity on herd immunity to SARS-CoV-2. *Science*, 2020, vol. 369, no. 6505, pp. 846–849. doi: 10.1126/science.abc6810
24. Chung S.-C., Marlow S., Tobias N., Algona A., Algona I., You S.-L., Khunti K., McKee M., Michie S., Pillay D. Lessons from countries implementing find, test, trace, isolation and support policies in the rapid response of the COVID-19 pandemic: a systematic review. *BMJ Open*, 2021, vol. 11, no. 7: e047832. doi: 10.1136/bmjopen-2020-047832
25. Escandón K., Rasmussen A.L., Bogoch I.I., Murray E.J., Escandón K., Popescu S.V., Kindrachuk J. COVID-19 false dichotomies and a comprehensive review of the evidence regarding public health, COVID-19 symptomatology, SARS-CoV-2 transmission, mask wearing, and reinfection. *BMC Infect. Dis.*, 2020, vol. 121: 710. doi: 10.1186/s12879-021-06357-4
26. Farooq A., Laato S., Islam A.K.M.N. Impact of online information on self-isolation intention during the COVID-19 pandemic: cross-sectional study. *J. Med. Internet Res.*, 2020, vol. 22, no. 5: 19128. doi: 10.2196/19128
27. Galanis P., Vraka I., Fragkou D., Bilali A., Kaitelidou D. Seroprevalence of SARS-CoV-2 antibodies and associated factors in healthcare workers: a systematic review and meta-analysis. *J. Hosp. Infect.*, 2021, vol. 108, pp. 120–134. doi: 10.1016/j.jhin.2020.11.008
28. Garnier-Crussard A., Forestier E., Gilbert T., Krolak-Salmon P. Novel Coronavirus (COVID-19) epidemic: what are the risks for older patients? *J. Am. Geriatr. Soc.*, 2020, vol. 68, no. 5, pp. 939–940. doi: 10.1111/jgs.16407
29. Grover N. Delta variant renders herd immunity from Covid ‘mythical’. *The Guardian*. 2021. August, 10. URL: <https://www.theguardian.com/world/2021/aug/10/delta-variant-renders-herd-immunity-from-covid-mythical> (15.08.2021)
30. Harris O.O., Leblanc N., McGee K., Randolph S., Wharton M.J., Relf M. Alarm at the gate-health and social inequalities are comorbid conditions of HIV and COVID-19. *J. Assoc. Nurses AIDS Care*, 2020, vol. 31, no. 4, pp. 367–375. doi: 10.1097/JNC.000000000000190
31. Hippich M., Holthaus L., Assfalg R., Zapardiel-Gonzalo J., Kapfelsperger H., Heigermoser M., Haupt F., Ewald D.A., Welzhofer T.C., Marcus B.A., Heck S., Koelln A., Stock J., Voss F., Secchi M., Piemonti L., de la Rosa K., Protzer U., Boehmer M., Achenbach P., Lampasona V., Bonifacio E., Ziegler A.G. A public health antibody screening indicates a 6-fold higher SARS-CoV-2 exposure rate than reported cases in children. *Med. (N Y)*, 2021, vol. 2, no. 2, pp. 149–163.e4. doi: 10.1016/j.medj.2020.10.003
32. Ikegami S., Siddiquey M.N.A., Hung C.-T., Haas G., Brambilla L., Oguntuyo K.Y., Kowdle S.S., Vilardo A.E., Edelstein A., Perandones C., Kamil J.P., Lee B. Neutralizing activity of Sputnik V vaccine sera against SARS-CoV-2 variants Version 3. *medRxiv*, 2021, preprint no. 21254660. doi: 10.1101/2021.03.31.21254660
33. Korth J., Wilde B., Dolff S., Frisch J., Jahn M., Krawczyk A., Trilling M., Schipper L., Cordes S., Ross B., Lindemann M., Kribben A., Dittmer U., Witzke O., Herrmann A., Anastasiou O.E. SARS-CoV-2 seroprevalence in healthcare workers in germany: a follow-up study. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2021, vol. 18, no. 9, p. 4540. doi: 10.3390/ijerph18094540
34. Landi F., Barillaro C., Bellieni A., Brandi V., Carfi A., D’Angelo M., Fusco D., Landi G., Lo Monaco R., Martone A.M., Marzetti E., Pagano F., Pais C., Russo A., Salini S., Tosato M., Tummo A., Benvenuto F., Bramato G., Catalano L., Ciciarello F., Martis I., Rocchi S., Rota E., Salerno A., Tritto M., Sgadari A., Zuccalà G., Bernabei R. The new challenge of geriatrics: saving frail older people from the SARS-CoV-2 pandemic infection. *J. Nutr. Health Aging*, 2020, vol. 24, pp. 466–470. doi: 10.1007/s12603-020-1356-x
35. Logunov D.Y., Dolzhikova I.V., Zubkova O.V., Tukhvatulin A.I., Shcheplyakov D.V., Dzharullaeva A.S., Grousova D.M., Erokhova A.S., Kovyrshina A.V., Botikov A.G., Izhaeva F.M., Popova O., Ozharovskaya T.A., Ismagambetov B., Favorskaya I.A., Zrelkin D.I., Voronina D.V., Shcherbinin D.N., Semikhin A.S., Simakova Y.V., Tokarskaya E.A., Lubenets N.L., Egorova D.A., Shmarov M.M., Nikitenko N.A., Morozova L.F., Smolyarchuk E.A., Kryukov E.V., Babira V.F., Borisevich S.V., Naroditsky B.S., Gintsburg A.L. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. *Lancet*, 2020, vol. 396, no. 10255, pp. 887–897. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31866-3
36. Long Q.-X., Tang X.-J., Shi Q.-L., Li Q., Deng H.-J., Yuan J., Hu J.-L., Xu W., Zhang Y., Lv F.-J., Su K., Zhang F., Gong J., Wu B., Liu X.-M., Li J.-J., Qiu J.-F., Chen J., Huang A.-L. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat. Med.*, 2020, vol. 26, pp. 1200–1204. doi: 10.1038/s41591-020-0965-6
37. Ma M.L., Shi D.W., Li Y., Hong W., Lai D.Y., Xue J.B., Jiang H.W., Zhang H.N., Qi H., Meng Q.F., Guo S.J., Xia D.J., Hu J.J., Liu S., Li H.Y., Zhou J., Wang W., Yang X., Fan X.L., Lei Q., Chen W.J., Li C.S., Yang X.M., Xu S.H., Wei H.P., Tao S.C. Systematic profiling of SARS-CoV-2-specific IgG responses elicited by an inactivated virus vaccine identifies peptides and proteins for predicting vaccination efficacy. *Cell Discov.*, 2021, vol. 7, no. 1: 67. doi: 10.1038/s41421-021-00309-7
38. Napolitano F., Di Giuseppe G., Montemurro M.V., Molinari A.M., Donnarumma G., Arnese A., Pavia M., Angelillo I.F. Seroprevalence of SARS-CoV-2 antibodies in adults and healthcare workers in Southern Italy. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2021, vol. 18, no. 9: 4761. doi: 10.3390/ijerph18094761
39. Nemira A., Adeniyi A.E., Gasich E.L., Bulda K.Y., Valentovich L.N., Krasko A.G., Glebova O., Kirpich A., Skums P. SARS-CoV-2 transmission dynamics in Belarus revealed by genomic and incidence data analysis. *medRxiv*, 2021, preprint no. 21255404. doi: 10.1101/2021.04.13.21255404
40. Nguyen L.H., Drew D.A., Graham M.S., Joshi A.D., Guo C.-G., Ma W., Mehta R.S., Warner E.T., Sikavi D.R., Lo C.-H., Kwon S., Song M., Mucci L.A., Stampfer M.J., Willett W.C., Eliassen A.H., Hart J.E., Chavarro J.E., Rich-Edwards J.W., Davies R., Capdevila J., Lee K.A., Lochlainn M.N., Varsavsky T., Sudre C.H., Cardoso M.J., Wolf J., Spector T.D., Ourselin S., Steves C.J., Chan A.T., on behalf of the Coronavirus Pandemic Epidemiology Consortium. Risk of COVID-19 among front-line

- health-care workers and the general community: a prospective cohort study. *Lancet Public Health*, 2020, vol. 5, no. 9, pp. e475–e483. doi: 10.1016/S2468-2667(20)30164-X
41. Popova A.Y., Smirnov V.S., Andreeva E.E., Babura E.A., Balakhonov S.V., Bashketova N.S., Bugorkova S.A., Bulanov M.V., Valeullina N.N., Vetrov V.V., Goryaev D.V., Detkovskaya T.N., Ezhlova E.B., Zaitseva N.N., Istorik O.A., Kovalchuk I.V., Kozlovskikh D.N., Kombarova S.Y., Kurganova O.P., Lomovtsev A.E., Lukicheva L.A., Lyalina L.V., Melnikova A.A., Mikailova O.M., Noskov A.K., Noskova L.N., Oglezneva E.E., Osmolovskaya T.P., Patyashina M.A., Penkovskaya N.A., Samoilova L.V., Stepanova T.F., Trotsenko O.E., Totolian A.A. SARS-CoV-2 seroprevalence structure of the Russian population during the COVID-19 pandemic. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 8: 1648. doi: 10.3390/v13081648
 42. Randolph H.E., Barreiro L. B Herd immunity: understanding COVID-19. *Immunity*, 2020, vol. 52, no. 5, pp. 737–741. doi: 10.1016/j.immuni.2020.04.012
 43. Rostami A., Sepidarkish M., Leeflang M.M.G., Riahi S.M., Shiadeh M.N., Esfandyari S., Mokdad A.H., Hotez P.J., Gasser R.B. SARS-CoV-2 seroprevalence worldwide: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2020, vol. 27, no. 3, pp. 331–340. doi: 10.1016/j.cmi.2020.10.020
 44. Saad-Roy C.M., Levin S.A., Metcalf C.J.E., Grenfell B.T. Trajectory of individual immunity and vaccination required for SARS-CoV-2 community immunity: a conceptual investigation. *J. R. Soc. Interface.*, 2021, vol. 18, no. 175: 20200683. doi: 10.1098/rsif.2020.0683
 45. Siebach M.K., Piedimonte G., Ley S.H. COVID-19 in childhood: transmission, clinical presentation, complications and risk factors. *Pediatr. Pulmonol.*, 2021, vol. 56, no. 6, pp. 1342–1356. doi: 10.1002/ppul.25344
 46. Siff E.J., Aghagholi G., Gallo Marin B., Tobin-Tyler E., Poitevien P. SARS-CoV-2 transmission: a sociological review. *Epidemiol. Infect.*, 2020, vol. 148: e242. doi: 10.1017/S095026882000240X
 47. Smith M., Abdesselem H.B., Mullins M., Tan T.-M., Nel A.J.M., Al-Nesf M.A.Y., Bensmail I., Majbour N.K., Vaikath N.N., Naik A., Ouarrarhni K., Mohamed-Ali V., Al-Maadheed M., Schell D.T., Baros-Steyl S.S., Anuar N.D., Ismail N.H., Morris P.E., Mamat R.N.R., Rosli N.S.M., Anwar A., Ellan K., Zain R.M., Burgers W.A., Maine E.S., El-Agnaf O.M.A., Blackburn J.M. Age, disease severity and ethnicity influence humoral responses in a multi-ethnic COVID-19 cohort. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 5: 786. doi: 10.3390/v13050786
 48. Varona J.F., Madurga R., Peñalver F., Abarca E., Almirall C., Cruz M., Ramos E., Vázquez J.M.C. Seroprevalence of SARS-CoV-2 antibodies in over 6000 healthcare workers in Spain. *Int. J. Epidemiol.*, 2021, vol. 50, no. 2, pp. 400–409. doi: 10.1093/ije/dyaa277
 49. Wald A., Wolfowitz J. Confidence limits for continuous distribution functions. *Ann. Math. Stat.*, 1939, vol. 10, no. 2, pp. 105–118.
 50. Wang H., Zhang Y., Huang B., Deng W., Quan Y., Wang W., Xu W., Zhao Y., Li N., Zhang J., Liang H., Bao L., Xu Y., Ding L., Zhou W., Gao H., Liu J., Niu P., Zhao L., Zhen W., Fu H., Yu S., Zhang Z., Xu G., Li C., Lou Z., Xu M., Qin C., Wu G., Gao G.F., Tan W., Yang X. Development of an inactivated vaccine candidate, BBIBP-CorV, with potent protection against SARS-CoV-2. *Cell*, 2020, vol. 182, no. 3, pp. 713–721.e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.06.008
 51. WHO. COVID-19 Technical mission of experts to the Republic of Belarus: 8–11 April 2020. Executive summary. URL: <https://www.euro.who.int/en/countries/belarus/publications/covid-19-technical-mission-of-experts-to-the-republic-of-belarus-811-april-2020-executive-summary> (10.08.2021)
 52. WHO. Protocol for a population-based age-stratified sero-epidemiological study of COVID-19 infection in humans. Version 2.0. 2020. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332188/WHO-2019CoV-Seroepidemiology-2020.2-rus.pdf> (18.03.2021)
 53. Wu F., Wang A., Liu M., Wang Q., Chen J., Xia S., Yun Ling, Zhang Y., Xun J., Lu L., Jiang S., Lu H., Wen Y., Huang J. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications. *medRxiv*, 2020, preprint no. 20047365. doi: 10.1101/2020.03.30.20047365
 54. Xia S., Zhang Y., Wang Y., Wang H., Yang Y., Gao G.F., Tan W., Wu G., Xu M., Lou Z., Huang W., Xu W., Huang B., Wang H., Wang W., Zhang W., Li N., Xie Z., Ding L., You W., Zhao Y., Yang X., Liu Y., Wang Q., Huang L., Yang Y., Xu G., Luo B., Wang W., Liu P., Guo W., Yang X. Safety and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine, BBIBP-CorV: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 trial. *Lancet Infect. Dis.*, 2021, vol. 21, no. 1, pp. 39–51. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30831-8
 55. Yang H.S., Costa V., Racine-Brzostek S.E., Acker K.P., Yee J., Chen Z., Karbaschi M., Zuk R., Rand S., Sukhu A., Klasse P.J., Cushing M.M., Chadburn A., Zhao Z. Association of age with SARS-CoV-2 antibody response. *JAMA Netw. Open*, 2021, vol. 4, no. 3: e214302. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.4302
 56. Zhang X., Sun S., Xiang Y., Wong J., Klose T., Raoult D., Rossmanna M.G. Structure of Sputnik, a virophage, at 3.5-Å resolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012, vol. 109, no. 45, pp. 18431–18436. doi: 10.1073/pnas.1211702109

Авторы:

Попова А.Ю., д.м.н., профессор, руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия;

Тарасенко А.А., зам. министра здравоохранения и главный государственный санитарный врач Республики Беларусь, Министерство здравоохранения Республики Беларусь, г. Минск, Беларусь;

Смоленский В.Ю., к.м.н., зам. руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия;

Егорова С.А., д.м.н., зам. директора по инновациям ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Смирнов В.С., д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Дашкевич А.М., зав. отделом эпидемиологии ГУ Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Минск, Беларусь;

Светогор Т.Н., врач-эпидемиолог отделения надзора за организациями здравоохранения отдела эпидемиологии, ГУ Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Минск, Беларусь;

Глинская И.Н., к.м.н., зам. главного врача по эпидемиологии ГУ Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Минск, Беларусь;

Скуранович А.Л., главный врач ГУ Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Минск, Беларусь;

Миличкина А.М., к.м.н., главный врач медицинского центра ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Дронина А.М., зам. директора по научной работе Республиканского научно-практического центра эпидемиологии и микробиологии, г. Минск, Беларусь;

Самойлович Э.О., д.м.н., профессор, зав. лабораторией вакциноуправляемых инфекций ГУ Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, г. Минск, Беларусь;

Хамитова И.В., к.б.н., зав. центральной клинико-диагностической лабораторией ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Семейко Г.В., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории вакциноуправляемых инфекций Республиканского научно-практического центра эпидемиологии и микробиологии, г. Минск, Беларусь;

Амвросьева Т.В., д.м.н., профессор, зав. лабораторией инфекций с природным резервуаром Республиканского научно-практического центра эпидемиологии и микробиологии, г. Минск, Беларусь;

Шмелева Н.П., к.м.н., зав. лабораторией гриппа и гриппоподобных заболеваний Республиканского научно-практического центра эпидемиологии и микробиологии, г. Минск, Беларусь;

Рубаник Л.В., к.б.н., зав. лабораторией диагностики сочетанных бактериально-вирусных инфекций Республиканского научно-практического центра эпидемиологии и микробиологии, г. Минск, Беларусь;

Есманчик О.П., главный врач городской поликлиники № 39, г. Минск, Беларусь;

Карабан И.А., начальник отдела гигиены, эпидемиологии и профилактики Министерства здравоохранения, г. Минск, Беларусь;

Дробышевская В.Г., врач клинической лабораторной диагностики ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Садовникова Г.В., зам. главного врача ГУ Брестский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Брест, Беларусь;

Шилович М.В., зав. отделом эпидемиологии ГУ Брестский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Брест, Беларусь;

Authors:

Popova A.Yu., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation;

Tarasenko A.A., Deputy Minister and Chief State Sanitary Doctor of the Republic of Belarus, Ministry of Health of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus;

Smolenskiy V.Yu., PhD (Medicine), Deputy Head of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation;

Egorova S.A., PhD, MD (Medicine), Deputy Director for Innovation, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Smirnov V.S., PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Dashkevich A.M., Head of the Department of Epidemiology, Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Belarus;

Svetogor T.N., Epidemiologist, Supervision of Healthcare Organizations Division, Department of Epidemiology, Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Belarus;

Glinskaya I.N., PhD (Medicine), Deputy Head Physician for Epidemiology, Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Belarus;

Skuranovich A.L., Head Physician of the Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Belarus;

Milichkina A.M., PhD (Medicine), Head Physician of the Medical Center of St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Dronina A.M., Deputy Director for Academic Affairs, Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus;

Samoilovich E.O., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Vaccine-Preventable Infections, Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus;

Khamitova I.V., PhD (Biology), Head of the Central Clinical Diagnostic Laboratory, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Semeiko G.V., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Vaccine Controlled Infections, Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus;

Amvrosyeva T.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Infections with a Natural Reservoir, Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus;

Shmeleva N.P., PhD (Medicine), Head of the Influenza and Influenza-Like Diseases Laboratory, Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus;

Rubanik L.V., PhD (Biology), Head of the Laboratory for Diagnostics of Combined Bacterial Viral Infections, Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus;

Esmanchik O.P., Head Physician of Polyclinic No. 39, Minsk, Belarus;

Karaban I.A., Head of the Hygiene, Epidemiology and Diseases Prevention Department, Ministry of Health, Minsk, Belarus;

Drobyshevskaya V.G., Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Medical Center of St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Sadovnikova G.V., Deputy Head Physician, Brest Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Brest, Belarus;

Shilovich M.V., Head of the Department of Epidemiology, Brest Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Brest, Belarus;

Podushkina E.A., Head of the Anti-Epidemic Division, Department of Epidemiology, Brest Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Brest, Belarus;

Kireichuk V.V., Epidemiologist, Immunoprophylaxis Division, Epidemiology Department, Vitebsk Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Vitebsk, Belarus;

Petrova O.A., Physician of the Central Clinical Diagnostic Laboratory, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

- Подушкина Е.А.**, зав. противоэпидемическим отделением отдела эпидемиологии ГУ Брестский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Брест, Беларусь;
- Кирейчук В.В.**, врач-эпидемиолог отделения иммунопрофилактики отдела эпидемиологии ГУ Витебский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Витебск, Беларусь;
- Петрова О.А.**, врач центральной клиничко-диагностической лаборатории, ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
- Бондаренко С.В.**, зав. противоэпидемическим отделением отдела эпидемиологии ГУ Гомельский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Гомель, Беларусь;
- Салажкова И.Ф.**, зав. отделом эпидемиологии ГУ Гомельский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Гомель, Беларусь;
- Ткач Л.М.**, зав. противоэпидемическим отделением ГУ Гродненский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Гродно, Беларусь;
- Шепелевич Л.П.**, зав. отделением особо опасных инфекций с санитарно-карантинным пунктом эпидемиологического отдела ГУ Минский городской центр гигиены и эпидемиологии, г. Минск, Беларусь;
- Автухова Н.Л.**, зам. главного врача ГУ Минский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Минск, Беларусь;
- Иванов В.М.**, системный администратор ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
- Бабилло А.С.**, врач-эпидемиолог противоэпидемического отделения эпидемиологического отдела ГУ Минский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Минск, Беларусь;
- Навышная М.В.**, врач-эпидемиолог противоэпидемического отделения эпидемиологического отдела ГУ Витебский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Витебск, Беларусь;
- Беляев Н.Н.**, старший научный сотрудник отдела новых технологий ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
- Зуева Е.В.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
- Волосарь Л.А.**, врач-эпидемиолог противоэпидемического отделения эпидемиологического отдела ГУ Минский городской центр гигиены и эпидемиологии, г. Минск, Беларусь;
- Вербов В.Н.**, к.б.н., зав. отделом новых технологий ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
- Лихачев И.В.**, младший научный отдела новых технологий ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
- Загорская Т.О.**, зав. отделением особо опасных инфекций отдела эпидемиологии ГУ Минский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Минск, Беларусь;
- Морозова Н.Ф.**, врач-эпидемиолог отделения особо опасных инфекций отдела эпидемиологии УЗ Могилевский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Могилев, Беларусь;
- Коробова З.Р.**, лаборант-исследователь лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
- Губанова А.В.**, врач клинической лабораторной диагностики центральной клиничко-диагностической лаборатории ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
- Тотолян Арег А.**, д.м.н., профессор, академик РАН, зав. лабораторией молекулярной иммунологии; директор ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.
- Bondarenko S.V.**, Head of the Anti-Epidemic Division, Epidemiology Department, Gomel Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Gomel, Belarus;
- Salazhkova I.F.**, Head of the Epidemiology Department, Gomel Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Gomel, Belarus;
- Tkach L.M.**, Head of Anti-Epidemic Department, Grodno Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Grodno, Belarus;
- Shepelevich L.P.**, Head of the Division of Especially Dangerous Infections with a Sanitary-Quarantine Point of the Epidemiological Department, Minsk City Center for Hygiene and Epidemiology, Minsk, Belarus;
- Avtukhova N.L.**, Deputy Head Physician, Minsk Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Belarus;
- Ivanov V.M.**, System Administrator, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
- Babilo A.S.**, Epidemiologist, Anti-Epidemic Division, Epidemiology Department, Minsk Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Belarus;
- Navyshnaya M.V.**, Epidemiologist, Anti-Epidemic Division, Epidemiology Department, Minsk Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Belarus;
- Belyaev N.N.**, Senior Researcher, New Technologies Department, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
- Zueva E.V.**, PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
- Volosar L.A.**, Epidemiologist, Anti-Epidemic Division, Epidemiology Department, Minsk City Center for Hygiene and Epidemiology, Minsk, Belarus;
- Verbov V.N.**, PhD (Biology), Head of the New Technologies Department, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
- Likhachev I.V.**, Junior Researcher, New Technologies Department, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
- Zagorskaya T.O.**, Head of the Division of Especially Dangerous Infections, Epidemiology Department, Minsk Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Belarus;
- Morozova N.F.**, Epidemiologist, Division of Especially Dangerous Infections, Epidemiology Department, Mogilev Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Mogilev, Belarus;
- Korobova Z.R.**, Laboratory Assistant, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
- Gubanova A.V.**, Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Central Clinical Diagnostic Laboratory, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
- Totolian Areg A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Head of the Laboratory of Molecular Immunology; Director, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

EPIDEMIOLOGICAL AND ETIOLOGICAL ASPECTS OF ENTEROVIRUS INFECTION IN RUSSIA AND VIETNAM

N.I. Romanenkova^a, L.N. Golitsyna^b, T.T.T. Nguyen^c, N.V. Ponomareva^b, A.V. Leonov^b, O.I. Kanaeva^a, V.V. Zverev^b, S.G. Selivanova^b, N.R. Rozaeva^a, M.T. Luong^d, M.A. Bichurina^a, N.A. Novikova^b

^a St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

^b Blokhina Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation

^c Institut Pasteur in Ho Chi Minh City, Ho Chi Minh City, Vietnam

^d Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center, South Branch, Ho Chi Minh City, Vietnam

Abstract. The epidemic situation and etiological factors of enterovirus infection in Russia and Vietnam were analysed and compared. The identified strains of enteroviruses of 47 types, which circulated in Russia in 2018–2019, belonged to different species: Enterovirus species A (CV-A2, CV-A4, CV-A6, CV-A8, CV-A10, CV-A16, EV-A71), as well as Enterovirus species B and Enterovirus species C. The strains isolated from 87 children from southern Vietnam hospitalised in 2018–2019 into infectious hospitals while having enterovirus infection with exanthema were also studied. All identified strains were represented by Enterovirus species A: EV-A71 — 59 strains, CV-A10 — 20 strains, CV-A16 — 5 strains, CV-A6 — two strains and CV-A2 — one strain. Out of 59 viruses EV-A71, 53 strains belonged to genotype C4 and 6 strains belonged to genotype B5. The sequences of EV-A71 strains of genotype C4 from South Vietnam formed a monophyletic cluster with the sequences of EV-A71 viruses which circulated during 2016–2018 in different provinces of China, and they were very close to EV-A71 strains of the same genotype from the Yunnan Province. These strains were genetically different from Russian viruses and Vietnamese viruses identified in the years 2003–2005 and 2011–2012. Most of the cases of enterovirus infection from southern Vietnam (78%) caused by EV-A71 virus of genotype C4 were reported in three provinces located in southern Vietnam in the Mekong Delta. The epidemic process and the etiology of enterovirus infection in Russia and Vietnam have common features. At the same time, the epidemic situation in these countries is not the same. The incidence of enterovirus infection is influenced by geographic, climatic, economic and demographic factors that differ in two countries. In the majority of territories of Russia, the climate is temperate or cold, seasonal rises in the incidence rates of enterovirus infection usually occur in the summer, when people go on vacation, spend a lot of time outdoors and swim in open reservoirs. In Vietnam, a constant high-level temperature, a high population density and a large proportion of children determine the higher incidence of enterovirus infection, especially in the southern provinces of Vietnam, compared to Russia. The fact that more than 20% of the Vietnamese population lives in the Mekong Delta, which is the largest river in Indochina, has a significant impact on the epidemic process of enterovirus infection in South Vietnam. The Mekong River which flows through China, Laos, Thailand, Cambodia and Vietnam, and carries huge streams of water, including rainstorm waters and sewages, from all of these

Адрес для переписки:

Романенкова Наталья Ивановна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 (812) 233-21-56. Факс: 8 (812) 232-92-17.
E-mail: romanenkova@pasteurorg.ru

Contacts:

Natalya I. Romanenkova
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (812) 233-21-56. Fax: +7 (812) 232-92-17.
E-mail: romanenkova@pasteurorg.ru

Для цитирования:

Романенкова Н.И., Голицына Л.Н., Нгуен Т.Т.Т., Пономарева Н.В., Леонов А.В., Канаева О.И., Зверев В.В., Селиванова С.Г., Розаева Н.Р., Люонг М.Т., Бичурина М.А., Новикова Н.А. Эпидемиологические и этиологические аспекты энтеровирусной инфекции в России и Вьетнаме // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 905–916. doi: 10.15789/2220-7619-EAE-1791

Citation:

Romanenkova N.I., Golitsyna L.N., Nguyen T.T.T., Ponomareva N.V., Leonov A.V., Kanaeva O.I., Zverev V.V., Selivanova S.G., Rozaeva N.R., Luong M.T., Bichurina M.A., Novikova N.A. Epidemiological and etiological aspects of enterovirus infection in Russia and Vietnam // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 905–916. doi: 10.15789/2220-7619-EAE-1791

countries into the southern provinces of Vietnam, which have the highest incidence rates of enterovirus infection in the country. The results of the research underline the importance of active epidemiological and virological surveillance of enterovirus infection, which plays the key role in informing the public health authorities about the changes in the epidemic situation in order to take appropriate measures and develop the prevention strategies. The goal of anti-epidemic and preventive measures is to reduce the incidence of enterovirus infection and the economic burden of this infection for Russia and Vietnam.

Key words: enterovirus infection, epidemic process, circulation, identification.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭТИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В РОССИИ И ВЬЕТНАМЕ

Романenkova Н.И.¹, Голицына Л.Н.², Нгуен Т.Т.Т.³, Пономарева Н.В.², Леонов А.В.², Канаева О.И.¹, Зверев В.В.², Селиванова С.Г.², Розаева Н.Р.¹, Лыонг М.Т.⁴, Бичурина М.А.¹, Новикова Н.А.²

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

² ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия

³ Институт Пастера в Хошимине, г. Хошимин, Вьетнам

⁴ Российско-Вьетнамский тропический научно-исследовательский и технологический центр, южное отделение, г. Хошимин, Вьетнам

Резюме. Проведены анализ и сравнение эпидемической ситуации и этиологии энтеровирусной инфекции в России и во Вьетнаме. Идентифицированные штаммы энтеровирусов 47 типов, которые циркулировали в России в 2018–2019 гг., относились к разным видам: виду Энтеровирус А (CV-A2, CV-A4, CV-A6, CV-A8, CV-A10, CV-A16, EV-A71), виду Энтеровирус В и виду Энтеровирус С. Также были изучены штаммы энтеровирусов, изолированные от 87 детей из южного Вьетнама, госпитализированных в 2018–2019 гг. в инфекционные стационары с экзантемными формами энтеровирусной инфекции. Все эти штаммы принадлежали к виду Энтеровирус А, было идентифицировано 59 штаммов EV-A71, 20 штаммов CV-A10, 5 штаммов CV-A16, два штамма CV-A6 и один штамм CV-A2. Из 59 вирусов EV-A71 53 штамма относились к генотипу С4 и 6 штаммов — к генотипу В5. Последовательности штаммов EV-A71 генотипа С4 из Южного Вьетнама сформировали монофилетический кластер с последовательностями вирусов EV-A71 генотипа С4, циркулировавшими в 2016–2018 гг. в разных провинциях Китая, особенно близки они были к штаммам того же генотипа из провинции Юньнань. Эти штаммы генетически отличались как от российских вирусов, так и от вьетнамских вирусов, идентифицированных в 2003–2005 и 2011–2012 гг. Большинство изученных случаев энтеровирусной инфекции из южного Вьетнама (78%), вызванных EV-A71 генотипа С4, было зарегистрировано в трех провинциях, расположенных на юге Вьетнама в дельте Меконга. Течение эпидемического процесса и этиология энтеровирусной инфекции в России и во Вьетнаме имеют много общего. В то же время эпидемическая ситуация в двух странах неодинаковая. На заболеваемость инфекцией влияют географические, климатические, экономические и демографические факторы, которые различаются в этих странах. На большей части территорий России климат умеренный или холодный, сезонные подъемы заболеваемости, как правило, происходят летом, в сезон отпусков, когда население активно перемещается, люди проводят много времени на свежем воздухе и купаются в открытых водоемах. Во Вьетнаме постоянный высокий температурный фон, высокая плотность населения, большой удельный вес детей обуславливают высокие показатели заболеваемости энтеровирусной инфекцией, особенно в южных провинциях. Более 20% населения Южного Вьетнама проживает в дельте реки Меконг, которая является крупнейшей рекой Индокитая и протекает по территории Китая, Лаоса, Таиланда, Камбоджи и Вьетнама, что оказывает существенное влияние на эпидемический процесс энтеровирусной инфекции. Река проносит огромные потоки воды, включая ливневые и сточные воды, из всех этих стран в южные провинции Вьетнама, где отмечаются самые высокие показатели заболеваемости в стране. Полученные результаты подчеркивают значение активного эпидемиологического и вирусологического надзора за энтеровирусной инфекцией, который играет ключевую роль в информировании управленческих структур здравоохранения о развитии эпидемической ситуации для принятия адекватных мер и разработки стратегии профилактики этой инфекции. Целью противоэпидемических и профилактических мероприятий является снижение заболеваемости энтеровирусной инфекцией и экономического ущерба, который наносит эта инфекция России и Вьетнаму.

Ключевые слова: энтеровирусная инфекция, эпидемический процесс, циркуляция, идентификация.

Introduction

Enterovirus infection is characterized by a wide diversity of clinical forms. The most severe forms of infection include enterovirus meningitis, meningoencephalitis and acute flaccid paralysis. Epidemic rises of enterovirus meningitis, caused by enteroviruses of different types such as ECHO 6, 9, 30 and Coxsackievirus B1–6, were periodically recorded in the Russian Federation, including the North-West of Russia [1, 5, 9, 13, 14, 17]. At the same time, in Russia a trend towards an increase in the proportion of enterovirus infection with exanthema [2, 3, 4, 6, 15, 16] has been fixed in recent years. The etiological factors of enterovirus infection with exanthema are most often enteroviruses, which belong to species A: EV-A71, Coxsackieviruses A6, A10 and A16 [2, 3, 4, 6, 15, 16, 19, 23].

Certain types of enteroviruses can dominate in the circulation among the population for several years, then can disappear and then emerge some years later. It should be noted that the observed changes in the structure of clinical forms of enterovirus infection are coherent with the process of changing the types and genotypes of enteroviruses prevailing in the circulation among the population. At the beginning of the 21st century, on most territories, epidemic peaks of EVI were associated with the active circulation of enteroviruses of type B, which caused diseases of enterovirus meningitis. In recent years, more active circulation of enteroviruses of type A has been observed on the territories of Russia.

In South-East Asia, the most common form of enterovirus infection is the viral exanthema of mouth and extremities (Hand, Foot and Mouth Disease — HFMD). This disease is usually mild, characterized by fever, malaise, rash on the hands and legs, rash and ulcerations of the oral mucosa. The infection can be complicated by pathology of the nervous or cardiovascular systems. Complications can lead to cognitive and motor disorders, meningitis and cordial troubles. Infection can be fatal due to pulmonary oedema or encephalitis [29, 30, 33, 39]. Lethality ranges from 0.5% to 19% [29] depending on the genotype of virus [37]. For example, in 2014, about 2.7 million cases of the disease were registered in China and 384 people died [39]. The severe clinical forms of infection and complications are connected mainly with the virus EV-A71 which can cause outbreaks and sporadic cases of HFMD [19, 38].

The first cases of HFMD complicated by encephalitis were reported in Vietnam in 2003 during an outbreak of acute encephalitis in Ho Chi Minh City, when Enterovirus EV-A71 was for the first time isolated from children by the researchers of Pasteur Institute in Ho Chi Minh City. The results of the first epidemiological and virological study of HFMD were published later [36]. In 2005, 764 children admitted to the children's hospital in Ho Chi Minh City with

symptoms of HFMD were examined by virological method. In 54% of cases, enteroviruses were detected, 42% of them were EV71, and 52% were CVA16. In 51 patients (29%) with infection associated with EV71, the disease was accompanied by severe neurological complications, and three cases were fatal [36].

The peculiarities of the circulation of various types and genotypes of enteroviruses and the mechanisms of change of dominating in the circulation types are not very clear [1, 15, 22]. According to the scientific data, non-poliomyelitis enteroviruses can cause sporadic cases and outbreaks of infection [28, 41]. These facts emphasize the importance of epidemiological and virological surveillance of enterovirus infection [15, 16, 28, 41] as well as of the scientific analysis of this problem.

The aim of our research was to analyze and compare the epidemic situation and etiological factors of enterovirus infection in Russia and Vietnam.

Materials and methods

The scientific research was accomplished within the framework of scientific and technical cooperation between research institutes of the Russian Federation and Vietnam. The strains of non-polio enteroviruses isolated from 87 patients having HFMD from South Vietnam in 2018–2019 were studied. Isolation of the strains from biological material was carried out on cell cultures RD (CDC, RIVM/WHO) and Hep2 (Cincinnati, RIVM/WHO) using standard procedures recommended by the World Health Organization [40] in the virology laboratory of the Pasteur Institute in Ho Chi Minh City. The type of enterovirus was determined in Blokhina Research Institute of epidemiology and microbiology in Nizhny Novgorod by modified partial sequencing the VP1 genome region [12, 32], the amplification of cDNA of full sequence of VP1 region of EV-A71 was performed in automatic mode on a Genome Lab™ GeXP genetic analyzer. Alignment of nucleotide sequences, construction of phylogenetic trees, and analysis of phylogenetic relationships were performed using the software MEGA 7.0 [26]. The epidemiological and statistical analysis was performed in Pasteur Institute in St. Petersburg. The average errors were determined, and the significance of statistical differences between certain indices was evaluated using the Student's t-test. Differences were considered statistically significant at 95% confidence interval (values of $p < 0.05$).

Results

Biological material from children with HFMD was collected in the southern provinces of Vietnam. In accordance with the recommendations of the World Health Organization, 87 non-poliomyelitis enteroviruses which belonged to species A of enterovi-

ruses were isolated from patients with the help of cell cultures RD and Hep2. The strains were studied and characterized using molecular methods. The majority of isolated enteroviruses were represented by type EV-A71 (67.8%), 23% of viruses were identified as CV-A10, 5.8% — as CV-A16, 2.3% — as CV-A6 and 1.1% — as CV-A2. According to molecular analysis 53 from 59 strains of EV-A71 belonged to the genotype C4, only 6 strains of EV-A71 strains were represented by the genotype B5.

We carried out the clinical and epidemiological analysis of 59 cases of enterovirus infection, the etiological factor of which was enterovirus EV-A71. All the cases of enterovirus infection were registered in the southern provinces of Vietnam in 2018–2019. The cases of infection were revealed in 12 provinces. Among 59 cases 46 cases were registered in three provinces: Dong Thap, An Giang and Ben Tre, in other 9 provinces from one to three cases of infection were reported. It is important to note that 40.7% of all cases were recorded in the province of Dong Thap located in the southwestern part of Vietnam on the border with the Kingdom of Cambodia. Two neighboring provinces Dong Thap and An Giang represent a single epidemiological focus. In the province of Ben Tre 20% of studied cases of enterovirus infection were detected. These three provinces situated in the delta of Mekong — the greatest river of Indochina accumulated 78% of all cases of HFMD included in this research.

Clinically, all the cases were classified as HFMD. The distribution of HFMD cases by the severity of the disease and the epidemiological data are represented in the table below (Table).

Among 59 cases of HFMD 6 patients had a mild form of the disease — grade I. The disease was characterized by papulovesicular rash on the skin of the hands and or feet, as well as vesicles and ulcerations on the oral mucosa, and was accompanied by sub febrile temperature. Most part of the diseases (76.3%) were of moderate severity — grade II. In addition to exanthema of the skin, the hands, the feet and enanthema of the oral mucosa, these patients had high fever, as well as neurological and cardiovascular complications, such as muscle cramps, confusion, meningitis and myocarditis of moderate severity. Maximum severity of the disease — grade III was noted in 8 pa-

tients (13.5%). Diseases with a typical rash on the body and mouth, as well as high and prolonged fever, were accompanied by severe complications involving the nervous, cardiovascular and respiratory systems. Severe manifestations of meningitis, encephalitis, endocarditis, myocarditis, pericarditis, as well as paralytic manifestations were recorded. One child (aged 19 months) had the most severe complications of the infection which led to cognitive disorders, cordial and pulmonary troubles, the disease was fatal due to toxic shock and pulmonary oedema. The total percentage of moderate and severe forms of infection characterized by complications from various organs and systems among the analyzed HFMD cases was 89.8% and significantly exceeded ($p \leq 0.001$) the percentage of mild clinical forms of this disease.

The majority of patients suffering from HFMD (83%) were children under the age of three years, mainly children of age between one and two years. The number of cases among children from 3 to 6 years old amounted to 17%. The proportion of children under three years of age among the total number of sick children significantly exceeded ($p \leq 0.001$) the percentage of children from three to six years. Among the patients, there were more boys (64.4%) than girls (35.6%). The proportion of boys among patients with HFMD significantly exceeded ($p \leq 0.05$) the same indicator for the girls with the same infection.

According to the State Report of the Russian Federation, the incidence rate of EVI was 9.83 and 12.63 per 100,000 of population in 2018 and 2019 correspondingly [10, 11]. The highest incidence was observed among children under 17 years of age (92.6% in 2018 and 91.89% in 2019). During these two years on some territories where a share of enterovirus meningitis was low children from 1 to 2 years old were mostly affected by other clinical forms of enterovirus infection, children from 3 to 14 years old more often suffered from enterovirus meningitis [5]. The results of studies, carried out in Russia in 2018–2019 using molecular methods showed that 2,836 enterovirus strains belonging to 47 types were identified. Those were the viruses of four species — Enterovirus species A: CV-A2, CV-A4–CV-A8, CV-A10, CV-A16, EV-A71, EV-A89; Enterovirus species B: CV-A9, CV-B1–CV-B5, E2–E7, E9, E11, E13–E16, E18–E21, E25, E30, E31, E33, EV-B81; Enterovirus spe-

Table. Clinical and epidemiological characteristics of HFMD cases

| Year | Cases of HFMD caused by the enteroviruses EV-A71 | | | | | | |
|------------------------|--|------------------|-------------------------|----------------|----------------|------------------------|--------------------|
| | Number of patients | Severity grade | | Sex | | Age group | |
| | | Grade I % M±m | Grade II + III % M±m | Boys % M±m | Girls % M±m | Under 3 years % M±m | 3–6 years % M±m |
| 2018 | 45 | 0 | 41 | 26 | 19 | 37 | 8 |
| 2019 | 14 | 6 | 8 | 12 | 2 | 12 | 2 |
| Total 2018–2019 | 59 | 6 10,2±3,9 | 53 89,8±3,9 | 38 64,4±6,2 | 21 35,6±6,2 | 49 83,0±4,9 | 10 17,0±4,9 |

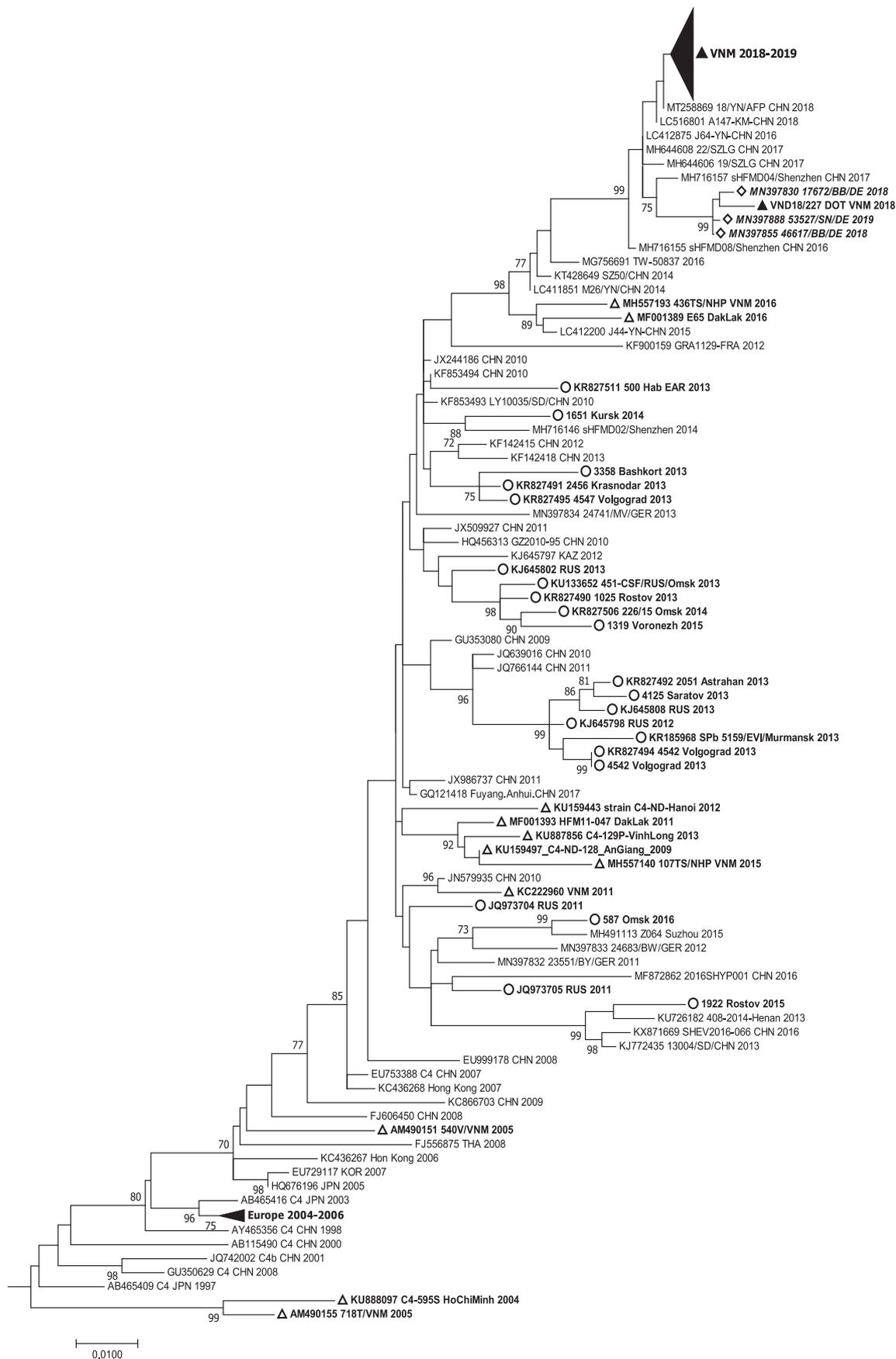


Figure 1. Phylogenetic relationship between EV-A71 strains of genotype C4 identified in Russia and Vietnam
Note: ○ — Russian strains, ▲ — Vietnamese strains described in this study, △ — Vietnamese strains described in other studies, ◇ — strains identified in Germany.

cies C: CV-A1, CV-A19, CV-A20, CV-A21, CV-A22, CV-A24, EV-C96, EV-C99, EV-C116; Enterovirus species D: EV-D68 [5, 7]. The ratio of viruses of EVA:EVB:EVC species was 45.61%:53.06%:1.25% in 2018 and 59.49%:36.60%:3.91% in 2019. The leading etiological agents of enterovirus meningitis in 2018–2019 were viruses E6, E9, E30 and CV-B5. The viruses of species Enterovirus A were mainly detected in patients having EVI with exanthema. The virus CV-A6 dominated, its proportion in the structure of the etiological agents of EVI in these years averaged 21.47%; the CV-A16 virus was also detected quite often (12.34%). The proportion of EV-A71 among all identified viruses was 4.30% (122 strains). All of the strains of virus EV-A71 belonged to the genotype C1; they showed a genetic relationship with the viruses of this genotype circulating during the same period in Europe [20].

We defined that 53 EV-A71 strains from 59 studied strains, isolated in South Vietnam, belonged to genotype C4, six strains represented the B5 genotype. The obtained full nucleotide sequences of VP1 genome region of 59 EV-A71 strains were submitted in the International GenBank, they are available under the numbers MW139687–MW139744.

Then a phylogenetic analysis of the nucleotide sequences of VP1 genome region of studied Vietnamese EV-A71 strains of the genotype C4 and the sequences

of Russian viruses of the same genotype identified earlier [4, 18] was carried out (Fig. 1).

The sequences of the strains collected in the provinces of South Vietnam formed a monophyletic cluster with the nucleotide sequences of EV-A71 viruses circulating in some provinces of China during 2016–2018 and in Germany during 2018–2019 [20, 35]. The highest homology (99.2–99.9%) of the nucleotide sequences of majority of Vietnamese strains belonging to this genetic group was revealed with the strains identified in patients with HFMD and AFP from the Chinese province of Yunnan in 2017–2018. The strain VND18/227, isolated in 2018 from a patient with clinical severity IIB from Dong Thap province, showed the greatest genetic relationship (99.2–99.4% of homology) with the strains EV-A71 of genotype C4 isolated in Germany. These strains formed together a separate genetic group and were mostly close to viruses EV-A71 which circulated in the Chinese province of Guangdong in 2017. The studied Vietnamese strains EV-A71 of genotype C4 genetically differed from Russian viruses as well as from viruses identified in South Vietnam [30] during HFMD outbreaks of 2003–2005 and 2011–2012 and in North Vietnam [21] and Dak Lak Province [27] in 2016.

The sequences of studied EV-A71 strains of genotype B5 formed a monophyletic group (Fig. 2).

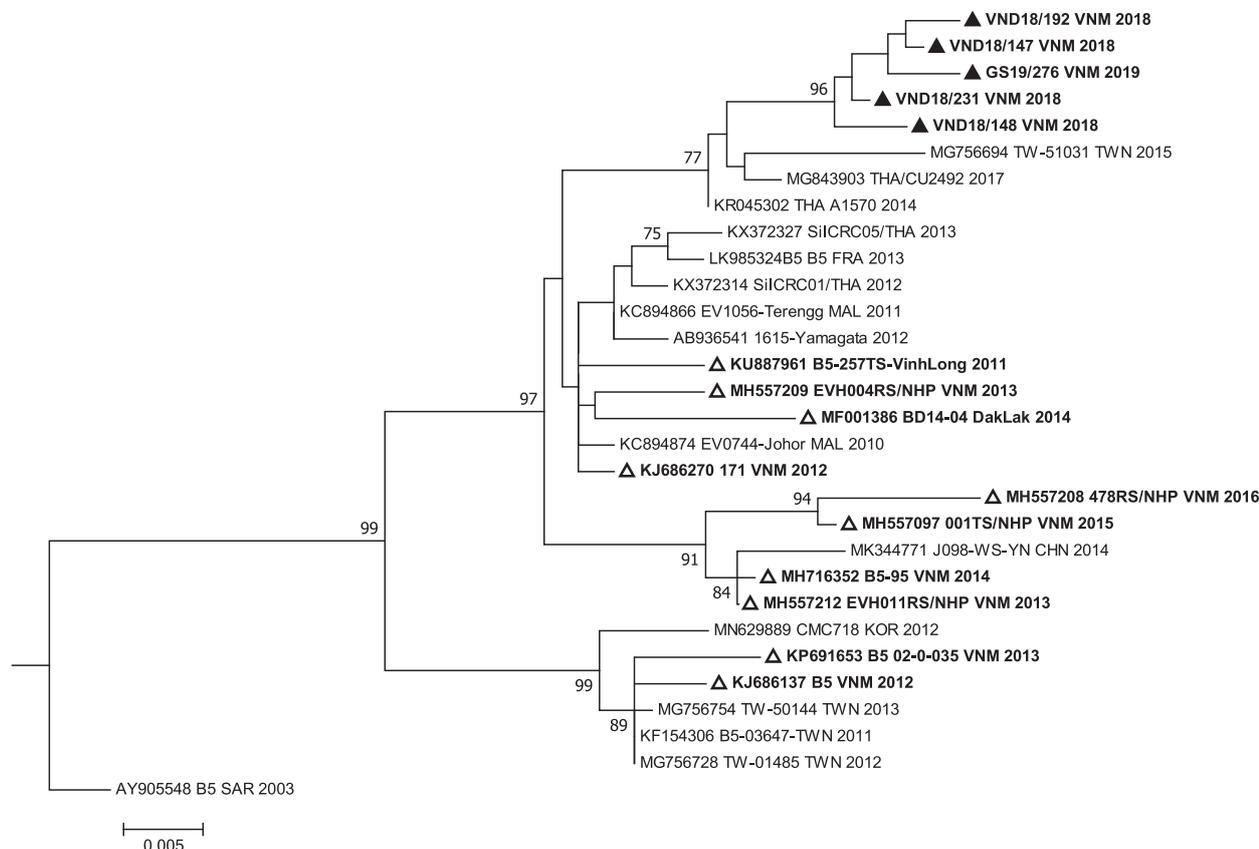


Figure 2. Phylogenetic relationship between EV-A71 strains of genotype B5 identified in Vietnam

Note: ▲ — Vietnamese strains described in this study, △ — Vietnamese strains described in other studies.

These viruses were most closely related to viruses identified in Thailand in 2017 [34] and they differed from the earlier detected Vietnamese strains EV-A71 of genotype B5, which circulated in 2011–2016. The strains EV-A71 of genotype B5 were not detected in Russia.

Discussion

The results of the study showed that among enteroviruses isolated from patients with HFMD from South Vietnam, viruses EV-A71 prevailed. The EV-A71 strains accounted for 68% of all identified viruses. Viruses CV-A10 amounted to 23% of all isolated viruses and 9% were viruses of three types — CV-A16, CV-A6 and CV-A2. The prevalence of EV-A71 viruses in the examined patients determined the fact that in 90% of children the disease was moderate or severe and it proceeded with various complications. The majority of cases occurred in three provinces of South Vietnam from the 12 provinces included in the study. It is important to note that 40.7% of cases were reported in the Dong Thap Province, located in the southwestern part of South Vietnam on the border with the Kingdom of Cambodia. This province, together with the neighboring province of An Giang, constituted a single epidemiological focus. In the province of Ben Tre, which is located in the southeast of the country, 20.3% of the investigated cases of enterovirus infection were detected. All in all in three provinces Dong Thap, An Giang and Ben Tre, located in southern Vietnam in the Mekong Delta, 78% of cases were revealed in our study. According to molecular studies 90% of identified EV-A71 strains were attributed to genotype C4. These data allowed us to confirm the resumption of the activity of EV-A71 virus of genotype C4. Phylogenetic analysis showed that the studied strains EV-A71 of genotype C4 entered the same cluster, and most of them were very close to the strains EV-A71 of genotype C4 from the Chinese province of Yunnan. These strains differed from EV-A71 strains of genotype C4, which were identified in Russia in 2013–2014, as well as from the strains of the same genotype circulating in Vietnam in 2003–2005 and 2011–2012. The EV-A71 strains of genotype B5 from this study were related to the strains of the same genotype identified in Thailand, but differed from similar strains circulating in Vietnam from 20011 to 2016. It should be especially noted that enteroviruses EV-A71 of genotype B5 have not yet been detected in Russia.

The results of performed phylogenetic analysis of enterovirus strains indicate the influence of the Mekong as the largest Asian waterway, the basin of which is densely populated, on the formation of unique epidemic focus of enterovirus infection. A very close relationship between the majority of studied Vietnamese EV-A71 strains of genotype

C4 and the viruses circulated in the Chinese province of Yunnan was established in our study. The EV-A71 strains of genotype B5 were genetically close to the strains from Thailand, through which the Mekong also flows.

Previously, in our research performed in collaboration with Vietnamese colleagues [6] we identified and characterized 20 strains of CV-A10. It is important to note that these CV-A10 strains were most closely related to the viruses from the Yunnan Province, as well as most of the EV-A71 strains of genotype C4. The Yunnan Province is located in the upper Mekong.

We revealed the strain VND18/227 which genetically differed from other EV-A71 strains of genotype C4 in our research. These differences prove that the case of infection caused by this virus was not epidemiologically associated with the majority of analyzed cases of HFMD caused by viruses of the same genotype. The fact that some other strains isolated in different regions of the world entered the genetic cluster together with the strain VND18/227 indicates that the genetic variant of genotype C4 of EV-A71 virus, represented by all these strains, was widespread in the world in 2017–2019. The virus of this genetic variant could have been introduced into the Mekong Delta both by tourists from abroad and as a result of internal migration of the population from the North or Central Vietnam to the South Vietnam.

The results our molecular study showed that 90% of identified EV-A71 strains of genotype C4 differed genetically from the EV-A71 strains of the same genotype which earlier circulated in Vietnam. These data allowed us to confirm the resumption of wide circulation of EV-A71 virus of genotype C4 in South Vietnam. This new peak of circulation can be very likely explained by the introduction of new variants of this virus into Vietnamese provinces located in the Mekong Delta.

A number of publications [23, 24, 25, 31] provide the results of some long-term studies of patients who suffered from HFMD and their contact persons who lived in the southern provinces of Vietnam. The authors proved the role of EV-A71 virus as the main etiological factor of HFMD, which was the emerging infection with the highest incidence in Vietnam over many years (2013–2018). Simultaneously with the EV-A71 virus, other representatives of Enterovirus A species such as CV-A10, CV-A6 and CV-A16 circulated in these provinces. In 2018, co-circulation in Vietnam of EV-A71 viruses belonged to two genotypes C4 and B5 was described; these data coordinate with our research. Viruses of both genotypes were mainly detected during outbreaks of enterovirus infection registered in the same period of time in China and Taiwan. An article published in 2019 [24] provides data from a survey of 150 children under 15 years of age with HFMD and 600

of their contact persons in Dong Thap Province located in the Mekong Delta. The average age of the patients was 18 months. The diagnosis was laboratory confirmed in 113 patients and 142 contacts. Enteroviruses EV-A71, CVA6 and CVA16 were identified in patients and in contact persons. All the data given in the publications of the Vietnamese colleagues correspond well with the results of our research.

The peak of HFMD incidence in Vietnam was recorded in 2011; the largest number of cases was registered in the southern provinces. In 2011, the Ministry of Health of Vietnam classified HFMD as a severe infectious disease (infectious disease of class B) with a high epidemic potential and included it in the list of infectious diseases for weekly reporting [37]. The surveillance system for enterovirus infection was created in the South Vietnam in 2012. This system is based on monitoring the incidence of HFMD (ICD code No. 10 — B08.4), it includes obligatory laboratory confirmation of severe and fatal cases of enterovirus infection and identification of isolated enterovirus strains [36]. The highest incidence of enterovirus infection and the highest number of deaths were associated with enterovirus EV-A71. Circulation of EV-A71 genotypes C1, C4, C5, and B5 was recorded at different periods of time in Vietnam. The analysis of the phylogenetic relationships of the Vietnamese strains of viruses EV-A71 showed multiple importations of this virus from neighboring territories and a wide spread within the country, which led to maintaining the incidence of HFMD at a high level up to now.

In Russia the epidemic process and the structure of clinical forms of enterovirus infection changed in different periods and on different territories of the country. Previously, in certain regions of the country, enterovirus infection was mostly characterized as enterovirus meningitis, which is separately registered in the state statistical report of the Russian Federation for infectious diseases [1, 9, 13, 14, 17]. In recent years, the clinical forms of enterovirus infection with exanthema as HFMD have begun to prevail in many regions of the country [2, 3, 7, 15, 16]. The proportion of severe and moderate forms of infection, represented by enterovirus meningitis, has decreased and there is a tendency to shift the clinical picture towards a milder disease. HFMD is more common in unorganized children aged less than three years, as well as in children of 3–6 years old attending nursery schools. It is obvious that among young children, the transmission of infection by direct contact is realized very rapidly, which leads to the emergence of group cases and outbreaks of the infection. Enterovirus meningitis is more often observed among children aged 3–6 and 7–14 years. Group cases of enterovirus meningitis are usually registered in preschool institutions and schools.

Changes in the structure of clinical forms of infection conformed to the process of changes in the enterovirus types prevailing in the circulation among the population. In previous years in the North-West of Russia, epidemic rises of enterovirus infection were associated with the active circulation of enteroviruses belonging to the species B of enteroviruses, which caused enterovirus meningitis. Etiological agents of enterovirus meningitis were often ECHO30 viruses, as well as ECHO6, ECHO9 and Coxsackieviruses B of different types [1, 7, 9, 13, 14, 17]. During the last years enterovirus infection with exanthema provoked by Coxsackieviruses of species A, including virus EV-A71 has been the leading clinical form of enterovirus infection in many regions of Russia.

From 2017 Enteroviruses species A constituted half of enteroviruses detected in patients with enterovirus infection. Different types of Enteroviruses species A dominated in the circulation in different years. In the second decade of the 21st century, group cases of HFMD were recorded for the first time on some North-Western territories of Russia. Preschool children were mostly involved in the epidemic process. On all these territories, the etiological factor of infection was established as Coxsackievirus A16 [2]. Later Coxsackievirus A6 occupied the leading position among enteroviruses that caused enterovirus infection with exanthema in Russia. In 2017, the circulation of this virus was fixed on 64 territories of Russia, and on some territories it was the cause of outbreaks. From 2017 to 2019, sporadic cases of enterovirus exanthema among children of 1–2 years of age were often observed in Russia [16]. On some territories, group cases of enterovirus exanthema were registered among children 3–6 years old in preschool institutions. The infection was transmitted by contact; the disease usually proceeded in a mild form. The etiological agents of enterovirus infection were EV-A71 and Coxsackieviruses A6, and A16.

In general, the epidemic process and the etiology of enterovirus infection in Russia and in Vietnam have common features. At the same time the epidemic situation in these countries has some differences. The incidence of enterovirus infection can be influenced by geographic, climatic, economic, demographic and socio-hygienic factors, which are not the same in Russia and in Vietnam.

In the majority of territories of Russia the climate is temperate or cold with sharp fluctuations from minus to plus temperatures during the year, so seasonal rises in the incidence of enterovirus infection in the country, as a rule, occur in summer [1, 2, 8, 15, 16]. In summer, the temperature rises significantly all over Russia and people go for the vacations, mainly to the southern parts of the country. During the holidays, social contacts and physical activity expand; people go in for outdoor sports and swim

in open reservoirs. On the contrary, in the southern provinces of Vietnam the temperature and humidity remain at a high level all the year round, respectively, the HFMD cases and outbreaks are registered throughout all the year and the annual number of the cases of enterovirus infection exceeds the total number of such cases in Russia. The high population density in Vietnam, which exceeds the population density of Russia many fold, and a high proportion of children also determine the higher incidence of enterovirus infection in Vietnam compared to Russia. The overcrowding of the population, the prolonged stay of children in the street, combined with a hot climate; support the active circulation of enteroviruses among the population in the southern provinces of Vietnam. The fact that more than 20% of Vietnamese population lives in the Mekong Delta show a significant impact of this river on the epidemic process of enterovirus infection in South Vietnam. The Mekong is the largest river in Indochina, which flows through China, Laos, Thailand, Cambodia and Vietnam. The Mekong River carries huge streams of water, including rainwaters and sewages, from all of these countries into the southern provinces of Vietnam, where it flows into the South China Sea. All these factors complicate the epidemic process of enterovirus infection in southern provinces of Vietnam, where the highest incidence of HFMD in the country is fixed.

Conclusion

The results of this research confirm the importance of the epidemiological study of different cases of enterovirus infection: sporadic, group and outbreaks as well as the need for virological and molecular investigations of patients' samples in order to establish the etiological factor of each case of the disease. The obtained results also provide new information on the circulation of non-poliomyelitis enteroviruses among the population of Russia and Vietnam — two countries, situated in different parts of the world. The results of the study give the possibility to trace the changes in the dominant types of enteroviruses circulating in two countries and help to understand the patterns of the evolution of the epidemic process of enterovirus infection in different periods. The obtained data once again emphasize that the surveillance of all clinical forms of enterovirus infection is indispensable for the Russian Federation and the Socialist Republic of Vietnam. The active epidemiological and virological surveillance plays the key role in informing the public health authorities about the changes in the epidemic situation concerning enterovirus infection in order to take appropriate measures and develop the adequate prevention strategies. The main goal of complex anti-epidemic and preventive measures is to reduce the incidence of enterovirus infection and the economic and social burden of this infection for both countries — Russia and Vietnam.

References

1. Бичурина М.А., Романенкова Н.И., Голицына Л.Н., Розаева Н.Р., Канаева О.И., Фомина С.Г., Крайнова Т.И., Шишко Л.А., Гордиенко Т.А., Пьяных В.А., Иванова Т.Г., Смелков С.Н., Лесникова М.В., Новикова Н.А. Роль энтеровируса ECHO 30 в этиологии энтеровирусной инфекции на Северо-Западе России в 2013 году // Журнал инфектологии. 2014. Т. 6, № 3. С. 84–91. [Bichurina M.A., Romanenkova N.I., Golitsyna L.N., Rozaeva N.R., Kanaeva O.I., Fomina S.G., Krainova T.I., Shishko L.A., Gordienko T.A., Pinykh V.A., Ivanova T.G., Smelkov S.N., Lesnikova M.V., Novikova N.A. Role of Enterovirus ECHO 30 as the etiological agent of enterovirus infection in the North-West of Russia in 2013. *Zhurnal infektologii = Journal Infectology*, 2014, vol. 6, no. 3, pp. 84–91. (In Russ.)] doi: 10.22625/2072-6732-2014-6-3-84-91
2. Бичурина М.А., Романенкова Н.И., Новикова Н.А., Голицына Л.Н., Розаева Н.Р., Канаева О.И., Ермакова М.В., Камынина Л.С., Мадоян А.Г., Валдайцева Н.В., Леонова Н.П., Иванова Т.Г. Групповые заболевания энтеровирусной инфекцией, обусловленные вирусами Коксаки А16, на Северо-Западе России // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2014. № 2. С. 51–58. [Bichurina M.A., Romanenkova N.I., Novikova N.A., Golitsyna L.N., Rozaeva N.R., Kanaeva O.I., Ermakova M.V., Kamynina L.S., Madoyan A.G., Valdaitseva N.V., Leonova N.P., Ivanova T.G. Group enterovirus infection due to Coxsackievirus A16 in Northwestern Russia. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2014, vol. 2, pp. 51–58. (In Russ.)]
3. Голицына Л.Н., Зверев В.В., Парфенова Н.В., Епифанова Н.В., Сашина Т.А., Кашников А.Ю., Григорьева Г.И., Новикова Н.А. Вирус Коксаки А6 в Российской Федерации в 2014 году // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2015. № 28. С. 12–20. [Golitsyna L.N., Zverev V.V., Parfenova O.V., Epifanova N.V., Sashina T.A., Kashnikov A.Y., Grigor'eva G.I., Novikova N.A. Coxsackievirus A6 in Russian Federation in 2014. *Dal'nevostochny zhurnal infektsionnoy patologii = The Far Eastern Journal of Infectious Pathology*, 2015, no. 285, pp. 12–20. (In Russ.)]
4. Голицына Л.Н., Зверев В.В., Парфенова О.В., Новикова Н.А. Эпидемические варианты неполиомиелитных энтеровирусов в России // Медицинский альманах. 2015. Т. 40, № 5. С. 136–140. [Golitsyna L.N., Zverev V.V., Parfenova O.V., Novikova N.A. Epidemic variants of non-poliomyelitic enteroviruses in Russia. *Medical Almanac*, 2015, vol. 40, no. 5, pp. 136–140. (In Russ.)]
5. Голицына Л.Н., Зверев В.В., Пономарева Н.В., Кашников А.Ю., Леонов А.В., Сашина Т.А., Епифанова Н.В., Резайкин А.В., Сапега Е.Ю., Новикова Н.А. Эпидемиологическая ситуация по энтеровирусной инфекции в РФ в 2019 году: заболеваемость, результаты лабораторной диагностики, прогноз на 2020 г. // Заболеваемость, этиологическая структура и вопросы профилактики энтеровирусной (неполио) инфекции. 2020. № 7. С. 5–12. [Golitsyna L.N., Zverev V.V., Ponomareva N.V., Kashnikov A.Yu., Leonov A.V., Sashina T.A., Epifanova N.V., Rezaikin A.V., Sapega E.Yu., Novikova N.A. Epidemiological situation concerning enterovirus infection in the Russian Federation in 2019: incidence, laboratory diagnostics, prognosis for 2020. *Zabolevaemost', etiologicaleskaya struktura i voprosy profilaktiki enterovirusnoy (nepolio) infektsii = Incidence, Etiological Structure and Prevention of Enterovirus Infection*, 2020, no. 7, pp. 5–12. (In Russ.)]

6. Голицына Л.Н., Зверев В.В., Пономарева Н.В., Романенкова Н.И., Нгуен Т.Т.Т., Канаева О.И., Селиванова С.Г., Леонов А.В., Розаева Н.Р., Кашников А.Ю., Бичурина М.А., Новикова Н.А. Молекулярно-эпидемиологический мониторинг циркуляции вируса Коксаки А10 // Здоровье населения и среда обитания. 2021. № 4. С. 43–49. [Golitsyna L.N., Zverev V.V., Ponomareva N.V., Romanenkova N.I., Nguyen T.T.T., Kanaeva O.I., Selivanova S.G., Leonov A.V., Rozaeva N.R., Kashnikov A.Yu., Bichurina M.A., Novikova N.A. Molecular epidemiological monitoring of circulation of Coxsackievirus A10. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya = Public Health and Life Environment*, 2021, no. 4, pp. 43–49. (In Russ.)] doi: 10.35627/2219-5238/2021-337-4-43-49
7. Голицына Л.Н., Зверев В.В., Селиванова-Фомина С.Г., Пономарева Н.В., Кашников А.Ю., Созонов Д.В., Сашина Т.А., Епифанова Н.В., Евплова И.А., Резайкин А.В., Сапега Е.Ю., Новикова Н.А., Ефимов Е.И. Этиологическая структура энтеровирусных инфекций в Российской Федерации в 2017–2018 гг. // Здоровье населения и среда обитания. 2019. № 8. С. 30–38. [Golitsyna L.N., Zverev V.V., Selivanova S.G., Ponomareva N.V., Kashnikov A.Yu., Sozonov D.V., Sashina T.A., Epifanova N.V., Evplova I.A., Rezaykin A.V., Sapega E.Yu., Novikova N.A., Efimov E.I. Etiological structure of enterovirus infection in the Russian Federation in 2017–2018. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya = Public Health and Life Environment*, 2019, no. 8, pp. 30–38. (In Russ.)] doi: 10.35627/2219-5238/2019-317-8-30-38
8. Лукашев А.Н., Иванова О.Е., Худякова Л.В. Социально-экономическая значимость энтеровирусной инфекции и ее роль в структуре инфекционной патологии в мире // Журнал микробиологии. 2010. № 5. С. 113–120. [Lukashev A.N., Ivanova O.E., Khudyakova L.V. Socio-economic significance of enterovirus infection and its role in the structure of infectious pathology in the world. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2010, vol. 5, pp. 113–120. (In Russ.)]
9. Лукашев А.Н., Резник В.И., Иванова О.Е., Еремеева Т.П., Каравянская Т.Н., Перескокова М.А., Лебедева Л.А., Пашкевич В.А., Михайлов М.И. Молекулярная эпидемиология вируса ЕСНО 6 – возбудителя вспышки серозного менингита в Хабаровске в 2006 г. // Вопросы вирусологии. 2008. Т. 53, № 1. С. 16–21. [Lukashev A.N., Reznik V.I., Ivanova O.E., Eremeyeva T.P., Karavyanskaya T.N., Pereskokova M.A., Lebedeva L.A., Lashkevich V.A., Mikhailov M.I. Molecular epidemiology of ECHO 6 virus, the causative agent of the 2006 outbreak of serous meningitis in Khabarovsk. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2008, vol. 53, no. 1, pp. 16–21. (In Russ.)]
10. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году: государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2019. 254 с. [State of sanitary and epidemiological wellbeing of the population in the Russian Federation in 2018: state report. Moscow: Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2019. 254 p. (In Russ.)]
11. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2020. 299 с. [State of sanitary and epidemiological wellbeing of the population in the Russian Federation in 2019: state report. Moscow: Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2020. 299 p. (In Russ.)]
12. Патент № 2743352 Российская Федерация, МПК С12Н 15/00 (2006.01). Способ дифференциальной амплификации фрагмента области VP1 генома энтеровирусов видов Enterovirus A и Enterovirus B: № 2020117726; заявлено 2020.05.19; опубликовано 2021.02.17 / Голицына Л.Н. Патентообладатель: ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной. 14 с. [Patent No. 2743352 Russian Federation, Int. Cl. C12N 15/00 (2006.01). Method for differential amplification of VP1 region fragment of enterovirus genome enterovirus A and enterovirus B. No. 2020117726; application: 2020.05.19: date of publication 2021.02.17 / Golitsyna L.N. Proprietors: Federalnoe budzhetnoe uchrezhdenie nauki "Nizhegorodskij nauchno-issledovatel'skij institut epidemiologii i mikrobiologii im. akademika I.N. Blokhinoj". 14 p.]
13. Романенкова Н.И., Бичурина М.А., Голицына Л.Н., Розаева Н.Р., Канаева О.И., Черкасская И.В., Кириллова Л.П., Батаева А.Ю., Барышникова А.С., Новикова Н.А. Неполиомиелитные энтеровирусы, обусловившие подъем заболеваемости энтеровирусной инфекцией на ряде территорий России в 2016 году // Журнал инфектологии. 2017. Т. 9, № 3. С. 98–108. [Romanenkova N.I., Bichurina M.A., Golitsyna L.N., Rozaeva N.R., Kanaeva O.I., Cherkasskaya I.V., Kirillova L.P., Bataeva A.Yu., Baryshnikova A.S., Novikova N.A. Nonpolio enteroviruses which caused the rise of enterovirus infection on some territories of Russia in 2016. *Zhurnal infektologii = Journal Infectology*, 2017, vol. 9, no. 3, pp. 98–108. (In Russ.)] doi: 10.22625/2072-6732-2017-9-3-98-108
14. Романенкова Н.И., Бичурина М.А., Розаева Н.Р., Канаева О.И., Шишко Л.А., Черкасская И.В., Кириллова Л.П. Вирусы Коксаки В1-6 как этиологический фактор энтеровирусной инфекции // Журнал инфектологии. 2016. Т. 8, № 2. С. 65–71. [Romanenkova N.I., Bichurina M.A., Rozaeva N.R., Kanaeva O.I., Shishko L.A., Cherkasskaya I.V., Kirillova L.P. Coxsackieviruses B1–6 as etiological factor of enterovirus infection. *Zhurnal infektologii = Journal Infectology*, 2016, vol. 8, no. 2, pp. 65–71. (In Russ.)]
15. Романенкова Н.И., Голицына Л.Н., Бичурина М.А., Розаева Н.Р., Канаева О.И., Зверев В.В., Созонов Д.В., Черкасская И.В., Кириллова Л.П., Ермакова М.В., Камынина Л.С., Петухова М.Б., Грицай А.Б., Новикова Н.А. Заболеваемость энтеровирусной инфекцией и особенности циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов на некоторых территориях России в 2017 году // Журнал инфектологии. 2018. Т. 10, № 4. С. 124–133. [Romanenkova N.I., Golitsyna L.N., Bichurina M.A., Rozaeva N.R., Kanaeva O.I., Zverev V.V., Sozonov D.V., Cherkasskaya I.V., Kirillova L.P., Ermakova M.V., Kamynina L.S., Petukhova M.B., Gritsay A.B., Novikova N.A. Enterovirus infection morbidity and peculiarities of nonpolio enteroviruses circulation on some territories of Russia in 2017. *Zhurnal infektologii = Journal Infectology*, 2018, vol. 10, no. 4, pp. 124–133. (In Russ.)] doi: 10.22625/2072-6732-2018-10-4-124-133
16. Романенкова Н.И., Розаева Н.Р., Бичурина М.А., Канаева О.И., Чхинджерия И.Г., Шишкина Л.В., Мадоян А.Г., Валдайцева Н.В. Эпидемиологические аспекты энтеровирусной инфекции в Российской Федерации за период 2018–2019 гг. // Журнал инфектологии. 2021. Т. 13, № 1. С. 108–116. [Romanenkova N.I., Rozaeva N.R., Bichurina M.A.,

- Kanaeva O.I., Chkhlyndzheriya I.G., Shishkina L.V., Madoyan A.G., Valdaitseva N.V. Epidemiological aspects of enterovirus infection in the Russian Federation during the period of 2018–2019. *Zhurnal infektologii = Journal Infectology*, 2021, vol. 13, no. 1, pp. 108–116. (In Russ.)] doi: 10.22625/2072-6732-2021-13-1-108-116
17. Шишко Л.А., Романенкова Н.И., Бичурина М.А., Гордиенко Т.А., Розаева Н.Р., Голицына Л.Н., Фомина С.Г., Канаева О.И., Лялина Л.В., Новикова Н.А. Этиология сезонных подъемов заболеваемости энтеровирусной инфекцией в Архангельской области // Инфекция и иммунитет. 2013. Т. 3, № 1. С. 65–72. [Shishko L.A., Romanenkova N.I., Bichurina M.A., Gordienko T.A., Rozaeva N.R., Golitsina L.N., Fomina L.B., Kanaeva O.I., Lialina L.V., Novikova N.A. Etiology of seasonal increasing of enteroviral infection in Arkhangel'sk oblast. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2013, vol. 3, no. 1, pp. 65–72. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2013-1-65-72
 18. Akhmadishina L.V., Govorukhina M.V., Kovalev E.V., Nenadskaya S.A., Ivanova O.E., Lukashev A.N. Enterovirus A71 meningoencephalitis outbreak, Rostov-on-Don, Russia, 2013. *Emerg. Infect. Dis.*, 2015, vol. 21, no. 8, pp. 1440–1443. doi: 10.3201/eid2108.141084
 19. Bian L., Wang Y., Yao X., Mao Q., Xu M., Liang Z. Coxsackievirus A6: a new emerging pathogen causing hand, foot and mouth disease outbreaks worldwide. *Expert Rev. Anti-infect. Ther.*, 2015, vol. 13, no. 9, pp. 1061–1071. doi: 10.1586/14787210.2015.1058156
 20. Böttcher S., Diedrich S., Keeren K., the Laboratory Network for Enterovirus Diagnostic (LaNED). Increased detection of enterovirus A71 infections, Germany, 2019. *Euro Surveill.*, 2019, vol. 24, no. 39: 1900556. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.39.1900556
 21. Chu S.T., Kobayashi K., Bi X., Ishizaki A., Tran T.T., Phung T.T.B., Pham C.T.T., Nguyen L.V., Ta T.A., Khu D.T.K., Agoh M., Pham A.N., Koike S., Ichimura H. Newly emerged enterovirus-A71 C4 sublineage may be more virulent than B5 in the 2015–2016 hand-foot-and-mouth disease outbreak in northern Vietnam. *Sci. Rep.*, 2020, vol. 10: 159. doi: 10.1038/s41598-019-56703-5
 22. Donato C., Le T.H., Nguen T.H., Tran M.H., Le V.D., Ta T.D.N., Nguen V.K., Nguen V.T., Vijaykrishna D. Genetic characterization of Enterovirus 71 strains circulating in Vietnam in 2012. *Virology*, 2016, vol. 495, pp. 1–9. doi: 10.1016/j.virol.2016.04.026
 23. Hoang C.Q., Nguyen H.D., Ho N.X., Vu T.H.T., Pham T.T.M., Nguyen K.T., Nguyen H.T., Hoang L.T., Clapham H., Nguyen T.T.T., Phan L.T. Incidence of infection of Enterovirus 71 and Coxsackieviruses A6 and A16 among household contacts of index cases in Dong Thap Province, Southern Vietnam. *BioMed Res. Int.*, 2020: 9850351. doi: 10.1155/2020/9850351
 24. Hoang C.Q., Nguyen T.T.T., Ho N.X., Nguyen H.D., Nguyen A.B., Nguyen T.H.T., Phan H.C., Phan L.T. Transmission and serotype features of hand foot mouth disease in household contacts in Dong Thap, Vietnam. *BMC Infect. Dis.*, 2019, vol. 19: 933. doi: 10.1186/s12879-019-4583-1
 25. Hoang M.T.V., Nguyen T.A., Tran T.T., Vu T.T.H., Le N.T.N., Nguyen T.H.N., Le T.H.N., Nguyen T.T.H., Nguyen T.H., Le N.T.N., Truong H.K., Du T.Q., Ha M.T., Ho L.V., Do C.V., Nguyen T.N., Nguyen T.M.T., Sabanathan S., Phan T.Q., Nguyen Van V.C., Thwaites G.E., Wills B., Thwaites C.L., Le V.T., van Doorn H.R. Clinical and aetiological study of hand, foot and mouth disease in southern Vietnam, 2013–2015: inpatients and outpatients. *Int. J. Infect. Dis.*, 2019, vol. 80, pp. 1–9. doi: 10.1016/j.ijid.2018.12.004
 26. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.*, 2016, vol. 33, no. 7, pp. 1870–1874. doi: 10.1093/molbev/msw054
 27. Le T.V., Nguyen V.T.T., Nguyen Q.H., Pham D.T. Molecular epidemiology analysis of enterovirus 71 strains isolated in Dak Lak, Vietnam, 2011–2016. *J. Med. Virol.*, 2019, vol. 91, pp. 56–64. doi: 10.1002/jmv.25286
 28. Mirand A., Henqell C., Archimbaud C., Ughetto S., Antona D., Bailly J.L., Peigue-Lafeuille H. Outbreak of hand, foot and mouth disease/herpangina associated with coxsackievirus A6 and A10 infections in 2010, France: a large citywide, prospective observational study. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2012, vol. 18, no. 5, pp. 110–118. doi: 10.1111/j.1469-0691.2012.03789.x
 29. Nguen T.T.T., Donato C., Trang V.T.H., Kien N.T., Trang P.M.M.T., Khanh T.Q., Nguyet D.T., Sessions O.M., Cuong H.Q., Lan P.T., Huong V.T.Q., van Doorn H.R., Vijaykrishna D. Evolution and spatiotemporal dynamics of enterovirus A71 subgenogroups in Vietnam. *J. Infect. Dis.*, 2017, vol. 216, no. 11, pp. 1371–1379. doi: 10.1093/infdis/jix500
 30. Nguyen N.T., Pham H.V., Hoang C.Q., Nguyen T.M., Nguyen L.T., Phan H.C., Phan L.T., Vu L.N., Tran Minh N.N. Epidemiological and clinical characteristics of children who died from hand, foot and mouth disease in Vietnam, 2011. *BMC Infect Dis.*, 2014, vol. 14: 341. doi: 10.1186/1471-2334-14-341
 31. Nhan L.N.T., Khanh T.H., Hong N.T.T., Van H.M.T., Nhu L.N.T., Ny N.T.H., Nguyet L.A., Thanh T.T., Anh N.T., Hang V.T.T., Qui P.T., Viet H.L., Tung T.H., Ha D.Q., Tuan H.M., Thwaites G., Chau N.V.V., Thwaites L., Hung N.T., van Doorn H.R., Tan L.V. Clinical, etiological and epidemiological investigations of hand, foot and mouth disease in southern Vietnam during 2015–2018. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2020, vol. 14, no. 8: e0008544. doi: 10.1371/journal.pntd.0008544
 32. Nix W.A., Oberste M.S., Pallansch M.A. Sensitive seminested PCR amplification of VP1 sequences for direct identification of all enterovirus serotypes from original clinical specimens. *Clin. Microbiol.*, 2006, vol. 44, no. 8, pp. 2698–2704. doi: 10.1128/JCM.00542-06
 33. Österback R., Vuorinen T., Linna M., Susi P., Hyypiä T., Waris M. Coxsackievirus A6 and hand, foot, and mouth disease, Finland. *Emerg. Infect. Dis.*, 2009, vol. 15, no. 9, pp. 1485–1488. doi: 10.3201/eid1509.090438
 34. Puenpa J., Auphimai C., Korkong S., Vongpunsawad S., Poovorawan Y. Enterovirus A71 infection, Thailand, 2017. *Emerg. Infect. Dis.*, 2018, vol. 24, no. 7, pp. 1386–1387. doi: 10.3201/eid2407.171923
 35. Sun H., Gao M., Cui D. Molecular characteristics of the VP1 region of enterovirus 71 strains in China. *Gut Pathog.*, 2020, vol. 14, no. 12: 38. doi: 10.1186/s13099-020-00377-2
 36. Tan le V., Thai le H., Phu N.H., Nghia H.D., Chuong L.V., Sinh D.X., Phong N.D., Mai N.T., Man D.N., Hien V.M., Vinh N.T., Day J., Chau N.V., Hien T.T., Farrar J., de Jong M.D., Thwaites G., van Doorn H.R., Chau T.T. Viral aetiology of central nervous system infection in adults admitted to a tertiary referral hospital in southern Vietnam over 12 years. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2014, vol. 8, no. 8: e3127. doi: 10.1371/journal.pntd.0003127
 37. Thoa le P.K., Chiang P.S., Khanh T.H., Luo S.T., Dan T.N., Wang Y.F., Thuong T.C., Chung W.Y., Hung N.T., Wang J.R., Nhan le N.T., Thinh le Q., Su I.J., Dung T.D., Lee M.S. Genetic and antigenic characterization of enterovirus 71 in Ho Chi Minh City, Vietnam, 2011. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 7: e69895. doi: 10.1371/journal.pone.0069895

38. WHO. A guide to clinical management and public health response for hand, foot and mouth disease (HFMD). *WHO: Geneva, 2011. 71 p.*
39. WHO. List of Blueprint priority diseases. February 2018 — second annual review. *WHO: Geneva, 2018. 17 p.*
40. WHO. Polio laboratory manual. 4th edition. *WHO: Geneva, 2004. 157 p.*
41. Zhang Y., Wang D., Yan D., Zhu S., Liu J., Wang H., Zhao S., Yu D., Nan L., An J., Chen L., An H., Xu A., Xu W. Molecular evidence of persistent epidemic and evolution of subgenotype B1 coxsackievirus A16-associated hand, foot, and mouth disease in China. *J. Clin. Microbiol., 2010, vol. 48, no. 2, pp. 619–622. doi: 10.1128/JCM.02338-09*

Авторы:

Романenkova Н.И., к.м.н., старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник лаборатории этиологии и контроля вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Голицына Л.Н., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия;

Нгуен Т.Т.Т., д.н., зав. лабораторией энтеровирусов отдела иммунологии и микробиологии, Институт Пастера в Хошимине, г. Хошимин, Вьетнам;

Пономарева Н.В., к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия;

Леонов А.В., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия;

Канаева О.И., научный сотрудник лаборатории этиологии и контроля вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Зверев В.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия;

Селиванова С.Г., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия;

Розаева Н.Р., к.м.н., старший научный сотрудник, старший научный сотрудник лаборатории этиологии и контроля вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Льонг М.Т., к.х.н., зав. лабораторией тропической биомедицины Российско-Вьетнамский тропический научно-исследовательский и технологический центр, южное отделение, г. Хошимин, Вьетнам;

Бичурина М.А., д.м.н., старший научный сотрудник, зав. лабораторией лаборатории этиологии и контроля вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Новикова Н.А., д.б.н., профессор, зав. лабораторией молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия.

Authors:

Romanenkova N.I., PhD (Medicine), Senior Researcher, Leading Researcher, Laboratory of Etiology and Control of Viral Infections, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Golitsyna L.N., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology of Viral Infections, Blokhina Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Nguyen T.T.T., MD, Head of Enteroviruses Laboratory, Institut Pasteur in Ho Chi Minh City, Ho Chi Minh City, Vietnam;

Ponomareva N.V., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology of Viral Infections, Blokhina Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Leonov A.V., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology of Viral Infections, Blokhina Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Kanaeva O.I., Researcher, Laboratory of Etiology and Control of Viral Infections, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Zverev V.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology of Viral Infections, Blokhina Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Selivanova S.G., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology of Viral Infections, Blokhina Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Rozaeva N.R., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Etiology and Control of Viral Infections, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Luong M.T., PhD (Chemistry), Head of Laboratory of Tropical Biomedicine, Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center, South Branch, Ho Chi Minh City, Vietnam;

Bichurina M.A., PhD, MD (Medicine), Senior Researcher, Head of the Laboratory of Etiology and Control of Viral Infections, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Novikova N.A., PhD, MD (Biology), Professor, Head of the Laboratory of Molecular Epidemiology of Viral Infections, Blokhina Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation.

ХОЛЕРА ЭЛЬ-ТОР НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ СЕДЬМОЙ ПАНДЕМИИ: ЭВОЛЮЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ, КЛИНИКО- ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ, ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

И.В. Савельева, А.Н. Куличенко, В.Н. Савельев, Д.А. Ковалев, Т.В. Таран,
Е.И. Подопрigorа, О.В. Васильева, Н.А. Шапаков

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

Резюме. Изучены фенотипические и молекулярно генетические свойства 133 штаммов генетически измененных (геновариантов) *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль-Тор, выделенных от больных в Дагестане (1993, 1994, 1998 гг.), и в сравнительном аспекте 246 штаммов типичного токсигенного холерного вибриона биовара Эль-Тор, выделенных на Кавказе в 1970–1990 гг. У 48,7% изученных штаммов генетически измененных вариантов выявлены смешанные фенотипические свойства биовара Эль-Тор и классического биовара, что свидетельствует о необходимости включить в существующую схему биотипирования маркерные гены биовара Classical (*ctxB^{Cl}+*, *rtxC-*), биовара Эль-Тор (*ctxB^{El}+*), геноварианта биовара Эль-Тор (*ctxB^{Cl}+*, *rtxC+*). Геноварианты биовара Эль-Тор, выделенные от больных в Дагестане, в своем геноме содержат, помимо эльторовских, гены классического биовара (*ctxB^{Cl}* и/или *rstR^{Cl}*), а также, как и типичные токсигенные холерные вибрионы Эль-Тор, острова персистенции (EPI), патогенности (VPI-1 и VPI-2) и пандемичности (VSP-I и VSP-II), но только у геновариантов биовара Эль-Тор обнаруживается интегративный и конъюгативный элемент SXT с генами полирезистентности к антибиотикам. Эпидемические вспышки холеры, обусловленные геновариантами биовара Эль-Тор, имевшие место на Кавказе в 1993–1998 гг., по тяжести течения соответствуют классической (азиатской) холере. Изучены эпидемиологические особенности современной холеры: основной путь реализации фекально-орального механизма заражения для типичного холерного вибриона Эль-Тор — водный, а для геноварианта Эль-Тор — контактно-бытовой. Первичные заражения при употреблении для питья и хозяйственно-бытовых нужд воды поверхностных водоемов, контаминированных типичными вибрионами Эль-Тор, реализуются за пределами семейного очага. При холере, вызванной гибридными вариантами Эль-Тор, осуществляется занос инфекции в семью с последующим распространением среди ее членов при реализации бытовых факторов передачи в условиях низкого санитарного уровня населения. В основе совершенствования лабораторной диагностики и эпидемиологического надзора за современной холерой Эль-Тор лежит разработка ПЦР-тест-систем с учетом эволюционных преобразований генома.

Ключевые слова: холера Эль-Тор, эволюция возбудителя, геноварианты биовара Эль-Тор, патогенез, клиника, эпидемиология, ПЦР-диагностика, эпидемиологический надзор.

Адрес для переписки:

Савельева Ирина Вилориевна
355035, Россия, г. Ставрополь, ул. Советская, 13–15,
ФКУЗ Ставропольский противочумный институт
Роспотребнадзора.
Тел.: 8 962 000-59-18. Факс: 8 (865) 226-03-12.
E-mail: Stavnipchi@mail.ru

Contacts:

Irina V. Savelyeva
355035, Russian Federation, Stavropol, Soviet str., 13–15,
Stavropol Research Institute for Plague Control.
Phone: +7 962 000-59-18. Fax: +7 (865) 226-03-12.
E-mail: Stavnipchi@mail.ru

Для цитирования:

Савельева И.В., Куличенко А.Н., Савельев В.Н., Ковалев Д.А., Таран Т.В., Подопрigorа Е.И., Васильева О.В., Шапаков Н.А. Холера Эль-Тор на современном этапе седьмой пандемии: эволюция возбудителя, клинико-эпидемиологические особенности, лабораторная диагностика // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 917–926. doi: 10.15789/2220-7619-ETC-1476

Citation:

Savelyeva I.V., Kulichenko A.N., Saveliev V.N., Kovalev D.A., Taran T.V., Podoprigorа E.I., Vasilieva O.V., Shapakov N.A. El Tor cholera at the contemporary stage of the seventh pandemic: pathogen evolution, clinical and epidemiological features, laboratory diagnostics // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 917–926. doi: 10.15789/2220-7619-ETC-1476

EL TOR CHOLERA AT THE CONTEMPORARY STAGE OF THE SEVENTH PANDEMIC: PATHOGEN EVOLUTION, CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL FEATURES, LABORATORY DIAGNOSTICS

Savelyeva I.V., Kulichenko A.N., Saveliev V.N., Kovalev D.A., Taran T.V., Podoprighora E.I., Vasilieva O.V., Shapakov N.A.
Stavropol Research Institute for Plague Control, Stavropol, Russian Federation

Abstract. The phenotypic and molecular genetic properties of 133 strains of genetically modified (genovariant) *Vibrio cholerae* O1 El Tor biovar isolated from patients in Dagestan (1993, 1994, 1998), and compared with 246 strains of a typical toxigenic cholera vibrio El Tor biovar isolated in 1970–1990 at the Caucasus Region. It was found that 48.7% of the studied genetically modified strain variants had mixed phenotypic properties of the El Tor and classic biovars that evidences about a need to include the marker genes of the classical biovar (*ctxB^{Cl}*+, *rtxC*–) and the El Tor biovar (*ctxB^{El}*+, *rtxC*+) into the existing biotyping scheme. The genes of the El Tor biovar, isolated from patients in Dagestan, contain in addition to the El Tor ones, the genes of the classical biovar (*ctxB^{Cl}* and/or *rstR^{Cl}*), as well as the typical toxigenic cholera vibrios of El Tor, islands of persistence (EPI), pathogenicity (VPI-1 and VPI-2) and pandemicity (VSP-I and VSP-II). However, only the El Tor biovar genovariants were found to bear an integrative and conjugative SXT element with antibiotic polyresistance genes. Epidemic cholera outbreaks caused by the El Tor biovar genovariants that occurred in 1993–1998 at the Caucasus Region, correspond to classical (Asian) cholera based on disease severity. The epidemiological features of modern cholera were studied: the main way for transmission via fecal-oral route for typical El Tor cholera vibrio is waterborne, whereas for the El Tor gene variant — household. Primary infections upon water drinking and using domestic water from surface water bodies infected with typical El Tor vibrios occur outside the family hearth. In case of cholera caused by hybrid El Tor variants, infection is transmitted among family members via domestic factors under low sanitary level. The development of laboratory diagnostics and epidemiological surveillance of modern El Tor cholera is based on the development of PCR test systems taking into account the evolutionary genome transformations.

Key words: cholera El Tor, evolution of the pathogen, gene variants of biovar El Tor, pathogenesis, clinic, epidemiology, PCR diagnostics, epidemiological surveillance.

Введение

Седьмая пандемия холеры, начавшаяся на о. Сулавеси (Индонезия) в 1961 г., в настоящее время характеризуется интенсивными проявлениями инфекции в Африке, Азии и в Карибском бассейне на Гаити с высокой вероятностью выноса инфекции вследствие возрастающей активности миграции населения в другие страны, в том числе и в Россию. Основным возбудителем седьмой пандемии на протяжении более тридцати лет являлся холерный вибрион O1 биотипа Эль-Тор, геном которого содержит гены оперона *ctxAB*, кодирующие синтез термолabileного экзотоксина (СТ-2) — главного патогенетического фактора холеры. Типичные токсигенные вибрионы Эль-Тор (*V. cholerae* O1 биотипа El Tor, *Hly*–, *ctxA*+), устойчивые к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды за счет присутствия в их геноме островков персистенции (EPI), патогенности (VPI-1 и VPI-2) и пандемичности (VSP-I и VSP-II), были этиологическим фактором холеры в Азии (1961–1969 гг.), в Азии, Африке, Европе, США, Океании (1970–1980 гг.), в Азии, Африке, Европе, США, Океании, Австралии (1981–1990 гг.) [11, 12, 15].

В начале 90-х гг. прошлого столетия вследствие эволюционных преобразований появились штаммы холерного вибриона биовара Эль-Тор с генотипическими признаками классического биовара, продуцирующие классический тип энтеротоксина (СТ-1), обозначенные как гибридные, или генетически измененные

холерные вибрионы биовара Эль-Тор; они стали доминантными этиологическими агентами на современном этапе развития седьмой пандемии холеры Эль-Тор, а в первые два десятилетия XXI в., обладая высоким эпидемическим потенциалом, распространились по всему миру [2, 7, 9, 10, 13, 14, 16, 17, 18, 19].

В России завозные случаи холеры, обусловленные геновариантами биовара Эль-Тор, регистрировались в 1993 г. — завоз холеры в Дагестан из Пакистана; в 1994 г. — завоз в Дагестан паломниками, совершавшими хадж в Мекку; в 1998 г. — в Дагестан из Азербайджана; в 1999 г. — в Приморский край и на Сахалин из Китая; в 2010, 2012, 2014 гг. — авиаперейсами из Индии в Москву. Этиологический фактор завозной холеры был в то время идентифицирован как типичный токсигенный холерный вибрион биовара Эль-Тор.

Цель данного исследования — изучение и анализ биологических, молекулярно-генетических свойств геновариантов холерного вибриона биовара Эль-Тор и клинико-эпидемиологических особенностей обусловленной ими холеры на Кавказе; совершенствование лабораторного обеспечения эпидемиологического надзора за современной холерой Эль-Тор.

Материалы и методы

В работе использованы 246 штаммов типичных токсигенных *V. cholerae* O1 биотипа Эль-Тор, выделенные в период с 1970 по 1990 гг.

от больных холерой и из объектов окружающей среды на территории Кавказа (в Азербайджане, Армении, Грузии, Дагестане, Краснодарском и Ставропольском краях), 7 штаммов *V. cholerae cholerae*, выделенные в Индии, Пакистане в 1949, 1950 и 1965 гг. и 133 штамма генетически измененных холерных вибрионов биовара Эль-Тор, изолированных от больных в Дагестане в 1993, 1994 и 1998 гг. Все штаммы микроорганизмов получены из лаборатории «Коллекция культур патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора. Выделение, культивирование и идентификацию холерного вибриона осуществляли в соответствии с МУК 4.2.2218-07 «Лабораторная диагностика холеры» [4]. Анализ структуры генома изучаемых штаммов холерных вибрионов осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), в том числе с помощью ПЦР-тест системы «Гены *Vibrio cholerae* O1, вариант *ctxB*–*rstR*–*rstC*, РЭФ» (ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора). Подготовку проб для полимеразной цепной реакции проводили согласно МУК 4.2.2218-07 «Лабораторная диагностика холеры» [4] и МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» [6]. Экстракция тотальной ДНК исследуемых штаммов микроорганизмов проводилась с использованием коммерческого набора для выделения нуклеиновых кислот «АмплиПрайм ДНК-сорб-АМ» (АмплиСенс, Россия).

Секвенирование геномной ДНК проводили на генетическом анализаторе ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems) с набором реактивов BigDye Terminator v3.1 в соответствии с рекомендациями производителя. Исходные данные анализировали в программе Sequencing Analysis v5.4. При сопоставлении последовательностей были использованы программы FinchTV 1.4.0. b BLAST (NCBI). В качестве прототипных использовали нуклеотидные последовательности референс-штаммов *V. cholerae* N 16961 биовара Эль-Тор и классического биовара 0395, депонированных в базе данных GenBank.

Эпидемиологический анализ случаев заболеваний и вибриононосительства на Кавказе проводили в соответствии с руководствами «Эпидемиологический анализ» [3] и «Современный эпидемиологический анализ» [8]. С целью изучения эпидемиологических и клинических особенностей холеры, вызванной типичным токсигенным холерным вибрионом Эль-Тор, проведен ретроспективный анализ 198 эпидкарт и 410 историй болезни больных холерой (Дагестан, 1970–1973 гг., Ставрополь,

1990 г.), обусловленной типичным токсигенным холерным вибрионом биовара Эль-Тор, и 237 историй болезни больных и вибриононосителей из очагов холеры, этиологическим фактором которой явился генетически измененный (гибридный) вариант холерного вибриона биовара Эль-Тор в Республике Дагестан (Каякентский, Бабаюртовский, Кизлярский районы, гг. Избербаш, Дербент в 1993, 1994, 1998 гг.).

Результаты и обсуждение

Морфологические и фенотипические свойства возбудителя современной холеры Эль-Тор

Установлено, что, независимо от места и времени изоляции штаммов изучаемых микроорганизмов, последние таксономически относятся к роду *Vibrio* семейства *Vibrionaceae*, виду *Vibrio cholerae* серологической группы O1, серовару Ogawa или Inaba.

Вместе с тем оказалось, что если типичные токсигенные холерные вибрионы O1 серологической группы (выделенные в 1970–1990 гг.) фенотипически были биоваром Эль-Тор (устойчивы к 50 ЕД полимиксина В, агглютинировали эритроциты морской свинки, образовывали ацетилметилкарбинол в реакции Фогеса–Проскауэра, лизировались диагностическим бактериофагом Эль-Тор II), то часть (48,7%) генетически измененных вариантов имели смешанные фенотипические свойства биовара Эль-Тор и классического, что не позволяет отнести изучаемые штаммы холерных вибрионов к определенному биовару по набору традиционных фенотипических тестов. Учитывая выявленную изменчивость фенотипических признаков, определяющих классический биовар или биовар Эль-Тор, возникает необходимость поиска более стабильных генетических меток, свойственных тому или иному биовару. Поэтому в существующую схему биотипирования мы включили маркерные гены классического биовара (*ctxB^{cl+}*, *rtxC⁻*), биовара Эль-Тор (*ctxB^{el+}*), геноварианта биовара Эль-Тор (*ctxB^{cl+}*, *rtxC⁺*).

С целью совершенствования биотипирования *Vibrio cholerae* O1 в связи с глобальным распространением генетически измененных (гибридных) вариантов биовара Эль-Тор нами разработана схема биогенотипирования данных микроорганизмов (табл. 1).

Молекулярно-генетическая структура генома геновариантов биовара Эль-Тор

Молекулярно-генетический анализ измененных вариантов биовара Эль-Тор, выделенных в Дагестане (1993, 1994, 1998 гг.), показал, что эволюционные преобразования типичного

токсигенного биовара Эль-Тор (Кавказ, 1970–1990 гг.) в геновариант сопровождались изменениями структуры генов токсигенности коровой области профага СТХ₀ и профага RS1₀. Так, изучаемые гибридные варианты биовара Эль-Тор в своем геноме содержат, помимо эльторовских, гены классического биовара (*ctxB^{Cl}* и/или *rstR^{Cl}*), а также, как и типичные токсигенные холерные вибрионы Эль-Тор, острова персистенции (EPI), патогенности (VPI-1,2) и пандемичности (VSP-1,2), но только у геновариантов биовара Эль-Тор обнаруживается интегративный и конъюгативный элемент SXT с генами полирезистентности к антибиотикам (табл. 2).

Особенности патогенеза и клиники холеры, обусловленной геновариантами холерного вибриона биовара Эль-Тор

Процесс инфекционного заболевания, в том числе и холеры, обусловлен специфическими свойствами возбудителя, которые напрямую связаны с эволюционными изменениями молекулярно-генетической организации типичных холерных вибрионов биовара Эль-Тор: замена аллеля В3 в опероне *ctxAB* на аллель В1 привела к большей и качественно иной продукции основного патогенетического фактора болезни — холерного энтеротоксина (СТ-1 вместо СТ-2). Вследствие этого эпидемические вспышки хо-

Таблица 1. Схема биогенотипирования *Vibrio cholerae* O1

Table 1. A scheme of *Vibrio cholerae* O1 bio-genotyping

| Фенотипические и генотипические тесты Phenotypic and genotypic tests | Биовары <i>Vibrio cholerae</i> O1 <i>Vibrio cholerae</i> O1 biovars | | | | | | | |
|--|--|--|---|--|-----------|----------|-----------|--|
| | Классический Koch, 1883 Classical, Koch, 1883 | El Tor, нетоксигенный, Gotschich, 1905 El Tor, Non-toxigenic, Gotschich, 1905 | El Tor, типичный токсигенный, De Moor, 1963 El Tor, Typical toxigenic, De Moor, 1963 | El Tor, генетически измененный, Nair, Nusrin, Safa, 2002–2005 El Tor, Genetically modified, Nair, Nusrin, Safa, 2002–2005 | | | | |
| Реакция Фогеса–Проскауера Voges–Proskauer reaction | – | + | + | +- | +- | +- | +- | |
| Чувствительность к 50 ед. полимиксина Sensitivity to 50 units of polymyxin | + | – | – | -+ | -+ | -+ | -+ | |
| Агглютинация эритроцитов морской свинки Agglutination of guinea pig erythrocytes | – | + | + | +- | +- | +- | +- | |
| Фаг Эль Тор II/Phage El Tor II | – | + | + | +- | +- | +- | +- | |
| Фаг классический/Phage classic | + | – | – | -+ | -+ | -+ | -+ | |
| Гемолиз/Hemolysis | – | + | – | – | – | – | – | |
| Маркеры биовара Classical Biovar Classical markers <i>ctxB^{Cl}</i> + <i>rtxC</i> – | + | – | – | – | – | – | – | |
| Маркеры типичного токсигенного биовара Эль-Тор Typical toxigenic El Tor biovar markers <i>ctxB^{El}</i> | – | – | + | – | – | – | – | |
| Маркеры геноварианта Эль-Тор El Tor genovariant markers <i>ctxB^{Cl}</i> +, <i>rtxC</i> + | – | – | – | + | + | + | + | |
| Маркеры генотипов Эль-Тор El Tor genotype markers – <i>ctxB^{Cl}</i> , <i>rstR^{Cl}</i> , <i>rstREI</i> , <i>rtxC</i> – <i>ctxB^{Cl}</i> , <i>rstREI</i> , <i>rtxC</i> – <i>ctxB^{Cl}</i> , <i>rstR^{Cl}</i> , <i>rtxC</i> – <i>ctxB^{Cl}</i> , <i>rtxC</i> | – | – | – | + | – | – | – | |
| Холерный токсин (CT1)/Cholera toxin (CT1) | + | – | – | + | + | + | + | |
| Холерный токсин (CT2)/Cholera toxin (CT2) | – | – | + | – | – | – | – | |
| Генотип/Genotype | I | – | II | III | IV | V | VI | |

Примечание. Данные, представленные в табл. 1, позволяют подразделять *V. cholerae* O1, с учетом значения традиционных фенотипических тестов и маркерных генов, на биовары: классический, Эль-Тор и генетически измененный (гибридный) биовар Эль-Тор с определением его генотипов.

Note. The data presented allow to assign *V. cholerae* O1 to various biovars based on using data on routine phenotypic tests and gene markers: classical, El Tor and genetically modified (hybrid) El Tor biovar with its genotypes defined.

леры, обусловленные геновариантами биовара Эль-Тор, имевшие место в Дагестане (1993–1998), во Владивостоке (1999 г.), на Украине (1994, 2011 гг.), характеризовались преобладанием тяжелых форм течения болезни с выраженным обезвоживанием (III–IV степень), которые отмечены соответственно у 49,15, 65,2 и 68,8% больных, то есть холера, обусловленная геновариантами холерного вибриона биовара Эль-Тор, по своему течению соответствует классической (азиатской) холере. Патогенетические особенности типичного (действие на энтероциты тонкой кишки холерного токсина второго типа) и гибридного варианта холерного вибриона Эль-Тор (действие на энтероциты тонкой кишки холерного токсина первого типа) определили характер и выраженность клинических проявлений инфекционного процесса (табл. 3).

Источником холеры, обусловленной типичными холерными вибрионами биовара Эль-Тор или его геновариантами, является человек. Механизм заражения един — фекально-оральный. Однако основной путь реализации этого

механизма для типичного холерного вибриона Эль-Тор — водный (97% в г. Ставрополе в 1990 г. и 80% в Дагестане в 1970–1981 гг.), а для геноварианта Эль-Тор — контактно-бытовой (58,3% в Дагестане в 1994 г.). Первичные заражения при употреблении для питья и хозяйственно-бытовых нужд воды поверхностных водоемов, зараженных типичными вибрионами Эль-Тор, реализуются за пределами семейного очага. При холере, вызванной гибридными вариантами Эль-Тор, осуществляется занос инфекции в семью с последующим распространением среди ее членов при реализации бытовых факторов передачи в условиях низкого санитарного уровня проживающих: в очагах инфекции гибридный вариант Эль-Тор обнаруживается в смывах с кухонного стола, умывальника, унитаза, ручек дверей туалета, что способствует формированию значительного процента очагов с двумя и более случаями заболеваний (табл. 4). Изучая зависимость характера эпидемического процесса от биологических свойств различных вариантов токсигенных вибрионов Эль-Тор (табл. 4),

Таблица 2. Структура генома типичных и измененных холерных вибрионов биовара Эль-Тор, выделенных от больных на Кавказе, по результатам ПЦР-анализа

Table 2. PCR-based genome structure for typical and altered EI Tor biovar cholera vibrio isolated from patients in the Caucasus Region

| Гены <i>Vibrio cholerae</i> O1 <i>Vibrio cholerae</i> O1 genes | Биовары <i>Vibrio cholerae</i> O1 <i>Vibrio cholerae</i> O1 biovars | | | |
|--|--|--|---|--|
| | Гибридный вариант биовара Эль-Тор Hybrid variant of EI Tor biovar n = 50 | Типичный токсигенный биовар Эль-Тор Typical toxigenic EI Tor biovar n = 50 | Типичный токсигенный биовар Эль-Тор Typical toxigenic EI Tor biovar 16961 GenBank | Классический биовар Classical biovar 569 GenBank |
| CTXϕ коровая область CTX ϕ core region <i>cep</i> — <i>zot</i> ; <i>ctxA</i> ; <i>ctxB^{CL}</i> ; <i>ctxB^{EL}</i> | + , + + , + – | + , + + , – + | + , + + , – + | + , + + , + – |
| RS2-область RS2-region <i>rstA</i> ; <i>rstB</i> ; <i>rstR^{CL}</i> ; <i>rstR^{EL}</i> | + , + + – , ++ | + , + – , + | + , + – , + | + , + + , – |
| RS1₀ <i>rstC</i> | + | + | + | – |
| RTX <i>rtxA</i>, <i>rtxC</i> | + , + | + , + | + , + | – , – |
| EPI <i>mshQ</i>, <i>ompW</i> | + , + | + , + | + , + | – , – |
| VPI-1 <i>tcpA^{EL}</i>, <i>tcpA^{CL}</i> | + , – | + , – | + , – | – , – |
| VPI-2 <i>VC1758</i>, <i>VC1760</i> | + , + | + , + | + , + | – , – |
| VSP-I <i>VC0175</i>, <i>VC0185</i> | + , + | + , + | + , + | – , – |
| VSP-II <i>VC0490</i> | + | + | + | – , – |
| SXT <i>strB</i>, <i>sullI</i> <i>dfrA1</i>, <i>dfr18</i> | + , + + , + | – , – – , – | – , – – , – | – , – – , – |
| Нуклеотидная/ аминокислотная последовательность Nucleotide/amino acid sequence | 115(T/C), 203 (T/C)/39 (H), 68 (T) | 115 (T), 203 (T)/39 (Y), 68 (I) | 115 (T), 203 (T)/39 (Y), 68 (I) | 115 (C), 203 (C)/39 (H), 68 (T) |

Таблица 3. Количество случаев и тяжесть течения холеры, вызванной типичными (1) и гибридными вариантами (2) холерного вибриона Эль-Тор

Table 3. Incidence rate and severity of cholera course caused by typical (1) and hybrid (2) El Tor cholera vibrio variants

| Тяжесть течения холеры Эль-Тор, исходы Severity of El Tor cholera course, outcomes | Количество случаев Number of cases | | | | Достоверность разницы показателей P-value |
|---|--|-----------|------------------------------|------------|--|
| | 1 | | 2 | | |
| | г. Ставрополь City of Stavropol 1990 | | Дагестан Dagestan 1994 | | |
| | абс./abs. | P±m% | абс./abs. | P±m% | |
| Всего случаев инфицирования Total incidence rate | 70 | | 2369 | | |
| Число больных Number of patients | 49 | | 1129 | | |
| Легкое течение (дегидратация I–II) Mild course (dehydration I–II) | 44 | 89,8±4,56 | 687 | 60,85±1,86 | P < 0,001 |
| Средне тяжелое (дегидратация II–III) Moderate course (dehydration II–III) | 4 | 8,2±15,8 | 241 | 21,35±2,6 | |
| Тяжелое течение (дегидратация III–IV) Severe course (dehydration III–IV) | 1 | 2,0±14,0 | 201 | 17,8±1,7 | |
| Число вибрионосителей Number of vibriocarriers | 21 | 30,0±5,1 | 1240 | 52,3±1,0 | P < 0,01 |
| Число летальных исходов Number of lethal outcomes | – | – | 24 | 2,13±3,0 | |

мы пришли к выводу, что эпидемический тип проявления холеры Эль-Тор обуславливается как типичным *V. cholerae* O1 биотипа Эль-Тор (*Hly₇ ctx⁺*), так и гибридными вариантами холерного вибриона Эль-Тор. При этом показатели заболеваемости и инфицированности при холере, вызванной типичными токсигенными холерными вибрионами Эль-Тор, колебались соответственно от 0,5 до 19,6 на 100 тыс. населения (Ставропольский край, 1970–1975, 1990 гг.) 2,5 (Дагестан, 1970–1981) и от 0,5 до 28, 12,8 на 100 тыс. населения, а обусловленные гибридными вариантами холерного вибриона Эль-Тор — соответственно 55,8 и 117,6 (Дагестан, 1994) на 100 тыс. населения. В некоторых районах Дагестана в 1994 г. показатели инфицированности населения гибридными вариантами Эль-Тор были еще выше: 568,1 на 100 тыс. населения (г. Избербаш) и 697,5 на 100 тыс. населения (Каякентский район) [5].

Механизм заражения типичным или гибридным вариантом холерного вибриона Эль-Тор один — фекально-оральный. Однако основной путь реализации этого механизма для типичного холерного вибриона Эль-Тор — водный (97,0% в г. Ставрополе в 1990 г. и 80,0% в Дагестане в 1970–1981 гг.), а для гибридного варианта Эль-Тор — контактно-бытовой (58,3% в Дагестане в 1994 г.). Контактно-бытовой путь передачи возбудителя болезни был доминирующим в горных районах Дагестана в 1994 г., его удельный вес достигал 64,6–96,4% (Шалинский, Тлярятинский

районы) [5]. При этом процент очагов с двумя и более случаями холеры, обусловленной типичными холерными вибрионами Эль-Тор, составил 22,0% (г. Ставрополь, 1990 г.). Первичные заражения здесь имели место непосредственно в семьях, все члены которых находились в одинаковых условиях водопользования родниковой водой, зараженной типичными холерными вибрионами Эль-Тор. Этот показатель оказался значительно более низким (12,0%) в Дагестане в 1970–1981 гг., когда первичные заражения реализовывались за пределами семейного очага при употреблении для питья и хозяйственно-бытовых нужд воды поверхностных водоемов, зараженных типичными вибрионами Эль-Тор.

Семейные очаги вообще не были зарегистрированы при спорадической заболеваемости холерой, вызванной типичными вибрионами Эль-Тор.

В период эпидемии холеры в 1994 г. в Дагестане, вызванной гибридными вариантами Эль-Тор, осуществлялся занос холеры в семью с последующим распространением среди ее членов при реализации бытовых факторов передачи. Анализ 84 очагов холеры в Дербенте и 38 очагов в сельской местности Дербентского и Каякентского районов показал, что процент очагов с двумя и более случаями инфицированности (больные и вибрионосители) оказался довольно высоким и составил в Дербенте 37,6%, а в сельской местности — 43,3%. Имели место и очаги с 4–7 случаями [1].

В целом по республике очаговость составила на трех административных территориях 25,1%, на четырех — 41,8%, на двадцати четырех 50,2–94,7% [1].

Инфицированность в семьях типичным холерным вибрионом Эль-Тор составила 22,0% в Ставрополе в 1990 г. и 10–12,0% в Дагестане

в 1970–1981 гг., а гибридным вариантом холерного вибриона Эль-Тор в Дагестане в 1994 г. — 40,3%. В отличие от холеры, обусловленной типичными холерными вибрионами Эль-Тор, контактных и больных холерой, вызванной геновариантами биовара Эль-Тор, выявляли в Дагестане в 1994 г. по месту работы (27,2%),

Таблица 4. Характеристика некоторых показателей эпидемического процесса холеры, обусловленной типичными (1) и гибридными (2) вариантами холерного вибриона O1 Эль-Тор

Table 4. Characterization of some indicators of cholera epidemic process caused by typical (1) and hybrid (2) *V. cholerae* O1 El Tor variants

| Место, годы проявления холеры, возбудитель Region, years of outbreak pathogen | Ставропольский край Stavropol Krai | | Дагестан Dagestan | |
|---|---------------------------------------|------------------------------|--|--|
| | 1970–1975 | 1990 | 1970–1981 | 1994 |
| Показатели Parameters | 1 | 1 | 1 | 2 |
| Абсолютное число больных/вибрионосителей Absolute number of patients/vibriocarriers | 10/0 | 49/21 | 60/196 | 1119/1240 |
| Заболееваемость на 100 тыс. населения Morbidity rate per 100,000 population | 0,5–1,5 | 19,6 | 2,5 | 55,8 |
| Инфицированность на 100 тыс. населения Infection rate per 100,000 population | 0,5–1,5 | 28 | 12,8 | 117,9 |
| Очаговость (доля очагов с 2 и более случаями) Focality rate (percentage of foci with 2 or more cases) | 0 | 22% | 12% | 67% |
| Инфицированность контактных (в семье, на работе, по месту учебы и т. д.) Infection rate of contact persons (family, workplace, educational facility etc.) | 0 | в семье in family 22% | в семье in family 10–12,0% | в семье — 40%, на работе — 27,2%, по месту учебы — 36% in family — 40%, workplace — 27.2%, educational facility — 36% |
| Факторы передачи возбудителя Factors of pathogen transmission | вода водоемов water body | вода родника spring water | вода водоемов water body | к-б факторы, пища, вода hc factors, food, water |
| Пути передачи возбудителя Routes of pathogen transmission | водный waterborne 100% | водный waterborne 97% | водный — 80%, пищевой — 15%, к-б — 5,0% waterborne — 80%, food — 15%, hc — 5.0% | к-б — 58,3%, пищевой — 15%, водный — 3,3% hc — 58.3%, food — 15%, water — 3.3% |
| Характер заболеваемости (форма реализации эпидпроцесса) Type of infectious process (enabled epidemiological process) | спорадическая sporadic | эпидемическая epidemic | спорадическая sporadic | эпидемическая epidemic |
| Выявление первого случая холеры Detected first cholera case | манифестация manifestation | | | |
| Генез случаев холеры Origin of cholera outbreak | завоз imported | | | |

Примечание. К-б — контактно-бытовой путь.

Note. hc — household contact.

учебы (1,36%), в холерных госпиталях (4,4%), в режимном учреждении (0,99%).

Первые выявленные случаи холеры, вызванной типичными или гибридными вариантами холерного вибриона Эль-Тор, были завозными и манифестными.

Лабораторная диагностика современной холеры Эль-Тор

Эволюционные преобразования генома возбудителя холеры, начавшиеся в девятые годы прошлого столетия, продолжаются, в связи с чем программа эпидемиологического надзора должна включать постоянный молекулярно-генетический мониторинг за изменениями генома холерных вибрионов, обнаруживаемых у человека или в объектах окружающей среды. С этой целью ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора разработана и рекомендована к применению на учрежденческом уровне ПЦР-тест-система «Гены *Vibrio cholerae* O1 вариант *ctxB*–*rstR*–*rstC*, РЭФ», позволяющая идентифицировать штаммы *Vibrio cholerae* O1 с определением биовара и дифференцировать биовар Эль-Тор на типичные токсигенные и генетически измененные варианты методом мультиплексной полимеразной цепной реакции с электрофоретическим учетом результатов.

Выводы

1. Штаммы *V. cholerae* O1, выделенные в 1993, 1994, 1998 гг. в Дагестане, по основным фенотипическим свойствам не отличаются от типичного токсигенного холерного вибриона биовара Эль-Тор. Вместе с тем 48,7% изученных штаммов геновариантов холерного вибриона имели смешанные фенотипические свойства Эль-Тор и классического биовара, что диктует необходимость в существующую схему биотипирования включить маркерные гены классического биовара (*ctxB*^{Cl+}, *rtxC*–), биовара Эль-Тор (*ctxBEI*+), геновариантов биовара Эль-Тор (*ctxB*^{Cl+}, *rtxC*+), выявляемые в ДНК холерных вибрионов методом ПЦР.

2. Молекулярно-генетический анализ штаммов биовара Эль-Тор, выделенных в Дагестане (1993, 1994, 1998 гг.), показал, что структура их генома претерпела эволюционные преобразования в коровой области профага СТХ_φ и профага RS1_φ: изучаемые штаммы биовара Эль-Тор в своем геноме содержат, помимо эльторовских, гены классического биовара (*ctxB*^{Cl} и/или *rstR*^{Cl}). Такие штаммы получили название «гибридные», или «генетически измененные», варианты холерного вибриона биовара Эль-Тор. Как и типичные токсигенные холерные вибрионы Эль-Тор, они имеют острова персистенции

(EPI), патогенности (VPI-1,2) и пандемичности (VSP-I,II), но только у геновариантов биовара Эль-Тор обнаруживается интегративный и конъюгативный элемент SXT с генами полирезистентности к антибиотикам.

3. Особенности процесса инфекционного заболевания, в том числе и холеры, обусловлены специфическими свойствами возбудителя, которые напрямую связаны с эволюционными изменениями молекулярно-генетической организации типичных холерных вибрионов биовара Эль-Тор: замена аллеля В3 в опероне *ctxAB* (штаммы холерного вибриона, выделенные на Кавказе с 1970 по 1990 гг.) на аллель В1 (штаммы геновариантов холерного вибриона, выделенные на Кавказе в 1993, 1994, 1998 гг.) привела к большей и качественно иной продукции основного патогенетического фактора болезни — холерного энтеротоксина (СТ-1 вместо СТ-2). Вследствие этого эпидемические вспышки холеры, обусловленные геновариантами биовара Эль-Тор, по своему течению соответствуют вспышкам классической (азиатской) холеры.

4. Выявлены эпидемиологические особенности современной холеры. Источником холеры, обусловленной типичными холерными вибрионами биовара Эль-Тор или его геновариантами является человек. Механизм заражения един — фекально-оральный. Однако основной путь реализации этого механизма для типичного холерного вибриона Эль-Тор (штаммы холерного вибриона, выделенные на Кавказе с 1970 по 1990 гг.) — водный, а для геноварианта Эль-Тор (штаммы геновариантов холерного вибриона, выделенные на Кавказе в 1993, 1994, 1998 гг.) — контактно-бытовой. Первичные заражения при употреблении для питья и хозяйственно-бытовых нужд воды поверхностных водоемов, зараженных типичными вибрионами Эль-Тор, реализуются за пределами семейного очага. При холере, вызванной гибридными вариантами Эль-Тор, осуществляется занос инфекции в семью с последующим распространением среди ее членов при реализации бытовых факторов передачи в условиях низкого санитарного уровня проживающих.

5. В основе совершенствования лабораторной диагностики и эпидемиологического надзора за современной холерой Эль-Тор лежит использование ПЦР-тест-систем с учетом эволюционных преобразований генома типичного токсигенного холерного вибриона в геновариант биовара Эль-Тор. Эволюционные преобразования генома возбудителя холеры, начавшиеся в девятые годы прошлого столетия, продолжают, возможно формирование других генетически измененных вариантов холерного вибриона биовара Эль-Тор, но эпидемический потенциал их будет определяться продукци-

ей энтеротоксина первого типа. В связи с этим программа эпидемиологического надзора должна включать постоянный молекулярно-генетический мониторинг за изменениями генома холерных вибрионов различных серологических

групп, обнаруживаемых у человека или в объектах окружающей среды, что позволит своевременно прогнозировать появление генетически измененных вариантов с продукцией холерного токсина классического типа.

Список литературы/References

1. Грижебовский Г.М., Асваров Б.М., Попов В.А., Евченко Ю.М., Савельев В.Н., Ефременко В.И., Ляховер М.Л., Рахоев М.-Р.А., Кадиев Ш.З., Сеидова М.М., Таран О.И. О механизмах внутриочагового и территориального распространения холеры в Республике Дагестан // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, приложение. 1995. № 2. С. 27–30. [Grizhebovskiy G.M., Asvarov B.M., Popov V.A., Evchenko Yu.M., Savel'ev V.N., Efremenko V.I., Lyakhover M.L., Rakhoev M.-R.A., Kadiev Sh.Z., Seidova M.M., Taran O.I. About the mechanisms of intrafocal and territorial spreading of cholera in Dagestan Republic. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii, prilozhenie = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology (Suppl.)*, 1995, no. 2, pp. 27–30. (In Russ.)]
2. Заднова С.П., Шашкова А.В., Краснов Я.М., Смирнова Н.И. Фенотипический и генетический анализ измененных вариантов *Vibrio cholerae* биовара Эль-Тор // Проблемы особо опасных инфекций. 2012. № 1 (111). С. 57–61. [Zadnova S.P., Shashkova A.V., Krasnov Ya.M., Smirnova N.I. Phenotypic and Genetic Analysis of Altered Variants of *Vibrio cholerae* Biovar El Tor. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections, Saratov*, 2012, no. 1 (111), pp. 57–61 (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2012-1(111)-57-61
3. Клименко Е.П., Попов В.Ф., Степанов Г.П. Эпидемиологический анализ. М.: Медицина, 1983. 192 с. [Klimenko E.P., Popov V.F., Stepanov G.P. Epidemiological analysis. M.: Medicine, 1983. 192 p. (In Russ.)]
4. Лабораторная диагностика холеры. Методические указания. МУК 4.2.2218-07. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007. 87 с. [Cholera laboratory diagnostics. Methodical guidelines. MG 4.2.2218-07. M.: Federal Centre of Hygiene and u Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2007. 87 p. (In Russ.)]
5. Онищенко Г.Г., Ломов Ю.М., Москвитина Э.А., Чебуряев В.И., Ляховер М.Л., Рахоев М.-Р.А., Терентьев А.Н., Асваров Б.М., Чернышов С.Н., Гаджиева С.З., Исмаилов Ф.М., Бугаков Н.П. Холера в начале века. Прогноз // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, приложение. 2005, № 3. С. 44–48. [Onishchenko G.G., Lomov Yu.M., Moskvitina E.A., Cheburaev V.I., Lyakhover M.L., Rakhoev M.-R.A., Terent'ev A.N., Asvarov B.M., Chernyshov S.N., Gadzhieva S.Z., Ismailov F.M., Bugakov N.P. Cholera at the beginning of the XXI century. Prognosis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2005, no. 3, pp. 43–48 (In Russ.)]
6. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности: методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. 51 с. [Arrangement of work of laboratories using Nucleic Acid Amplification Techniques on materials containing microorganisms of I–IV pathogenic risk groups: methodical guidelines. M.: Federal Centre of Hygiene and u Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2010. 51 p. (In Russ.)]
7. Смирнова Н.И., Заднова С.П., Шашкова А.П., Кутырев В.В. Вариабельность генома измененных вариантов *Vibrio cholerae* биовара Эль-Тор, изолированных на территории России в современный период // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2011, № 3. С. 11–17. [Smirnova N.I., Zadnova S.P., Shashkova A.P., Kutyrev V.V. Genome variability in the altered variants of *Vibrio cholerae* biovar El Tor isolated in Russia. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2011, no. 3, pp. 11–17. (In Russ.)]
8. Шаханина И.Л., Чернова Г.П., Ивлиева И.М. Современный эпидемиологический анализ: обзорная информация. М.: ВНИИМИ, 1987. 71 с. [Shakhanina I.L., Chernova G.P., Ivlieva I.M. Modern epidemiological analysis: survey information. M.: VNIIMI, 1987. 71 p. (In Russ.)]
9. Ghosh-Banerjee J., Senoh M., Takahashi T., Hamabata T., Barman S., Koley H., Mukhopadhyay A.K., Ramamurthy T., Chatterjee S., Asacura M., Yamasaki S., Nair G.B., Takeda Y. Cholera toxin production by the El Tor variant of *Vibrio cholerae* O1 compared to prototype El Tor and classical biotypes. *J. Clin. Microbiol.*, 2010, vol. 48, no. 11, pp. 4283–4286. doi: 10.1128/JCM.00799-10
10. Grim C.J., Hasan N.A., Taviani E. Hybrid *Vibrio cholerae* O1 MJ-1236, B-33, and CIRS 101 and comparative genomics with *V. cholerae*. *J. Bacteriol.*, 2010, vol. 45, pp. 2991–3000. doi: 10.1128/JB.00040-10
11. Haan J., Hirst N.R. Cholera toxin: a paradigm for multi-functional engagement of cellular mechanisms. *Mol. Membr. Biol.*, 2004, vol. 21, no. 2, pp. 77–92. doi: 10.1080/09687680410001663267
12. Dziejman M., Balon E., Boyd D., Fraser C.M., Heidelberg J.F., Mekalanos J.J. Comparative genomic analysis of *Vibrio cholerae*: genes that correlate with cholera endemic and pandemic disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, vol. 99, no. 3, pp. 1556–1561. doi: 10.1073/pnas.042667999
13. Nair G.B., Qadri F., Holmgren J. Cholerae due to altered El Tor strains of *Vibrio cholerae* O1 in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, vol. 44, pp. 4211–4213. doi: 10.1128/JCM.01304-06
14. Nguyen B.M., Lee J.H., Cuong N.T. Cholera outbreaks caused by an altered *Vibrio cholerae* O1 El Tor strain producing classical cholera toxin B in Vietnam in 2007 to 2008. *J. Clin. Microbiol.*, 2009, vol. 47, no. 5, pp. 1568–1571. doi: 10.1128/JCM.02040-08
15. Pradhan S., Baidya A.K., Ghosh A., Paul K., Chowdhury R. The El Tor biotype of *Vibrio cholerae* exhibits *Vibrio cholerae* a growth advantage in the stationary phase in mixt cultures with the classical biotype. *J. Bacteriol.*, 2010, vol. 192, no. 4, pp. 955–963. doi: 10.1128/JB.01180-09
16. Raychoudhuri A., Patra T., Ramamurthy T., Nandy R., Takeda Y., Nair G.B., Mukhopadhyay A.K. Classical ctxB in *Vibrio cholerae* O1, Kolkata, India. *Emerg. Infect. Dis.*, 2009, vol. 15, no. 1, pp. 131–132. doi: 10.3201/eid1501.080543

17. Safa A., Sultana J., Cam P.D., Mwansa J.C., Kong R.Y.C. *Vibrio cholerae* O1 hybrid El Tor strains, Asia and Africa. *Emerg. Infect. Dis.*, 2008, vol. 15, no. 6, pp. 987–988. doi: 10.3201/eid1406.080129
18. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y.C. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends Microbiol.*, 2010, vol. 18, pp. 46–54. doi: 10.1016/j.tim.2009.10.003
19. Siddique A.K., Nair G.B., Alam M., Sack D.A., Hug A., Nizam A., Longini I.M., Qadri M., Faruque S.M., Colwell R.R., Ahmed S., Iqbal A., Bhuiyan N.A., Sack R.B. El Tor cholera with severe disease: a new threat to Asia and Benond. *Epidemiol. Infect.*, 2010, vol. 138, no. 3, pp. 346–352. doi: 10.1017/S0950268809990550

Авторы:

Савельева И.В., к.м.н., врач-бактериолог научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций, ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия;

Куличенко А.Н., член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор, директор ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия;

Савельев В.Н., д.м.н., старший научный сотрудник, зав. лабораторией диагностики холеры и других кишечных инфекций, ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия;

Ковалев Д.А., к.х.н., зав. лабораторией биохимии, ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия;

Таран Т.В., д.м.н., зав. лабораторией подготовки специалистов, ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия;

Подопригора Е.И., младший научный сотрудник лаборатории подготовки специалистов, ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия;

Васильева О.В., к.м.н., врач-бактериолог лаборатории диагностики холеры и других кишечных инфекций, ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия;

Шапаков Н.А., специалист по технической документации лаборатории биохимии, ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия.

Authors:

Savelyeva I.V., PhD (Medicine), Bacteriologist of the Scientific and Production Laboratory of Preparations for the Diagnosis of Highly Dangerous and Other Infections, Stavropol Research Institute for Plague Control, Stavropol, Russian Federation;

Kulichenko A.N., RAS Corresponding Member, PhD, MD (Medicine), Professor, Director of the Stavropol Research Institute for Plague Control, Stavropol, Russian Federation;

Saveliev V.N., PhD, MD (Medicine), Senior Researcher, Head of the Laboratory for the Diagnostics of Cholera and Other Intestinal Infections, Stavropol Research Institute for Plague Control, Stavropol, Russian Federation;

Kovalev D.A., PhD (Chemistry), Head of the Biochemistry Laboratory, Stavropol Research Institute for Plague Control, Stavropol, Russian Federation;

Taran T.V., PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory for Specialist Training, Stavropol Research Institute for Plague Control, Stavropol, Russian Federation;

Podoprighora E.I., Junior Researcher, Laboratory for Specialist Training, Stavropol Research Institute for Plague Control, Stavropol, Russian Federation;

Vasilieva O.V., PhD (Medicine), Bacteriologist, Laboratory for the Diagnostics of Cholera and Other Intestinal Infections, Stavropol Research Institute for Plague Control, Stavropol, Russian Federation;

Shapakov N.A., Specialist in Technical Documentation, Biochemistry Laboratory, Stavropol Research Institute for Plague Control, Stavropol, Russian Federation.

ПОПУЛЯЦИОННЫЙ ИММУНИТЕТ К СЕЗОННЫМ ВИРУСАМ ГРИППА НАКАНУНЕ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО СЕЗОНА И ТЯЖЕЛЫЕ СЛУЧАИ ЗАБОЛЕВАНИЯ В 2019–2020 гг.

Т.Н. Ильичева¹, Н.П. Колосова¹, А.Г. Дурьманов¹, П.Ю. Торжкова¹,
С.В. Святченко¹, Ю.А. Буланович¹, Е.В. Иванова², К.И. Иванова¹, А.Б. Рыжиков¹

¹ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

² ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Новосибирской области Роспотребнадзора, г. Новосибирск, Россия

Резюме. Цель работы — анализ популяционного иммунитета к гриппу накануне эпидемического сезона, а также тяжелых случаев заболевания в 2019–2020 гг. **Методы.** Образцы сывороток крови были собраны сотрудниками ЦГиЭ в субъектах Российской Федерации до проведения кампании по вакцинации населения от гриппа. После проведения вакцинации были собраны образцы сывороток в Сибирском ФО. Сыворотки тестировали в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с вакцинными штаммами A/Brisbane/02/2018 (H1N1)pdm09, A/Kansas/14/2017 (H3N2), B/Colorado/06/2017 (линия «Виктория»). Первичный клинический и аутопсийный материал в случаях заболевания вакцинированных, при летальных исходах гриппа и тяжелом течении болезни собирали и тестировали в ОТ-ПЦР сотрудники региональных центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. Положительные образцы были переданы в ГНЦ ВБ «Вектор». **Результаты.** Всего было исследовано 7896 образцов сывороток крови, собранных до вакцинации населения, и 600 образцов, собранных в Сибирском ФО после вакцинации. Накануне эпидемического сезона количество положительных образцов к вирусу гриппа А субтипов А/(H1N1)pdm09 и А/Н3N2 в большинстве регионов было выше 50%. Количество положительных образцов к вирусу гриппа В было существенно ниже: от 12% в Северо-Западном ФО до 46% в Приволжском ФО. После проведения вакцинации населения количество положительных образцов в Сибирском ФО выросло с 66 до 79% по субтипу А/(H1N1)pdm09, с 68 до 76% по субтипу А/Н3N2, с 32 до 47% в случае вируса гриппа В/Виктория. В 2019–2020 гг. тяжелое заболевание чаще вызывал вирус гриппа В, что согласуется с данными о популяционном иммунитете накануне эпидемии. Однако смертельные исходы в подавляющем числе случаев были вызваны вирусом гриппа А субтипа А/Н1N1pdm09. **Заключение.** Качество гриппозной вакцины, особенно предназначенной для групп риска, остается актуальной проблемой современной науки. Исследование проводилось в рамках выполнения государственного задания ГЗ-3/21 и ГЗ-2/21.

Ключевые слова: вирус гриппа, популяционный иммунитет, реакция торможения гемагглютинации, защитные титры антител, тяжелое заболевание, смертность от гриппа, группы риска.

Адрес для переписки:

Ильичева Татьяна Николаевна
630559, Россия, Новосибирская область, р.п. Кольцово,
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.
Тел.: 8 383 363-47-00. Факс: 8 383 336-74-09.
E-mail: ilicheva_tn@vector.nsc.ru

Contacts:

Tatyana N. Ilyicheva
630559, Russian Federation, Novosibirsk Region,
Koltsovo, State Scientific Center of Virology and Biotechnology
“Vector” of Rosпотребнадзор.
Phone: +7 383 363-47-00. Fax: +7 383 336-74-09.
E-mail: ilicheva_tn@vector.nsc.ru

Для цитирования:

Ильичева Т.Н., Колосова Н.П., Дурьманов А.Г., Торжкова П.Ю.,
Святченко С.В., Буланович Ю.А., Иванова Е.В., Иванова К.И.,
Рыжиков А.Б. Популяционный иммунитет к сезонным вирусам гриппа
накануне эпидемического сезона и тяжелые случаи заболевания
в 2019–2020 гг. // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 927–933.
doi: 10.15789/2220-7619-HIT-1456

Citation:

Ilyicheva T.N., Kolosova N.P., Durymanov A.G., Torzhkova P.Yu.,
Svyatchenko S.V., Bulanovich Yu.A., Ivanova E.V., Ivanova K.I., Ryzhikov A.B.
2019–2020 herd immunity to seasonal influenza viruses prior to epidemic
season and rate of severe disease cases // Russian Journal of Infection
and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 927–933.
doi: 10.15789/2220-7619-HIT-1456

2019–2020 HERD IMMUNITY TO SEASONAL INFLUENZA VIRUSES PRIOR TO EPIDEMIC SEASON AND RATE OF SEVERE DISEASE CASES

Ilyicheva T.N.^a, Kolosova N.P.^a, Durymanov A.G.^a, Torzhkova P.Yu.^a, Svyatchenko S.V.^a, Bulanovich Yu.A.^a, Ivanova E.V.^b, Ivanova K.I.^a, Ryzhikov A.B.^a

^a State Scientific Center of Virology and Biotechnology “Vector” of Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

^b Center for Hygiene and Epidemiology in Novosibirsk Region of Rospotrebnadzor, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. The aim was to analyze herd immunity against influenza viruses as well as severe course of influenza infection prior to the 2019–2020 epidemic season. *Methods.* Blood sera samples were collected prior to and after conducting population-wide influenza vaccination campaign at the sanitary and epidemiological centers in different regions of the Russian Federation as well as at the Siberian Federal District, respectively. Sera samples were tested by using hemagglutination inhibition (HI) assay with vaccine strains A/Brisbane/02/2018 (H1N1)pdm09, A/Kansas/14/2017 (H3N2), B/Colorado/06/2017 (Victoria lineage). Baseline clinical and autopsy materials in case of influenza infection in vaccinated patients or severe and fatal influenza cases were collected to be tested by RT-PCR at the sanitary and epidemiological centers, Rospotrebnadzor. All influenza-virus positive samples were further sent to the SRC VB “Vector”. *Results.* A total of 7,896 and 600 blood serum samples were collected from subjects at Siberian Federal District prior to and after the population-wide influenza vaccination campaign, respectively. Prior to the epidemic season, the proportion of individuals seropositive for the influenza A virus subtypes A/(H1N1)pdm09 and A/H3N2 exceeded 50% in most of the regions, whereas frequency of those seropositive for the influenza B virus was profoundly lower ranging from 12 to 46% in the Northwestern Federal District and Volga Federal District, respectively. After influenza vaccination, the percentage of seropositive subjects in the Siberian Federal District increased as follows: for influenza subtype A/(H1N1)pdm09 — from 66 up to 79%, influenza subtype A/H3N2 — from 68 up to 78%, and for influenza B/Victoria — from 32 up to 47%. In 2019–2020, influenza B virus more frequently caused severe infection that agrees with the herd immunity data prior to the epidemic season. However, the vast majority of the influenza cases with fatal outcome was associated with influenza virus A A/H1N1pdm09 subtype. *Conclusion.* Quality of influenza vaccine, especially that one intended to vaccinate risk group subjects remains a crucial issue for contemporary scientific community. The study was conducted within the framework of the State Assignments no. 1/16 and 2/18.

Key words: influenza virus, herd immunity, hemagglutination inhibition test, antibody protective titers, severe influenza, influenza death rate, risk groups.

Введение

Грипп — острое респираторное заболевание, вызываемое вирусами гриппа А и В, которое каждый год поражает около 1 млрд человек, вызывает около 3–5 млн случаев тяжелых заболеваний и 300–500 тыс. смертей [19].

Все группы населения подвержены заражению вирусами гриппа; однако такие группы, как младенцы и дети до 5 лет, беременные женщины, пожилые люди и лица с ослабленным иммунитетом, наиболее подвержены риску развития тяжелого заболевания и осложнений после гриппа. Последствия и осложнения гриппа В других группах часто трудно предсказать. Однако известно, что нередко на фоне гриппа выявляются не диагностированные ранее хронические заболевания. В связи с этим Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) рекомендует проводить ежегодную вакцинацию с охватом около 50% населения, а для групп риска этот показатель должен быть не ниже 75% [20].

В России накануне эпидемического сезона 2019–2020 за счет средств федерального бюджета было привито более 17,9 млн детей и 46,3 млн взрослых, а за счет других источников финансирования прививки от гриппа получили более

9,6 млн человек. В целом в стране вакцинировано почти 74 млн человек — это 50,5% от всего населения [2].

Целью настоящей работы был анализ популяционного иммунитета к сезонным вирусам гриппа накануне эпидемического сезона, а также тяжелых случаев заболевания в 2019–2020 гг.

Материалы и методы

7896 образцов сывороток крови были собраны сотрудниками центров гигиены и эпидемиологии в субъектах Российской Федерации до проведения кампании по вакцинации населения от гриппа В августе–сентябре 2019 г., 600 образцов были собраны в Сибирском федеральном округе (СФО) в ноябре 2019 г., после проведения вакцинации. Сбор сывороток от здоровых доноров, транспортировка материала в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора и методика РТГА выполнялись как описано ранее [7].

В работе использованы сухие гриппозные диагностикумы для проведения реакции торможения гемагглютинации производства ООО «Предприятие по производству диагностических препаратов» (Санкт-Петербург, Россия), изготовленные на основе следующих штаммов вирусов

гриппа А и В: А/Brisbane/02/2018 (H1N1)pdm09, А/Kansas/14/2017 (H3N2), В/Colorado/06/2017 (линия Виктория).

Все образцы сывороток против каждого вирусного антигена тестировали дважды. Если титры различались более чем в 2 раза, РТГА с этими образцами повторяли. Для определения статистической значимости различий в титрах РТГА между группами пациентов разных регионов использовался критерий χ^2 . Расчет проводили с помощью статистического программного пакета Statistica 6.0. Значение $p < 0,05$ считалось значимым.

Первичный клинический и аутопсийный материал в случаях заболевания вакцинированных, при летальных исходах гриппа и тяжелом течении болезни собирали и тестировали в полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) сотрудники региональных центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. Все образцы, положительные на РНК вируса гриппа А и/или В, поступали в ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Все аутопсийные образцы и клинические образцы от вакцинированных повторно анализировали методом ПЦР с использованием наборов реагентов «РИБО-сорб», «АмплиСенс Influenza virus A/B-FL» и «АмплиСенс Influenza virus A-тип-FL» (ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия).

Результаты

Результаты тестирования сывороток в РТГА с вакцинными штаммами вируса гриппа А и В представлены на рис. 1.

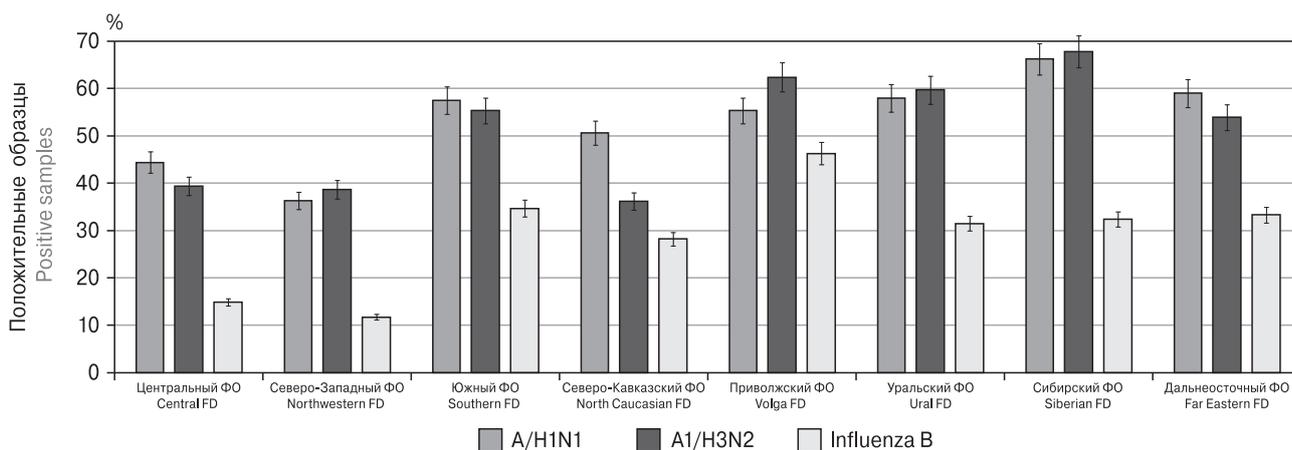


Рисунок 1. Количество (%) серопозитивных к вакцинным штаммам вируса гриппа в августе–сентябре 2019 г.

Figure 1. August–September 2019 number (%) of subjects seropositive to vaccine influenza virus strains

Примечание. Для выявления статистической значимости различий в титрах РТГА использовался критерий χ^2 . Значение $p < 0,05$ считалось значимым.

Note. χ^2 -test was used to assess significant differences in hemagglutination-inhibition reaction titers; $p < 0.05$ was considered significant.

До вакцинации количество положительных образцов к субтипу вируса А/(H1N1)pdm09 варьировалось от 36% в Северо-Западном ФО до 66% в Сибирском ФО. Серопозитивными к субтипу А/Н3N2 были от 38–39% образцов в Северо-Западном и Центральном ФО до 68% в Сибирском ФО. Количество положительных образцов к вирусу гриппа В было ниже, чем к вирусам гриппа А: от 12% в Северо-Западном ФО до 46% в Приволжском ФО.

Результаты тестирования сывороток, собранных после кампании вакцинации от гриппа В СФО, представлены на рис. 2.

После проведения вакцинации населения количество положительных образцов в Сибирском ФО выросло с 66 до 79% по субтипу А/(H1N1)pdm09, с 68 до 76% по субтипу А/Н3N2, с 32 до 47% по вирусу гриппа В/Виктория.

Таким образом, на основании данных, полученных в Сибирском ФО, видно, что процент населения, иммунного к вирусу гриппа В, даже после проведения кампании вакцинации населения лишь приблизился к 50%, но не превысил этой значимой величины.

В ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора поступают клинические и аутопсийные образцы во всех подтвержденных случаях тяжелого течения заболевания и смерти предположительно от гриппа, а также от заболевших гриппом вакцинированных пациентов. В табл. 1 представлены данные о полученных образцах за эпидемический сезон 2019–2020 гг.

Как видно из данных таблицы, чаще осложненным гриппом болели дети и подростки до 18 лет: 43,2% от всех случаев тяжелого течения заболевания пришлось на эту возрастную

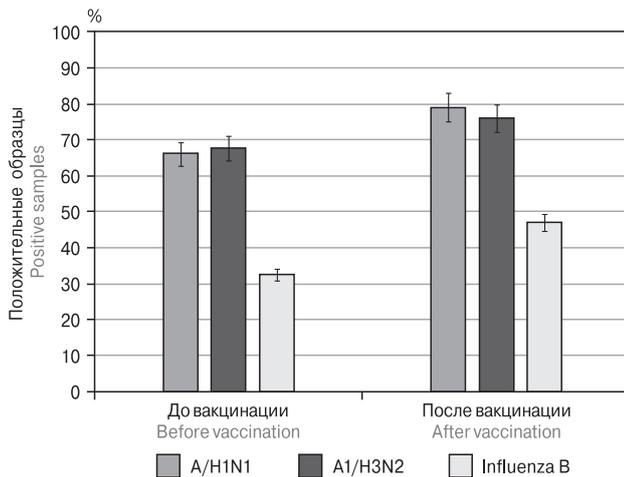


Рисунок 2. Количество (%) серопозитивных к вакцинным штаммам вируса гриппа в ноябре 2019 г. в Сибирском ФО, $p < 0,05$

Figure 2. November 2019 number (%) of subjects seropositive to vaccine influenza virus strains in Siberian Federal District

Примечание. Для выявления статистической значимости различий в титрах РТГА использовался критерий χ^2 . Значение $p < 0,05$ считалось значимым.

Note. χ^2 -test was used to assess significant differences in hemagglutination-inhibition reaction titers; $p < 0.05$ was considered significant.

Таблица 1. Данные о полученных образцах от пациентов с тяжелой формой гриппа в 2019–2020 гг.

Table 1. 2019–2020 sample data obtained from patients with severe influenza

| Группа Group | Тяжелые случаи с благоприятным исходом Severe cases with favorable outcome | Подтвержденные случаи гриппа с летальным исходом Confirmed influenza cases with lethal outcome |
|--|---|---|
| Всего/Total | 435 | 64 |
| Пол/Sex | | |
| Мужской/Male | 195 | 39 |
| Женский/Female | 213 | 18 |
| Пол неизвестен Sex unknown | 27 | 7 |
| Возраст (лет) Age (years) | | |
| 0–5 | 64 | 6 |
| 6–18 | 188 | 4 |
| 19–59 | 158 | 30 |
| ≥ 60 | 22 | 24 |
| Возраст неизвестен Age unknown | 3 | 0 |
| Вакцинированные в 2019 г. 2019 influenza vaccinated | 95 | 0 |

группу. Однако смертельные исходы чаще фиксировались в возрастной группе 60 лет и старше: из 46 подтвержденных случаев тяжелого течения гриппа В 24 случаях заболевание закончилось смертью пациента.

В табл. 2 представлены данные о типе/субтипе вирусов гриппа, которые вызывали тяжелое течение заболевания. Осложненное заболевание чаще вызывал вирус гриппа В (58,6%), что согласуется с данными об относительно низком популяционном иммунитете к этому патогену накануне эпидемии. Однако смертельный исход в подавляющем числе случаев (79,7%) был вызван вирусом субтипа А/Н1N1pdm09. И это несмотря на то, что после появления этого субтипа в 2009 г. антигенные свойства вируса изменились незначительно. Следует особо отметить, что среди вакцинированных пациентов смертельных случаев документировано не было.

Обсуждение

Наиболее уязвимая группа риска, для которой выявлена повышенная смертность от гриппа, — это пожилые люди старше 60 лет. Так, данные из 33 стран продемонстрировали, что самые высокие показатели смертности наблюдались в группе лиц старше 75 лет (17,9–223,5 на 100 тыс.). Частота госпитализаций по поводу пневмонии и гриппа резко увеличивалась после 65 лет [18]. В США пожилые люди в возрасте 85 лет и старше имели самые высокие показатели первичной госпитализации по поводу респираторных и сердечно-сосудистых заболеваний, связанных с гриппом, — 1194,9 на 100 тыс. человек. В других исследованиях получены сходные данные как о частоте заболевания гриппом, так и об осложнениях со стороны сердечно-сосудистой системы [12, 14]. На основании результатов, полученных серологическими методами, было показано, что частота заболевания гриппом была самой высокой у детей в возрасте до 9 лет, частота госпитализации была самой высокой у детей в возрасте до 5 лет и пожилых людей после 65 лет, смертность была самой высокой в возрастной группе людей старше 65 лет.

Снижение с возрастом иммунного ответа на инфекцию определяется как «иммунное старение». Это явление характеризуется хроническим генерализованным провоспалительным состоянием, отличающимся повышением уровня цитокинов и сниженной способностью вызывать воспалительный ответ. В настоящее время преобладают представления, что с возрастом происходит снижение числа наивных клеток $CD4^+$ и $CD8^+$ вследствие инволюции тимуса [4]. Происходит также снижение $CD4^+$

Таблица 2. Результаты исследования в ПЦР-анализе первичного материала (аутопсийные образцы, мазки из носа и зева)

Table 2. Primary biomaterial PCR data (autopsy samples, nasal and pharyngeal smears)

| | | A(H1N1) pdm09 | A(H3N2) | Грипп В Influenza B | Грипп А нетипированный Untyped Influenza A | Грипп В + A(H1N1)pdm09 Influenza B + A(H1N1)pdm09 | Грипп В + A(H3N2) Influenza B + A(H3N2) | Всего образцов Total samples |
|--|--------------|------------------|---------|------------------------|--|--|--|---------------------------------------|
| Клинические образцы Clinical samples | абс. abs. | 135 | 33 | 255 | 6 | 2 | 4 | 435 |
| | % | 31,0 | 7,6 | 58,6 | 1,4 | 0,5 | 0,9 | 100 |
| Аутопсийные образцы Autopsy samples | абс. abs. | 51 | 4 | 7 | 0 | 2 | 0 | 64 |
| | % | 79,7 | 6,3 | 10,9 | 0,0 | 3,1 | 0,0 | 100 |

T-клеток из-за апоптоза. Поскольку с возрастом происходит накопление CD8⁺CD28 T-клеток, было выдвинуто предположение, что это связано с инфицированием цитомегаловирусом [6, 9, 15]. Общее состояние описывается как слабое воспаление. Кроме того, с возрастом происходят изменения во врожденной и адаптивной иммунной системе, включая снижение функции фагоцитов, NK-клеток, эффекторных функций антител и цитокинов.

В связи с этим улучшение вакцин является важной стратегией в решении данной проблемы. Для преодоления «иммунного старения» было предложено использовать вакцины с адъювантами, а также повышенные дозы вакцин против сезонного гриппа [3, 16, 17].

Высокий уровень популяционного иммунитета — это еще и косвенная защита непривитого контингента за счет вакцинированных людей в любой популяции. Такая стратегия использовалась издавна, еще со времен начала вакцинации от оспы [10, 13], поскольку популяционный иммунитет дает дополнительную защиту людям из групп риска. В случае гриппа это пожилые люди и люди с хроническими заболеваниями, у которых даже после вакцинации не формируются оптимальные защитные иммунные реакции. Так, Gendon Y.Z. и соавт. продемонстрировали наличие положительного эффекта популяционного иммунитета для непривитых пожилых людей в возрасте 60 лет и старше после вакцинации детей в возрасте 3–17 лет [5].

Авторы настоящего исследования изучают состояние популяционного иммунитета к гриппу в РФ на протяжении последних шести лет. Так, в 2016 г. было проанализировано 4548 образцов сыворотки крови, собранных в 35 регионах РФ. Показано, что 30–40% образцов были положительны к вакцинному штамму A/California/07/09 (H1N1pdm09) и 4–32% (в среднем 12%) — к вакцинному штамму A/Switzerland/9715293/13 (H3N2). Количество

положительных образцов к эпидемическому штамму вируса гриппа В (Yamagata) в среднем находилось на уровне или превышало 50%, а к эпидемическому штамму вируса гриппа В (Victoria) было на уровне 23–40% [7]. В 2017 г. было проанализировано 4979 образцов сыворотки крови. Показано, что 42–43% образцов были положительны к вакцинному штамму A/California/07/09 (H1N1pdm09), около 30% — к вакцинному штамму A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2), от 22 до 44% — к вакцинному штамму вируса гриппа В/Brisbane/60/2008 (Victoria) [8]. Накануне эпидемического сезона 2017–2018 гг. было исследовано 3728 образцов сыворотки крови, собранных в 37 субъектах Российской Федерации. К вакцинному штамму A/Michigan/45/2015 (H1N1pdm09) были положительны 32–47% образцов, к вакцинному штамму A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2) — 40–47% образцов, от 24 до 30% положительных образцов было выявлено к вирусу гриппа В/Brisbane/60/2008 (Victoria) [11]. Осенью 2018 г. было собрано 4543 образцов сыворотки крови в 27 субъектах Российской Федерации. Методом РТГА определено от 41 до 58% положительных образцов, в зависимости от региона, к вакцинному штамму A/Michigan/45/2015 (H1N1pdm09), от 26 до 46% образцов были положительны к вакцинному штамму A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2), от 9 до 2% были серопозитивны к вирусу гриппа В/Colorado/06/2017 (Victoria) [1].

Как показывают результаты данной работы, накануне эпидемического сезона 2019–2020 гг. 36–66% образцов были позитивны к вирусу гриппа А(H1N1 pdm09), от 38 до 68% образцов были положительны к вирусу гриппа А/H3N2, количество положительных образцов к вирусу гриппа В (Victoria) составляло от 12 до 46%.

Таким образом, на протяжении последних шести лет, с 2015 по 2020 г., количество серопозитивного к вакцинным штаммам вируса гриппа А населения увеличивалось, и на-

кануне эпидемического сезона 2019–2020 гг. во многих регионах РФ достигло целевого показателя (больше 50%), в то время как в отношении вируса гриппа В (Victoria) осталось в среднем на уровне 2015 г. Поскольку в состав большинства гриппозных вакцин в РФ входят три штамма вируса гриппа — А(H1N1pdm09), А(H3N2) и В (Victoria) — низкий популяционный иммунитет к вакцинным штаммам вируса гриппа В можно объяснить слабой иммуногенностью этих вирусов в составе трехвалентной вакцины.

В заключение следует отметить, что качество гриппозной вакцины, особенно предназначенной для групп риска, остается актуальной проблемой современной науки.

Благодарности

Авторы выражают глубокую благодарность коллегам из центров гигиены и эпидемиологии субъектов РФ за сбор и своевременную и качественную доставку в ГНЦ ВБ «Вектор» клинических образцов.

Список литературы/References

- Ильичева Т.Н., Дурьманов А.Г., Иванова Е.В., Жирнов В.А., Епанчинцева А.В., Святченко С.В., Торжкова П.Ю., Буланович Ю.А., Рыжиков А.Б. Гуморальный иммунитет к гриппу и тяжелые случаи заболевания в эпидемическом сезоне 2018–2019 гг. // Медицинская иммунология. 2019. Т. 21, № 6. С. 1147–1154. [Ilyicheva T.N., Durymanov A.G., Ivanova E.V., Zhirnov V.A., Epanchintseva A.V., Svyatchenko S.V., Torzhkova P.Yu., Bulanovich Yu.A., Ryzhikov A.B. Humoral immunity to influenza and severe influenza cases in Russia in 2018–2019. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2019, vol. 21, no. 6, pp. 1147–1154. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2019-6-1147-1154
- Роспотребнадзор. Об эпидемиологической ситуации по заболеваемости гриппом и ОРВИ и ходом иммунизации населения против гриппа. 21.01.2020. [Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор). Regarding the epidemiological situation on influenza and ARVI incidence rate as well as course of influenza population-wide immunization. 21.01.2020. (In Russ.)] URL: https://rospotrebnadzor.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=13498
- Andrew M.K., Bowles S.K., Pawelec G., Haynes L., Kuchel G.A., McNeil S.A., McElhaney J.E. Influenza vaccination in older adults: recent innovations and practical applications. *Drugs Aging*, 2019, vol. 36, no. 1, pp. 29–37. doi: 10.1007/s40266-018-0597-4
- Fulop T., Larbi A., Witkowski J.M., McElhaney J., Loeb M., Mitnitski A., Pawelec G. Aging, frailty and age-related diseases. *Biogerontology*, 2010, vol. 11, no. 5, pp. 547–563. doi: 10.1007/s10522-010-9287-2
- Ghendon Y.Z., Kaira A.N., Elshina G.A. The effect of mass influenza immunization in children on the morbidity of the unvaccinated elderly. *Epidemiol. Infect.*, 2006, vol. 134, no. 1, pp. 71–78. doi: 10.1017/s0950268805005650
- Haq K., Fulop T., Tedder G., Gentleman B., Garneau H., Meneilly G.S., Kleppinger A., Pawelec G., McElhaney J.E. Cytomegalovirus seropositivity predicts a decline in the T cell but not the antibody response to influenza in vaccinated older adults independent of type 2 diabetes status. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, 2017, vol. 72, no. 9, pp. 1163–1170. doi: 10.1093/gerona/glw216
- Ilyicheva T., Durymanov A., Susloparov I., Kolosova N., Goncharova N., Svyatchenko S., Petrova O., Bondar A., Mikheev V., Ryzhikov A. Fatal cases of seasonal influenza in Russia in 2015–2016. *PLoS One*, 2016, vol. 11, no. 10: e0165332. doi: 10.1371/journal.pone.0165332
- Ilyicheva T.N., Durymanov A.G., Svyatchenko S.V., Marchenko V.Y., Sobolev I.A., Bakulina A.Y., Goncharova N.I., Kolosova N.P., Susloparov I.M., Pyankova O.G., Ryzhikov A.B., Maksyutov R.A. Humoral immunity to influenza in an at-risk population and severe influenza cases in Russia in 2016–2017. *Arch. Virol.*, 2018, vol. 163, no. 10, pp. 2675–2685. doi: 10.1007/s00705-018-3904-9
- Jergović M., Contreras N.A., Nikolich-Žugich J. Impact of CMV upon immune aging: facts and fiction. *Med. Microbiol. Immunol.*, 2019, vol. 208, no. 3–4, pp. 263–269. doi: 10.1007/s00430-019-00605-w
- Kim T.H., Johnstone J., Loeb M. Vaccine herd effect. *Scand. J. Infect. Dis.*, 2011, vol. 43, no. 9, pp. 683–689. doi: 10.3109/00365548.2011.582247
- Kolosova N.P., Ilyicheva T.N., Danilenko A.V., Bulanovich J.A., Svyatchenko S.V., Durymanov A.G., Goncharova N.I., Gudymo A.S., Shvalov A.N., Susloparov I.M., Marchenko V.Y., Tregubchak T.V., Gavrilova E.V., Maksyutov R.A., Ryzhikov A.B. Severe cases of seasonal influenza in Russia in 2017–2018. *PLoS One.*, 2019, vol. 14, no. 12: e0227382. doi: 10.1371/journal.pone.0220401
- Kwong J.C., Schwartz K.L., Campitelli M.A., Chung H., Crowcroft N.S., Karnauchow T., Katz K., Ko D.T., McGeer A.J., McNally D., Richardson D.C., Rosella L.C., Simor A., Smieja M., Zahariadis G., Gubbay J.B. Acute myocardial infarction after laboratory-confirmed influenza infection. *N. Engl. J. Med.*, 2018, vol. 378, no. 4, pp. 345–353. doi: 10.1056/NEJMoa1702090
- Mertz D., Fadel S.A., Lam P.P., Tran D., Srigley J.A., Asner S.A., Science M., Kuster S.P., Nemeth J., Johnstone J., Ortiz J.R., Loeb M. Herd effect from influenza vaccination in non-healthcare settings: a systematic review of randomised controlled trials and observational studies. *Euro Surveill.*, 2016, vol. 21, no. 42: 30378. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.42.30378
- Mertz D., Kim T.H., Johnstone J., Lam P.P., Science M., Kuster S.P., Fadel S.A., Tran D., Fernandez E., Bhatnagar N., Loeb M. Populations at risk for severe or complicated influenza illness: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 2013, vol. 347: f5061. doi: 10.1136/bmj.f5061
- Pawelec G. Immune parameters associated with mortality in the elderly are context-dependent: lessons from Sweden, Holland and Belgium. *Biogerontology*, 2018, vol. 19, no. 6, pp. 537–545. doi: 10.1007/s10522-017-9739-z
- Schaffner W., Chen W.H., Hopkins R.H., Neuzil K. Effective immunization of older adults against seasonal influenza. *Am. J. Med.*, 2018, vol. 131, no. 8, pp. 865–873. doi: 10.1016/j.amjmed.2018.02.019

17. Schaffner W., van Buynder P., McNeil S., Osterhaus A.D.M.E. Seasonal influenza immunisation: strategies for older adults. *Int. J. Clin. Pract.*, 2018, vol. 72, no. 10: e13249. doi: 10.1111/ijcp.13249
18. Thompson W.W., Shay D.K., Weintraub E., Brammer L., Bridges C.B., Cox N.J., Fukuda K. Influenza-associated hospitalizations in the United States. *JAMA*, 2004, vol. 292, no. 11, pp. 1333–1340. doi: 10.1001/jama.292.11.1333
19. WHO. Immunization, vaccines and biologicals: Influenza. URL: <http://www.who.int/immunization/topics/influ>
20. WHO. Seasonal vaccination policies and coverage in the European Region. URL: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/communicable-diseases/influenza/vaccination/seasonal-vaccination-policies-and-coverage-in-the-european-region>

Авторы:

Ильичева Т.Н., д.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник отдела зоонозных инфекций и гриппа ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

Колосова Н.П., к.б.н., ведущий научный сотрудник отдела зоонозных инфекций и гриппа ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

Дурыманов А.Г., старший научный сотрудник отдела зоонозных инфекций и гриппа ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

Торжкова П.Ю., старший лаборант-исследователь отдела зоонозных инфекций и гриппа ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

Святченко С.В., младший научный сотрудник отдела зоонозных инфекций и гриппа ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

Буланович Ю.А., старший лаборант-исследователь отдела зоонозных инфекций и гриппа ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

Иванова Е.В., врач-вирусолог ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Новосибирской области Роспотребнадзора, г. Новосибирск, Россия;

Иванова К.И., старший лаборант-исследователь отдела зоонозных инфекций и гриппа ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

Рыжиков А.Б., к.б.н., зав. отделом зоонозных инфекций и гриппа ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия.

Authors:

Ilyicheva T.N., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Leading Researcher, Department of Zoonotic Infections and Influenza, State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector" of Rosпотребнадзор, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

Kolosova N.P., PhD (Biology), Leading Researcher, Department of Zoonotic Infections and Influenza, State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector" of Rosпотребнадзор, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

Durymanov A.G., Senior Researcher, Department of Zoonotic Infections and Influenza, State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector" of Rosпотребнадзор, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

Torzhkova P.Yu., Senior Investigator (Biologist), Department of Zoonotic Infections and Influenza, State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector" of Rosпотребнадзор, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

Svyatchenko S.V., Junior Researcher, Department of Zoonotic Infections and Influenza, State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector" of Rosпотребнадзор, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

Bulanovich Y.A., Senior Investigator (Biologist), Department of Zoonotic Infections and Influenza, State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector" of Rosпотребнадзор, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

Ivanova E.V., Virologist, Center for Hygiene and Epidemiology in Novosibirsk Region of Rosпотребнадзор, Novosibirsk, Russian Federation;

Ivanova K.I., Senior Investigator (Biologist), Department of Zoonotic Infections and Influenza, State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector" of Rosпотребнадзор, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

Ryzhikov A.B., PhD (Biology), Head of the Department of Zoonotic Infections and Influenza, State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector" of Rosпотребнадзор, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation.

Поступила в редакцию 11.04.2020
Отправлена на доработку 13.04.2021
Принята к печати 30.05.2021

Received 11.04.2020
Revision received 13.04.2021
Accepted 30.05.2021

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА К НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19 СРЕДИ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ

И.Д. Решетникова^{1,2}, Ю.А. Тюрин^{1,3}, Е.В. Агафонова^{1,3}, С.Н. Куликов¹,
Г.Ф. Гилязутдинова¹, Д.В. Лопушов^{3,4}, Н.Д. Шайхразиева⁴, Г.Ш. Исаева^{1,3},
В.Б. Зиятдинов¹

¹ ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Казань, Россия

² ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия

³ ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия

⁴ Казанская государственная медицинская академия — филиал ГБОУ ДПО, г. Казань, Россия

Резюме. *Актуальность.* С начала эпидемии в Китае появились сообщения о внутрибольничных случаях инфицирования SARS-CoV-2, в том числе и среди медицинских работников. Исследования напряженности гуморального иммунного ответа к вирусу SARS-CoV-2 среди медицинских работников, имеющих высокий риск профессионального контакта с больными COVID-19, приобретают особую важность. Цель исследования — изучить серопревалентность и особенности гуморального иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2 среди медицинских работников. *Материалы и методы.* Методом случайной выборки в исследование включили 61 медицинского работника из многопрофильного стационара г. Казани, который был перепрофилирован для оказания медицинской помощи больным новой коронавирусной инфекцией. Группу контроля составили 60 немедицинских работников. Для определения IgG использовался твердофазный ИФА. Статистическая обработка результатов проводилась с применением программного обеспечения MS Excel. Рассчитана ошибка относительной величины ($M \pm m$) и 95% доверительный интервал частоты встречаемости. Для оценки достоверности различий применяли критерий Стьюдента (t-критерий) для независимых выборок. Достоверными считали различия при $p < 0,05\%$. *Результаты и обсуждение.* Доля серопозитивных к SARS-CoV-2 в основной группе составила 45,9%, в контрольной группе — 21,7%. У серопозитивных к вирусу SARS-CoV-2 медицинских работников доля бессимптомных форм COVID-19 составила 18,5%, легких форм — 53,6%, среднетяжелых и тяжелых форм — 25%; выявлено два варианта формирования гуморального иммунного ответа: синхронный с параллельной элиминацией IgG и IgM антител (группа «элиминирующих» антитела) и параллельным увеличением IgG и IgM (группа «повышающих» антитела). В группе серопозитивных количество лиц, «повышающих» антитела, превалировала над группой лиц, «элиминирующих» антитела. *Заключение.* Изучение уровня гуморального иммунитета к COVID-19 у медицинских работников имеет важное значение как с точки зрения планирования противоэпидемических мероприятий, так и прогнозирования эффективности ответа на вакцинацию к SARS-CoV-2.

Ключевые слова: гуморальный иммунитет, специфические IgG-антитела к вирусу SARS-CoV-2, специфические IgM-антитела к вирусу SARS-CoV-2, COVID-19, медицинские работники, противоэпидемические мероприятия, серопревалентность.

Адрес для переписки:

Решетникова Ирина Дмитриевна
420015, Россия, г. Казань, ул. Б. Красная, 67, ФГАОУ ВО
Казанский (Приволжский) федеральный университет.
Тел.: 8 (843) 236-67-41.
E-mail: reshira@mail.ru

Contacts:

Irina D. Reshetnikova
420015, Russian Federation, Kazan, Bolshaya Krasnaya str., 67,
Kazan Federal University.
Phone: +7 (843) 236-67-41.
E-mail: reshira@mail.ru

Для цитирования:

Решетникова И.Д., Тюрин Ю.А., Агафонова Е.В., Куликов С.Н.,
Гилязутдинова Г.Ф., Лопушов Д.В., Шайхразиева Н.Д., Исаева Г.Ш.,
Зиятдинов В.Б. Изучение особенностей гуморального иммунного
ответа к новой коронавирусной инфекции COVID-19 среди медицинских
работников // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 934–942.
doi: 10.15789/2220-7619-SOT-1587

Citation:

Reshetnikova I.D., Tyurin Yu.A., Agafonova E.V., Kulikov S.N.,
Gilyazutdinova G.F., Lopushov D.V., Shaykhrayeva N.D., Isaeva G.Sh.,
Ziatdinov V.B. Study of features of humoral immune response to the new
coronavirus infection COVID-19 among healthcare workers // Russian
Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 5,
pp. 934–942. doi: 10.15789/2220-7619-SOT-1587

STUDY OF FEATURES OF HUMORAL IMMUNE RESPONSE TO THE NEW CORONAVIRUS INFECTION COVID-19 AMONG HEALTHCARE WORKERS

Reshetnikova I.D.^{a,b}, Tyurin Yu.A.^{a,c}, Agafonova E.V.^{a,c}, Kulikov S.N.^a, Gilyazutdinova G.F.^a, Lopushov D.V.^{c,d}, Shaykhrazieva N.D.^d, Isaeva G.Sh.^{a,c}, Ziatdinov V.B.^a

^a Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rosпотребнадзор, Kazan, Russian Federation

^b Kazan Federal University, Kazan, Russian Federation

^c Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation

^d Kazan State Medical Academy, Kazan, Russian Federation

Abstract. Relevance. Since the beginning of the epidemic in China, there have been reports of nosocomial cases of SARS-CoV-2 infection, including among medical workers. Studies of the intensity of humoral immune response to the SARS-CoV-2 virus among medical workers who are much more likely to have professional contact with COVID-19 patients than are of particular importance. The aim is to study the seroprevalence and features of the humoral immune response to SARS-CoV-2 among medical workers. **Materials and methods.** The study included 61 medical workers from a multidisciplinary hospital in Kazan, which was redesigned to provide medical care to patients with new coronavirus infection, using the method of random sampling. The control group consisted of 60 non-medical workers. For the determination of IgG, a solid-phase ELISA was used. Statistical processing of the results was carried out using MS Excel software. The error of the relative value ($M \pm m$) was calculated, and the 95% confidence interval of the frequency of occurrence. To assess the significance of differences, the Student's test (t-test) was used for independent samples. **Results.** The proportion of those seropositive to SARS-CoV-2 in the study group was 45.9%, compared with 21.7% in the control group. Among medical workers seropositive to the SARS-CoV-2 virus, the proportion of asymptomatic forms was 18.5%, mild forms — 53.6%, moderate forms and severe forms 25%. Two forms of the formation of a humoral immune response among seropositive ones were revealed: the first is characterized by the gradual elimination of specific IgG antibodies to SARS-CoV-2 after 8 weeks from the onset of the first symptoms of COVID-19, the second form is an increase in specific IgG to SARS-CoV-2 and a higher value of the coefficient level of IgM positivity to SARS-CoV-2 after 8–10 weeks from the onset of the first symptoms. The group of seropositive, “raising antibodies”, prevailed over the group of individuals “eliminating antibodies”. Among seropositive medical workers, two forms of the formation of a humoral immune response were revealed: synchronous with the parallel elimination of IgG and IgM antibodies and a parallel increase in IgG and IgM. **Conclusion.** The study of the level of humoral immunity to COVID-19 in medical workers is important in terms of planning both anti-epidemic measures and predicting the effectiveness of the response to vaccination to SARS-CoV-2.

Key words: humoral immunity, specific IgG and IgM antibodies to the SARS-CoV-2 virus, COVID-19, medical workers, anti-epidemic measures, seroprevalence.

В декабре 2019 г. Уханьский муниципальный комитет (КНР) по здравоохранению распространил сообщение особой важности, содержащее информацию о случаях заболевания пневмонией неизвестной этиологии, которые регистрировались в течение месяца в стационарах г. Уханя. В начале января 2020 г. в Китае наблюдался экспоненциальный рост количества больных новой инфекционной болезнью, распространившейся во все провинции Китая и за его пределы. Начался отсчет пандемии, вызванной новым коронавирусом SARS-CoV-2 [6]. С начала эпидемии в Китае появились сообщения о внутрибольничных случаях инфицирования SARS-CoV-2, в том числе и среди медицинских работников (МР) [18, 19]. В апреле–мае 2020 г. во время эпидемии COVID-19 в Италии отмечалась подобная картина высокой заболеваемости среди МР [5]. Исследования напряженности гуморального иммунного ответа к вирусу SARS-CoV-2 среди МР, имеющих гораздо больший риск профессионального контакта с больными COVID-19, приобретают особую важность. По данным китайских исследователей, случаи COVID-19 у МР внесли значительный вклад в заболеваемость.

В 422 медицинских учреждениях с начала эпидемии по состоянию на 11 февраля 2020 г. было выявлено 1716 лабораторно подтвержденных случаев среди МР: в Ухане — 64,0%, в провинции Хубей — 23,3% в остальных провинциях КНР — 12,7% [17]. Исследования, посвященные изучению особенностей гуморального иммунного ответа к SARS-CoV-2 в этой категории повышенного риска заражения, немногочисленны и противоречивы. Так, по оценкам исследователей из КНР, при обследовании 19 555 МР специфические IgG к SARS-CoV-2 сохранялись только у 4% [10]. Данные изучения напряженности иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 среди МР одного из госпиталей в Милане (Италия) в первой половине апреля 2020 г. показали, что IgG-антитела были выявлены у 7,4% обследованных, а IgM — у 14,4% [15]. Анализ 50 исследований (оценок) из 32 различных регионов мира, проводившихся в основном в локальных эпицентрах пандемии, с выборкой не менее 500 человек, по состоянию на 11 июля 2020 г. показал наличие специфических антител к SARS-CoV-2 у населения в широком диапазоне — от 0,2 до 47% [7].

Об уровне серопревалентности среди работников здравоохранения в Российской Федерации можно судить по первым результатам проведения масштабного проекта Роспотребнадзора по изучению популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2: так, в Санкт-Петербурге данный показатель составил 27,1% [4], а в Ленинградской области он оказался равным 18,1% [3].

Таким образом, актуальным является вопрос о сроках возникновения, напряженности и продолжительности сохранения специфических антител к вирусу SARS-CoV-2 у МР. Решение этого вопроса необходимо для выявления частоты распространения инфекции среди контингентов с высоким риском заражения в учреждениях здравоохранения, установления числа бессимптомных форм болезни, ретроспективного анализа популяционного иммунитета. В связи с активно идущими разработками вакцинных препаратов и началом массовой вакцинации от COVID-19, актуальной задачей, требующей решения, являются исследования, показывающие, будут ли вакцины эффективно индуцировать выработку антител и насколько долго антитела будут защищать от повторных заражений.

Цель исследования — изучить серопревалентность и особенности гуморального иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2 среди МР.

Материалы и методы

Методом случайной выборки в исследование включили 61 МР из многопрофильного стационара г. Казани, который был перепрофилирован для оказания медицинской помощи больным коронавирусной инфекцией. После подписания информированного согласия были собраны клинические, анамнестические данные и эпидемиологический анамнез в отношении COVID-19 с помощью специально разработанной анкеты. Антитела IgG- и IgM-классов были исследованы в динамике дважды с интервалом в 30 дней (30.06.2020 и 27.07.2020) у МР с отсутствием и наличием признаков ОРВИ (трахеит, бронхит, фарингит) в анамнезе в течение предшествующих трех месяцев.

В качестве группы сравнения методом случайной выборки была сформирована группа лиц из 60 немедицинских работников (не-МР), у которых были исследованы сыворотки крови на антитела IgG и IgM в динамике заболевания дважды с тем же интервалом и в тот же период, что и у МР. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора.

Определение IgG-антител к SARS-CoV-2 проводилось методом ИФА с использованием

отечественных диагностических тест-систем с сорбированным в лунках планшета рекомбинантным полноразмерным тримеризованным гликопротеином (Spike-белок) вируса SARS-CoV-2 («SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ», АО «Вектор-Бест», Россия).

Для детекции IgM-антител к SARS-CoV-2 использовали отечественные тест-системы, основанные на непрямом варианте твердофазного ИФА с иммобилизованными в лунках антителами к IgM человека и выявлением специфических антител с помощью конъюгатов, содержащих антигены вируса — N-белок нуклеокапсида («SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ», АО «Вектор-Бест», Россия) [2].

Результаты исследований выражались в виде коэффициента позитивности (КП), представляющего собой отношение оптической плотности образца к критической оптической плотности, высчитываемой в каждом анализе. Интерпретация результатов была следующей: в зависимости от использованной тест-системы положительными считались образцы с КП, превышающим 1,1–1,2; отрицательными — с КП менее 0,8–0,9.

Промежуточные значения КП свидетельствовали о сомнительном или неопределенном результате («серая зона»).

Пациентам основной и контрольной групп было проведено определение РНК вируса SARS-CoV-2 в мазках из носоглотки методом ПЦР с помощью зарегистрированного набора реагентов «РеалБест РНК SARS-CoV-2» (АО «Вектор-Бест», Россия).

Статистическая обработка результатов проводилась с применением программного обеспечения MS Excel. Рассчитана ошибка относительной величины ($M \pm m$) и 95% доверительный интервал частоты встречаемости. Для оценки достоверности различий применяли критерий Стьюдента (t-критерий) для независимых выборок. Различия считали достоверными при $p < 0,05\%$.

Результаты и обсуждение

Средний возраст обследуемых МР составил $40,1 \pm 0,2$ лет, из них врачей — 37 (60,7%), среднего медицинского персонала — 21 (34,4%), вспомогательного персонала — 3 (4,9%). Средний возраст в группе сравнения (не-МР) составил $48,0 \pm 0,7$ лет. При изучении гуморального иммунного ответа к вирусу SARS-CoV-2 количество серопозитивных МР составило 28 (45,9%), а серонегативных — 33 (54,1%). В группе сравнения (не-МР) количество серопозитивных составило 13 (21,7%), а серонегативных — 47 (78,3%). Таким образом, доля серопозитивных к SARS-CoV-2 не-МР была в 2 раза ниже, чем в основной группе ($z = 2,8; p < 0,05$).

В группе серонегативных МР у 2 (3,3%) человек специфические антитела к вирусу SARS-CoV-2 не определялись, но в анамнезе были выявлены перенесенные ранее специфические симптомы легкой формы вирусной инфекции, у одного из них был получен положительный результат ПЦР SARS-CoV-2. В группе не-МР среди серонегативных лиц у 6 человек (10,0%) были получены положительные результаты ПЦР теста к SARS-CoV-2.

В группе из 28 (45,9%) серопозитивных МР не выявлено в анамнезе признаков острой респираторной вирусной инфекции у 6 (8,5%) человек. У 22 (36,0%) МР в анамнезе в течение последних 3 месяцев отмечались различные симптомы острого респираторного заболевания, включающие проявления поражения верхних дыхательных путей, пищеварительного тракта, явления интоксикации и повышение температуры тела (табл. 1). У более половины из них регистрировались субфебрилитет, кашель. В 39,0% случаев выявлено чувство заложенности в грудной клетке. У каждого третьего — потеря обоняния и вкуса, одышка. У каждого десятого регистрировалась симптоматика поражения ЖКТ (диарея, тошнота). У каждого третьего МР длительно сохранялся астено-невротический синдром.

Клинические проявления легкой степени тяжести вирусной инфекции выявлены у 15 (53,6%) человек, средней степени тяжести — у 7 (25,0%). У 9 (32,1%) обследованных течение вирусной инфекции осложнилось развитием пневмонии с картиной поражения легких КТ-1 у 5 человек; КТ-2 — у 2 человек, КТ-3 и КТ-4 — у 1 человека.

У 3 серопозитивных лиц в группе сравнения выявлены симптомы астено-невротического синдрома (5,0%), у 2 (3,3%) человек отмечался сухой кашель и повышение температуры до субфебрильных значений. В остальных 8 (13,3%) случаях клинических симптомов острого респираторного вирусного заболевания не регистрировалось, при этом в трех из них были получены положительные результаты ПЦР теста к SARS-CoV-2.

Хронические сопутствующие заболевания в анамнезе выявлены у 6 обследуемых МР (21,4%), из них по 2 случая гипотиреоза и хронического тонзиллита, по одному случаю хронического фарингита и бронхиальной астмы. Среди данного контингента обследуемых не было курящих. Каждый третий МР в течение предыдущего года был вакцинирован от гриппа.

Гуморальный иммунный ответ на вирус SARS-CoV-2 у 28 серопозитивных МР был неоднородным. Было выделено 10 МР, у которых

Таблица 1. Основные симптомы перенесенной острой респираторной вирусной инфекции у серопозитивных к SARS-CoV-2 медицинских работников (n = 28) и серопозитивных лиц (n = 13) группы сравнения

Table 1. The main symptoms of an acute respiratory viral infection in SARS-CoV-2 seropositive medical workers (n = 28) and comparison group of seropositive persons (n = 13)

| Симптомы Symptoms | Частота встречаемости в абс.ч., % [95% ДИ] (МР) Frequency of occurrence, abs., % [95% CI] (medical workers) | Частота встречаемости в абс.ч., % [95% ДИ] (группа сравнения) Frequency of occurrence, abs., % [95% CI] (comparison group) | P |
|--|--|--|--------|
| Повышение температуры Temperature increase | 15 53,6 [34,2–72,0] | 2 15,4 [2,7–46,3] | < 0,05 |
| Кашель Cough | 14 50,0 [31,0–69,0] | 2 15,4 [2,7–46,3] | < 0,05 |
| Одышка Dyspnea | 9 32,1 [16,6–52,4] | – | – |
| Ощущение заложенности в грудной клетке Feeling of congestion in the chest | 11 39,2 [22,1–59,3] | – | – |
| Потеря обоняния и вкуса Loss of smell and taste | 9 32,1 [18,0–51,0] | – | – |
| Тошнота, рвота Nausea, vomiting | 3 10,7 [3,7–27,2] | – | – |
| Диарея Diarrhea | 3 10,7 [3,7–27,2] | – | – |
| Астено-невротический синдром Asthenoneurotic syndrome | 9 32,1 [18,0–51,0] | 3 23,1 [6,2–54,0] | > 0,05 |
| Пневмония Pneumonia | 9 32,1 [18,0–51,0] | – | – |
| Всего серопозитивных Total | 28 100% | 13 100% | < 0/0 |

выявлено снижение уровня специфических IgG к SARS-CoV-2, зарегистрированное через 30 дней от первого исследования крови («группа элиминирующих антитела»), и 18 МР, у которых наблюдалось увеличение уровня специфических IgG-антител к SARS-CoV-2 («повышающие антитела»), при этом в группе сравнения (не-МР) у всех обследованных через 30 дней регистрировалось снижение КП уровня IgG и IgM к SARS-CoV-2. При оценке возрастного фактора у МР с разным характером гуморального иммунного ответа достоверных различий по возрасту не выявлено.

Показатели гуморального иммунного ответа к вирусу SARS-CoV-2 у 28 серопозитивных МР в группе «элиминирующих» и «повышающих» антитела, а также в группе сравнения представлены в табл. 2.

При анализе полученных данных установлено, что в группе «элиминирующих» антитела МР на первом этапе серологического исследования показатель КП IgG к вирусу SARS-CoV-2 был в 3,5 раза выше, чем в группе «повышающих» антитела МР (табл. 2). Для КП IgM была выявлена обратная закономерность: в группе «элиминирующих» антитела этот показатель был ниже практически в 2 раза, чем в группе «повышающих» антитела.

На втором этапе серологического исследования происходило снижение КП IgG к вирусу SARS-CoV-2 в группе «элиминирующих» антитела на 5,1 единицы, а в группе «повышающих» антитела отмечен рост показателя КП IgG к вирусу SARS-CoV-2 на 13,3 единицы. Учитывая разнонаправленный характер изменения уровня специфических антител IgG к вирусу SARS-CoV-2 в двух группах МР, представлялось интересным проанализировать на каких сроках до первой точки серологического исследования наблюдались клинические проявления ОРВИ, если таковые имелись.

Установлено, что в группе «элиминирующих» антитела от начала первых симптомов до первой точки серологического исследования (30.06.2020) прошло в среднем $58,8 \pm 6,4$ (Me = 63) дня, а в группе «повышающих» антитела — $44,7 \pm 5,2$ (Me = 40) дней (различия в сроках достоверны, $p < 0,05$). Соответственно, в первой группе МР от начала первых симптомов до второго серологического исследования (27.07.2020) прошло в среднем $88,8 \pm 7,4$ (Me = 93) дня, а во второй группе — $74,8 \pm 5,0$ (Me = 70) (различия достоверны).

Таким образом, можно выделить два варианта гуморального иммунного ответа у МР: первый характеризовался постепенной элиминацией специфических IgG антител к SARS-CoV-2 после 8 недели от появления первых симптомов ОРВИ, второй — нарастанием специфических IgG к SARS-CoV-2 и более высоким значением уровня КП IgM SARS-CoV-2 после 8–10 недели от появления первых симптомов (рис.).

По данным нашего исследования, у 61 МР одного из перепрофилированных госпиталей для оказания медицинской помощи больным COVID-19 г. Казани выявлена выраженная серопревалентность к SARS-CoV-2, составившая 45,9%.

Среди серопозитивных к вирусу SARS-CoV-2 МР доля лиц с бессимптомными формами COVID-19 составила 6 (18,5%), легкими формами — 15 (53,6%), среднетяжелыми и тяжелыми формами — 7 (25%). Исследования, проведенные в нашей стране и за рубежом, показывают, что вирус SARS-CoV-2 может вызвать различные варианты гуморального ответа: у части лиц, имеющих высокую восприимчивость, как правило, развивается манифестная инфекция, у части заболевание протекает бессимптомно и завершается только формированием адаптивного иммунитета (инаппарантная сероконверсия) и, наконец, у наиболее резистентных лиц заболевание заканчивается носительством, не оставляющим гумо-

Таблица 2. Показатели гуморального иммунного ответа к вирусу SARS-CoV-2 у серопозитивных МР

Table 2. Indicators of humoral immune response to the SARS-CoV-2 virus in seropositive medical workers

| Наименование группы серопозитивных МР Name of the group of seropositive medical workers | Дата исследования Date | Показатели уровня антител к вирусу SARS-CoV-2 Indicators of the level of antibodies to the SARS-CoV-2 virus | |
|--|---------------------------|--|----------------------|
| | | IgG (КП) IgG (CP) | IgM (КП) IgM (CP) |
| «Элиминирующие» антитела, n = 10 «Eliminating» antibodies, n = 10 | 30.06.2020 | $15,9 \pm 1,6^*$ | $0,7 \pm 0,15^\#$ |
| | 27.07.2020 | $10,8 \pm 1,5^*$ | н/о |
| «Повышающие» антитела, n = 18 «Raising» antibodies, n = 18 | 30.06.2020 | $4,5 \pm 1,7^{**}$ | $1,2 \pm 0,7$ |
| | 27.07.2020 | $17,8 \pm 1,0^{**}$ | $2,1 \pm 0,7^\#$ |
| Группа сравнения, n = 13 Comparison group, n = 13 | 30.06.2020 | $11,76 \pm 1,8^*$ | $4,4 \pm 1,8$ |
| | 27.07.2020 | $9,6 \pm 1,3^*$ | $1,3 \pm 0,2^\#$ |

Примечание. * — значения достоверно различаются внутри группы, $p < 0,05$; ** — значения достоверно различаются внутри группы, $p < 0,04$; # — значения достоверно различаются между группами, $p < 0,05$; КП — коэффициент позитивности.

Note. * — values significantly differ within the group, $p < 0,05$; ** — values significantly differ within the group, $p < 0,04$; # — values significantly differ between groups, $p < 0,05$; CP — coefficient of positivity.

рального иммунного ответа [4, 9]. SARS-CoV-2 относится к большой группе коронавирусов, среди которых встречаются низкопатогенные представители, вызывающие сезонные ОРВИ, способные формировать перекрестный иммунитет [14]. В связи с этим представляло интерес оценить наличие серопревалентности у МР, перенесших ОРВИ неуточненной этиологии.

В нашем исследовании из 61 обследованного МР у 25 (40,9%) отмечались в анамнезе клинические проявления ОРВИ в течение предшествующих 3 месяцев до первого серологического обследования. У 22 из них выявлены антитела к SARS-CoV-2 (36,1%). Поскольку детальной расшифровки возбудителей ОРВИ не проводилось, нельзя исключать, что у части из них серопревалентность могла быть обусловлена перекрестным иммунитетом к другим представителям β -коронавирусов человека (β hCoV) [9].

Распространенность бессимптомных форм среди серопозитивных лиц в популяционном исследовании, проведенном в РФ по инициативе Роспотребнадзора, изучали по выявлению доли лиц, у которых отсутствует хотя бы один признак: диагноз «COVID-19», либо положительная ПЦР, либо признаки ОРВИ [3, 4]. В нашем исследовании у 6 МР выявленные антитела к SARS-CoV-2 явились случайной находкой при отсутствии в анамнезе явлений ОРВИ в предшествующие 3 месяца (9,8%). Значительная доля бессимптомных форм инфекции COVID-19 характеризует высокую интенсивность эпидемического процесса. Полученные результаты

необходимо учитывать при организации профилактических мероприятий, а также прогнозировании эффективности ответа на вакцинацию к SARS-CoV-2.

Одной из важных задач было изучение связи между серопревалентностью и результатами определения РНК SARS-CoV-2 в полимеразной цепной реакции (ПЦР). В нашем исследовании у 18 из 61 МР был получен положительный результат ПЦР-тестирования (29,5%), что сопровождалось развитием гуморального адаптивного иммунного ответа к SARS-CoV-2 в 16 случаях (88,9%), 2 ПЦР-положительных МР были серонегативными (11,1%). Согласно результатам, полученным Нои Н. и соавт. (2020), выработка IgG к SARS-CoV-2 наблюдалась как у лиц с выраженными симптомами заболевания, так и у лиц без симптомов [7]. На ранней стадии выздоровления антитела переставали обнаруживаться у 12,0% пациентов с выраженными симптомами заболевания, а у лиц, перенесших инфекцию бессимптомно, антитела переставали обнаруживаться в 40,0% случаев [13]. Согласно сообщению Kellam P. и соавт. (2020), специфические IgG к SARS-CoV-2 начинают вырабатываться примерно через 3–4 недели после заражения и через 1–2 недели после появления симптомов заболевания [9]. Результаты другого исследования показывают, что после перенесенного заболевания COVID-19, подтвержденного с помощью ПЦР-анализа, у 18% лиц антитела к вирусу SARS-CoV-2 не выявляются [3]. Особенностью COVID-19 является значитель-

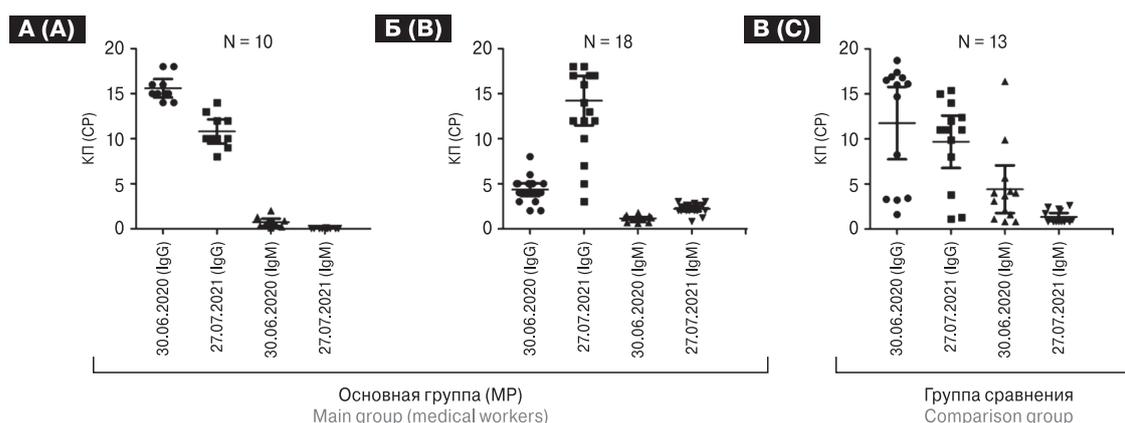


Рисунок. Динамика антител к вирусу SARS-CoV-2 в двух группах серопозитивных лиц: основная группа (МР) и группа сравнения

Figure. Dynamics of antibodies to the SARS-CoV-2 virus in two groups of seropositive individuals: the main group (medical workers) and the comparison group

Примечание. А) серопозитивные МР, показана динамика уровня антител по КП по типу «элиминирующие»; Б) серопозитивные МР, показана динамика уровня антител по КП по типу «повышающие»; В) показана динамика уровня антител по КП у серопозитивных лиц группы сравнения.

Note. A) seropositive medical workers group shows the dynamics of level of antibodies to the CP type «Eliminating»; B) seropositive medical workers group shows the dynamics of level of antibodies to the CP type «Increasing»; C) shows the dynamics of level of antibodies to the CP in seropositive individuals of the comparison group.

ная гетерогенность гуморального ответа как в процессе заболевания, так и в период реконвалесценции, причем не всегда можно установить связь между серопозитивностью переболевшего и тяжестью перенесенного заболевания [3, 4, 12]. Длительность сохранения антител против SARS-CoV-2 изучена недостаточно, при этом известно, что продолжительность иммунитета к родственным коронавирусам MERS-CoV и SARS-CoV может сохраняться до 3 лет [2].

В нашем исследовании выявлено две формы формирования гуморального иммунного ответа: синхронная с параллельной элиминацией IgG- и IgM-антител и синхронная с параллельным увеличением IgG и IgM. Китайские исследователи, анализируя гуморальный ответ 27 больных COVID-19 в течение 20 дней, выделяют несколько вариантов формирования серопозитивности у таких пациентов: синхронная серопозитивность — одновременное выявление IgG и IgM (10 случаев); IgM выявляется раньше, чем IgG (7 случаев); IgM выявляется позже, чем IgG (10 случаев) [19]. Сохранение IgG-антител более 7–8 недель с параллельно идущим процессом элиминации IgM у 76 реконвалесцентов с COVID-19 описывает группа ученых из ФБУН МНИИЭМ им. Габричевского. Отмечено также, что у двух из 76 обследованных больных COVID-19 антитела не вырабатывались [2]. В ходе нашего исследования выявлена синхронная серопозитивность с одновременным выявлением IgG и IgM. Четко прослеживается формирование двух групп — «увеличивающих антитела» и «элиминирующих антитела» в сроки от 6–7 недель от начала симптомов ОРВИ в анамнезе с сохранением данных разнонаправленных тенденций в динамике вплоть до 11–12 недели наблюдения. По данным разных авторов, специфические IgG к SARS-CoV-2 начинают вырабатываться примерно через 3–4 недели после заражения и через 1–2 недели после появления симптомов заболевания [11].

Длительность сохранения антител против SARS-CoV-2 изучена недостаточно, что требует длительного динамического наблюдения за когортой серопозитивных лиц.

По результатам нашего исследования, $\frac{2}{3}$ МР имели адекватный гуморальный иммунологический ответ к S-белку (Spike-белок, рецепторный белок (гликопротеин), находящийся в су-

перкапсидной оболочке и образующий так называемые «шипы» вируса SARS-CoV-2). Данная группа серопозитивных МР, «повышающих» антитела, характеризовалась более высокой выработкой протективных антител к SARS-CoV-2.

Возможность обнаружения IgG-антител к S-белку имеет большое значение, учитывая данные литературы о том, что именно эти антитела обеспечивают защиту при инфицировании SARS-CoV-2 путем нейтрализации вируса [1, 18], а сам S-белок рассматривается как кандидат при конструировании вакцин против COVID-19 [19]. Проведенные нами исследования позволяют наметить новые диагностические подходы и определить группы МР с различным типом гуморального иммунного ответа, у которых можно прогнозировать иммунный ответ на предстоящую вакцинацию от SARS-CoV-2.

Выводы

При обследовании 61 МР многопрофильного стационара г. Казани, который был репрофилирован для оказания медицинской помощи больным коронавирусной инфекцией, выявлена выраженная серопревалентность к SARS-CoV-2, составившая 45,9%, что достоверно превышает в 2 раза уровень в обычной выборке не-МР сопоставимого возраста.

Среди серопозитивных МР к вирусу SARS-CoV-2 доля лиц с бессимптомными формами составила 18,5%, с легкими формами — 53,6%, среднетяжелыми и тяжелыми формами — 25%, а среди серопозитивных лиц группы сравнения (не-МР) у 38,5% регистрировалась легкая форма заболевания, у 61,5% — бессимптомная.

Среди серопозитивных МР выявлено два варианта формирования гуморального иммунного ответа: синхронный с параллельной элиминацией IgG- и IgM-антител и синхронный с параллельным увеличением IgG и IgM.

В группе серопозитивных МР количество лиц, «повышающих» антитела, превалировало над количеством лиц, «элиминирующих» антитела.

Изучение уровня гуморального иммунитета к COVID-19 у МР имеет важное значение с точки зрения как планирования противоэпидемических мероприятий, так и прогнозирования эффективности ответа на вакцинацию к SARS-CoV-2.

Список литературы/References

1. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Сафронов В.А., Карнаухов И.Г., Иванова А.В., Щербаклова С.А. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Сообщение 1: Модели реализации профилактических и противоэпидемических мероприятий // Проблемы особо опасных инфекций. 2020. № 1. С. 6–13. [Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Safronov V.A., Karnaukhov I.G., Ivanova A.V., Shcherbakova S.A. Epidemiological features of new coronavirus infection (COVID-19). Communication 1: Modes of implementation of preventive and anti-epidemic measures. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2020, no. 1, pp. 6–13. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2020-1-6-13

2. Новикова Л.И., Бочкарева С.С., Алешкин А.В., Комбарова С.Ю., Карпов О.Э., Пулин А.А., Орлова О.А., Лебедин Ю.С., Воробьев А.М., Мехтиев Э.Р. Динамика антител к различным антигенам коронавируса SARS-CoV-2 у больных с подтвержденной инфекцией COVID-19 // Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2020. Всеросс. науч.-практ. конф. с междунар. участием (6–8 октября 2020 года): сб. материалов. Под ред. В.Г. Акимкина, М.Г. Твороговой. М.: ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, 2020. С. 159–164. [Novikova L.I., Bockhareva S.S., Aleshkin A.V., Kombarova S.Iu., Karpov O.E., Pulin A.A., Orlova O.A., Lebedin Iu.S., Vorobev A.M., Mekhtiev E.R. Dynamics of antibodies to various antigens of the SARS-CoV-2 coronavirus in patients with confirmed COVID-19 infection. In: Molecular Diagnostics and Biosafety – 2020. Russian national scientific and practical conference with international participation (October, 6–8, 2020): Conference proceedings. Eds. Akimkin V.G., Tvorogova M.G. Moscow: Central Research Institute for Epidemiology, 2020, pp. 159–164. (In Russ.)] doi: 10.36233/978-5-9900432-9-9-159
3. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Историк О.А., Мосевич О.С., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Черный М.А., Балабышева Н.С., Логинова И.С., Владимирова О.С., Самоглядова И.С., Васев Н.А., Румянцева С.В., Чупалова Е.Ю., Селиванова Г.В., Муравьева М.В., Тимофеева Л.В., Ханкишиева Э.Н., Тылъчевская В.Д., Никитенко Н.Д., Костеницкая Т.И., Виркунен Н.В., Климкина И.М., Кузьмина Т.М., Дегтяренко Н.В., Бацунова А.И., Филиппова Л.А., Пальчикова Н.А., Кукушкин А.В., Арсентьева Н.А., Бацунов О.К., Богумильчик Е.А., Воскресенская Е.А., Дробышевская В.Г., Зуева Е.В., Кокорина Г.И., Курова Н.Н., Любимова Н.Е., Ферман Р.С., Хамдулаева Г.Н., Хамитова И.В., Хорькова Е.В., Миличкина А.М., Дедков В.Г., Тотолян А.А. Оценка популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 среди населения Ленинградской области в период эпидемии COVID-19 // Проблемы особо опасных инфекций. 2020. № 3. С. 114–123. [Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Istorik O.A., Mosevich O.S., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Cherny M.A., Balabyshcheva N.S., Loginova I.S., Vladimirova O.S., Samoglyadova I.S., Vasev N.A., Rumyantseva S.V., Chupalova E.Yu., Selivanova G.V., Murav'eva M.V., Timofeeva L.V., Khankishieva E.N., Tyl'chevskaya V.D., Nikitenko N.D., Kostenickaya T.I., Virkunen N.V., Klimkina I.M., Kuz'mina T.M., Degtyarenko N.V., Bazunova A.I., Filippova L.A., Pal'chikova N.A., Kukshkin A.V., Arsent'eva N.A., Batsunov O.K., Bogumil'chik E.A., Voskresenskaya E.A., Drobyshevskaya V.G., Zueva E.V., Kokorina G.I., Kurova N.N., Lyubimova N.E., Ferman R.S., Hamdulaeva G.N., Khamitova I.V., Khor'kova E.V., Milichkina A.M., Dedkov V.G., Totolian A.A. Assessing herd immunity of Leningrad Region population during COVID-19 epidemic. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2020, no. 3, pp. 114–123. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-114-123
4. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Башкетова Н.С., Фридман Р.К., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Чхинджерия И.Г., Гречанинова Т.А., Агапов К.А., Арсентьева Н.А., Баженова Н.А., Бацунов О.К., Данилова Е.М., Зуева Е.В., Комкова Д.В., Кузнецова Р.Н., Любимова Н.Е., Маркова А.Н., Хамитова И.В., Ветров В.В., Миличкина А.М., Дедков В.Г., Тотолян А.А. Популяционный иммунитет к вирусу SARS-CoV-2 среди населения Санкт-Петербурга в активную фазу эпидемии COVID-19 // Проблемы особо опасных инфекций. 2020. № 3. С. 124–130. [Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Bashketova N.S., Fridman R.K., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Chkhindzheriya I.G., Grechaninova T.A., Agapov K.A., Arsent'eva N.A., Bazhenova N.A., Batsunov O.K., Danilova E.M., Zueva E.V., Komkova D.V., Kuznetsova R.N., Lyubimova N.E., Markova A.N., Khamitova I.V., Milichkina A.M., Dedkov V.G., Totolian A.A. Herd immunity of St. Petersburg population during the active phase of COVID-19 epidemic. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2020, no. 3, pp. 124–130. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-124-130
5. Семенов А.В., Пшеничная Н.Ю. Уроки эпидемии COVID-19 в Италии // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 410–420. [Semenov A.V., Pshenichnaya N.Yu. Lessons to learn: COVID-19 epidemic in Italy. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 410–420. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-LTL-1468
6. Chan J.F.W., Yuan S., Kok K.H., To K.K.W., Chu H., Yang J., Tsoi H.W., Lo S.K., Chan K.H., Poon V.K., Chan W.M., Ip J.D., Cai J.P., Cheng V.C., Chen H., Hui C.K., Yuen K.Y. A familial of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet*, 2020, vol. 395, no. 10223, pp. 514–523. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30154-9
7. Hou H., Wang T., Zhang B., Luo Y., Mao L., Wang F., Wu S., Sun Z. Detection of IgM and IgG antibodies in patients with coronavirus disease 2019. *Clin. Transl. Immunology*, 2020, vol. 9, no 5: e01136. doi: 10.1002/cti2.1136
8. Ioannidis J., Long Q.X., Liu B.Z., Deng H.J., Wu G.C., Deng K., Chen Y.K. The infection fatality rate of COVID-19 inferred from seroprevalence data. *Nat. Med.*, 2020, vol. 29. doi: 10.1101/2020.05.13.20101253
9. Kellam P., Barclay W. The dynamics of humoral immune responses following SARS-CoV-2 infection and the potential for reinfection. *J. Gen. Virol.*, 2020, vol. 101, no. 8, pp. 791–797. doi: 10.1099/jgv.0.001439
10. Liu T., Wu S., Tao H., Zeng G., Zhou F., Guo F., Wang X. Prevalence of IgG antibodies to SARS-CoV-2 in Wuhan – implications for the ability to produce long-lasting protective antibodies against SARS-CoV-2. *medRxiv*, 2020: 20130252. doi: 10.1101/2020.06.13.20130252
11. Long Q.-X., Deng H.-J., Chen J., Hu J., Liu B.-Zh., Liao P., Lin Y., Yu L.-H., Mo Zh., Xu Y.-Y., Gong F., Wu G., Zhang X.-Z., Chen Y.-K., Li Zh.-J., Wang K., Zhang X.-L., Tian W.-G., Niu Ch.-Ch., Yang Q.-J., Xiang J.-L., Du H.-X., Liu H.-W., Lang Ch., Luo X.-H., Wu Sh.-B., Cui X.-P., Zhou Zh., Wang J., Xue Ch.-J., Li X.-F., Wang L., Tang X.-J., Zhang Y., Qiu J.-F., Liu X.-M., Li J.-J., Zhang D.-Ch., Zhang F., Cai X.-F., Wang D., Hu Y., Ren J.-H., Tang N., Liu P., Li Q., Huang A.-L. Antibody responses to SARS-CoV-2 in COVID-19 patients: the perspective application of serological tests in clinical practice. *medRxiv*, 2020: 20038018. doi: 10.1101/2020.03.18.20038018
12. Ng K.W., Faulkner N., Cornish G.H., Rosa A., Harvey R., Hussain S., Ulferts R., Earl C., Wrobel A.G., Benton D.J., Roustan C., Bolland W., Thompson R., Agua-Doce A., Hobson P., Heaney J., Rickman H., Paraskevopoulou S., Houlihan C.F., Thomson K., Sanchez E., Shin G.Y., Spyer M.J., Joshi D., O'Reilly N., Walker P.A., Kjaer S., Riddell A., Moore C., Jebson B.R., Wilkinson M., Marshall L.R., Rosser E.C., Radziszewska A., Peckham H., Ciurtin C., Wedderburn L.R., Beale R., Swanton C., Gandhi S., Stockinger B., McCauley J., Gambliin S.J., McCoy L.E., Cherepanov P., Nastouli E., Kassiotis G. Pre-existing and de novo humoral immunity to SARS-CoV-2 in humans. *bioRxiv*, 2020, vol. 370, no. 6522, pp. 1339–1343. doi: 10.1126/science.abe1107
13. Paudel S., Dangal G., Chalise A., Bhandari T.R., Dangal O. The Coronavirus pandemic: what does the evidence show? *J. Nepal Health Res. Counc.*, 2020, vol. 18, no. 1, 9 p. doi: 10.33314/jnhrc.v18i1.2596

14. Sethuraman N., Jeremiah S.S., Ryo A. Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. *JAMA*, 2020, vol. 323, no. 22, pp. 2249–2251. doi: 10.1001/jama.2020.8259
15. Sotgiu G., Barassi A., Miozzo M., Sadari L., Piana A., Orfeo N., Colosio C., Felisati G., Davi M., Gerli G.A., Centanni S. SARS-CoV-2 specific serological pattern in healthcare workers of an Italian COVID-19 forefront hospital. *BMC Pulm. Med.*, 2020, vol. 20, no. 1: 203. doi: 10.1186/s12890-020-01237-0
16. Spina S., Marrazzo F., Migliari M., Stucchi R., Sforza A., Fumagalli R. The response of Milan's Emergency Medical System to the COVID-19 outbreak in Italy. *Lancet*, 2020, vol. 395, no. 10227, pp. e49–e50. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30493-1
17. The Novel Coronavirus Pneumonia Emergency Response Epidemiology Team. The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases COVID-19. *China CDC Weekly*, 2020, vol. 2, no. 8, pp. 113–122. doi: 10.46234/ccdcw2020.032
18. Xiang F., Wang X., He X., He X., Peng Z., Yang B., Zhang J., Zhou Q., Ye H., Ma Y., Li H., Wei X., Cai P., Ma W.L. Antibody detection and dynamic characteristics in patients with COVID-19. *Clin. Infect. Dis.*, 2020, vol. 71, no. 8, pp. 1930–1934. doi: 10.1093/cid/ciaa461
19. Zhao J., Yuan Q., Wang H., Liu W., Liao X., Su Y., Wang X., Yuan J., Li T., Li J., Qian S., Hong C., Wang F., Liu Y., Wang Z., He Q., Li Z., He B., Zhang T., Fu Y., Ge S., Liu L., Zhang J., Xia N., Zhang Z. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with novel coronavirus disease 2019. *Clin. Infect. Dis.*, 2020, vol. 71, no. 16, pp. 2027–2034. doi: 10.1093/cid/ciaa344

Авторы:

Решетникова И.Д., к.м.н., доцент, зам. директора по научной работе ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Казань, Россия; доцент кафедры фундаментальных основ клинической медицины, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия;

Тюрин Ю.А., к.м.н., зав. лабораторией иммунологии и разработки аллергенов ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Казань, Россия; ассистент кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия;

Агафонова Е.В., к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики консультативно-диагностической поликлиники инфекционно-аллергических заболеваний ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Казань, Россия; ассистент кафедры пропедевтики детских болезней ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия;

Куликов С.Н., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии и разработки аллергенов ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Казань, Россия;

Гилязутдинова Г.Ф., врач-эпидемиолог консультативно-диагностической поликлиники инфекционно-аллергических заболеваний ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Казань, Россия;

Лопушов Д.В., к.м.н., доцент кафедры профилактической медицины и экологии человека ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия; доцент кафедры эпидемиологии и дезинфектологии, Казанская государственная медицинская академия — филиал ГБОУ ДПО, г. Казань, Россия;

Шайхразиева Н.Д., к.м.н., доцент кафедры эпидемиологии и дезинфектологии Казанской государственной медицинской академии — филиала ГБОУ ДПО, г. Казань, Россия;

Исаева Г.Ш., д.м.н., профессор, зам. директора по инновационному развитию ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Казань, Россия; зав. кафедрой микробиологии им. академика В.М. Аристовского ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия;

Зиятдинов В.Б., д.м.н., директор ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Казань, Россия.

Authors:

Reshetnikova I.D., PhD (Medicine), Deputy Head of Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Kazan, Russian Federation; Associate Professor, Department of Fundamental Clinical Medicine, Kazan Federal University, Kazan, Russian Federation;

Tyurin Yu.A., PhD (Medicine), Head of Immunology Laboratory, Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Kazan, Russian Federation; Assistant Professor, Department of Biochemistry and Clinical Laboratory Diagnostics, Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation;

Agafonova E.V., PhD (Medicine), Laboratory Diagnostics Doctor, Diagnostics Centre of Infection-Allergic Diseases, Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Kazan, Russian Federation; Assistant Professor, Department of Propedeutics of Child Diseases, Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation;

Kulikov S.N., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Immunology and Allergens Development, Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Kazan, Russian Federation;

Gilyazutdinova G.F., Epidemiologist, Diagnostics Centre of Infection-Allergic Diseases, Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Kazan, Russian Federation;

Lopushov D.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Preventive Medicine and Human Ecology, Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation; Associate Professor, Department of Epidemiology and Disinfectology, Kazan State Medical Academy, Kazan, Russian Federation;

Shaykhrayeva N.D., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Epidemiology and Disinfectology, Kazan State Medical Academy, Kazan, Russian Federation;

Isaeva G.Sh., PhD, MD (Medicine), Professor, Deputy Director for Innovative Development, Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Kazan, Russian Federation; Head of the Department of Microbiology named after Academician V.M. Aristovsky, Kazan State Medical Academy, Kazan, Russian Federation;

Ziatdinov V.B., PhD, MD (Medicine), Director of Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Kazan, Russian Federation.

Поступила в редакцию 17.08.2020
Отправлена на доработку 27.03.2021
Принята к печати 30.05.2021

Received 17.08.2020
Revision received 27.03.2021
Accepted 30.05.2021

ВЛИЯНИЕ ГОРМОНОТЕРАПИИ НА СОСТОЯНИЕ ИНТЕРФЕРОНОВОЙ ЗАЩИТЫ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ИНФЕКЦИОННЫМ МОНОНУКЛЕОЗОМ

И.М. Федорова¹, С.И. Котелева¹, И.В. Капустин¹, М.С. Бляхер¹, Е.А. Тульская¹,
Н.Н. Зверева², М.А. Ильина², М.А. Сайфуллин², А.А. Самков³, Е.В. Власов³

¹ ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, Москва, Россия

³ ГБУЗ Инфекционная клиническая больница № 1, Москва, Россия

Резюме. Обследовано 23 ребенка, госпитализированных с диагнозом «инфекционный мононуклеоз» и получивших в процессе лечения курс преднизолона. Их интерфероновый статус в динамике заболевания сравнили с показателями 38 больных в остром периоде инфекционного мононуклеоза, не получавших гормонотерапию. Исследование интерфероновый статус выполнен по методике Ф.И. Ершова, в соответствии с которой оценка количества интерферона в сыворотке крови или в культуре клеток крови больного осуществляется по его биологической активности. Дополнительно кроме биологической активности IFN α или IFN γ в каждом образце была определена их концентрация с помощью ИФА. Иммунологическое обследование, проведенное на следующий после окончания гормонотерапии день, показало резкое снижение способности клеток крови больных продуцировать как IFN α , так и IFN γ . Кратность снижения титра IFN α у разных больных варьировала от 4 до 5 раз, а титра IFN γ — от 3 до 4 раз. Концентрация IFN α , определенная методом ИФА, снижалась в 4–6 раз, а IFN γ — в 1,5–2 раза. При контрольном обследовании через 1 месяц после выписки из клиники средний титр IFN α у детей 3–6 лет, получавших терапию преднизолоном, был значимо снижен по сравнению с исходным состоянием, тогда как у большинства больных, лечение которых прошло без гормонотерапии, продукция IFN α к этому сроку была в норме. Изменение уровня IFN α через 1 месяц после гормонотерапии в возрастной группе 7–14 лет было аналогичным. Продукция IFN γ быстро восстанавливалась, и через 1 месяц после выписки из клиники его концентрация в культуральных супернатантах пациентов достигала 10–15 нг/мл, превышая по данным ИФА нормальные показатели более чем в 2 раза. Биологическая активность IFN γ была значимо выше, чем сразу после гормонотерапии, а в группе больных 3–6 лет она была выше и исходного состояния. Полученные результаты могут служить лабораторным обоснованием включения в терапию таких больных препаратов рекомбинантного IFN α -2b, сразу после окончания курса гормонов. В целом лабораторное обоснование позволит определить оптимальный момент для назначения препаратов интерферона, что ускорит наступление устойчивого выздоровления.

Ключевые слова: инфекционный мононуклеоз, преднизолон, IFN α , IFN γ , продукция интерферонов *in vitro*, лабораторное обоснование интерферонотерапии.

Адрес для переписки:

Федорова Ирина Михайловна
125212, Россия, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10,
ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора.
Тел.: 8 903 107-60-67. Факс: 8 (495) 452-18-30.
E-mail: vestnik-07@mail.ru

Contacts:

Irina M. Fedorova
125212, Russian Federation, Moscow, Admiral Makarov str., 10,
G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology
and Microbiology.
Phone: +7 903 107-60-67. Fax: +7 (495) 452-18-30.
E-mail: vestnik-07@mail.ru

Для цитирования:

Федорова И.М., Котелева С.И., Капустин И.В., Бляхер М.С., Тульская Е.А.,
Зверева Н.Н., Ильина М.А., Сайфуллин М.А., Самков А.А., Власов Е.В.
Влияние гормонотерапии на состояние интерфероновой защиты у детей,
больных инфекционным мононуклеозом // Инфекция и иммунитет. 2021.
Т. 11, № 5. С. 943–950. doi: 10.15789/2220-7619-TSC-1350

Citation:

Fedorova I.M., Koteleva S.I., Kapustin I.V., Blyakher M.S., Tulskaia E.A.,
Zvereva N.N., Ilyina M.A., Saifullin M.A., Samkov A.A., Vlasov E.V. Hormone
therapy affecting interferon defense in children with infectious mononucleosis //
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11,
no. 5, pp. 943–950. doi: 10.15789/2220-7619-TSC-1350

HORMONE THERAPY AFFECTING INTERFERON DEFENSE IN CHILDREN WITH INFECTIOUS MONONUCLEOSIS

Fedorova I.M.^a, Koteleva S.I.^a, Kapustin I.V.^a, Blyakher M.S.^a, Tulskaia E.A.^a, Zvereva N.N.^b, Ilyina M.A.^b, Saifullin M.A.^c, Samkov A.A.^c, Vlasov E.V.^c

^a G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

^b Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

^c Infectious Hospital No. 1, Moscow, Russian Federation

Abstract. 23 children diagnosed with acute infectious mononucleosis were hospitalized and examined after a short prednisolone treatment course. Related interferon status during infection was compared with that in 38 patients with acute infectious mononucleosis receiving no hormone therapy. Interferon status was investigated by Ershov method, allowing to estimate amount of interferon in the blood serum samples or patient blood cell culture by assessing interferon biological activity. Along with measuring IFN α or IFN γ biological activity, their level was quantified by using enzyme immunoassay. Immunological examination conducted on the next day after the end of hormone therapy revealed sharply decreased potential of patient blood cells to produce both IFN α and IFN γ . The multiplicity of IFN α and IFN γ titer reduction in various patients varied by 4–5 and 3–4-fold, respectively. The concentration of IFN α , determined by ELISA, decreased by 4–6-fold, whereas for IFN γ — by 1.5–2-fold. A follow-up examination 1 month after discharge from the clinic showed that mean IFN α titer in children aged 3–6 years and treated with prednisolone was significantly reduced compared to the baseline, whereas most patients receiving no hormone therapy had normal IFN α production. The change in the level of IFN α 1 month after hormone therapy in 7–14-year age group was similar. IFN γ production quickly recovered, and 1 month after discharge from the clinic, its concentration in culture supernatants from patients reached 10–15 ng/ml, exceeding normal values more than twice. The biological activity of IFN γ in these culture supernatants was significantly higher than those immediately after hormone therapy, whereas in 3–6-year-old group of patients it was also higher than baseline level. These results can serve as a laboratory justification for including recombinant IFN α -2b drugs in the therapy of such patients, presumably immediately after the end of hormone course. Overall, laboratory justified administration of interferon preparations seems to be necessary to determine optimal timepoint for applying such drugs to increase effectiveness for achieving a durable patient recovery.

Key words: infectious mononucleosis, prednisolone, IFN α , IFN γ , *in vitro* interferon production, laboratory justified interferon therapy.

Введение

Согласно «Клиническим рекомендациям оказания медицинской помощи детям, больным инфекционным мононуклеозом (ИМ)», глюкокортикоиды (ГК) могут включаться в терапию инфекционного мононуклеоза ВЭБ-этиологии относительно редко — в основном при тяжелой форме ИМ, выраженных проявлениях лекарственной аллергии, назофарингеальном отеке [3].

Поскольку наличие осложнений является обязательным критерием назначения этого вида терапии при ИМ, то изучено, главным образом, ограничительное действие ГК на иммуноопосредованное воспаление, сопровождающее развитие клинических проявлений ИМ [5, 10, 18]. Разработка новых видов терапии (антивирусной или клеточной) ВЭБ-ассоциированных заболеваний проводится с учетом того, что новые препараты в сложных случаях будут применяться в сочетании с ГК [15, 17]. В российской научной литературе широко обсуждается опыт применения препаратов рекомбинантного IFN α -2b для лечения больных с острыми и хроническими формами ВЭБ-инфекции [11, 14], поэтому представляет интерес исследование того, как и в каких случаях могут сочетаться эти два вида терапии. В настоящее время накоплено мало

данных о том, как гормонотерпия, способная вызывать иммуносупрессивный эффект, влияет на интерфероновую защиту, чрезвычайно важную при ИМ.

Целью работы была оценка того, как интерфероновый статус детей, получавших гормонотерапию в остром периоде ИМ, изменяется после такого лечения и как длительно сохраняются эти изменения.

Материалы и методы

Основная группа больных состояла из 23 детей, госпитализированных в ГБУЗ ИКБ № 1 г. Москвы с диагнозом «инфекционный мононуклеоз» и получавших гормонотерапию. Больные поступали в клинику на 5–12 день заболевания. Среди них было 9 человек в возрасте 3–6 лет и 14 человек — в возрасте 7–14 лет. Этим больным был назначен в составе комплексной терапии 2–4-дневный курс преднизолона в дозе 1–2 мг/кг. Иммунологическое исследование крови было проведено до лечения, на следующий день после окончания гормонотерапии и через 1 месяц после выписки из стационара.

Серологическая верификация диагноза «острый ИМ» проведена на ИФА-тест-системах ЗАО «Вектор-Бест» (Россия) по наличию IgG-антител к EA-антигену и IgG- и IgM-антител

к VCA-антигену вируса Эпштейна–Барр и отсутствию антител к EBNA, а также с учетом выявленной низкой avidности IgG-антител к VCA-антигену.

Оценка состояния интерфероновой системы включала определение биологической активности интерферона (интерфероновый статус по Ф.И. Ершову [9]) — сывороточного и продуцируемого в культуре клеток цельной крови, а также определение концентрации IFN α и IFN γ в тех же культуральных супернатантах методом иммуоферментного анализа (ИФА) на тест-системах производства «Вектор-Бест» (Россия).

Показатели больных сравнивались с показателями контрольной группы находящихся в остром периоде ИМ детей того же отделения ИКБ № 1, которым терапия кортикостероидами не была показана (22 ребенка 3–6 лет и 16 детей 7–14 лет), а также с показателями здоровых (30 детей 3–6 лет и 20 детей 7–14 лет [внутрилабораторная норма]).

Статистическая обработка проведена с использованием программ MS Excel и StatSoft Statistica 6.0.

Результаты

При первом обследовании у больных ИМ по сравнению со здоровыми детьми было обнаружено повышение титра биологической активности и концентрации интерферона в сыворотке. Спонтанная продукция интерферона была невысока; по данным ИФА, она была представлена почти исключительно IFN α , и ее изменения за период наблюдения были незначительными (табл. 1).

Во всех следующих таблицах будут приведены сведения только об уровне индуцированной продукции IFN α и IFN γ , поскольку именно по этим показателям наблюдалось различие между группами и сроками обследования.

До начала курса преднизолона индуцированная продукция IFN α и IFN γ в основной группе больных не отличалась от таковой в группе пациентов, не нуждавшихся в гормонотерапии, и мало отличалась от показателей здоровых детей (табл. 2).

Среди отличий можно отметить значимое снижение продукции IFN α в группах больных 7–14 лет (как по концентрации, так и по биологической активности) и тенденцию к снижению концентрации IFN α в группах больных 3–6 лет.

Иммунологическое обследование, проведенное на следующий после окончания гормонотерапии день, показало резкое снижение способности клеток крови продуцировать как IFN α , так и IFN γ у больных обеих возрастных групп (табл. 3 и табл. 4).

Титр IFN α снижался в 4–5 раз, титр IFN γ — в 3–4 раза. Концентрация IFN α , определенная методом ИФА, снижалась в 4–6 раз, а IFN γ — в 1,5–2 раза.

При контрольном обследовании через 1 месяц после выписки из клиники средний титр IFN α у детей 3–6 лет, получавших терапию преднизолоном, был значимо снижен по сравнению с исходным состоянием, тогда как у большинства больных, исходно не нуждавшихся в гормонотерапии, продукция IFN α к этому сроку восстанавливалась. Динамика уровня IFN α в возрастной группе 7–14 лет была аналогичной.

Индивидуальная оценка показателей больных в соответствии с критериями методических рекомендаций [9] и нашими внутрилабораторными нормами показала, что снижение интерфероновой защиты, обеспечиваемой IFN α , сохранялось у больных после 2–4-дневного курса преднизолона в те сроки, когда в группе без гормонотерапии (в ней после лечения обследовано 12 человек) показатели практически нормализовались (табл. 5).

Таблица 1. Средняя концентрация (пг/мл, $M \pm m$) и биологическая активность (Ед/мл, среднее геометрическое и 95% доверительный интервал) сывороточного и спонтанно продуцируемого интерферона у больных ИМ или здоровых детей

Table 1. Mean concentration (pg/ml, $M \pm m$) and biological activity (U/ml, geometric average and 95% confidence interval) of serum interferon spontaneous interferon production in IM patients and healthy children

| | IFN в сыворотке IFN in serum | | Спонтанная продукция IFN Spontaneous production of IFN | |
|---|---------------------------------|----------------|---|----------------|
| | Ед/мл U/ml | пг/мл pg/ml | Ед/мл U/ml | пг/мл pg/ml |
| Здоровые дети (n = 50) Healthy children | 0 | 1,9 \pm 1,5 | 0 | 0 |
| Больные ИМ* (n = 32) Patients with IM* | 7,1 (6,3–7,9) | 6,7 \pm 1,2 | 1,4 (1,2–1,6) | 0,1 \pm 0,1 |

Примечание. * — 5–12 сутки заболевания.

Note. * — day 5–12 after disease onset.

Следует отметить, что способность клеток больных к продукции $IFN\gamma$ быстро восстанавливалась. На контрольном обследовании через 1 месяц она не только достигала возрастной нормы, но и 2–3-кратно превышала ее. Биологическая активность $IFN\gamma$ в этих культуральных супернатантах была значимо выше, чем сразу после гормонотерапии, а у больных 3–6 лет она превышала и исходный уровень.

Обсуждение

Влияние глюкокортикоидов на иммунную систему коротко можно охарактеризовать как иммуносупрессорное. Различные эффекты этих гормонов, установленные в эксперименте или в ходе клинических наблюдений, подробно рассмотрены, например, в обзоре Cain D.W. и Cidlowski J.A. [16]. Отдельные механизмы влияния ГК на иммунную систему различаются по скорости реализации. Этот аспект следует учитывать при трактовке влияния гормонотерапии по схеме, принятой в комплексном лечении ИМ.

Основной целью применения ГК при ИМ является ограничение иммуноопосредованного воспаления [5, 18]. ГК назначаются в средних дозах коротким курсом (не более 4 суток, а иногда однократно). В таких случаях нет необходимости в постепенной отмене ГК, лечение можно прекратить без постепенного снижения дозы [10]. Преимущества более длительного применения

препаратов этого класса для лечения ИМ с такими осложнениями, как угрожающий назофарингеальный отек, не доказаны [19].

Эффекты, оказываемые глюкокортикоидами на иммунную систему в тех случаях, когда они применяются у больных ИМ по указанной схеме лечения, вероятно, в наибольшей степени обусловлены подавлением синтеза простагландинов и лейкотриенов, уменьшением проницаемости капилляров, ослаблением трансмиграции лейкоцитов через сосудистую стенку, перераспределением лимфоцитов из кровотока в лимфоидные органы.

Также из числа перечисленных в обзоре Cain D.W. и Cidlowski J.A. [16] наиболее вероятны эффекты ГК, связанные с элементами врожденного иммунитета: со снижением функции дендритных клеток, уменьшением поступления в ткани макрофагов, ингибированием экспрессии многих провоспалительных цитокинов ($IL-1\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-2$, $IL-3$, $IL-4$, $IL-5$, $IL-6$, $IL-11$, $IL-12$, $IL-13$, $IL-17$, $IFN\gamma$, $TNF\alpha$, GM-CSF), подавлением синтеза хемокинов и их лигандов ($IL-8$, $IL-16$, CCL2, CCL3, CCL5, CCL11, CCL24 и CCL26). С другой стороны, например, угнетение пролиферации лимфоидной ткани глюкокортикоидами в данном случае, вероятно, выражено слабо.

Отдельной проблемой является влияние ГК на регуляцию иммунного ответа. Некоторые исследования говорят о том, что глюкокортикоиды преимущественно подавляют реак-

Таблица 2. Средние показатели концентрации (пг/мл, $M\pm m$) и биологической активности (Ед/мл, среднее геометрическое и 95% доверительный интервал) $IFN\alpha$ и $IFN\gamma$, индуцированных в культуре клеток крови в остром периоде ИМ

Table 2. Mean concentration (pg/ml, $M\pm m$) and biological activity (U/ml, geometric average and 95% confidence interval) of $IFN\alpha$ and $IFN\gamma$ produced by activated peripheral blood cells from patients with acute IM

| | | $IFN\alpha$ | | $IFN\gamma$ | |
|----------------------------|---|-------------------|----------------|---------------|----------------|
| | | Ед/мл U/ml | пг/мл pg/ml | Ед/мл U/ml | пг/мл pg/ml |
| 3–6 лет 3–6 years old | Больные основной группы (n = 9) Main group | 254 (219–293) | 639±395 | 35 (29–44) | 2443±1051 |
| | Больные контрольной группы (n = 22) Control group | 257 (223–295) | 438±200 | 43 (38–50) | 2846±784 |
| | Здоровые дети (n = 30) Healthy children | 213 (191–240) | 780±90 | 37 (34–41) | 4336±1361 |
| 7–14 лет 7–14 years old | Больные основной группы (n = 14) Main group | 190* (105–343) | 366±198 | 45 (37–55) | 4436±2043 |
| | Больные контрольной группы (n = 16) Control group | 218 (179–261) | 303±83* | 47 (40–57) | 4058±1131 |
| | Здоровые дети (n = 20) Healthy children | 257 (229–288) | 658±114 | 46 (40–54) | 3877±1166 |

Примечание. * — значимое отличие от здорового контроля при $p < 0,05$.

Note. * — significant difference compared to healthy control group, at $p < 0,05$.

Таблица 3. Концентрация (пг/мл, $M \pm m$) и биологическая активность (Ед/мл, среднее геометрическое и 95% доверительный интервал) $IFN\alpha$ и $IFN\gamma$, индуцированных в культуре клеток крови больных 3–6 лет, в динамике лечения

Table 3. Dynamic mean concentration (pg/ml, $M \pm m$) and biological activity (U/ml, geometric average and 95% confidence interval) of $IFN\alpha$ and $IFN\gamma$ produced by activated peripheral blood cells from treated 3–6 year-old patients

| | $IFN\alpha$ | | $IFN\gamma$ | |
|--|--------------------|----------------|--------------------|----------------|
| | Ед/мл U/ml | пг/мл pg/ml | Ед/мл U/ml | пг/мл pg/ml |
| До гормонотерапии Prior to hormone therapy | 254 (219–293) | 639±395 | 35 (29–44,4) | 2443±1051 |
| Сразу после гормонотерапии Immediately after hormone therapy | 55* (34–87) | 94±44* | 8,7* (6,0–12,6) | 1057±384* |
| Через 1 месяц 1 month later | 134** (112–162) | 467±108** | 75** (63–91) | 10 586±3279** |

Примечание. * — значимое отличие от состояния до гормонотерапии при $p < 0,05$; ** — значимое отличие от состояния сразу после гормонотерапии при $p < 0,05$.

Note. * — significant difference compared to level before hormone therapy at $p < 0,05$; ** — significant difference compared to level immediately after hormone therapy at $p < 0,05$.

Таблица 4. Концентрация (пг/мл, $M \pm m$) и биологическая активность (Ед/мл, среднее геометрическое и 95% доверительный интервал) $IFN\alpha$ и $IFN\gamma$, индуцированных в культуре клеток крови больных 7–14 лет, в динамике лечения

Table 4. Dynamic mean concentration (pg/ml, $M \pm m$) and biological activity (U/ml, geometric average and 95% confidence interval) of $IFN\alpha$ and $IFN\gamma$ produced by activated peripheral blood cells from treated 7–14 year-old patients

| | $IFN\alpha$ | | $IFN\gamma$ | |
|--|--------------------|----------------|-----------------|----------------|
| | Ед/мл U/ml | пг/мл pg/ml | Ед/мл U/ml | пг/мл pg/ml |
| До гормонотерапии Before hormone therapy | 190 (105–343) | 366±198 | 45 (37–55) | 4436±2043 |
| Сразу после гормонотерапии Immediately after hormone therapy | 46* (36–60) | 79±16* | 15* (10–21) | 2799*±1325 |
| Через 1 месяц 1 month later | 138** (114–166) | 411±114** | 51** (36–72) | 15 863±1474** |

Примечание. * — значимое отличие от состояния до гормонотерапии при $p < 0,05$; ** — значимое отличие от состояния сразу после гормонотерапии при $p < 0,05$.

Note. * — significant difference compared to level before hormone therapy at $p < 0,05$; ** — significant difference compared to level immediately after hormone therapy at $p < 0,05$.

Таблица 5. Количество детей с низкими показателями индуцированной продукции $IFN\alpha$ на разных стадиях лечения ИМ

Table 5. Number of IM children with low $IFN\alpha$ level produced by activated peripheral blood cells at different stages of treatment

| | % лиц с недостаточностью продукции $IFN\alpha$ % of persons with insufficient production of $IFN\alpha$ | | |
|---|--|---|--------------------------------|
| | до лечения before treatment | после гормонотерапии after hormone therapy | через 1 месяц 1 month later |
| Основная группа (n = 23) Main group | 7 (30,4%) | 20 (87,0%) | 12 (52,1%) |
| Контрольная группа (n = 12) Control group | 2 (16,6%) | – | 0 |

цию Th1- и Th17-лимфоцитов, при этом сохраняя, а иногда даже стимулируя функцию Th2-лимфоцитов и регуляторных Т-клеток (Treg) [10]. Требуется отдельное исследование и влияние ГК на процессы гибели активированных Т-клеток и формирования иммунной памяти при ИМ, поскольку оно отмечено при других заболеваниях [12, 20], однако эти вопросы лежат за рамками настоящей статьи.

Выявленное нами снижение способности клеток больных ИМ продуцировать интерфероны после короткого курса преднизолона, по-видимому, является следствием перераспределения лейкоцитов и лимфоцитов в организме и подавления продукции широкого спектра провоспалительных цитокинов. Скорость восстановления продукции двух исследованных нами цитокинов была неодинаковой.

Сохранение низкой способности клеток к продукции $IFN\alpha$, которое мы наблюдали в течение 1 месяца, может способствовать как увеличению длительности выздоровления, так и увеличению риска инфекционных осложнений в периоде реконвалесценции. Результаты нашего исследования могут служить лабораторным обоснованием включения в терапию таких больных препаратов рекомбинантного $IFN\alpha-2b$. В то же время до назначения гормонотерапии в остром периоде ИМ у большинства больных детей параметры интерфероновой защиты были в норме, за исключением повышенного содержания интерферона в сыворотке. Если учесть, что уровень индуцированной продукции $IFN\alpha$ и $IFN\gamma$ отражает не потребности организма, борющегося с текущей инфекцией, а функциональный резерв интерфероновой защиты, то вопрос о необходимости заместительной терапии интерфероновыми препаратами в остром периоде ИМ, вероятно, требует дальнейшего исследования. Кроме того, надо учитывать компенсаторные возможности самой иммунной системы, и в качестве их примера можно привести наши данные о быстром восстановлении продукции $IFN\gamma$ после ее нарушения в ходе гормонотерапии и даже 2–3-кратном превышении нормальных показателей.

В российской научной литературе накоплено много сообщений о преимуществах, которые дает терапия $IFN\alpha-2b$ при ИМ. Часть этих

работ содержит результаты сравнения иммунологических показателей в группах больных, находящихся на базисной терапии, и в группах, получающих $IFN\alpha-2b$ [1, 14], однако непосредственно параметры интерфероновой системы, которые, очевидно, должны быть учтены в первую очередь, оцениваются редко. В то же время авторы, которые проводят такие исследования, отмечают, что определять чувствительность иммунной системы к иммунотропным препаратам необходимо [4, 7] и что необходим персонализированный подход к интерферонотерапии при ИМ [2].

Еще один малоисследованный вопрос — определение оптимальной для назначения интерфероновой терапии стадии заболевания. Некоторые авторы сообщают о повышении эффективности лечения при назначении иммуномодулирующей терапии даже в остром периоде ИМ или в периоде ранней реконвалесценции [8], и даже не только интерферонами, но и интерферогенами [6], однако существует и мнение, что в остром периоде ИМ иммунная система больного высоко активирована самой вирусной инфекцией и не нуждается в дополнительной стимуляции [5, 13].

В целом нам представляется, что дальнейшее исследование состояния интерфероновой защиты у конкретного больного позволит определить оптимальный момент назначения интерфероновых препаратов и ускорить наступление устойчивого выздоровления.

Выводы

1. Оценка интерфероновой защиты у детей, больных ИМ, выявление степени недостаточности интерфероновой защиты важны для определения стадии заболевания, на которой пациенты более всего нуждаются в интерфероновых препаратах.

2. В случаях, когда состояние больного требует терапии глюкокортикоидами, после нее наступает длительно сохраняющийся дефицит продукции $IFN\alpha$, что является лабораторным обоснованием для назначения препаратов рекомбинантного интерферона.

3. Способность клеток крови к продукции $IFN\gamma$ восстанавливается быстро и не требует коррекции по окончании гормонотерапии.

Список литературы/References

1. Барычева Л.Ю., Голубева М.В., Волкова А.В. Показатели адаптивного иммунитета у детей с инфекционным мононуклеозом, обусловленным вирусом Эпштейна–Барр // Кубанский научный медицинский вестник. 2012. № 2 (131). С. 30–33. [Barycheva L.U., Golubeva M.V., Volkova A.V. Indicators of adaptive immunity for children with infectious mononucleosis conditioned with the virus of Epstein–Barr. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik = Kuban Scientific Medical Bulletin*, 2012, no. 2 (131), pp. 30–33. (In Russ.)]

2. Дрыганова М.Б., Мартынова Г.П., Куртасова Л.Б. Характеристика острого периода инфекционного мононуклеоза Эпштейна–Барр-вирусной этиологии у детей в зависимости от индивидуальной клеточной чувствительности к интерферону α -2 // *Детские инфекции*. 2011. № 3. С. 15–17. [Dryganova M.B., Martynova G.P., Kurtasova L.M. Features of acute period of infectious mononucleosis of Epstein–Barr virus etiology in children depending on individual cell sensitivity to interferon α -2. *Detskie infeksii = Children's Infections*, 2011, no. 3, pp. 15–17. (In Russ.)]
3. Клинические рекомендации (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям, больным инфекционным мононуклеозом. Утверждено на заседании Профильной комиссии ФГБУ НИИДИ ФМБА России 9 октября 2013 г. (код протокола 91500.11.B27.001.2013). [Clinical recommendation (treatment protocol) of medical aid to children with infectious mononucleosis. Approved at the meeting of the Profile Commission of Research Institute of Children's Infections FMBA of Russia (protocol code 91500.11.B27.001.2013). (In Russ.)] URL: <http://niidi.ru/dotAsset/a6816d03-b0d9-4d37-9b09-540f48e3ed43.pdf>
4. Крамарь Л.В., Карпухина О.А. Комплексная терапия Эпштейна–Барр-вирусной инфекции у детей // *Архив внутренней медицины*. 2012. № 1 (3). С. 25–29. [Kramar L.V., Karpukhina O.A. Complex therapy of Epstein–Barr viral infection in children. *Arkhiv vnutrennei meditsiny = Archive of Internal Medicine*, 2012, no. 1 (3), pp. 25–29. (In Russ.)]
5. Кудин А.П. Некоторые вопросы терапии инфекционного мононуклеоза у детей // *Медицинский журнал*. 2012. № 3. С. 138–143. [Kudin A.P. Some questions of therapy infectious mononucleosis at children. *Meditsinskii zhurnal = Medical Journal*, 2012, no. 3, pp. 138–143. (In Russ.)]
6. Курмаева Д.Ю., Баранова И.П. Терапевтическая эффективность различных форм циклоферона при лечении инфекционного мононуклеоза у детей // *Антибиотики и химиотерапия*. 2011. Т. 56, № 9–10. С. 33–36. [Kurmaeva D.Yu., Baranova I.P. Therapeutic efficacy of various formulations in the treatment of infectious mononucleosis in children. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*, 2011, vol. 56, no. 9–10, pp. 33–36. (In Russ.)]
7. Куртасова Л.М., Шакина Н.А., Шмидт А.Р. Клеточная чувствительность к интерферону- α 2 in vitro у детей с инфекционным мононуклеозом, вызванным вирусом Эпштейна–Барр // *Медицинская иммунология*. 2016. Т. 18, № 1. С. 79–84. [Kurtasova L.M., Shakina N.A., Schmidt A.R. In vitro cellular response to interferon- α 2 in children with infectious mononucleosis caused by Epstein–Barr virus. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2016, vol. 18, no. 1, pp. 79–84. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2016-1-79-84
8. Левина А.С., Железникова Г.Ф., Иванова В.В., Бабаченко И.В., Монахова Н.Н., Комелева Е.В., Мурина Е.А. Эффективность иммунокорректирующей терапии при инфекционном мононуклеозе у детей // *Детские инфекции*. 2009. № 1. С. 60–63. [Levina A.S., Zheleznikova G.F., Ivanova V.V., Babachenko I.V., Monakhova N.E., Komeleva E.V., Murina E.A. Effectiveness of immunocorrective therapy at infectious mononucleosis in children. *Detskie infeksii = Children's Infections*, 2009, no. 1, pp. 60–63. (In Russ.)]
9. Определение интерферонового статуса как показателя неспецифической резистентности организма человека. Практические рекомендации ассоциации специалистов и организаций лабораторной службы «Федерация лабораторной медицины». Под ред. Ф.И. Ершова. Москва: 2018. 26 с. [Determination of interferon status, as an indicator of non-specific resistance of the human body. Practical recommendations of the Association of Laboratory Specialists and Organizations “Federation of Laboratory Medicine”. Ed. by F.I. Ershov. Moscow: 2018. 26 p. (In Russ.)]
10. Подчерняева Н.С. Глюкокортикоиды в детской ревматологии: status praesans // *Педиатрия*. 2016. Т. 95, № 4. С. 150–159. [Podchernyaeva N.S. Glucocorticoids in pediatric rheumatology: status praesans. *Pediatriya = Pediatrics*, 2016, vol. 95, no. 4, pp. 150–159. (In Russ.)]
11. Пritулина Ю.Г., Кунина В.В., Монастырский А.А., Малюткина Т.Н., Малиновская В.В., Шувалов А.Н. Новые подходы к терапии инфекционного мононуклеоза // *Лечащий врач*. 2019. № 9. С. 57–59. [Pritulina Yu.G., Kunina V.V., Monastyrsky A.A., Malyutkina T.N., Malinovskaya V.V., Shuvalov A.N. New approaches to the therapy of infectious mononucleosis. *Lechaschii vrach = The Attending Physician*, 2019, no. 9, pp. 57–59. (In Russ.)] doi: 10.26295/OS.2019.80.68.012
12. Тодосенко Н.М., Хазиахматова О.Г., Юрова К.А., Малинина И.П., Литвинова Л.С. Влияние метилпреднизолонa на процессы активации CD4⁺CD45RO⁺ Т-клеток при ревматоидном артрите (in vitro) // *Цитология*. 2017. Т. 59, № 6. С. 421–427. [Todosenko N.M., Khaziakhmatova O.G., Yurova K.A., Malinina I.P., Litvinova L.S. Influence of methylprednisolone in vitro during activation of CD4⁺CD45RO⁺ T-cells in norm and chronic rheumatoid arthritis. *Tsitologiya = Cell and Tissue Biology*, 2017, vol. 11, no. 6, pp. 427–433. (In Russ.)]
13. Тюняева Н.О., Софронова Л.В. Инфекционный мононуклеоз: этиологические факторы, проблемы диагностики и лечения (научный обзор) // *Вестник новых медицинских технологий*. 2014. Т. 21, № 3. С. 185–190. [Tyunyaeva N.O., Sofronova L.V. Infectious mononucleosis: etiological factors, diagnosis and treatment problems. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii = Herald of New Medical Technologies*, 2014, vol. 21, no. 3, pp. 185–190. (In Russ.)] doi: 10.12737/5932
14. Хохлова З.А., Попова О.А., Чуйкова К.И., Якимов В.Л., Минакова Ю.В., Петрова Е.И. Инфекционный мононуклеоз у детей: особенности течения заболевания в зависимости от видов противовирусной терапии // *Журнал инфектологии*. 2017. Т. 9, № 3. С. 67–74. [Khokhlova Z.A., Popova O.A., Chujkova K.I., Yakimov V.L., Minakova Y.V., Petrova E.I. Infectious mononucleosis at children: features of the course of the disease depending on types of antiviral therapy. *Zhurnal infektologii = Journal Infectology*, 2017, vol. 9, no. 3, pp. 67–74. (In Russ.)] doi: 10.22625/2072-6732-2017-9-3-67-74
15. Andrei G., Trompet E., Snoeck R. Novel therapeutics for Epstein–Barr virus. *Molecules*, 2019, vol. 24, no. 5: 997. doi: 10.3390/molecules24050997
16. Cain D.W., Cidlowski J.A. Immune regulation by glucocorticoids. *Nat. Rev. Immunol.*, 2017, vol. 17, pp. 233–247. doi: 10.1038/nri.2017.1
17. Ma C., Wong C.K., Chan K.C., Lun S.W., Lee N., Wu J., Cockram C.S., Chan P.K., Tang J.W. Cytokine responses in a severe case of glandular fever treated successfully with foscarnet combined with prednisolone and intravenous immunoglobulin. *J. Med. Virol.*, 2009, vol. 81, no. 1, pp. 99–105. doi: 10.1002/jmv.21383
18. Odumare O.A., Hogquist K.A., Balfur H.H. Progress and problems in understanding and managing primary Epstein–Barr virus infections. *Clin. Microb. Rev.*, 2011, vol. 24, no. 1, pp. 193–209. doi: 10.1128/CMR.00044-10

19. Rezk E., Nofal Y.H., Hamzel A., Aboujaib M.F., Al Kheder M.A., Al Hammad M.F. Steroids for symptom control in infectious mononucleosis. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2015, vol. 11: CD004402. doi: 10.1002/14651858.CD004402.pub3
20. Xing K., Gu B., Zhang P., Wu X. Dexamethasone enhances programmed cell death 1 (PD-1) expression during T cell activation: an insight into the optimum application of glucocorticoids in anti-cancer therapy. *BMC Immunol.*, 2015, vol. 16: 39. doi: 10.1186/s12865-015-0103-2

Авторы:

Федорова И.М., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории по изучению клеточных и молекулярных основ иммунитета ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Котелева С.И., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории по изучению клеточных и молекулярных основ иммунитета ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Капустин И.В., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории по изучению клеточных и молекулярных основ иммунитета ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Бляхер М.С., д.м.н., профессор, руководитель лаборатории по изучению клеточных и молекулярных основ иммунитета ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Тульская Е.А., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории по изучению клеточных и молекулярных основ иммунитета ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Зверева Н.Н., к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней у детей ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, Москва, Россия;

Ильина М.А., врач-ординатор кафедры инфекционных болезней у детей ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, Москва, Россия;

Сайфуллин М.А., к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней у детей ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, Москва, Россия;

Самков А.А., врач-инфекционист, педиатр, зав. 13 детским отделением ГБУЗ Инфекционная клиническая больница № 1, Москва, Россия;

Власов Е.В., врач-инфекционист, педиатр, зам. главного врача ГБУЗ Инфекционная клиническая больница № 1, Москва, Россия.

Authors:

Fedorova I.M., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory for the Study of Cellular and Molecular Bases of Immunity, G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Koteleva S.I., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory for the Study of Cellular and Molecular Bases of Immunity, G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Kapustin I.V., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory for the Study of Cellular and Molecular Bases of Immunity, G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Blyakher M.S., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory for the Study of Cellular and Molecular Bases of Immunity, G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Tulskaya E.A., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory for the Study of Cellular and Molecular Bases of Immunity, G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Zvereva N.N., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Infectious Diseases in Children, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation;

Ilyina M.A., Pediatrician, Department of Infectious Diseases in Children, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation;

Saifullin M.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Infectious Diseases in Children, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation;

Samkov A.A., Infectiologist, Pediatrician, Head of the Department No. 13, Infectious Hospital No. 1, Moscow, Russian Federation;

Vlasov E.V., Infectiologist, Pediatrician, Deputy Head Physician of the Department No. 13, Infectious Hospital No. 1, Moscow, Russian Federation.

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ

К.М. Манахов, Е.В. Повышева, А.Р. Гилязова, Д.С. Сарксян

ФГБОУ ВО Ижевская государственная медицинская академия Минздрава России, г. Ижевск, Россия

Резюме. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) является серьезной медико-социальной проблемой для многих развитых стран. При ВИЧ-инфекции характерно развитие хронической патологии почек, а также остро почечного повреждения. В ряде регионов определен вклад в развитие почечной патологии у ВИЧ-инфицированных может вносить геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС). Цель исследования — выявление клинико-лабораторных особенностей течения ГЛПС на фоне ВИЧ-инфекции. Проведено ретроспективное исследование. Сформированы две группы: первая — 9 больных, перенесших ГЛПС на фоне имеющейся ВИЧ-инфекции, вторая — 53 больных, перенесших ГЛПС и не имевших клинико-эпидемиологических указаний на ВИЧ-инфекцию. Сравнимые группы сопоставимы по полу и возрасту. Средний возраст пациентов первой группы составил 34 года, второй — 31. Для статистического анализа использовали лицензированную программу SPSS 22.0. Критический уровень значимости p для статистических критериев принимали равным 0,05. В целом у всех больных течение ГЛПС сопровождалось характерными проявлениями: интоксикационным синдромом, нарушением зрения, геморрагической сыпью, болью в поясничной области, снижением диуреза, тромбоцитопенией, протеинурией, полиморфным мочевым синдромом и азотемией. Больных ГЛПС на фоне сопутствующей ВИЧ-инфекции чаще беспокоят сухость во рту, вздутие живота, видимая одышка. Лабораторные данные указывают на более тяжелое повреждение почек. Показана прямая сильная корреляция между количеством лейкоцитов и уровнем мочевины в крови у больных с сопутствующей ВИЧ-инфекцией ($r = 0,798$; $p = 0,01$). Сочетание ГЛПС и ВИЧ сопровождалось более легким течением ГЛПС — частота легкого течения заболевания почти в 6 раз выше у больных ВИЧ. Случаев тяжелого течения ГЛПС при ее сочетании с ВИЧ не отмечено. В ходе данного исследования получены неоднозначные результаты. Предрасположенность ВИЧ-инфицированных к почечной патологии может стать определяющим фактором в поражении почек при возникновении ГЛПС: более выраженный подъем показателей креатинина, мочевины. При этом в соответствии с балльной шкалой оценки тяжести ГЛПС получилось, что больные с сопутствующей ВИЧ-инфекцией формально имеют легкую степень тяжести заболевания даже при наличии более выраженных почечных проявлений. Возникновение острой почечной патологии у ВИЧ-инфицированных является жизнеугрожающим состоянием, фактором прогрессирования хронической почечной патологии и предиктором смерти. Следовательно, данный контингент пациентов нуждается в пристальном наблюдении как на стационарном, так и на амбулаторном этапе.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, ВИЧ-инфекция, острое повреждение почек, иммуноопосредованное повреждение, природно-очаговые инфекции, хроническая почечная патология.

Адрес для переписки:

Манахов Константин Михайлович
426067, Россия, г. Ижевск, ул. Труда, 1, ФГБОУ ВО Ижевская
государственная медицинская академия Минздрава России.
Тел.: 8 912 013-85-19 (моб.).
E-mail: kmanakhov@yandex.ru

Contacts:

Konstantin M. Manakhov
426067, Russian Federation, Izhevsk, Truda str., 1,
Izhevsk State Medical Academy.
Phone: +7 912 013-85-19 (mobile).
E-mail: kmanakhov@yandex.ru

Для цитирования:

Манахов К.М., Повышева Е.В., Гилязова А.Р., Сарксян Д.С. Особенности течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом у ВИЧ-инфицированных // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 951–957. doi: 10.15789/2220-7619-FOT-1395

Citation:

Manakhov K.M., Povyshcheva E.V., Gilyazova A.R., Sarksyanyan D.S. Features of the course of hemorrhagic fever with renal syndrome in HIV-infected patients // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 951–957. doi: 10.15789/2220-7619-FOT-1395

FEATURES OF THE COURSE OF HEMORRHAGIC FEVER WITH RENAL SYNDROME IN HIV-INFECTED PATIENTS

Manakhov K.M., Povysheva E.V., Gilyazova A.R., Sarksyay D.S.

Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russian Federation

Abstract. Human immunodeficiency virus (HIV) is a significant medical and social problem for many developed countries. HIV infection is featured with developing chronic kidney pathology as well as acute renal damage. In some regions, hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) can contribute somehow to developing renal pathology in HIV-infected subjects. The aim of the study was to identify clinical and laboratory features of HFRS course during HIV infection. A retrospective study was conducted by forming two groups: group 1 consisted of 9 patients suffered from HFRS together with verified HIV infection, group 2 — 53 patients with HFRS but lacking any clinical and epidemiological indications supporting HIV infection. Subjects in both groups were age- and sex-matched. The average age of the patients in group 1 and group 2 was 34 and 31 years, respectively. For statistical analysis, the licensed SPSS 22.0 software was used. A significance level p for statistical criteria was set equal to 0.05. In general, HFRS course in all patients was accompanied by characteristic signs: intoxication syndrome, impaired vision, hemorrhagic rash, pain in the lumbar region, decreased diuresis, thrombocytopenia, proteinuria, polymorphic urinary syndrome and azotemia. HFRS patients with concomitant HIV infection often complain of dry mouth, bloating, visible shortness of breath. Laboratory changes describe more severe kidney damage. A direct strong correlation was shown between leukocyte count and level of blood urea in patients with concomitant HIV infection ($r = 0.798$; $p = 0.01$). The combination of HFRS and HIV was accompanied by a milder HFRS course — rate of mild disease was almost 6-fold higher among patients of this group. In this case, no cases of severe hemorrhagic fever with renal syndrome combined with HIV were noted. Our study allowed to obtain unambiguous data. Predisposition of HIV-infected patients to renal pathology may be a determining factor in kidney damage upon emerging HFRS: more prominent rise in creatinine and urea level. Moreover, according to rating scale for assessing HFRS severity, it formally turned out that during concomitant HIV infection patients more often fit to a mild disease severity, even in the presence of more pronounced renal manifestations. The occurrence of acute renal pathology in HIV-infected patients is a life-threatening condition, a factor of deterioration of chronic renal pathology and a predictor of death. Consequently, this patient population requires thorough monitoring both at inpatient and outpatient stages.

Key words: hemorrhagic fever with renal syndrome, HIV infection, acute kidney injury, immune-mediated damage, natural focal infections, chronic renal pathology.

Введение

ВИЧ является важной медико-социальной проблемой для многих развитых стран [1]. Показатель пораженности ВИЧ-инфекцией в Республике Удмуртия на конец 2019 г. составил 581,6 на 100 тыс. населения [2]. Общее количество инфицированных продолжает увеличиваться.

Одним из нередких проявлений ВИЧ-инфекции является хроническая патология почек, встречающаяся с частотой до 7,4% [3, 4, 5, 6]. Существует ряд вариантов поражения почек при этом заболевании: поражение клубочкового аппарата (подоцитопатии, гломерулонефриты), поражение тубулоинтерстиция (коллапсирующая нефропатия, поражение тубулоинтерстиция при антиретровирусной терапии, инфекционное поражение, иммунное поражение), поражение сосудов (тромботическая микроангиопатия, артериолосклероз) [4]. Кроме того, ВИЧ-инфекция и применение антиретровирусных препаратов могут приводить к гипертензии и диабету и, как следствие, к гипертензивной и диабетической нефропатии [7, 8]. Известно, что риск возникновения хронической почечной патологии увеличивается как при наличии традиционных факторов риска, таких как пожилой возраст, сахарный диабет, ар-

териальная гипертензия [9], так и при развитии сопутствующих ВИЧ-инфекции состояний — СПИД, HCV- и HBV-инфекции, а также на фоне приема антиретровирусных препаратов [4, 10, 11].

Также известно, что при ВИЧ-инфекции возможно возникновение острого повреждения почек вследствие использования лекарственных препаратов (острый канальцевый некроз, острый тубулоинтерстициальный нефрит, канальцевая обструкция), преренальных причин (гепаторенального синдрома, водного истощения при рвоте или диарее). Острое повреждение почек встречается у 5,7% амбулаторных больных, у 37% нуждающихся в госпитализации, у 66% поступающих в отделение интенсивной терапии [12, 13, 14, 15, 16, 17]. При этом ОПП (2–3 стадии по AKIN) у ВИЧ-инфицированных является предиктором смерти в течение 60 дней с отношением шансов 4,234 [18]. Факторами риска развития ОПП являются мужской пол, стадия СПИДа, сопутствующая HCV-инфекция, высокая вирусная нагрузка, возраст, диабет, негроидная раса, ХБП, патология печени, гипертензия и другие сердечно-сосудистые заболевания [13, 16, 19, 20, 21].

В ряде регионов, таких как Удмуртия, определенный вклад в развитие почечной патологии

у ВИЧ-инфицированных может вносить ГЛПС (острое повреждение почек, развивающееся при этом заболевании).

Необходимо отметить, что при ГЛПС происходит иммуноопосредованное повреждение органов. Учитывая особенности иммунного ответа при ВИЧ-инфекции, возможно возникновение особенностей в течении ГЛПС при сочетании этих двух заболеваний

Случаи ГЛПС у ВИЧ-инфицированных больных немногочисленны, описаны лишь в виде клинических наблюдений и в целом указывают на возможность тяжелого течения болезни [22, 23].

Цель исследования — выявить клинико-лабораторные особенности течения ГЛПС на фоне ВИЧ-инфекции.

Материалы и методы

Проведено ретроспективное исследование «случай—контроль». Изучена информация, содержащаяся в 64 медицинских картах (форма 003/у) больных, перенесших ГЛПС в 2015–2017 гг. и находившихся на стационарном лечении в Республиканской клинической инфекционной больнице (РКИБ) г. Ижевска.

Все больные проживали на территории природного очага, диагноз ГЛПС во всех случаях имел серологическое подтверждение методом иммуноферментного анализа (ИФА).

В ходе исследования сформированы две группы: первая — 9 больных, перенесших ГЛПС на фоне имеющейся ВИЧ-инфекции (диагноз о сопутствующей ВИЧ-инфекции был известен из анамнеза, при этом лишь двое больных эпизодически получали антиретровирусную терапию, длительность заболевания составляла от 1 до 13 лет и соответствовала 3–4А стадиям ВИЧ-инфекции); вторая — 53 больных, перенесших ГЛПС и не имевших клинико-эпидемиологических указаний на ВИЧ-инфекцию.

В итоге сравниваемые группы были сопоставимы по полу и возрасту: 66,67 и 54,72% мужчин в первой и второй группе соответственно ($p = 0,5$); возраст пациентов первой группы составил 34 [31; 36] года, во второй 31 [27,5; 33] ($p = 0,079$).

Клинико-лабораторные данные вносили в базу данных Microsoft Office Excel. Для статистического анализа использовали лицензированную программу SPSS 22.0. Уровень значимости различия между группами определяли с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни (для количественных переменных) и точного критерия Фишера (для качественных переменных), связь между показателями рассчитывали по коэффициенту ранговой корреляции Спирмена (r). Критический уровень значимости p для статистических критериев принимали равным 0,05.

Результаты

Общая клинико-лабораторная характеристика пациентов представлена в табл. 1, 2.

В целом у всех больных течение ГЛПС сопровождалось характерными проявлениями: интоксикационным синдромом, нарушением зрения, геморрагической сыпью, болью в поясничной области, снижением диуреза, тромбоцитопенией, протеинурией, полиморфным мочевым синдромом и азотемией.

В ходе анализа полученной информации выяснилось, что наличие у больного сопутствующего диагноза ВИЧ-инфекции вносит особенности в клиническую картину и течение ГЛПС. В этой группе больных достоверно чаще встречались характерные для ГЛПС сухость во рту, вздутие живота, видимая одышка.

Лабораторные данные указывают на более тяжелое повреждение почек. При этом корреляционный анализ выявил прямую сильную корреляцию ($r = 0,798$; $p = 0,01$) между количеством лейкоцитов и уровнем мочевины в крови у больных с сопутствующей ВИЧ-инфекцией (рис.).

Анализ тяжести течения у описываемых больных приведен в табл. 3. Сочетание ГЛПС и ВИЧ сопровождалось более легким течением ГЛПС — в этой группе больных частота легкого течения заболевания почти в 6 раз выше. При этом случаев тяжелого течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом при сочетании ее с ВИЧ отмечено не было.

Обсуждение

Предположение о влиянии ВИЧ на проявления и течение ГЛПС основывалось на известных особенностях в патогенезе этих заболеваний — снижении иммунного ответа при ВИЧ и иммуноопосредованном повреждении тканей при ГЛПС. Теоретически характерная для ВИЧ-инфекции иммуносупрессия могла бы привести к менее тяжелому течению ГЛПС.

В ходе данного исследования получены неоднозначные результаты. Показано, что при наличии у больного ГЛПС сопутствующего диагноза «ВИЧ-инфекция» редко наблюдается снижение артериального давления, менее выражены геморрагические проявления, реже возникает отек легких. В то же время предрасположенность ВИЧ-инфицированных к почечной патологии может стать определяющим фактором в поражении почек при возникновении ГЛПС: более выраженный подъем показателей креатинина, мочевины. При этом в соответствии с балльной шкалой оценки тяжести ГЛПС получилось, что формально при сопутствующей ВИЧ-инфекции состояние больных

Таблица 1. Клинические показатели у описываемых больных

Table 1. Clinical indicators in the described patients

| Показатель Indicators | Первая группа (ГЛПС в сочетании с ВИЧ) Group 1 (HFRS in HIV-infected patients) n = 9 | Вторая группа (ГЛПС) Group 2 (HFRS) n = 53 |
|---|--|--|
| Температура тела (макс.), °С Body temperature (max), °С | 39,5 [39; 40] | 39 [39; 39,7] |
| | p = 0,357 | |
| Нарушение зрения, % Visual impairment, % | 33,33 | 18,87 |
| | p = 0,324 | |
| Гиперемия плечевого пояса и лица, % Hyperemia of the shoulder girdle and face, % | 44,44 | 52,83 |
| | p = 0,642 | |
| Геморрагический синдром, % Hemorrhagic syndrome, % | 22,22 | 58,49 |
| | p = 0,044 | |
| Гипотония, % Hypotension, % | 0 | 32,08 |
| | p = 0,046 | |
| Сухость во рту, % Mouth dryness, % | 88,89 | 52,83 |
| | p = 0,043 | |
| Вздутие живота, % Bloating, % | 77,78 | 39,62 |
| | p = 0,034 | |
| Видимая одышка, % Dyspnea, % | 28,57 | 0 |
| | p = 0,0005 | |
| Боль в поясничной области, % Pain in the lumbar region, % | 88,89 | 75,47 |
| | p = 0,373 | |
| Олигурия, % Oliguria, % | 77,78 | 66,04 |
| | p = 0,486 | |

Таблица 2. Лабораторные показатели у описываемых больных

Table 2. Laboratory parameters in the described patients

| Показатель Parameter | Первая группа (ГЛПС в сочетании с ВИЧ) Group 1 (HFRS in HIV-infected patients) n = 9 | Вторая группа (ГЛПС) Group 2 (HFRS) n = 53 |
|---|--|--|
| Эритроциты, 10 ¹² /л Red blood cells, 10 ¹² /l | 4,8 [4,29; 5,29] | 4,715 [4,375; 5,145] |
| | p = 0,815 | |
| Лейкоциты, 10 ⁹ /л White blood cells, 10 ⁹ /l | 7 [6,2; 10,6] | 6,85 [5,15; 9,6] |
| | p = 0,422 | |
| Тромбоциты, 10 ⁹ /л Platelets, 10 ⁹ /l | 76 [61; 87] | 82 [67; 99,5] |
| | p = 0,452 | |
| Скорость оседания эритроцитов, мм/ч Erythrocyte sedimentation rate, mm/hour | 10 [6; 19] | 14,5 [10; 24] |
| | p = 0,276 | |
| Протеинурия, г/л Proteinuria, g/l | 1673 [634; 2340] | 880,5 [302; 1883,5] |
| | p = 0,246 | |
| Лейкоцитурия (> 4 в поле зрения), % Leukocyturia (> 4 FOV), % | 22,22 | 37,73 |
| | p = 0,369 | |
| Эритроцитурия (> 2 в поле зрения), % Erythrocyturia (> 2 FOV), % | 33,33 | 45,28 |
| | p = 0,504 | |
| Клетки почечного эпителия (> 2 в поле зрения), % Renal epithelium (> 2 FOV), % | 44,44 | 39,62 |
| | p = 0,785 | |
| Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/l | 7,7 [7,4; 8,3] | 5,35 [4,2; 8,25] |
| | p = 0,024 | |
| Креатинин, мкмоль/л Creatinine, μmol/l | 200 [148,6; 251] | 118 [94; 163] |
| | p = 0,026 | |

чаще соответствуют легкой степени тяжести заболевания, даже при наличии более выраженных почечных проявлений.

Примером течения ГЛПС на фоне ВИЧ-инфекции может служить следующий клинический случай. Больная К., 41 год, работающая, жительница города Ижевска, 06.11.17, спустя 3 дня от начала болезни, направлена в Республиканскую клиническую инфекционную больницу (РКИБ) из поликлиники по месту медицинского обслуживания.

Жалобы при поступлении: общая слабость, головные боли, сухость во рту, снижение количества мочи, боль в поясничной области, подъем температуры тела до 38°C.

Анамнез заболевания. Заболела 03.11.17 вечером, когда отметила повышение температуры тела до 38°C, озноб, головную боль. 04.05.17–05.11.17 общая слабость нарастала, отмечен подъем температуры тела до 39°C. 05.11.17 состояние ухудшилось: был эпизод потери сознания, вызвала бригаду скорой медицинской помощи, оставлена дома, обратилась к дежурному терапевту в поликлинику по месту медицинского обслуживания, выставлен диагноз: «острая респираторная вирусная инфекция», выдан лист нетрудоспособности, назначены Кагоцел, Антигриппин. 06.11.17 уменьшилось количество мочи, обратилась в поликлинику к терапевту, с подозрением на ГЛПС направлена в РКИБ, госпитализирована.

Эпидемиологический анамнез. С начала октября бывала в сельской местности (село Сталевар по Сарапульскому тракту), занималась земельными работами. На момент обследования отец пациентки находился в стационаре с подтвержденным диагнозом ГЛПС. Диагноз ВИЧ выставляется с 2006 г. (находится на диспансерном наблюдении), на момент обследования — стадия 4А, без антиретровирусной терапии (CD4 29%, 329 кл/мл, вирусная нагрузка ВИЧ 76 800 копий/мл).

При объективном исследовании отмечено состояние средней степени тяжести. Кожные покровы чистые, бледные, повышенной влажности. Слизистая глотки гиперемирована. Склеры инъектированы, конъюнктивы отечны. Дыхание везикулярное жесткое, хрипов нет, ЧДД — 18 в минуту. Тоны сердца приглушены, ритмичные, ЧСС — 60 в мин., АД — 110/60 мм. рт. ст. Живот мягкий, умеренно вздут, безболезненный. Печень по краю правой реберной дуги, край эластичный. Симптом поколачивания отрицателен с обеих сторон. Пастозность лица, отечность нижних конечностей. Температура тела — 37,5°C.

В анализе крови (06.11.17): эритроциты — $4,29 \times 10^{12}/л$, гемоглобин (Hb) — 133 г/л, лейкоциты — $10,6 \times 10^9/л$, тромбоциты — $87 \times 10^9/л$, СОЭ — 23 мм/ч; мочевины — 8,23 ммоль/л,

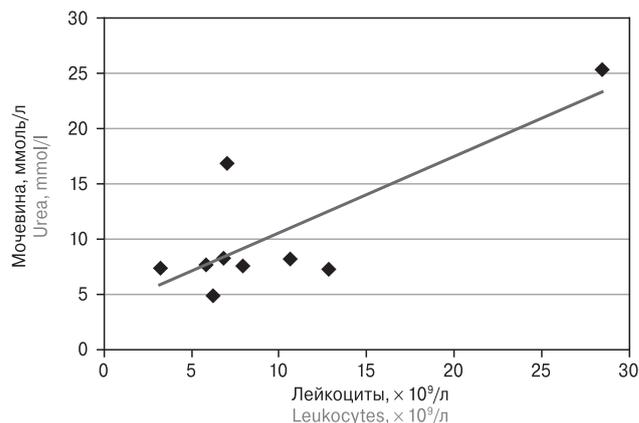


Рисунок. Диаграмма рассеяния показателей количества лейкоцитов и мочевины в крови у больных с ГЛПС и ВИЧ

Figure. Scatter diagram of leukocyte count and urea level in the blood of patients with HFRS and HIV

креатинин — 148,6 мкмоль/л. Анализ мочи (16.11.17): относительная плотность — 1000, белок — 634 мг/л, эритроциты (свежие) и лейкоциты — в большом количестве, эпителий плоский — 0-1-2 в поле зрения, переходный — 1-2-0 в поле зрения, почечный — 0-4-3 в поле зрения, снижение диуреза до 800 мл в течение суток. Результат ИФА крови на антитела к ГЛПС — IgM 1,7, IgG 0.

В период с 06.11.17 по 17.11.17 состояние улучшилось: лихорадка прекратилась на следующий день после поступления (07.11.17), боли в пояснице прекратились 08.11.17, симптом сотрясения не определяется с 08.11.17, вздутие живота не определяется с 09.11.17. Период полиурии начался с 15.11.17 (на 12 день болезни). В течение госпитализации артериальное давление сохранялось на уровне 110/60–120/80 мм рт. ст.,

Таблица 3. Характеристика тяжести течения ГЛПС у описываемых больных

Table 3. Characterization of HFRS severity in patients

| Показатель Parameter | Первая группа (ГЛПС в сочетании с ВИЧ) Group 1 (HFRS in HIV-infected patients) n = 9 | Вторая группа (ГЛПС) Group 2 (HFRS) n = 53 |
|--|--|--|
| Легкая степень тяжести, % Mild course, % | 44,44 | 7,55 |
| | p = 0,023 | |
| Средняя степень тяжести, % Moderate course, % | 55,56 | 83,02 |
| | p = 0,061 | |
| Высокая степень тяжести, % Severe course, % | 0 | 9,43 |
| | p = 0,337 | |

пульс 60–76 в минуту, частота дыхания — 16–17 в минуту. В анализах крови на день выписки (17.11.17): эритроциты — $4,2 \times 10^{12}$ /л, гемоглобин (Hb) — 132 г/л, лейкоциты — $6,7 \times 10^9$ /л, тромбоциты — 77×10^9 /л, СОЭ — 25 мм/ч; мочевины — 6,2 ммоль/л, креатинин — 87 мкмоль/л. Анализ мочи (17.11.17): относительная плотность — 1011, белок — 0 мг/л, патологический мочевого осадок не определяется; в пробе Зимницкого — гипостенурия, никтурия.

Проводимая терапия включала физиологический раствор, хлосоль, гормоны (преднизолон 30 мг/сут), нестероидные противовоспалительные препараты (Анальгин 50% — 2 мл в/м, Парацетамол 500 мг внутрь), активированный уголь (2 таблетки 3 раза в день внутрь), Аспаркам (2 таблетки 3 раза в день внутрь), Лактулоза (25 мл внутрь).

Пациентка выписана из стационара 17.11.17 в удовлетворительном состоянии.

Приведенный клинический случай иллюстрирует возможность легкого течения ГЛПС, не сопровождающегося выраженной гипотонией, геморрагическим синдромом, без осложнений, но с развитием острого повреждения почек 2 стадии по классификации AKIN, или класса I по классификации RIFLE.

Следует отметить, что возникновение острой почечной патологии у ВИЧ-инфицированных является жизнеугрожающим состоянием, фактором прогрессирования хронической почечной патологии и предиктором смерти. Следовательно, данный контингент пациентов нуждается в пристальном наблюдении как на стационарном, так и на амбулаторном этапе.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы/References

1. Анализ работы инфекционной службы Удмуртской Республики за 2018 год. Информационный бюллетень. Ижевск: БУЗ УР РКИБ МЗ УР, 2019. 67 с. [Analysis of the work of the infectious diseases service of the Udmurt Republic for 2018. Newsletter. *Izhevsk: Budget Healthcare Institution of the Udmurt Republic "Republic Clinical Infectious Hospital of the Ministry of Healthcare of the Udmurt Republic", 2019. 67 p. (In Russ.)*]
2. Покровский В.В., Ладная Н.Н., Соколова Е.В., Буравцова Е.В. ВИЧ-инфекция: информационный бюллетень № 43. М.: Роспотребнадзор, ФБУН ЦНИИЭ, ФНМ ЦПБ СПИД, 2018. 56 с. [Pokrovskiy V.V., Ladnaya N.N., Sokolova E.V., Buravtsova E.V. Examining HIV infection: newsletter No. 43. Moscow: Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадзор, Federal Science Methodological HIV Prevention Centre, 2018. 56 p. (In Russ.)]
3. Рассохин В.В., Бобровицкая Т.М. Поражения почек при ВИЧ-инфекции. Эпидемиология, подходы к классификации, основные клинические формы проявления. Часть 1 // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2018. Т. 10, № 1. С. 25–36. [Rassokhin V.V., Bobrovitskaya T.M. Kidney lesions in HIV patients. Epidemiology, approaches to classification, and principal clinical manifestations. Part 1. *VIC-infekciâ i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders, 2018, vol. 10, no. 1, pp. 25–36. (In Russ.)* doi: 10.22328/2077-9828-2018-10-1-25-3
4. Рассохин В.В., Бобровицкая Т.М., Беляков Н.А. Поражения почек при ВИЧ-инфекции. Лекарственные повреждения. Вопросы диагностики и лечения. Часть 2 // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2018. Т. 10, № 2. С. 28–42. [Rassokhin V.V., Bobrovitskaya T.M. Kidney lesions in HIV patients. Iatrogenic lesions and their diagnostics and treatment. Part 2. *VIC-infekciâ i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders, 2018, vol. 10, no. 2, pp. 28–42. (In Russ.)* doi: 10.22328/2077-9828-2018-10-2-28-42
5. Alfano G., Cappeli G., Fontana F., Lullo L.D., Iorio B.D., Bellasi A., Guaraldi G. Kidney disease in HIV infection. *JCM, 2019, vol. 8, no. 8: 1254. doi: 10.3390/jcm8081254*
6. Bouatou Y., Gayet Ageron A., Bernasconi E., Battagay M., Hoffmann M., Staehelin C., Merz L., Kovari H., Fux C., de Seigneux S., Calmy A.; Swiss HIV Cohort Study. Lipodystrophy increases the risk of CKD development in HIV-positive patients in Switzerland: The LIPOKID Study. *Kidney Int. Rep., 2018, vol. 3, pp. 1089–1099. doi: 10.1016/j.ekir.2018.04.014*
7. Choi A.I., Li Y., Parikh C., Volberding P.A., Shlipak M.G. Long-term clinical consequences of acute kidney injury in the HIV-infected. *Kidney Int., 2010, vol. 78, pp. 478–485. doi: 10.1159/000337151*
8. Ekrikpo U.E., Kengne A.P., Bello A.K., Effa E.E., Noubiap J.J., Salako B.L., Rayner B.L., Remuzzi G., Okpechi I.G. Chronic kidney disease in the global adult HIV-infected population: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One, 2018, vol. 13, no. 4: e0195443. doi: 10.1371/journal.pone.0195443*
9. Goeijenbier M., Nur E., Goris M., Wagenaar J.F., Grünberg K., Nurmohamed S.A., Martina B.E., Osterhaus A.D., van Gorp E.C. An unusual cause of a usual presentation. Hantavirus infection. *Neth. J. Med., 2011, vol. 69, no. 6, pp. 285–289. doi: 10.1093/mmy/tyw069*
10. Ibrahim F., Naftalin C., Cheserem E., Roe J., Campbell L.J., Bansi L., Hendry B.M., Sabin C., Post F.A. Immunodeficiency and renal impairment are risk factors for HIV-associated acute renal failure. *AIDS, 2010, vol. 24, no. 14, pp. 2239–2244. doi: 10.1093/QAD.0b013e32833c85d6*
11. Larbig R., Lehman C., Rottländer D., Reda S., Michels G., Hoppe U.C., Kochanek M. Systemic hantavirus-infection in a comatose HIV patient. *Wien. Med. Wochenschr., 2013, vol. 163, no. 1–2, pp. 32–36. doi: 10.1007/s10354-012-0143-7*
12. Li Y., Shlipak M.G., Grunfeld C., Choi A.I. Incidence and risk factors for acute kidney injury in HIV infection. *Am. J. Nephrol., 2012, vol. 35, pp. 327–334. doi: 10.1159/000337151*

13. Lopes J.A., Fernandes J., Jorge S., Neves J., Antunes F., Prata M.M. Acute renal failure in critically ill HIV-infected patients. *Crit. Care*, 2007, vol. 11: 404. doi: 10.1186/cc5141
14. Lopes J.A., Melo M.J., Viegas A., Raimundo M., Câmara I., Antunes F., Gomes da Costa A. Acute kidney injury in hospitalized HIV-infected patients: a cohort analysis. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2011, vol. 26, no. 12, pp. 3888–3894. doi: 10.1093/ndt/gfr192
15. Mallipattu S.K., Wyatt C.M., He J.C. The new epidemiology of HIV-related kidney disease. *J. AIDS Clin Res.*, 2012, no. 4: 001. doi: 10.4172/2155-6113.S4-001
16. Mocroft A., Lundgren J.D., Ross M., Law M., Reiss P., Kirk O., Smith C., Wentworth D., Neuhaus J., Fux C.A., Moranne O., Morlat P., Johnson M.A., Ryom L.; D:A:D Study Group; Royal Free Hospital Clinic Cohort; INSIGHT Study Group; SMART Study Group; ESPRIT Study Group. Development and validation of a risk score for chronic kidney disease in HIV infection using prospective cohort data from the D:A:D study. *PLoS Med.*, 2015, vol. 12: e1001809. doi: 10.1371/journal.pmed.1001809
17. Nadkarni G.N., Patel A.A., Yacoub R., Benjo A.M., Konstantinidis I., Annareddy N., Agarwal S.K., Simoes P.K., Kamat S., Menon M.C., Wyatt C.M. The burden of dialysis-requiring acute kidney injury among hospitalized adults with HIV infection: a nationwide inpatient sample analysis. *AIDS*, 2015, vol. 29, no. 9: 1061–1066. doi: 10.1097/QAD.0000000000000653
18. Pillay S., Aldous C., Mahomed F. A deadly combination — HIV and diabetes mellitus: Where are we now? *S. Afr. Med. J.*, 2016, vol. 106: 54. doi: 10.7196/SAMJ.2016.v106i4.9950
19. Pu L., Liu J., Luo Y., Zeng H., Guo H., Hao J., Yin N., Liu Y., Xiong H., Xiong J., Li A. Acute kidney injury in chinese HIV-infected patients: a retrospective analysis from the intensive care unit. *AIDS Patient Care STDS*, 2018, vol. 32, no. 10, pp. 381–389. doi: 10.1089/apc.2018.0040
20. Randall D.W., Brima N., Walker D., Connolly J., Laing C., Copas A.J., Edwards S.G., Batson S., Miller R.F. Acute kidney injury among HIV-infected patients admitted to the intensive care unit. *Int. J. STD AIDS*, 2015, vol. 26, pp. 915–921. doi: 10.1177/0956462414561034
21. Silva Júnior G.B., Libório A.B., Mota R.M., Abreu K.L., Silva A.E., Araújo S.M., Daher E.F. Acute kidney injury in AIDS: frequency, RIFLE classification and outcome. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2010, vol. 43, pp. 1102–1108. doi: 10.1590/S0100-879X2010007500100
22. Tuttle K.R., Alicic R.Z., Duru O.K., Jones C.R., Daratha K.B., Nicholas S.B., McPherson S.M., Neumiller J.J., Bell D.S., Mangione C.M., Norris K.C. Clinical characteristics of and risk factors for chronic kidney disease among adults and children: an analysis of the CURE-CKD registry. *JAMA Netw. Open*, 2019, vol. 12: e1918169. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2019.18169
23. Yao K.H., Tanon A.K., Lagou A.D., Konan S.D., Diopoh S.P., Meite F. Comparative study of community acute kidney injury in HIV infected versus non-infected persons: experience of an internal medicine department in Abidjan. *Nephrolo. Ther.*, 2017, vol. 13, pp. 168–175. doi: 10.1016/j.nephro.2016.10.003

Авторы:

Манахов К.М., аспирант кафедры поликлинической терапии с курсами клинической фармакологии и профилактической медицины ФГБОУ ВО Ижевская государственная медицинская академия Минздрава России, г. Ижевск, Россия;

Повышева Е.В., студентка лечебного факультета ФГБОУ ВО Ижевская государственная медицинская академия Минздрава России, г. Ижевск, Россия;

Гилязова А.Р., студентка лечебного факультета ФГБОУ ВО Ижевская государственная медицинская академия Минздрава России, г. Ижевск, Россия;

Сарксян Д.С., д.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО Ижевская государственная медицинская академия Минздрава России, г. Ижевск, Россия.

Authors:

Manakhov K.M., PhD Student, Department of Outpatient Therapy with Courses of Clinical Pharmacology and Preventive Medicine, Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russian Federation;

Povysheva E.V., Student, Medical Faculty, Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russian Federation;

Gilyazova A.R., Student, Medical Faculty, Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russian Federation;

Sarksyan D.S., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 25.02.2020
Принята к печати 14.09.2020

Received 25.02.2020
Accepted 14.09.2020

MULTI-DRUG RESISTANCE AND BIOFILM PRODUCTION AMONG DIARRHEAGENIC *ESCHERICHIA COLI* PATHOTYPES ISOLATED FROM STOOLS OF CHILDREN WITH ACUTE DIARRHEAL DISEASE

E.E. David^a, M.A. Yameen^b, I. Igwenyi^c, A.C. Okafor^d, U.N. Obeten^a, D.O. Obasi^a, U.R. Ezeilo^a, M.N. Emeribole^a, Ch.N. David^c

^a Alex Ekwueme Federal University Ndufu-Alike, Ikwo, Ebonyi State, Nigeria

^b COMSATS University Islamabad, Abbottabad Campus, Abbottabad, Pakistan

^c Ebonyi State University, Ebonyi State, Nigeria

^d Edo University, Iyamho, Edo State, Nigeria

Abstract. *Background.* Diarrheagenic *E. coli* (DEC) is an etiological agent of childhood diarrhea. Resistance against commonly used drugs in the empirical treatment of enteric infections has increased among DEC. Relationship between antibiotic resistance and biofilm formation in microorganisms have been widely reported. This study was aimed to determine the antibiotic resistance and biofilm production pattern among DEC pathotypes isolated from stools of children aged 0–5 years with acute diarrheal disease in Abakaliki, Nigeria. *Materials and methods.* Diarrheal stool samples were obtained from 60 children and *E. coli* were isolated and identified using standard guidelines provided for laboratory diagnosis of enteric pathogens. Molecular identification was done by amplification of *E. coli* universal stress protein A (*uspA*) using polymerase chain reaction (PCR) method. Detection of virulent genes of DEC pathotypes was performed in a group of multiplex PCR using their specific primers. Kirby–Bauer disk diffusion method was used to determine the antibiotic susceptibility patterns of the isolates while biofilms production was detected by thiazolyl blue tetrazolium bromide dye in a 96-well plate. *Results.* DEC was isolated in 40 stools among which EIEC [40% (n = 16)] was commonly detected followed by ETEC [30% (n = 12)], EAEC [20% (n = 8)] and typical EPEC [10% (n = 4)]. Half of EAEC showed the highest multidrug resistance against ampicillin, cefoxitin, ciprofloxacin, levofloxacin, and tetracycline with the strongest biofilm production followed by all the EPEC which were resistant to ampicillin, ciprofloxacin, levofloxacin, and tetracycline with moderate biofilm production. All the LT-ETEC exhibited the least resistance to ampicillin and tetracycline with the weakest biofilm production. *Conclusion.* High frequency of the EIEC pathotype suggests its role as the primary etiological agent of diarrhea in children. Correlation between high drug resistance and biofilm production among the pathotype may indicate that biofilms may provide compatible uptake of resistance genes.

Key words: diarrheagenic *E. coli* (DEC), antibiotic resistance, diarrheal stool, multiplex PCR, multi-drug resistance, polymerase chain reaction, biofilms.

Адрес для переписки:

Эбука Элайджа Давид
1010, Нигерия, штат Эбони, Абакалики,
Федеральный университет Алекса Эквуэме.
Тел.: +234 803 318-88-23.
E-mail: david.ebuka@funai.edu.ng

Contacts:

Ebuka Elijah David
1010, Nigeria, Ebonyi State,
Abakaliki, Alex Ekwueme Federal University.
Phone: +234 803 318-88-23.
E-mail: david.ebuka@funai.edu.ng

Для цитирования:

Дэвид Э.Э., Ямин М.А., Игвени И., Окафор А.С., Обетен У.Н., Обаси Д.О., Эзейло У.Р., Эмериболе М.Н., Дэвид Ч.Н. Множественная лекарственная устойчивость и образование биопленок среди диарейных патотипов *Escherichia coli*, выделенных из стула детей с острой диареей // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 958–964. doi: 10.15789/2220-7619-MDR-1589

Citation:

David E.E., Yameen M.A., Igwenyi I., Okafor A.C., Obeten U.N., Obasi D.O., Ezeilo U.R., Emeribole M.N., David Ch.N. Multi-drug resistance and biofilm production among diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes isolated from stools of children with acute diarrheal disease // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 958–964. doi: 10.15789/2220-7619-MDR-1589

МНОЖЕСТВЕННАЯ ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ И ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНОК СРЕДИ ДИАРЕЙНЫХ ПАТОТИПОВ *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СТУЛА ДЕТЕЙ С ОСТРОЙ ДИАРЕЕЙ

Дэвид Э.Э.¹, Ямин М.А.², Игвени И.³, Окафор А.С.⁴, Обетен У.Н.¹, Обаси Д.О.¹, Эзейло У.Р.¹, Эмериболе М.Н.¹, Дэвид Ч.Н.³

¹ Федеральный университет Алекса Эквуэме «Ндуфу Алик Икво», Икво, штат Эбони, Нигерия

² Университет COMSATS в Исламабаде, г. Абботтабад, Пакистан

³ Государственный университет Эбони, штат Эбони, Нигерия

⁴ Университет Эдо, г. Иямхо, штат Эдо, Нигерия

Резюме. Актуальность. Диареягенная кишечная палочка (DEC) является этиологическим агентом диареи у детей. Устойчивость к лекарствам, обычно используемым при эмпирическом лечении кишечных инфекций, среди DEC увеличилась. Широко известна взаимосвязь между устойчивостью к антибиотикам и образованием биопленок у микроорганизмов. Настоящее исследование было направлено на определение устойчивости к антибиотикам и характера биопленкообразования среди патотипов DEC, выделенных из стула детей в возрасте 0–5 лет с острой диареей в Абакалики, Нигерия. **Материалы и методы.** Образцы стула были получены от 60 детей, и с использованием стандартных подходов, предусмотренных для лабораторной диагностики кишечных патогенов, были выделены и идентифицированы *E. coli*. Молекулярную идентификацию проводили путем амплификации участка гена универсального стрессового белка A (*uspA*) *E. coli* с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). Выявление вирулентных генов патотипов DEC проводили с применением мультиплексной ПЦР со специфическими праймерами. Метод дисковой диффузии Кирби–Бауэра был использован для определения характеристик чувствительности изолятов к антибиотикам, в то время как образование биопленок определяли с помощью красителя тиазолила синего тетразолия бромид в 96-луночном планшете. **Результаты.** DEC была выделена в 40 образцах. Наиболее часто выявлялась энтероинвазивная *E. coli* (EIEC) [40% (n = 16)], затем энтеротоксигенная *E. coli* (ETEC) [30% (n = 12)], энтероагрегативная к *E. coli* (EAEC) [20% (n = 8)] и типичная энтеропатогенная *E. coli* (EPEC) [10% (n = 4)]. Половина штаммов EAEC обнаружила самую высокую множественную лекарственную устойчивость к ампициллину, цефокситину, ципрофлоксацину, левофлоксацину и тетрациклину с самым сильным образованием биопленок. Далее по степени устойчивости к антибиотикам и уровню образования биопленок следовали EPEC, которые были устойчивы к ампициллину, ципрофлоксацину, левофлоксацину и тетрациклину и характеризовались умеренным биопленкообразованием. ETEC с термолабильным токсином LT-ETEC проявляли наименьшую устойчивость к ампициллину и тетрациклину с наименьшим образованием биопленок. **Заключение.** Высокая частота патотипа EIEC свидетельствует о его роли в качестве основного этиологического агента диареи у детей. Корреляция между высокой лекарственной устойчивостью и производством биопленок среди патотипов может указывать на то, что биопленки могут обеспечивать оптимальный уровень захвата генов устойчивости.

Ключевые слова: диареягенная кишечная палочка (DEC), устойчивость к антибиотикам, диарейный стул, мультиплексная ПЦР, множественная лекарственная устойчивость, полимеразной цепная реакция, биопленки.

Introduction

Diarrhea is characterized by the passage of watery stools at least two–three times in a 24 h period as a result of gastrointestinal infection majorly caused by a variety of bacterial, viral and parasitic pathogens. Among children less than five years, Nigeria accounts for 11% of 50% global mortalities estimated at 150,000 yearly, with a prevalence rate of 18.8% [2, 18]. Intestinal pathogenic *E. coli* strains also known as diarrheagenic *E. coli* (DEC) is a major etiological agent of pediatric diarrhea [36]. DEC can be transmitted via the fecal-oral route by ingesting food or water contaminated by human or animal feces [1, 11]. Infection with DEC causes an alteration of the movement of ions and water in the gastrointestinal tract by altering the balance between fluid-electrolyte absorption and secretion leading to diarrhea [34]. DEC is divided into enteropathogenic *E. coli* (EPEC), enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), enteroinvasive *E. coli*

(EIEC), enteroaggregative *E. coli* (EAEC) and diffusely adherent *E. coli* (DAEC). The divisions of DEC into groups are based on their specific virulence factors and phenotypic traits. Each pathological type has characteristic virulence determinants that contribute to its pathogenic mechanisms [32]. The prevalence and other epidemiological features of DEC types in childhood diarrhea vary with geographical area. Resistance against the commonly used drugs for the treatment of enteric infections including ampicillin, tetracycline, and co-trimoxazole has increased among DEC [14], which have led to the use of higher antimicrobials like fluoroquinolones as alternatives. *E. coli* strains form surface communities of biofilm structure that contributes to resistance to different antimicrobial agents and to its pathogenicity. Critical for the formation of biofilm on abiotic material such as food or food-contact surfaces, *E. coli* possess adhesins important for the formation of secreted IgA mediated biofilm within the gut [5].

While the frequency of DEC and its multi-drug resistance in childhood diarrhea have been reported in some parts of Nigeria [11, 12], the correlation between multi-drug resistance and biofilms production among DEC is still lacking. In other parts of the world, relationship amongst antibiotics resistance, distribution of virulence factors and biofilm formation in *E. coli* have been widely reported [6, 9, 13, 28] but scarcely for DEC. Hence, this study was aimed to determine the antibiotic resistance and biofilm production patterns among DEC pathotypes isolated from stools of children aged 0–5 years with acute diarrheal disease.

Materials and methods

Isolation and identification of diarrheagenic *E. coli* (DEC). Sixty (60) fecal samples were collected from children with incidence of diarrhea under the age of five (5) years at Alex Ekwueme Federal Teaching Hospital, Abakaliki, Nigeria (AE-FETHA). Ethical clearance was obtained from Ethical and Research Committee of the hospital, after which informed consent was obtained from the parents of the children. Fecal samples were processed as described in the standard guidelines provided for laboratory diagnosis of enteric pathogens [7]. *E. coli* was isolated with Eosin Methylene Blue, EMB (a selective media for *E. coli*) and identified with biochemical tests like Indole test, Methyl red test, Voges–Proskauer (VP) test, Citrate utilization test and Eijkman test.

Following extraction of *E. coli* genomic DNA as previously described by Healey and colleagues [30], *E. coli* isolates were further identified using primers derived from the DNA sequences flanking the gene encoding the universal stress protein A (*uspA*); EC1: 5'-CCGATACGCTGCCAATCAGT-3'; EC2: 5'-ACG CAGACCGTAAGGGCCAGAT-3' [16, 21]. PCR was performed in a total reaction volume of 25 μ L with 12.5 μ L GoTaq Green master mix, 9.0 μ L nuclease free water (Promega, USA), 0.5 μ L of forward and reverse primers each and 2.5 μ L of template. Optimization were done at the following conditions: 94°C for 5 min, initial template denaturation, 25 cycles at 94°C for 30 s, final denaturation, 50°C for 1 min, annealing, 72°C for 1 min 30 s, extension and 72°C 7 min, final extension. About 884 bp PCR products were analyzed by Gel electrophoresis in 1% agarose gel in TBE buffer at 100 V. The gels were stained with ethidium bromide and photographed under ultraviolet light using a gel documentation system (Fig. S1 in supplementary file).

Detection of virulent genes of DEC pathotypes. Detection of virulent genes of diarrheagenic *E. coli* (DEC) were performed in a group of multiplex PCR using their specific primers as previously described by [23]. All the primers and their corresponding virulent genes are shown in Table S1 (see supplementary file). The thermo cycling conditions were pro-

grammed using Applied Biosystem, 2720 Thermal Cycler, USA in 25 μ L reaction mixture as follows: initial denaturation for 5 min at 94°C, denaturation at 94°C for 30 s, 72°C for 1 min 30 s extensions for 25 cycles with final extension of 5 min at 72°C. PCR products were analyzed by Gel electrophoresis in 1% agarose gel in TBE buffer at 100 V. The gels were stained with ethidium bromide and photographed under ultraviolet light using a gel documentation system (Fig. S2 in supplementary file).

Antibiotic susceptibility testing. Antimicrobial susceptibility testing was performed by the Disk Diffusion Method according to the Clinical and Laboratory Standards Institute guidelines, CLSI [10]. Antimicrobial agents tested were tetracycline (30 μ g), ampicillin (10 μ g), amoxicillin/clavulanic acid (5 μ g), imipenem (10 μ g), ciprofloxacin (5 μ g) and levofloxacin (5 μ g) (Oxoid Ltd, Basingstoke, Hampshire, England). The multi-drug resistance criteria adopted was defined as earlier published [19].

Biofilm formation. Formation of biofilms by DEC was evaluated using a method described by [24] with slight modifications. About 200 μ L of *E. coli* broth culture was prepared with glucose. The broth was added to 96-well plates and incubated for 24 h at 37°C to allow cell attachment and biofilm formation. The supernatant fluid in each well was aspirated and washed with 0.1 M phosphate buffer saline (PBS). The wells were stained with 100 μ L of thiazoylblue tetrazolium bromide for 2 h at 37°C, the staining solutions were aspirated and the wells washed with PBS. About 200 μ L DMSO were added to the wells and the amount of stain in each well was determined at 570 nm using micro plate reader (FLUOstar Omega, BMG LABTECH, Germany). Wells containing only 100 μ L sterile broth were used as control. Its optical density reading was used as back ground value which was subtracted from the other test values. The method earlier described by Pavlickova et al. [28] was used to group the organisms as weak, moderate and strong biofilm producers.

Results

A total of 60 stool samples from diarrheal children ($n = 60$) were collected for this study, of which 67% ($n = 40$) were positive for one or more pathotype of DEC. Virulent *eltA* gene for ST-EPEC was detected in 20% ($n = 8$) of the isoates while 10% ($n = 4$) expressed *eltB* for LT-EPEC. Twenty percent (20%) ($n = 8$) also expressed pCVD (the nucleotide sequence of EcoRI-PstI DNA fragment of pCVD432) gene for EAEC while 40% ($n = 16$) expressed *ial* gene (invasion-associated locus of the invasive plasmid found in EIEC). Ten percent (10%) ($n = 4$) expressed *eaeA* gene (a structural gene for intimin) and *bfpA* gene (a structural gene for the bundle-forming pilus) found in typical EPEC (Fig.).

The isolates phenotypically exhibited high resistance for tetracycline [36 (90%)] followed by ampi-

cillin [32 (80%)], ciprofloxacin and levofloxacin [20 (50%)], cefoxitin [4 (10%)] and amoxicillin-clav and imipenem [0 (0%)]. Intermediate resistance was seen in amoxicillin-clav [28 (70%)] followed by ampicillin, cefoxitin, tetracycline [4 (10%)] and imipenem, ciprofloxacin, levofloxacin [0 (0%)]. The highest sensitivity was seen in imipenem [40 (100%)] followed by cefoxitin [32 (80%)], ciprofloxacin and levofloxacin [20 (50%)], amoxicillin-clav [12 (30%)], ampicillin [4 (10%)] and tetracycline [0 (0%)] (Table 1).

Fifty percent (50%) isolates of ST-ETEC were resistant to ampicillin, ciprofloxacin and levofloxacin while 100% were resistant to tetracycline. All the LT-ETEC exhibited resistance to ampicillin and tetracycline. Fifty percent (50%) resistance were seen in EAEC against ampicillin, cefoxitin, ciprofloxacin, levofloxacin and tetracycline. In EIEC, all the isolates were resistant to ampicillin, 50% were resistant to both ciprofloxacin and levofloxacin while 75% were resistant to tetracycline. All EPEC were resistant to ampicillin, ciprofloxacin, levofloxacin and tetracycline. Multi-drug resistance were seen in more than 50% of all the pathotypes except LT-ETEC (Table 2).

From Table 3, the level of biofilm production varies across the pathotypes. While 50% of the isolates were moderate biofilm producers, 40% and 10% exhibited weak and strong production respectively. In ETEC, all the LT-ETEC was weak producers while 50% were both moderate and weak producers for ST-ETEC. Half of the EAEC isolates showed both strong and weak biofilm production while all the EPEC isolates were moderate in their production of biofilm. Seventy-five and twenty-five percent of EIEC were moderate and weak producers respectively.

Discussion and conclusion

In this study, the frequency of EIEC [40% (n = 16)] was most common among DEC isolates, followed by ETEC [30% (n = 12)]. This high frequency suggests their role as most common cause of acute childhood diarrhea in this region. In contrast to high EIEC frequency recorded in this study, low frequency (1.2%) of EIEC was seen in the study carried out in south west Nigeria by Okeke et al. [25], in India (1.8%) [8] and Ecuador (3.2%) [37], these suggest that EIEC may play less important role in childhood diarrhea in developing countries. The high ETEC frequency from this study

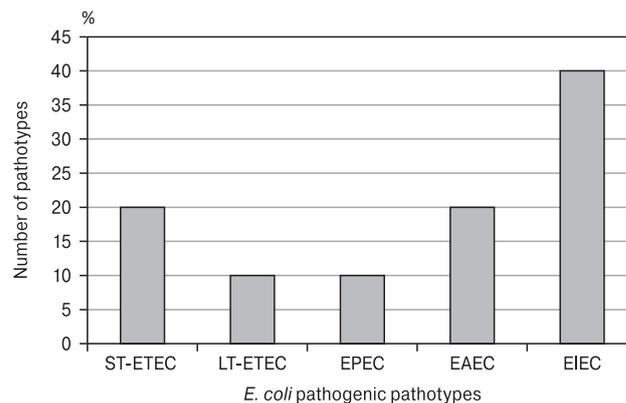


Figure. Distribution of DEC pathotypes

agreed with the one recorded in Onitsha, South East Nigeria where 21.57% ETEC were detected among DEC isolates [24]. Similar high ETEC frequency of 36.3% was recorded amongst hospitalized diarrheal children in Kolkata India [15]. In contrast, the frequency of ETEC obtained among DEC isolated from stools of infants and children in Federal Capital Territory, Abuja, Nigeria, was 4% [17]. The same low frequency was seen in other developing countries; Dar es Salaam, Tanzania (3.6%) [22]; Western Iran (17.5%) [3]; Hanoi, Vietnam (2.2%) [23]. EIEC infection is characterized by the ability of bacteria to invade the human colonic mucosa, conferred by the expression of chromosomal and plasmid-borne genes. Clinical human ETEC isolates produce enterotoxins; the heat stable toxins (ST) and heat labile toxin (LT) and may produce one or more of several colonization factors (CFs) which mediate adherence to the small intestinal mucosa [31].

Table 1. Antibiogram of DEC isolates (n = 40)

| Antimicrobials | Resistant | Intermediate | Sensitivity |
|----------------|-----------|--------------|-------------|
| AMP | 32 (80%) | 4 (10%) | 4 (10%) |
| AMC | 0 (0%) | 28 (70%) | 12 (30%) |
| FOX | 4 (10%) | 4 (10%) | 32 (80%) |
| IMP | 0 (0%) | 0 (0%) | 40 (100%) |
| CIP | 20 (50%) | 0 (0%) | 20 (50%) |
| LEV | 20 (50%) | 0 (0%) | 20 (50%) |
| TET | 36 (90%) | 4 (10%) | 0 (0%) |

Note. AMP — ampicillin, AMC — amoxicillin — clavulanic acid, FOX — cefoxitin, IMP — imipenem, CIP — ciprofloxacin, LEV — levofloxacin, TET — tetracycline.

Table 2. Relationship between DEC pathotypes and antimicrobial resistance

| | n | AMP | AMC | FOX | CIP | LEV | IMP | TET |
|---------|----|-----------|--------|---------|----------|----------|--------|----------|
| ST-ETEC | 8 | 50% (4) | 0% (0) | 0% (0) | 50% (4) | 50% (4) | 0% (0) | 100% (8) |
| LT-ETEC | 4 | 100% (4) | 0% (0) | 0% (0) | 0% (0) | 0% (0) | 0% (0) | 100% (4) |
| EAEC | 8 | 50% (4) | 0% (0) | 50% (4) | 50% (4) | 50% (4) | 0% (0) | 100% (8) |
| EIEC | 16 | 100% (16) | 0% (0) | 0% (0) | 50% (16) | 50% (16) | 0% (0) | 75% (12) |
| EPEC | 4 | 100% (4) | 0% (0) | 0% (0) | 100% (4) | 100% (4) | 0% (0) | 100% (4) |

Note. AMP — ampicillin, AMC — amoxicillin — clavulanic acid, FOX — cefoxitin, IMP — imipenem, CIP — ciprofloxacin, LEV — levofloxacin, TET — tetracycline.

Table 3. Level of biofilm formation in DEC isolates

| | Strong | Moderate | Weak |
|---------|---------|----------|----------|
| ST-EPEC | 0 (0%) | 4 (50%) | 4 (50%) |
| LT-EPEC | 0 (0%) | 0 (0%) | 4 (100%) |
| EAEC | 4 (50%) | 0 (0%) | 4 (50%) |
| EIEC | 0 (0%) | 12 (75%) | 4 (25%) |
| EPEC | 0 (0%) | 4 (100%) | 0 (0%) |
| Total | 4 (10%) | 20 (50%) | 16 (40%) |

In this study, EAEC [20% (n = 8)] ranked second to Typical EPEC [10% (n = 4)] as the least frequent DEC. When compared to results obtained from other regions, it becomes evident that the prevalence and other epidemiological features of DEC types in childhood diarrhea vary with geographical area [29]. In agreement with our result, EPEC was the least prevalent in Ecuador (0.9%) [37], India 4.79% [8] and Egypt (5.2%) [4]. Different from the result of this study, EAEC was recorded as the most prevalent in Kolkata India (48.2%) [15], Southwest Nigeria (10.3%) [25] and 34.4% in Gwagwalada, Abuja, Nigeria [27].

The DEC isolates were most resistance to tetracycline [36 (90%)] followed by ampicillin [32 (80%)], ciprofloxacin/levofloxacin [20 (50%)] and cefoxitin [4 (10%)]. More than 50% of all the DEC was multi-drug resistant with EAEC showing resistant to 5 different antibiotics. A similar result was also seen in a previous study where most of the DEC isolates (67.5%) were resistant to ampicillin and tetracycline [3]. Such multidrug resistance among DEC isolates against classical antibiotics like ampicillin and tetracycline was also recorded in Bolivia [31]. Much of the reasons for these high rates of resistance are related to the fact that, antibiotics, despite not being required for the treatment of acute diarrhea, are widely prescribed for these forms of infections [26].

From this study, 50% of the DEC isolates were moderate biofilm producers, while 40% and 10% exhibited weak and strong production respectively. Isolates that exhibited strong biofilm production correlates with 50% EAEC with the highest multidrug resistance. Relationship between antimicrobial resistance and biofilm formation among isolates of Gram-negative bacteria species including *E. coli* have been reported [6]. Biofilms are bacterial population firmly crammed by extra-cellular matrix which possesses bacterial secreted polymers such as exopolysaccharides, extracellular DNA, proteins and amyloidogenic proteins. Microbial cells within biofilms have shown 1000 times more antibiotics resistance than

the planktonic cells [33]. The antibiotics resistance mechanism of biofilms communities commonly involves the uptake of resistance genes by horizontal gene transfer. Biofilms provides compatible conditions for this horizontal gene transfer which include high cell density, increased genetic competence and accumulation of genetic elements or uptake of resistance genes. Conjugation is the only mechanism of horizontal transfer of resistant genes in biofilms and may confirm the resistance to several antibiotics [20]. This suggests that increased biofilms seen in EAEC isolates increased the chances of horizontal antibiotics resistant gene transfer which may be acquired from other sources. This point to the need to apply a One Health approach and study environmental reservoirs more closely, rather than focusing only on the resistance that arises following antimicrobial administration [35].

We observed the presence of four different DEC pathotypes with EIEC and ETEC most commonly encountered. High frequency of EIEC in this region suggests that it is one of the most common causes of diarrhea in children 0–5 years. Most of these DEC isolates are resistant to more than one antimicrobial agent which suggests continued use and misuse of these drugs. Therefore it is important to continue the surveillance of antimicrobial resistance of enteric bacterial pathogens for effective control of childhood diarrheal diseases. The number of drug resistance increased with the strength of biofilm production among the DEC pathotypes. This may suggest that biofilms may provide compatible uptake of resistance genes.

Supplementary files

Supplementary materials are available at:
<http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-MDR-1589>

Acknowledgement

The World Academy of Sciences (TWAS) in collaboration with Higher Education Commission (HEC), Pakistan through COMSATS University Islamabad, Abbottabad Campus, Abbottabad, Pakistan provided funding for this work. The funding body had no role in either the design of the study, collection of samples, analysis, and interpretation of data or in writing of the script.

Competing interests

No competing interests are declared by authors.

References

1. Adefisoye M.A., Okoh A.I. Identification and antimicrobial resistance prevalence of pathogenic *Escherichia coli* strains from treated wastewater effluents in Eastern Cape, South Africa. *Microbiologyopen.*, 2016, vol. 5, pp. 143–151. doi: 10.1002/mbo3.319
2. Akinrotoy K.P., Uzal U. Combating diarrhoea in Nigeria: the way forward. *J. Microbiol. Exp.*, 2018, vol. 6, no. 4, pp. 191–197. doi: 10.15406/jmen.2018.06.00213
3. Alikhani M.Y., Hashemi S.H., Aslani M.M., Farajnia S. Prevalence and antibiotic resistance patterns of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from adolescents and adults in Hamedan, Western Iran. *Iran J. Microbiol.*, 2013, vol. 5, no. 1, pp. 42–47.

4. Behiry I.K., Abada E.A., Ahmed E.A., Labeeb R.S. Enteropathogenic *Escherichia coli* associated with diarrhea in children in Cairo, Egypt. *Sci. World J.*, 2011, vol. 11, pp. 2613–2619. doi: 10.1100/2011/485381
5. Bollinger R.R., Everett M.L., Wahl S.D., Lee Y.H., Orndorff P.E., Parker W. Secretory IgA and mucin-mediated biofilm formation by environmental strains of *Escherichia coli*: role of type 1 pili. *Mol. Immunol.*, 2006, vol. 43, no. 4, pp. 378–387. doi: 10.1016/j.molimm.2005.02.013
6. Cepas V., López Y., Muñoz E., Rolo D., Ardanuy C., Martí S., Xercavins M., Horcajada J.P., Bosch J., Soto S.M. Relationship between biofilm formation and antimicrobial resistance in gram-negative bacteria. *Microb. Drug Resist.*, 2019, vol. 25, no. 1, pp. 72–79. doi: 10.1089/mdr.2018.0027
7. Cheesbrough M. District laboratory practice in tropical countries. Part 2 (2nd ed.). Cambridge: Cambridge University Press, 2006. doi: 10.1017/CBO9780511543470
8. Chellapandi K., Dutta T.K., Sharma I., De Mandal S., Kumar N.S., Ralte L. Prevalence of multi drug resistant enteropathogenic and enteroinvasive *Escherichia coli* isolated from children with and without diarrhea in Northeast Indian population. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 2017, vol. 16, no. 1: 49. doi: 10.1186/s12941-017-0225-x
9. Chen D., Zhao T., Doyle M.P. Single- and mixed-species biofilm formation by *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella*, and their sensitivity to levulinic acid plus sodium dodecyl sulfate. *Food Control*, 2015, vol. 57, pp. 48–53. doi: 10.1016/j.foodcont.2015.04.006
10. CLSI. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 13th ed. CLSI standard M02. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standard Institute, 2018. 13 p.
11. David E.E., Udedi S.C., Ekwealor K.E., Igwilo I.O., Enemali M.O., Ifemeje T.O., Asogw A. Antidiarrhoeal activity of cashew (*Anacardium occidentale*) leaf extract enriched with zinc in wistar albino rats. *SJBR*, 2013, vol. 2, pp. 37–41.
12. David E.E., Yameen M.A., Igwenyi I.O., Okafor A.Ch., Obeten U.N., Obasi D.O., Ezeilo U.R., David Ch.N. The frequency of virulent genes and antimicrobial resistance patterns of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from stools of children presenting with diarrhea in a tertiary hospital in Abakaliki, Nigeria. *Int. J. One Health*, 2020, vol. 6, no. 2, pp. 147–152. doi: 10.14202/IJOH.2020.147-152
13. Dumaru R., Baral R., Shrestha L.B. Study of biofilm formation and antibiotic resistance pattern of gram-negative bacilli among the clinical isolates at BPKIHS, Dharan. *BMC Res. Notes*, 2019, vol. 12, no. 1: 38. doi: 10.1186/s13104-019-4084-8
14. DuPont H.L., Steffen R. Use of antimicrobial agents for treatment and prevention of travellers' diarrhoea in the face of enhanced risk of transient fecal carriage of multi-drug resistant enterobacteriaceae: setting the stage for consensus recommendations. *J. Travel Med.*, 2016, 23, no. 6: taw054. doi: 10.1093/jtm/taw054
15. Dutta S., Guin S., Ghosh S., Pazhani G.P., Rajendran K., Bhattacharya M.K., Takeda Y., Nair G.B., Ramamurthy T. Trends in the prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* among hospitalized diarrheal patients in Kolkata, India. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 2: e56068. doi: 10.1371/journal.pone.0056068
16. Healey A., Furtado A., Cooper T., Henry R.J. Protocol: a simple method for extracting next-generation sequencing quality genomic DNA from recalcitrant plant species. *Plant Methods*, 2014, vol. 10: 21. doi: 10.1186/1746-4811-10-21
17. Ifeanyi C.I., Ikeneche N.F., Basse B.E., Al-Gallas N., Ben Aissa R., Boudabous A. Diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes isolated from children with diarrhea in the Federal Capital Territory Abuja, Nigeria. *J. Infect. Dev. Ctries.*, 2015, vol. 9, no. 2, pp. 165–174. doi: 10.3855/jidc.5528
18. Levels and trends in child mortality: report 2020. URL: <https://data.unicef.org/resources/levels-and-trends-in-child-mortality>
19. Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B., Carmeli Y., Falagas M.E., Giske C.G., Harbarth S., Hindler J.F., Kahlmeter G., Olsson-Liljequist B., Paterson D.L., Rice L.B., Stelling J., Struelens M.J., Vatopoulos A., Weber J.T., Monnet D.L. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2012, vol. 18, no. 3, pp. 268–281. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
20. Mah T.-F. Biofilm-specific antibiotic resistance. *Future Microbiol.*, 2012, vol. 7, pp. 1061–1072. doi: 10.2217/fmb.12.76
21. Molecular characterization of enterotoxigenic *Escherichia coli*: effect on intestinal nitric oxide in diarrheal disease. *J. Bacteriol. Parasitol.*, vol. 9: 339. doi:10.4172/2155-9597.1000339
22. Moyo S.J., Maselle S.Y., Matee M.I., Langeland N., Mylvaganam H. Identification of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from infants and children in Dar es Salaam, Tanzania. *BMC Infect. Dis.*, 2007, vol. 7: 92. doi: 10.1186/1471-2334-7-92
23. Nguyen T.V., Le Van P., Le Huy C., Gia K.N., Weintraub A. Detection and characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* from young children in Hanoi, Vietnam. *J. Clin. Microbiol.*, 2005, vol. 43, no. 2, pp. 755–760. doi: 10.1128/JCM.43.2.755-760.2005
24. Nweze E.I. Aetiology of diarrhoea and virulence properties of diarrhoeagenic *Escherichia coli* among patients and healthy subjects in southeast Nigeria. *J. Health Popul. Nutr.*, 2010, vol. 28, no. 3, pp. 245–252. doi: 10.3329/jhpn.v28i3.5551
25. Okeke I.N., Lamikanra A., Steinrück H., Kaper J.B. Characterization of *Escherichia coli* strains from cases of childhood diarrhea in provincial southwestern Nigeria. *J. Clin. Microbiol.*, 2000, vol. 38, no. 1, pp. 7–12. doi: 10.1128/JCM.38.1.7-12.2000
26. Olorunshola I.D., Smith S.I., Coker A.O. Prevalence of EHEC O157:H7 in patients with diarrhoea in Lagos, Nigeria. *APMIS*, 2000, vol. 108, no. 11, pp. 761–763. doi: 10.1034/j.1600-0463.2000.d01-26.x
27. Onanuga A., Igbeneghu O., Lamikanra A. A study of the prevalence of diarrhoeagenic *Escherichia coli* in children from Gwagwalada, Federal Capital Territory, Nigeria. *Pan. Afr. Med. J.*, 2014, vol. 17: 146. doi: 10.11604/pamj.2014.17.146.3369
28. Pavlickova S., Klancnik A., Dolezalova M., Mozina S.S., Holko I. Antibiotic resistance, virulence factors and biofilm formation ability in *Escherichia coli* strains isolated from chicken meat and wildlife in the Czech Republic. *J. Environ. Sci. Health. B*, 2017, vol. 52, no. 8, pp. 570–576. doi: 10.1080/03601234.2017.1318637
29. Porat N., Levy A., Fraser D., Deckelbaum R.J., Dagan R. Prevalence of intestinal infections caused by diarrheagenic *Escherichia coli* in Bedouin infants and young children in Southern Israel. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 1998, vol. 17, no. 6, pp. 482–488. doi: 10.1097/00006454-199806000-00010
30. Protocol: a simple method for extracting next-generation sequencing quality genomic DNA from recalcitrant plant species. *Plant Methods*, 2014, vol. 10: 21.

31. Rodas C., Mamani R., Blanco J., Blanco J.E., Wiklund G., Svennerholm A.M., Sjöling A., Iniguez V. Enterotoxins, colonization factors, serotypes and antimicrobial resistance of enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC) strains isolated from hospitalized children with diarrhea in Bolivia. *Braz. J. Infect. Dis.*, 2011, vol. 15, no. 2, pp. 132–137. doi: 10.1016/s1413-8670(11)70158-1
32. Sarowska J., Futoma-Koloch B., Jama-Kmiecik A., Frej-Madrzak M., Ksiaczek M., Bugla-Ploskonska G., Choroszy-Krol I. Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic Escherichia coli isolated from different sources: recent reports. *Gut Pathog.*, 2019, vol. 11: 10. doi: 10.1186/s13099-019-0290-0
33. Sharma D., Misba L., Khan A.U. Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*, 2019, vol. 8: 76. doi: 10.1186/s13756-019-0533-3
34. Soleimani A., Foroozanfard F., Tamadon M.R. Evaluation of water and electrolytes disorders in severe acute diarrhea patients treated by WHO protocol in eight large hospitals in Tehran: a nephrology viewpoint. *J. Renal. Inj. Prev.*, 2016, vol. 6, no. 2, pp. 109–112. doi: 10.15171/jrip.2017.21
35. Thakur S., Gray G.C. The Mandate for a Global “One Health” Approach to Antimicrobial Resistance Surveillance. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2019, vol. 100, no. 2, pp. 227–228. doi: 10.4269/ajtmh.18-0973
36. Verma S., Venkatesh V., Kumar R., Kashyap S., Kumar M., Maurya A.K., Dhole T.N., Singh M. Etiological agents of diarrhea in hospitalized pediatric patients with special emphasis on diarrheagenic Escherichia coli in North India. *J. Lab. Physicians*, 2019, vol. 11, no. 1, pp. 68–74. doi: 10.4103/JLP.JLP_123_18
37. Vieira N., Bates S.J., Solberg O.D., Ponce K., Howsmon R., Cevallos W., Trueba G., Riley L., Eisenberg J.N. High prevalence of enteroinvasive Escherichia coli isolated in a remote region of northern coastal Ecuador. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2007, vol. 76, no. 3, pp. 528–533.

Авторы:

Давид Э.Э., магистр биохимии, кафедра химии/биохимии Федерального университета Алекса Эквуэме «Ндуфу Алик Икво», г. Икво, штат Эбони, Нигерия;
Ямин М.А., к.н. (фармакология антимикробных препаратов), кафедра аптечной службы, Университет COMSATS в Исламабаде, г. Абботтабад, Пакистан;
Игвэни И., к.н. (биохимия), доцент кафедры биохимии Государственного университета Эбони, штат Эбони, Нигерия;
Окафор А.С., к.н. (фармакология), кафедра микробиологии Университета Эдо, г. Иямхо, штат Эдо, Нигерия;
Обэтэн У.Н., магистр биохимии, кафедра химии/биохимии Федерального университета Алекса Эквуэме «Ндуфу Алик Икво», г. Икво, штат Эбони, Нигерия;
Обаси Д.О., магистр биохимии, кафедра химии/биохимии Федерального университета Алекса Эквуэме «Ндуфу Алик Икво», г. Икво, штат Эбони, Нигерия;
Эзэило У.Р., к.н. (энзимология), кафедра химии/биохимии Федерального университета Алекса Эквуэме «Ндуфу Алик Икво», г. Икво, штат Эбони, Нигерия;
Эмериболэ М.Н., магистр биохимии, кафедра химии/биохимии Федерального университета Алекса Эквуэме «Ндуфу Алик Икво», г. Икво, штат Эбони, Нигерия;
Давид Ч.Н., магистр микробиологии, кафедра микробиологии Государственного университета Эбони, штат Эбони, Нигерия.

Authors:

David E.E., MSc (Biochemistry), Department of Chemistry/Biochemistry, Alex Ekwueme Federal University Ndufu-Alike, Ikwo, Ebonyi State, Nigeria;
Yameen M.A., PhD (Microbial Pharmacology), Department of Pharmacy, COMSATS University Islamabad, Abbottabad Campus, Abbottabad, Pakistan;
Igwenyi I., PhD (Biochemistry), Associate Professor, Department of Biochemistry, Ebonyi State University, Ebonyi State, Nigeria;
Okafor A.C., PhD (Microbiology), Department of Microbiology, Edo University, Iyamho, Edo State, Nigeria;
Obeten U.N., MSc (Biochemistry), Department of Chemistry/Biochemistry, Alex Ekwueme Federal University Ndufu-Alike, Ikwo, Ebonyi State, Nigeria;
Obasi D.O., MSc (Biochemistry), Department of Chemistry/Biochemistry, Alex Ekwueme Federal University Ndufu-Alike, Ikwo, Ebonyi State, Nigeria;
Ezeilo U.R., PhD (Enzymology), Department of Chemistry/Biochemistry, Alex Ekwueme Federal University Ndufu-Alike, Ikwo, Ebonyi State, Nigeria;
Emeribole M.N., MSc (Biochemistry), Department of Chemistry/Biochemistry, Alex Ekwueme Federal University Ndufu-Alike, Ikwo, Ebonyi State, Nigeria;
David Ch.N., MSc (Biochemistry), Department of Microbiology, Ebonyi State University, Ebonyi State, Nigeria.

Поступила в редакцию 22.08.2020
 Принята к печати 17.04.2021

Received 22.08.2020
 Accepted 17.04.2021

ACINETOBACTER BAUMANNII bv TRYPTOPHANDESTRUENS bv NOV., ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Е.П. Сиволодский^{1,2}, Л.А. Краева^{1,2}, Д.А. Старкова², Н.В. Михайлов², Г.В. Горелова¹

¹ ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

² ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Цель исследования — определить таксономический статус группы атипичных штаммов *Acinetobacter baumannii*, выявить их характеристики и методы, необходимые для идентификации. Объектом исследования были 10 штаммов *A. baumannii* (из них 6 первичных), имеющих одинаковый профиль атипичных признаков. Они были выделены из клинического материала (моча, мокрота) в 2017–2019 гг. в Военно-медицинской академии. В сравнительных исследованиях использовали клинические штаммы типичных *A. baumannii* (n = 36), *Acinetobacter nosocomialis* (n = 14), *Acinetobacter pittii* (n = 9) и 1 штамм *Acinetobacter calcoaceticus*, выделенный из внешней среды. Атипичные штаммы обладали признаками бактерий комплекса *A. calcoaceticus* — *A. baumannii* (ACB) и были идентифицированы как *A. baumannii*. Утилизацию субстратов в качестве единственных источников углерода изучали на плотной синтетической среде с 0,2% субстрата при инкубации посевов 72 часа при 37°C. Окисление углеводов с кислотообразованием выявляли на среде Хью–Лейфсона и микрометодом. Биотрансформацию ароматических аминокислот осуществляли в жидких и плотных питательных средах по хромогенной реакции. Для генетической характеристики штаммов использовали ген *rpoB*. Амплификацию двух фрагментов гена *rpoB* длиной 940 п. н. и 1210 п. н. проводили методом стандартной полимеразной цепной реакции с использованием праймеров, имеющих описанные ранее последовательности. Продукты амплификации секвенировали по Сэнгеру с использованием BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems, США) и капиллярного электрофореза на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems, США) с последующим применением методов определения уровней сходства секвенированных фрагментов с последовательностями гена *rpoB* референс-штамма *A. baumannii* ATCC 17978 (GenBank acc. no. CP053098.1). Было установлено, что все штаммы группы атипичных *A. baumannii* имели специфическую совокупность признаков, отличающих их от типичных штаммов *A. baumannii* и других видов комплекса ACB: наличие биотрансформации L-триптофана (антранилатным путем) и антраниловой кислоты при однозначном отсутствии этих признаков у других бактерий; отсутствие утилизации гиппурата натрия и L-арабинозы при однозначном наличии утилизации у других бактерий; отсутствие утилизации L-триптофана, путресцина, L-орнитина при наличии утилизации у большинства штаммов других видов. Генетический анализ показал, что контрольные штаммы типичных *A. baumannii* имели 99,20–99,21% сходства последовательностей секвенированных фрагментов гена *rpoB* с последовательностями гена *rpoB* референсного штамма. Такие же показатели имели все 10 штаммов атипичных *A. baumannii* (99,20–99,21%). При этом показатели контрольных штаммов других видов достоверно отличались: *A. nosocomialis* — 95,10–95,97%, *A. pittii* — 94,63–94,92%, *A. calcoaceticus* — 93,00%. Следовательно, штаммы атипичных и типичных *A. baumannii* генетически однородны и принадлежат к одному виду. Представленные факты позволяют считать данную группу атипичных штаммов *A. baumannii* новым биоваром. Предлагаем название

Адрес для переписки:

Краева Людмила Александровна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 (812) 232-94-85. Факс: 8 (812) 498-09-39.
E-mail: lykraeva@yandex.ru

Contacts:

Lydmila A. Kraeva
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (812) 232-94-85. Fax: +7 (812) 498-09-39.
E-mail: lykraeva@yandex.ru

Для цитирования:

Сиволодский Е.П., Краева Л.А., Старкова Д.А., Михайлов Н.В., Горелова Г.В. *Acinetobacter baumannii* bv *Tryptophandestruens* bv nov., выделенный из клинического материала // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 965–972. doi: 10.15789/2220-7619-ABB-1676

Citation:

Sivolodskii E.P., Kraeva L.A., Starkova D.A., Mikhailov N.V., Gorelova G.V. *Acinetobacter baumannii* bv *Tryptophandestruens* bv nov. isolated from clinical samples // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 965–972. doi: 10.15789/2220-7619-ABB-1676

новому биовару: *tryptophandestruens* (триптофанразрушающий) (лат. *destruens* — разрушающий). Идентификацию бактерий *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens* можно осуществлять в лабораториях любого уровня тестами на биотрансформацию L-триптофана и утилизацию гиппурата натрия.

Ключевые слова: *Acinetobacter baumannii*, биовар *tryptophandestruens*, идентификация, биотрансформация L-триптофана антранилатным путем, гиппурат натрия, антраниловая кислота.

ACINETOBACTER BAUMANNII bv TRYPTOPHANDESTRUENS bv NOV. ISOLATED FROM CLINICAL SAMPLES

Sivolodskii E.P.^{a,b}, Kraeva L.A.^{a,b}, Starkova D.A.^b, Mikhailov N.V.^b, Gorelova G.V.^a

^a Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg, Russian Federation

^b St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to determine the taxonomic status of a group consisting of atypical strains of *Acinetobacter baumannii*, outline relevant characteristics and methods necessary for their identification. There were examined 10 strains of *A. baumannii* (6 of them primary comprised) bearing similar profile of atypical features isolated from clinical samples (urine, sputum) in 2017–2019 at the Military Medical Academy. Clinical strains of typical *A. baumannii* (n = 36), *Acinetobacter nosocomialis* (n = 14), *Acinetobacter pittii* (n = 9) and 1 strain of *Acinetobacter calcoaceticus* isolated from the external environment were used in comparative studies. Atypical strains had the characteristics of *A. calcoaceticus* — *A. baumannii* (ACB) complex bacteria and were identified as *A. baumannii*. The utilization of substrates as the only carbon source was studied on a dense synthetic medium added with 0.2 % substrate during incubation for 72 hours at 37°C. Carbohydrate oxidation coupled to acid formation was detected on the Hugh–Leifson medium by using a micromethod. Aromatic amino acid biotransformation was carried out in liquid and dense nutrient media assessed in chromogenic reaction. The *rpoB* gene was used for strain genetic characterization. Amplification of two 940 and 1210 base pair (bp)-long fragments from the *rpoB* gene was performed by the routine polymerase chain reaction using primers with previously described sequences. Amplification products were sequenced by Sanger using Big Dye Terminator v3.1 (Applied Biosystems, USA) and capillary electrophoresis on an automatic sequencer ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems, USA), followed by using methods for determining the similarity levels of sequenced fragments with the *rpoB* gene sequences of the reference strain *A. baumannii* ATCC 17978 (GenBank accession no. CP053098.1). It was found that all strains belonging to atypical *A. baumannii* spp. had a specific set of features that distinguish them from typical strains of *A. baumannii* as well as other types of the ACB complex: detected biotransformation of L-tryptophan (via anthranilate pathway) and anthranilic acid under unambiguous lack of such signs in other bacteria; lack of utilized sodium hippurate and L-arabinose being unambiguously evident in other bacteria; lack of utilized L-tryptophan, putrescine, L-ornithine being utilized in the majority of strains of belonging to other bacterial species. Genetic analysis showed that the control strains of typical *A. baumannii* displayed 99.20–99.21% similarity within the sequenced fragments of the *rpoB* gene with those from the *rpoB* gene of the reference strain. All 10 strains of atypical *A. baumannii* had similar features (99.20–99.21%). At the same time, parameters of control strains from other bacterial species significantly differed: *A. nosocomialis* (95.10–95.97%), *A. pittii* (94.63–94.92%), *A. calcoaceticus* (93.00%). Hence, the strains of atypical and typical *A. baumannii* are genetically homogeneous and belong to the same species. The data presented allow us to consider this group of atypical *A. baumannii* strains as a new biovar. We propose the name for this new biovar — *tryptophandestruens* (tryptophan-destroying) stemming from the Latin word *destruens* — destroying. Identification of *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens* bacteria can be carried out in laboratory of any level by using tests for L-tryptophan biotransformation as well as sodium hippurate utilization.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, biovar *tryptophandestruens*, identification, biotransformation of L-tryptophan by anthranilate, sodium hippurate, Anthranilic acid.

Введение

В период 2017–2019 гг. в Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова были выделены из клинического материала 10 штаммов атипичных бактерий рода *Acinetobacter*, имеющих одинаковый фенотипический профиль. Группа атипичных бактерий принадлежала по фенотипическим признакам к бактериям комплекса *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* (ACB), но четко отличалась по ряду признаков от известных видов этого комплекса.

Методом времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-ToF MS) все штаммы группы атипичных бактерий были идентифицированы как *A. baumannii*. Актуальность и приоритет бактерий комплекса ACB как возбудителей раневой инфекции и заболеваний, связанных с оказанием медицинской помощи, определили необходимость дальнейших исследований по уточнению систематического положения атипичных бактерий и методов их идентификации.

Цель исследования — определить таксономический статус группы атипичных штаммов *A. baumannii*, выявить их характеристики и предложить методы, необходимые для их идентификации.

Материалы и методы

Штаммы бактерий. Объектом исследования выбраны 10 штаммов группы атипичных *A. baumannii*. Все штаммы были выделены в 2017–2019 гг. в бактериологической лаборатории Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. Шесть штаммов были первичными (№ 15107, 14638, 5678, 5868, 5870, 5871), четыре — повторными (№ 5108, 6623, 6624, 7107); из них 6 были изолированы из мокроты, 4 — из мочи. В сравнительных исследованиях использовались клинические штаммы *A. baumannii* (n = 36), *A. pittii* (n = 9), *A. nosocomialis* (n = 14) и 1 штамм *A. calcoaceticus*, выделенный из внешней среды. В генетических исследованиях изучались 10 штаммов атипичных *A. baumannii* и в контроле по 2 штамма *A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis*, 1 штамм *A. calcoaceticus*. Видовая принадлежность всех штаммов была подтверждена методом MALDI-ToF MS в НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Все указанные штаммы находятся в рабочей коллекции культур Е.П. Сиволодского на кафедре микробиологии Военно-медицинской академии.

Питательные среды и реактивы. Для культивирования бактерий использовали колумбийский агар (НИЦФ, Санкт-Петербург). Гемолитическую активность бактерий выявляли на Колумбийском агаре с 5% крови барана, желатиназу — в мясопептонном бульоне с 12% желатина.

Утилизацию субстратов в качестве единственного источника углерода осуществляли на минимальном солевом агаре (г/л): NH_4Cl — 5; NH_4NO_3 — 1; Na_2SO_4 — 2; K_2HPO_4 — 3; KH_2PO_4 — 1; MgSO_4 — 0,1; агар — 15; 1,6%-ный водный раствор бромтимолового синего — 4 мл, дистиллированная вода — 1 л, pH = 7,2; стерилизация при 121°C — 20 мин. Каждый субстрат вносили по 0,1 г в отдельную колбу с 50 мл стерильной горячей среды, устанавливали pH = 7,2; в одну колбу субстрат не вносили (контроль среды), разливали в стерильные чашки Петри. Использовали субстраты: L-триптофан L-орнитина гидрохлорид, L-арабиноза, путресцина дигидрохлорид, гиппурат нартия, антралиловая кислота (Merck, Германия).

Нитратредуктазу бактерий определяли на питательной среде с 0,1% KNO_3 . Состав среды: пептон ферментативный — 0,5 г; NaCl — 0,5 г; KNO_3 — 0,1 г; вода дистиллированная — 100 мл; стерилизация при 121°C 20 мин. Для выявления биотрансформации ароматических

аминокислот применяли жидкие и плотные питательные среды. Состав жидкой среды: пептон сухой ферментативный — 1 г; натрий хлорид — 0,5 г; L-триптофан — 0,5 г; вода дистиллированная — 100 мл, pH = 7,0; стерилизация при 121°C 20 мин. Другие аминокислоты использовали в составе среды по 0,5%, антралиловую кислоту — 0,3%. Плотную питательную среду готовили следующим образом: в колбу с 200 мл расплавленного стерильного колумбийского агара вносили 0,2 г L-триптофана, кипятили до его растворения, добавляли 1 мл 10%-ного водного раствора FeCl_3 и 1N раствор NaOH до pH = 7,0; разливали в стерильные чашки Петри. Другие аминокислоты вносили в состав среды в концентрации 0,1%.

Биохимические тесты на лизиндекарбоксилазу, орнитиндекарбоксилазу, аргининдегидролазу, уреазу, продукцию индола осуществляли используя среды и реактивы микрообъемной тест-системы «Рапид-Энтеро» (НИИЭМ имени Пастера, Санкт-Петербург). Для проведения ОФ-теста с глюкозой и окисления углеводов использовали среду Хью–Лейфсона, а также «Набор для определения ферментации и окисления глюкозы (ОФ-теста) пероксид-водородным микрообъемным методом» (НИИЭМ имени Пастера, Санкт-Петербург).

Методика постановки тестов. Отношение бактерий к окраске по Граму выявляли тестом «тяжа» с 3% раствором КОН и/или микроскопией. Рост бактерий при 26°C, 37°C, 41°C, 44°C определяли аэробным культивированием посевов суточных бульонных культур на колумбийском агаре с учетом через 48 ч. Гемолитическую активность бактерий исследовали на агаре с кровью барана при 37°C с учетом через 24 ч. Желатиназу выявляли на мясопептонном агаре с 12% желатина при 37°C с учетом через 5 суток. Наличие каталазы устанавливали тестом с 3% раствором пероксида водорода. Цитохромоксидазу бактерий выявляли тестом с 1%-ным водным раствором тетраметилпарафенилендиамина по появлению синей окраски бактерий в течение 20 с.

Методика определения нитратредуктазы бактерий. Использовали питательную среду с 0,1% KNO_3 , указанную выше. По 0,1 мл среды вносили в лунки полимерного планшета, затем засеивали в лунки по полной петле суточной агаровой культуры исследуемых бактерий, одну из лунок не засеивали (контроль среды). Посевы инкубировали при 37°C аэробно 3 часа, после чего вносили в каждую лунку реактивы на нитриты — 0,05 мл 0,2% водного раствора риванола, затем 0,05 мл 12% раствора соляной кислоты (приготовленной из концентрированной 36,5% соляной кислоты). Мгновенное появление красной окраски среды в лунке с посевом ука-

звало на наличие нитратредуктазы бактерий, желтая окраска указывала на отсутствие нитратредуктазы, в контрольной среде без посева сохранялась желтая окраска реактива.

Методика утилизации субстратов в качестве единственного источника углерода [1]. Суточные агаровые культуры бактерий по полной петле (диаметром 2 мм) суспендировали в 0,2 мл стерильного 0,85%-ного раствора хлорида натрия в лунках полимерного планшета. Чашки сред с субстратами (состав сред указан выше) и контрольную среду без субстрата разделяли на 8 секторов и маркировали по номерам штаммов. Засевали исследуемые культуры по полной петле взвеси из лунки радиальным штрихом на сектор чашки с субстратом и чашки без субстрата (контроль). Посевы аэробно выращивали при 37°C в течение 3 суток, просматривая ежедневно. Положительным результатом утилизации субстрата считали наличие четко выраженного газона бактерий по следу посева при отсутствии роста бактерий на контрольной среде без субстрата.

Методика биотрансформации ароматических аминокислот бактериями. В три лунки полимерного планшета вносили по 0,1 мл жидкой питательной среды с аминокислотой (состав сред указан выше), в две лунки засевали по полной петле суточной агаровой культуры исследуемого штамма, одну лунку со средой не засевали (контроль среды). Инкубировали посевы аэробно при 37°C в течение 3 ч (среду с антралиновой кислотой 5 ч), затем добавляли в одну лунку с посевом реактив — 0,05 мл водного 10% раствора FeCl₃; во вторую лунку с посевом и контрольную лунку вносили реактив через 18–24 ч инкубации. Положительным результатом биотрансформации считали появление красно-бурой, бурой, темно-бурой окраски среды (из L-триптофана, L-тирозина), зеленой окраски (из L-фенилаланина) или черной окраски (из антралиновой кислоты). При использовании плотных питательных сред с ароматическими аминокислотами (состав сред указан выше) предварительно суспендировали по полной петле суточных агаровых культур в 0,2 мл 0,85% раствора NaCl в лунках полимерного планшета. Засевали исследуемые культуры по полной петле взвеси бактерий из лунки радиальным штрихом на сектора чашек с субстратом и без субстрата (контроль). Положительным результатом биотрансформации субстрата считали появление четко выраженного изменения окраски газона бактерий и/или окружающей его питательной среды при отсутствии изменения окраски контрольной среды.

Идентификация видов бактерий методом MALDI-ToF масс-спектрометрии. Использовали настольный MALI-ToF масс-спектрометр Microflex с базой данных MALDI Biotyper

(Bruker Daltonics Inc., Германия) в соответствии с инструкцией по применению.

Молекулярно-генетические исследования. Идентификацию 17 штаммов *Acinetobacter* spp. проводили с помощью полимеразной цепной реакции для детекции участка видоспецифического гена *rpoB* с использованием прямых *rpoB*-F1(CCTTCATGACCTGGAAYGGNTA), *rpoB*-F2(CATGACCTGGAACGGCTAYAAAYTAYGA) и обратных *rpoB*-R1(TCCAGGATCTGNCCNACRTTCAT), *rpoB*-R2(TGGTTCAGCTTCAGCATRTACATRTA) праймеров согласно условиям, описанным ранее [11]. Реакцию секвенирования (по Сэнгеру) полученных продуктов амплификации (940 п. н. и 1210 п. н.) проводили с использованием BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems, США) согласно инструкции производителя. Капиллярный электрофорез выполняли на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems, США). Обработка хроматограмм секвенирования и выравнивание сиквенсов на референсный геном *A. baumannii* ATCC 17978 (acc. no. CP053098.1) были выполнены с использованием пакета программ Unipro UGENE 1.12 (Россия). Межвидовое разнообразие оценивали с использованием сходства полученных последовательностей участка гена *rpoB* и штаммов различных видов *Acinetobacter* в базе данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>).

Результаты

Сравнительное изучение 10 штаммов группы атипичных *A. baumannii* и 36 штаммов типичных *A. baumannii* с использованием таксономических тестов для ацинетобактеров комплекса ACB [7, 10] выявило совпадение следующих фенотипических признаков. Все штаммы являются неподвижными грамотрицательными коккобактериями. На колумбийском агаре растут при 26°C, 37°C, 41°C, 44°C, формируя круглые, выпуклые, гладкие колонии светлосерой окраски диаметром 1–2 мм с четкими краями. На кровяном агаре с кровью барана растут без гемолиза. Оксидазоотрицательные, каталазоположительные, не имеют нитратредуктазы и желатиназы. Не ферментируют глюкозу и другие углеводы.

Окисляют с образованием кислоты D-глюкозу, D-галактозу, D-маннозу, D-ксилозу, D-рамнозу, D-лактозу, D-мелибиозу, этанол. Не окисляют D-фруктозу, L-сорбозу, D-сахарозу, D-мальтозу, D-мелицитозу, D-трегалозу, D-раффинозу, маннит, сорбит, дульцит, m-инозит, глицерин. Не образуют индол, сероводород; не имеют уреазы, лизиндекарбоксилазы, орнитиндекарбоксилазы; вариабельны по аргининдегидролазе.

Утилизируют на синтетической среде в качестве единственного источника углерода ацетат, цитрат, этанол, ксилозу, пируват натрия, L-гистидин, L-тирозин, L-фенилаланин, L-глутаминовую кислоту, L-глутамат, L-аланин, L-аспарагин. Не утилизируют D-глюкозу, D-фруктозу, D-галактозу, D-сахарозу, D-лактозу, D-маннозу, D-мальтозу, D-мелицитозу, D-мелибиозу, D-трегалозу, L-рамнозу, D-раффинозу, маннит, адонит, сорбит, дульцит, инозит, глицерин, крахмал, глицин, антраниловую кислоту, L-метионин, L-лизин, L-серин, L-валин, L-треонин, L-изолейцин, L-цистеин. Варибельная утилизация: L-аргинин, L-лейцин.

Бактерии группы атипичных *A. baumannii* отличались от типичных штаммов *A. baumannii* по многим признакам: наличием биотрансформации L-триптофана и антраниловой кислоты; отсутствием утилизации L-триптофана, гиппурата натрия, L-арабинозы, L-орнитина, путресцина. В связи с этим были изучены по указанным отличительным признакам бактерии других видов, входящих в комплекс АСВ. Было установлено, что по признакам биотрансформации L-триптофана и антраниловой кислоты все штаммы группы атипичных *A. baumannii* были однозначно положительными, а все штаммы комплекса АСВ однозначно отрицательными; по утилизации гиппурата натрия и L-арабинозы все штаммы группы атипичных *A. baumannii* были однозначно отрицательными, а все штаммы комплекса АСВ однозначно положительными; по утилизации L-триптофана, L-орнитина, путресцина штаммы группы атипичных *A. baumannii* были однозначно отрицательными, штаммы комплекса АСВ — в большинстве положительными (табл. 1).

Неожиданно нами была обнаружена особенность процесса биотрансформации L-трип-

тофана штаммами атипичных *A. baumannii*, которая состояла в отсутствии сопряженности дезаминирования L-триптофана и L-фенилаланина. Известно, что у энтеробактерий (*Proteus*, *Morganella*) трансформация L-триптофана путем окислительного дезаминирования дегидрогеназами всегда происходит сопряженно с L-фенилаланином. Поэтому были проведены дополнительные исследования с бактериями комплекса АСВ и *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii* (табл. 2). Было установлено, что биотрансформация L-триптофана протекает замедленно (положительная реакция только через 18 ч культивирования в жидкой питательной среде микрометодом), продукты реакции после добавления $FeCl_3$ имеют темно-коричневую окраску; отмечена сопряженная положительная реакция только с антраниловой кислотой через 4–5 ч культивирования (продукты реакции черной окраски). На плотной питательной среде с L-триптофаном положительная реакция в виде зоны темно-коричневой окраски среды через 24–48 ч; на плотной питательной среде с антранилатом зона черной окраски среды четко выражена через 24 ч. В контроле все штаммы *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *M. morganii* осуществляли биотрансформацию L-триптофана быстро, через 2–3 ч культивирования микрометодом в жидкой питательной среде, продукт реакции имел характерную красно-бурую или бурую окраску; сопряженно протекала биотрансформация L-фенилаланина (также быстро — 2–3 ч), продукт реакции имел характерную зеленую окраску; трансформации антраниловой кислоты не наблюдалось. Все штаммы типичных *A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis*, *A. calcoaceticus* не трансформировали L-триптофан, L-фенилаланин, антраниловую кислоту, L-тирозин (табл. 2).

Таблица 1. Фенотипические особенности *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens* в сравнении с фенотипическими особенностями видов комплекса *A. calcoaceticus* — *A. baumannii*

Table 1. Phenotypic properties of *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens* vs. species of the *A. calcoaceticus* — *A. baumannii* complex

| Фенотипические признаки Phenotypic features | <i>A. baumannii</i> bv. <i>tryptophan-</i> <i>destruens</i> (n = 10) | <i>A. baumannii</i> (n = 36) | <i>A. pittii</i> (n = 9) | <i>A. nosocomialis</i> (n = 14) | <i>A. calcoaceticus</i> (n = 1) |
|--|--|---------------------------------|-----------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Биотрансформация/Biotransformation | | | | | |
| L-Триптофан/L-Tryptophan | + | – | – | – | – |
| Антраниловая кислота/Anthranilic acid | + | – | – | – | – |
| Утилизация/Utilization | | | | | |
| L-Триптофан/L-Tryptophan | –** | V(28)* | V(7) | V(8) | + |
| Гиппурат натрия/Sodium hippurate | – | + | + | + | + |
| L-Арабиноза/L-Arabinose | – | + | + | + | + |
| Путресцин/Putrescine | – | V(27) | + | V(13) | + |
| L-Орнитин/L-Ornithine | – | V(28) | + | V(12) | + |

Примечание. «+» — все штаммы положительные; «–» — все штаммы отрицательные; *V () — варибельно (число положительных штаммов).
Note. «+» — all strains are positive; «–» — all strains are negative; *V () — variable (number of positive strains).

Исследование методом MALDI-ToF масс-спектрометрии выявило принадлежность всех штаммов группы атипичных *A. baumannii* к виду *A. baumannii* с показателями score 2,265–2,553.

Генетический анализ показал, что контрольные штаммы типичных *A. baumannii* имели

99,20–99,21% сходства последовательностей секвенированных фрагментов гена *rpoB* с последовательностями гена *rpoB* референсного штамма *A. baumannii* ATCC 17978 (GenBank acc. no. CP053098.1). Такие же показатели имели все 10 штаммов атипичных *A. baumannii* (99,20–

Таблица 2. Особенности биотрансформации ароматических аминокислот *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens* в жидкой питательной среде*

Table 2. Features of aromatic amino acid biotransformation by *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens* in a liquid nutrient medium*

| Аминокислоты Amino acids | Время культивирования до получения положительного результата с продуктами трансформации аминокислот Timeframe cell culture until obtaining a positive result with products of amino acid transformation | | | | | | | |
|--|--|---|---|---|---|------|------|------|
| | Виды бактерий**/Species of bacteria** | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| L-Триптофан/L-Tryptophan | +(18)*** | – | – | – | – | +(2) | +(2) | +(1) |
| L-Фенилаланин/L-Phenylalanine | – | – | – | – | – | +(3) | +(3) | +(2) |
| Антралиловая кислота/Anthranilic acid | +(4–5) | – | – | – | – | – | – | – |
| L-Тирозин/L-Tyrosine | – | – | – | – | – | – | – | – |

Примечание. * — по методике раздела «Методы». ** — виды бактерий: 1 — *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens* (n = 10); 2 — *A. baumannii* (n = 10); 3 — *A. pittii* (n = 9); 4 — *A. nosocomialis* (n = 14); 5 — *A. calcoaceticus* (n = 1); 6 — *Morganella morganii* (n = 2); 7 — *Proteus vulgaris* (n = 2); 8 — *Proteus mirabilis* (n = 2). ***+(18) — положительный результат (через 18 ч культивирования бактерий); — отрицательный результат через 24 ч культивирования.

Note. * — according to the section “Methods”. ** — species of bacteria: 1 — *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens* (n = 10); 2 — *A. baumannii* (n = 10); 3 — *A. pittii* (n = 9); 4 — *A. nosocomialis* (n = 14); 5 — *A. calcoaceticus* (n = 1); 6 — *Morganella morganii* (n = 2); 7 — *Proteus vulgaris* (n = 2); 8 — *Proteus mirabilis* (n = 2). ***+(18) — positive result (18 hour-bacterial culture); — negative result after 24 hour-bacterial culture.

Таблица 3. Генетическая характеристика *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens*

Table 3. Genetic characteristics of *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens*

| Вид, штамм (<i>rpoB</i> , часть гена)* Species, strain (<i>rpoB</i> , partial gene)* | Уровень сходства секвенированных последовательностей с участком гена <i>rpoB</i> <i>A. baumannii</i> ATCC 17978 CP053098.1** Similarity levels for sequenced <i>rpoB</i> gene fragments of <i>A. baumannii</i> ATCC 17978 CP053098.1** | Результат генетической идентификации Result of genetic identification |
|---|---|--|
| Штаммы <i>A. baumannii</i> bv. <i>tryptophandestruens</i> Strains of <i>A. baumannii</i> bv. <i>tryptophandestruens</i> | | |
| <i>A. baumannii</i> 15108 | 99,20% | <i>A. baumannii</i> |
| <i>A. baumannii</i> 15107 | 99,21% | <i>A. baumannii</i> |
| <i>A. baumannii</i> 14636 | 99,21% | <i>A. baumannii</i> |
| <i>A. baumannii</i> 5678 | 99,21% | <i>A. baumannii</i> |
| <i>A. baumannii</i> 5868 | 99,21% | <i>A. baumannii</i> |
| <i>A. baumannii</i> 5870 | 99,21% | <i>A. baumannii</i> |
| <i>A. baumannii</i> 5871 | 99,21% | <i>A. baumannii</i> |
| <i>A. baumannii</i> 6623 | 99,33% | <i>A. baumannii</i> |
| <i>A. baumannii</i> 7107 | 99,21% | <i>A. baumannii</i> |
| <i>A. baumannii</i> 6624 | 99,21% | <i>A. baumannii</i> |
| Контрольные штаммы комплекса <i>A. calcoaceticus</i> — <i>A. baumannii</i> Control strains of the <i>A. calcoaceticus</i> — <i>A. baumannii</i> complex | | |
| <i>A. nosocomialis</i> 5903 | 95,97% | |
| <i>A. nosocomialis</i> 6033 | 95,10% | |
| <i>A. pittii</i> 6107 | 94,92% | |
| <i>A. pittii</i> 6021 | 94,63% | |
| <i>A. baumannii</i> 4042 | 99,20% | <i>A. baumannii</i> |
| <i>A. baumannii</i> 7151 | 99,21% | <i>A. baumannii</i> |
| <i>A. calcoaceticus</i> 10 | 93,00% | |

Примечание. * — секвенированные фрагменты гена *rpoB* длиной 940 п. н. и 1210 п. н.; ** — по Wang J. и соавт. [11].

Note. * — sequenced 940 bp- and 1210 bp-long *rpoB* gene fragments; ** — according to Wang J. et al. [11].

99,21%) (GenBank acc. no. MW404310). При этом показатели контрольных штаммов других видов комплекса АСВ достоверно отличались: *A. nosocomialis* 95,10–95,97%, *A. pittii* 94,63–94,92%, *A. calcoaceticus* 93,00% (табл. 3) (GenBank acc. no. MW401640, MW401641, MW401642).

Представленные факты позволяют считать, что штаммы атипичных и типичных *A. baumannii* генетически однородны и принадлежат к одному виду.

Обсуждение

На основании генетического анализа секвенированных фрагментов гена *rpoB*, исследованный методом MALDI-ToF масс-спектрометрии, характеристики метаболических и физиологических признаков таксономическими тестами для рода *Acinetobacter* подтверждено, что все клинические штаммы группы атипичных *A. baumannii* относятся к виду *A. baumannii*. Эти штаммы имеют одинаковую специфическую совокупность независимых фенотипических признаков, отличающих их от типичных штаммов *A. baumannii* и бактерий других видов, входящих в комплекс АСВ, а именно: наличие биотрансформации L-триптофана (антранилатным путем) и антраниловой кислоты при однозначно отрицательных результатах у штаммов других видов; отсутствие утилизации гиппурата натрия и L-арабинозы при однозначной утилизации штаммами других видов; отсутствие утилизации L-триптофана, L-орнитина, путресцина при утилизации большинством штаммов других видов. В связи с отсутствием у нас для исследования штаммов новых видов ацинетобактеров комплекса АСВ *Acinetobacter seifertii* [8], *Acinetobacter lactucae* [9], *Acinetobacter dijkshoorniae* (более поздний гетеротипический синоним *A. lactucae*) [3] проводили сравнительный анализ их признаков с признаками атипичных *A. baumannii* по источникам научной информации. Только у бактерий *A. seifertii* был выявлен один общий признак с атипичными штаммами *A. baumannii* — однозначное отсутствие утилизации L-арабинозы [8].

Мы считаем, что данная группа атипичных штаммов *A. baumannii* представляет новый биовар на основании наличия у них специфической совокупности многих независимых фенотипических признаков, указанных выше; стабильности этих признаков в условиях организма

человека (у повторных штаммов) и во внешней среде (при хранении и изучении штаммов в лаборатории); длительной циркуляции бактерий в клиниках. Предлагаем название новому биовару *tryptophandestruens* (триптофанразрушающий), от лат. слова *destruens* — «разрушающий». Следует отметить, что у бактерий *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens* нами был выявлен антранилатный путь аэробной биотрансформации L-триптофана. Ранее, в 2003 г., был обнаружен антранилатный путь расщепления L-триптофана до антранилата у бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* [5]. Недавно было обнаружено антиплечное действие L-триптофана и антранилата на микробные биопленки. Было установлено, что триптофан подавляет экспрессию Quorum-Sensing-ассоциированных генов *lasR*, *lasB*, *lasI* бактерий *P. aeruginosa* [4]. Обе изоформы триптофана ингибировали образование биопленки *P. aeruginosa* [2]. Антранилаты подавляли развитие биопленок у бактерий *P. aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Vibrio vulnificus*. Эффективность ингибирования биопленки антранилатами была выше, чем у триптофана [6]. Учитывая приведенные сведения, можно предполагать, что бактерии *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens*, разрушающие L-триптофан и антранилат, могут способствовать сохранению микробных биопленок и потенциально имеют повышенную лекарственную резистентность.

Заключение

Полученные результаты и их анализ позволяют считать описанную выше группу атипичных штаммов *A. baumannii* новым биоваром. Предложено название для нового биовара *tryptophandestruens* (триптофанразрушающий), от слова *destruens* (лат.) — «разрушающий». Идентификацию бактерий *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens* можно осуществлять в лабораториях любого уровня тестами на биотрансформацию L-триптофана и утилизацию гиппурата натрия.

Благодарности

Авторы благодарят врачей-бактериологов Богословскую С.П. и Мельникову Е.В. (Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова) за клинические штаммы бактерий *Acinetobacter* spp., предоставленные для исследования.

Список литературы/References

1. Сиволодский Е.П., Фрейлихман О.А. Генетическая и фенотипическая характеристика изолятов *Klebsiella michiganensis* // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 5–6. С. 648–654. [Sivolodskii T.P., Freylikhman O.A. Genetic and phenotypic characteristics of *Klebsiella michiganensis*. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2019, vol. 9, no. 5–6, pp. 648–654. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2019-5-6-648-654

2. Brandenburg K.S., Rodriguez K.J., McAnulty J.F., Murphy C.J., Abbott N.L., Schurr M.J., Czuprynski C. Tryptophan inhibits biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2013, vol. 57, no. 4, pp. 1921–1925. doi: 10.1128/AAC.00007-13
3. Cosgaya C., Mari-Almirall M., Van Assche A., Fernandez-Orhn D., Mosqueda N., Telli M., Huys G., Higinns P., Seifert H., Lievens B., Roce I., Vila J. *Acinetobacter dijkshoorniae* sp. nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* complex mainly recovered from clinical samples in different countries. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2016, vol. 66, pp. 4105–4111. doi: 10.1099/ijsem.0.001318
4. Chakraborty P., Daware A.V., Kumari M., Chatterjee A., Bhattacharyya D., Mitra G., Akhter Y., Bhattacharjee S., Ttbedi P. Free tryptophan residues inhibit quorum sensing of *Pseudomonas aeruginosa*: a potential approach to inhibit the development of microbial biofilm. *Arch. Microbiol.*, 2018, vol. 200, no. 10, pp. 1419–1425. doi: 10.1007/s00203-018-1557-4
5. Kurnasov O., Jablonsky L., Polanuyer B., Dorrestein P., Bergley T., Osterman A. Aerobic tryptophan degradation pathway in bacteria: novel kynurenine formamidase. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2003, vol. 227, no. 2, pp. 219–227. doi: 10.1016/s0378-1097(03)00684-0
6. Li X.H., Kim S.K., Lee J.H. Anti-biofilm effects of anthranilate on a range of bacteria. *Sci. Rep.*, 2017, vol. 7, no. 1: 8604. doi: 10.1038/s41598-017-06540-1
7. Nemes A., Krisova I., Maixerova M., van der Reijden T.J.K., Deschaght P., Passet V., Vanechoutte M., Brisse S., Dijkshoorn L. Genotypic and phenotypic characterization of the *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* complex with the proposal of *Acinetobacter pittii* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 3) and *Acinetobacter nosocomialis* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 13 TU). *Res. Microbiol.*, 2011, vol. 162, no. 2, pp. 393–404. doi: 10.1016/j.resmic.2011.02.006
8. Nemes A., Krisova I., Maixnerova M., Sedo O., Brisse S., Higgins P.G. *Acinetobacter seifertii* sp. nov., a member of *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* complex isolated from human clinical specimens. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2015, vol. 65, pp. 934–942. doi: 10.1099/ijse.0.000043
9. Rooney A.P., Dunlap C.A., Flor-Weiler L.B. *Acinetobacter lactucae* sp. nov., isolated from iceberg lettuce (*Asteraceae*: *Lactuca sativa*). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2016, vol. 66, no. 9, pp. 3566–3572. doi: 10.1099/ijsem.0.001234
10. Vijayakumar S., Biswas I., Veerarayaven B. Accurate identification of clinically important *Acinetobacter* spp.: an update. *Future Sci. OA*, 2019, vol. 5, no. 6: FSO395. doi: 10.2144/foa-2018-0127
11. Wang J., Ruan Z., Feng Y., Fu Y., Jiang Y., Weng H., Yu Y. Species distribution of clinical *Acinetobacter* isolates revealed by different identification techniques. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 8: e104882. doi: 10.1371/journal.pone.0104882

Авторы:

Сиволодский Е.П., д.м.н., профессор кафедры микробиологии ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ; старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-биологических технологий ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Краева Л.А., д.м.н., зав. лабораторией медицинской бактериологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; профессор кафедры микробиологии ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия;

Старкова Д.А., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории идентификации патогенов, научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Михайлов Н.В., к.м.н., старший научный сотрудник отдела новых технологий ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Горелова Г.В., зав. лабораторией бактериологии Центральной клинико-диагностической лаборатории ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Sivolodskii E.P., PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Microbiology, Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg; Senior Researcher, Laboratory of Molecular and Biological Technologies, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Kraeva L.A., PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory of Medical Bacteriology, St. Petersburg Pasteur Institute; Professor of the Department of Microbiology, Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg, Russian Federation;

Starkova D.A., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory for Identification of Pathogens, Researcher of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Mikhailov N.V., PhD (Medicine), Senior Researcher, Department of New Technologies, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Gorelova G.V., Head of the Laboratory of Bacteriology, Central Clinical Diagnostic Laboratory, Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg, Russian Federation.

ПОКАЗАТЕЛИ КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫХ ПЕПТИДОВ И ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ГИДРОЛАЗ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ В

М.А. Жураева, В.А. Алейник, Н.Д. Ашуралиева, Д.С. Халикова, Ж.Б. Равзатов, Б.К. Абдулазизхожиев

Андижанский государственный медицинский институт, г. Андижан, Узбекистан

Резюме. Цель работы — изучить особенности изменения содержания гидролаз крови, инкретированных желудком и поджелудочной железой, при хроническом вирусном гепатите В, и проанализировать механизмы этих изменений. Был определен уровень сывороточных маркеров HBV-инфекции, печеночных проб и гидролаз желудка и поджелудочной железы. Участники исследования были разделены на три группы: контрольная группа (здоровые) и две исследуемые группы — «HBV-постинфекция» и «хроническая HBV-инфекция». У пациентов с HBV-постинфекцией не выявлено значимых отклонений от нормы содержания гидролаз желудка и поджелудочной железы в крови. У больных хронической HBV-инфекцией установлено повышенное содержание амилазы и липазы в крови, что может свидетельствовать об увеличении функциональной активности поджелудочной железы и о развитии скрытой формы панкреатита. Одновременно уменьшение концентрации сывороточного пепсиногена-1 до значений менее 40 мкг/л могло указывать на заметное снижение секреции соляной кислоты и развитие атрофического гастрита. Было установлено, что основным фактором, способствующим развитию перечисленных нарушений, является короткоцепочечный пептид ХЦК-8, утилизация которого уменьшается у больных хронической HBV-инфекцией. ХЦК-8 может играть решающую роль в торможении стимуляции секреции соляной кислоты в желудке и осуществляет контроль уровня соляной кислоты желудка, гастрин плазмы крови и секреции соматостатина. Было обнаружено, что холецистокинин ингибирует секрецию кислоты активацией рецепторов ХЦК типа А и механизмом, включающим соматостатин. Секреция желудочного соматостатина-14 увеличивалась в 5 раз с помощью только ХЦК-8, но угнеталась блокатором рецепторов ХЦК-А локсиглумидом. Эти данные показывают, что ХЦК-8 непосредственно ингибирует кислотные реакции, стимулируя высвобождение соматостатина в желудке через рецептор ХЦК-А. Таким образом, можно полагать, что в норме ХЦК-8 в большей мере утилизируется печенью. При хроническом гепатите В его утилизация в печени нарушается и увеличивается концентрация ХЦК-8 в крови, за счет чего стимулируется секреторная активность поджелудочной железы, ведущая к развитию панкреатита, и одновременно с этим отмечается торможение секреции желудка с развитием атрофического гастрита.

Ключевые слова: хронический гепатит В, сывороточные гидролазы желудка, сывороточные гидролазы поджелудочной железы, панкреатит, атрофический гастрит.

Адрес для переписки:

Жураева Мохигуль Азимжановна
170127, Узбекистан, г. Андижан, ул. Атабекова, 1,
Андижанский государственный медицинский институт.
Тел.: +998 93 444-02-00.
E-mail: mohigul_azimovna@mail.ru

Contacts:

Mohigul A. Zhuraeva
170127, Uzbekistan, Andijan, Atabekov str., 1,
Andijan State Medical Institute.
Phone: +998 93 444-02-00.
E-mail: mohigul_azimovna@mail.ru

Для цитирования:

Жураева М.А., Алейник В.А., Ашуралиева Н.Д., Халикова Д.С., Равзатов Ж.Б., Абдулазизхожиев Б.К. Показатели короткоцепочечных пептидов и пищеварительных гидролаз в крови больных хроническим вирусным гепатитом В // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 973–978. doi: 10.15789/2220-7619-POB-1393

Citation:

Zhuraeva M.A., Aleinik V.A., Ashuralieva N.D., Halikova D.S., Ravzatov J.B., Abdulazizkhodzhyev B.K. Parameters of blood short-chain peptides and digestive hydrolases in patients with chronic hepatitis B virus infection // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 973–978. doi: 10.15789/2220-7619-POB-1393

PARAMETERS OF BLOOD SHORT-CHAIN PEPTIDES AND DIGESTIVE HYDROLASES IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS B VIRUS INFECTION

Zhuraeva M.A., Aleinik V.A., Ashuralieva N.D., Halikova D.S., Ravzatov J.B., Abdulazizkhodzhev B.K.

Andijan State Medical Institute, Andijan, Uzbekistan

Abstract. The aim of the study was to examine specifics of changes in the level of stomach- and pancreas-released blood hydrolases in chronic viral hepatitis B and analyze the mechanisms underlying such changes. We assessed serum markers of HBV infection, liver enzymes tests as well as gastric and pancreatic hydrolase level. The patients examined were divided into three groups: control (healthy) and two study groups — HBV post-infection and chronic HBV infection. Patients with HBV post-infection had no significant deviations from normal range for blood level of gastric and pancreatic hydrolases. Patients with chronic HBV infection were found to contain increased blood level of amylase and lipase, which may evidence about increasing pancreatic functional activity and development of covert pancreatitis. At the same time, decline in the concentration of serum pepsinogen-1 below 40 µg/l could indicate about prominently decreased secretion of hydrochloric acid and development of atrophic gastritis, and it was found that the major factor contributing to development of such disorders was the short-chain peptide CCK-8, which utilization declines in patients with chronic HBV infection. CCK-8 can play a pivotal role in inhibiting stimulation of gastric acid secretion and controls gastric acid, plasma gastrin and somatostatin secretion. Cholecystokinin has been found to inhibit acid secretion by activating CCK type A receptors as well as via somatostatin-involving mechanism. The secretion of gastric somatostatin-14 increased by fivefold due to CCK-8 alone, but was blocked by the CCK-A receptor blocker loxiglumide. These data show that CCK-8 directly inhibits acid reactions by stimulating the release of gastric somatostatin indirectly through the CCK-A receptor. Thus, it can be assumed that normally CCK-8 is mainly utilized by the liver, which is altered during chronic hepatitis B resulting in elevated blood CCK-8 concentration. As a consequence, it enhances pancreatic secretion resulting in developing pancreatitis that is paralleled with inhibited gastric secretion and emerged atrophic gastritis.

Key words: *chronic hepatitis B, serum gastric hydrolases, pancreatic serum hydrolases, pancreatitis, atrophic gastritis.*

Влияние хронических заболеваний печени на изменение функционального состояния желудка и поджелудочной железы достаточно интенсивно изучалось начиная с 60-х гг. прошлого века, однако до настоящего времени еще многие механизмы этого процесса не выяснены. Остается нерешенным вопрос разнонаправленности изменений функций пищеварительных желез желудка и поджелудочной железы в секреторной и инкреторной деятельности при хронических заболеваниях печени. При этом в наибольшей степени изучены экзокреторные изменения и в меньшей — инкреторные. Однако для практической диагностики представляет интерес изучение изменения именно инкреторной функции, т. е. изменения содержания пищеварительных гидролаз желудка и поджелудочной железы в крови как при заболеваниях желудка и поджелудочной железы, так и при нарушении функции этих органов при хронических заболеваниях печени.

Целесообразность изучения функционального состояния желудка и поджелудочной железы при хронических заболеваниях печени вирусной этиологии достаточно обоснована, поскольку эти органы довольно часто сопряженно вовлекаются в патологический процесс. Исследования амилазы, липазы, пепсиногена-1 (PG1) и пепсиногена-2 (PG2) в крови, а также комплексная оценка состояния поджелудочной железы у больных хроническими вирусными поражениями печени позволила выявить нарушения функционального состояния ор-

гана в 80% случаев при хроническом гепатите и в 96,3% случаев — при циррозе печени [13].

Сочетанное инфицирование вирусами гепатита В и С приводит к более выраженным изменениям протеиназной активности крови (активности трипсина и калликреина), более отчетливому снижению антитриптической активности. Экзокринная функция поджелудочной железы у больных гепатитом также была нарушена в большей степени, что проявлялось в одних исследованиях снижением базальной и стимулированной секреции, ферментоотделения (особенно трипсина и амилазы) и продукции бикарбонатов [15], в других — повышением активности амилазы и липазы. Нарушения внешней секреции усугубляются с ростом тяжести основных клинико-биохимических синдромов. При этом содержание глюкозагона и соматостатина в крови больных хроническим гепатитом увеличено [13, 15].

Показано, что экзокринная секреция поджелудочной железы при алкогольных заболеваниях печени имеет тенденцию к увеличению с нарастанием повреждений печени, но не коррелирует с тяжестью хронического панкреатита. Сделано предположение, что злоупотребление алкоголем и влияние вируса гепатита оказывают равное патогенное воздействие на печень и поджелудочную железу [2].

У пациентов с вирусным гепатитом уровни ферментов поджелудочной железы — сывороточной и панкреатической амилазы и липазы сыворотки — повышаются по мере прогрес-

сирования заболевания печени. Заболевание поджелудочной железы, бессимптомное в большинстве случаев, может представлять собой внепеченочное проявление хронического вирусного гепатита. Возможно, что эффективность катаболизма в печени амилазы и липазы у пациентов с хроническим инфекционным заболеванием печени, особенно на стадии цирроза, снижена, что может приводить к накоплению этих ферментов в крови [7, 14].

У больных циррозом печени также выявлены изменения функций желудка: средние показатели дебита свободной соляной кислоты и общей кислотности, а также уровень PG1 в сыворотке крови были ниже, чем в обычных условиях. Кроме того, в слизистой желудка отмечено снижение кровотока, а содержание гастринина у больных было значительно ниже, чем у здоровых лиц, тогда как концентрация сывороточного гастринина и соматостатина у больных циррозом печени была значительно выше [4, 9].

Mazaki-Toviet M. и соавт. [11] выявили у собак с заболеваниями печени гипергастринемия и частые проявления желудочно-кишечных нарушений, которые могли быть вызваны изъязвлением. Авторы предполагают, что печень важна для инактивации некоторых форм гастринина. Гипергастринемия участвует в патогенезе желудочно-кишечных язв, связанных с дисфункцией печени. Цель исследования — изучить особенности изменения содержания гидролаз крови, инкретированных желудком и поджелудочной железой, при хроническом вирусном гепатите В и дать анализ механизмов этих изменений.

Материал и методы

В иммунологической лаборатории НИЛ Андиганского государственного медицинского института обследованы 118 мужчин и женщин в возрасте от 20 до 70 лет. 42 здоровых человека из числа обследованных составили группу контроля — у них отсутствовали маркеры вируса гепатита В (HBV) и печеночные пробы были в норме. Оставшиеся 76 человек имели положительные серологические маркеры HBV-инфекции, при этом у 47 пациентов выявлена комбинация маркеров, характеризующих постинфекцию HBV, 29 человек имели серологические маркеры, указывающие на хроническую HBV-инфекцию. В сыворотке крови всех обследованных методом ИФА (стандартные наборы ЗАО «Вектор-Бест», Россия) определяли HBs- и HBe-антигены, анти-HBs антитела, HBe IgG, HBc IgG, HBc IgM. Концентрацию антител учитывали по оптической плотности (ОП; оптическая плотность характеризует уровень концентрации антител в единице объема) и выра-

жали в условных показателях — единицах ОП. В сыворотке крови обследованных методом ИФА с использованием стандартных наборов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия) было определено содержание PG1 и PG2. Биохимическими методами определялись панкреатическая амилаза (стандартные наборы ЗАО «Вектор-Бест», Россия) и панкреатическая липаза (Human, Германия). У всех пациентов был исследован уровень печеночных ферментов: аланин-трансаминазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), общего и прямого билирубина.

Результаты обрабатывали методом вариационной статистики с вычислением средних (M) и относительных величин (P), их ошибок (m) и достоверности разности сравниваемых величин Стьюдента–Фишера (t). Достоверными считали отличия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований было установлено, что у лиц с HBV-постинфекцией наиболее часто выявлялись серологические маркеры Anti-HBs и Anti-HBc IgG с высокими значениями ОП. При этом Anti-HBe IgG выявлялись значительно реже и с низкими значениями ОП (табл. 1).

Таблица 1. Выявляемость и показатели оптической плотности (ОП) сывороточных маркеров HBV в обследованных группах

Table 1. Detection and optical density (OD) of serum HBV markers in the examined groups

| Сывороточные маркеры Serum markers | Постинфекция Postinfection | | Хроническая инфекция Chronic infection | |
|---------------------------------------|---------------------------------|---|---|---|
| | % встречаемости % prevalence | оптическая плотность (ОП) optical density (OD) | % встречаемости % prevalence | оптическая плотность (ОП) optical density (OD) |
| HBs-антиген HBs-antigen | – | – | 58±6,5 | 0,419±0,05 |
| HBe-антиген HBe-antigen | – | – | 79±8,1 | 1,837±0,17 |
| Anti-HBs | 89±9,1 | 2,684±0,3 | – | – |
| Anti-HBe IgG | 49±5,7 | 0,637±0,07 | – | – |
| Anti-HBc IgG | 73±6,9 | 2,966±0,4 | 87±9,1 | 2,423±0,25 |
| Anti-HBc IgM | – | – | 81±9,1 | 2,142±0,22 |

Примечание. * — достоверно различающиеся величины относительно показателей здоровых лиц; ** — достоверно различающиеся величины относительно показателей пациентов с HBV-постинфекцией.

Note. * — significantly differed changes compared to control group; ** — significantly differed changes compared to HBV-patient group.

Таблица 2. Печеночные пробы и содержание гидролаз желудка и поджелудочной железы в крови здоровых и больных вирусным гепатитом В

Table 2. Liver tests and serum gastric and pancreatic hydrolase level in healthy subjects and patients with viral hepatitis B virus infection

| Сывороточные маркеры Serum markers | Здоровые Healthy subjects | HBV-постинфекция HBV post-infection | Хроническая HBV-инфекция Chronic HBV infection |
|---|------------------------------|--|---|
| Печеночные пробы Liver tests | | | |
| АЛТ (ммоль/ч*л) Норма: 0,1–0,68 ALT (mmol/h*l) Normal range: 0.1–0.68 | 0,21±0,02 | 0,41±0,03* | 0,74±0,08** |
| АСТ (ммоль/ч*л) Норма: 0,1–0,68 AST (mmol/h*l) Normal range: 0.1–0.68 | 0,36±0,04 | 0,52±0,06* | 0,93±0,11** |
| Общий билирубин (мкмоль/л) Норма 8,5–20,5 Total bilirubin (μmol/L) Normal range: 8.5–20.5 | 13,6±1,2 | 22,9±1,8* | 47,9±9,5** |
| Прямой билирубин (мкмоль/л) Норма: 0–5,0 Direct bilirubin (μmol/L) Normal range: 0–5.0 | 2,0±0,1 | 5,7±0,5* | 26,0±2,7** |
| Гидролазы крови Blood hydrolase | | | |
| Амилаза панкреатическая Норма: 0–60 Е/л Pancreatic amylase Normal range: 0–60 u/l | 41,6±5,8 | 73,5±9,2* | 114,5±13,8** |
| Липаза панкреатическая Норма: 0–53 Е/л Pancreatic lipase Normal range: 0–53 u/l | 32,5±4,9 | 48,3±5,7 | 71,6±9,2 |
| Пепсиноген-1 (мкг/л) Норма: 40–130 Pepsinogen-1 (μg/L) Normal range: 40–130 | 117,4±15,3 | 75,8±8,6* | 24,7±5,3** |
| Пепсиноген-2 (мкг/л) Норма: 4–22 Pepsinogen-2 (μg/L) Normal range: 4–22 | 12,5±1,5 | 15,6±1,8 | 17,3±2,1 |

Примечание. * — достоверно различающиеся величины относительно показателей здоровых лиц; ** — достоверно различающиеся величины относительно показателей пациентов с HBV-постинфекцией.

Note. * — significantly differed changes compared to control group; ** — significantly differed changes compared to HBV-patient group.

У больных хронической HBV-инфекцией часто выявлялись серологические маркеры Anti-HBc IgG, Anti-HBc IgM и HBe-антиген, которые также были с высокими значениями ОП. В то же время HBs-антиген выявлялся у меньшего числа больных этой группы и с низкими показателями ОП (табл. 1).

Проведенные исследования показали, что у всех здоровых лиц серологические маркеры на гепатит HBV отсутствовали и показатели печеночных проб были в норме. Уровни амилазы, липазы, PG1 и PG2 в крови также были в пределах нормы (табл. 2).

У пациентов с HBV-постинфекцией показатели печеночных проб были достоверно выше, чем у здоровых лиц, но уровни АЛТ и АСТ находились в пределах нормы, а общего и прямого билирубина были незначительно выше нормы (табл. 2). У этих же лиц, несмотря на отсутствие выраженного активного HBV-процесса, отмечалось достоверное в сравнении со здоровыми лицами повышение в крови амилазы, и этот показатель был незначительно выше нормы. Показатели липазы были недостоверно выше, чем у здоровых, но находились также в пределах нормы. Уровень PG1 находился в пределах нормы, но при этом был достоверно ниже, чем у здоровых. Содержание PG2 также находилось в пределах нормы, но было несущественно выше, чем у здоровых лиц (табл. 2).

В группе больных хронической HBV-инфекцией показатели АЛТ, АСТ, общего и прямого билирубина были выше нормы и достоверно превышали таковые у лиц с HBV-постинфекцией (табл. 2). В этой же группе больных отмечался высокий средний показатель амилазы в крови, достоверно превышающий показатель у лиц с HBV-постинфекцией, который был значительно выше нормы. В большей мере, но не достоверно, отмечалось повышение липазы (в сравнении с лицами с HBV-постинфекцией), которое было также выше нормы. При этом показатели PG1 были меньше нижнего предела нормы и достоверно значительно ниже, чем у лиц с HBV-постинфекцией. В то же время показатели PG2 находились в пределах нормы, но были несколько выше, чем у лиц с HBV-постинфекцией (табл. 2).

Представленные данные демонстрируют отсутствие у здоровых лиц каких-либо нарушений со стороны печени, желудка и поджелудочной железы. У лиц с HBV-постинфекцией существенных изменений функции пищеварительных желез желудка и поджелудочной железы также не было обнаружено.

У больных хронической HBV-инфекцией выраженное повышение в крови уровня амилазы и липазы указывает на увеличение функциональной активности поджелудочной железы

и, возможно, на наличие скрытой формы панкреатита. Наблюдаемое снижение ниже нормальных значений содержания PG1, продуцируемого главными клетками желез дна и тела желудка, указывает на уменьшение ферментовыведительной деятельности желудка, при этом снижение концентрации сывороточного PG1 до значений менее 40 мкг/л наблюдается при заметном уменьшении секреции соляной кислоты и развитии атрофического гастрита [10]. Находящиеся в пределах нормы показатели PG2, продуцируемого муцин-образующими клетками желез всех отделов желудка, указывают на отсутствие изменений муцинообразующей функции желудка. В то же время отношение PG1/PG2 (24,7/17,3) ниже 3 является дополнительным показателем развития атрофического гастрита.

Полученные результаты показывают, что у больных хронической HBV-инфекцией отмечаются проявления скрытой формы панкреатита и атрофического гастрита. Однако механизмы этих изменений в литературе не освещены.

С нашей точки зрения, данные процессы связаны с физиологической утилизацией или метаболизмом в печени низкомолекулярных или короткоцепочечных пептидов, и в частности холецистокинина-8 (ХЦК-8), что было показано нами ранее [1] и подтверждается данными других авторов [12].

Печень влияет на метаболизм ХЦК-8, и этот метаболический эффект может значительно меняться при ее заболеваниях. Так установлено, что ХЦК-8 у здоровых лиц в значительной степени утилизируется в печени и поэтому не является основной формой ХЦК в плазме крови у таких субъектов. Однако при циррозе печени катаболизм ХЦК-8 замедляется и содержание ХЦК-8 в плазме крови существенно увеличивается [6].

Результаты исследования физиологической роли ХЦК в качестве регулятора секреции гастрина показывают, что постпрандиальная секреция гастрина зависит от ХЦК-8, что поддерживает концепцию отрицательной обратной связи секреции гастрина [5].

Показано, что ХЦК-8, вырабатываемый при пищевой стимуляции, оказывает ингибирующее действие на секрецию желудочной кислоты и что этот эффект опосредуется соматостатином [8].

ХЦК-8 может играть решающую роль в торможении стимуляции секреции желудочной кислоты и осуществляет контроль уровня соляной кислоты желудка, гастрина плазмы крови и секреции соматостатина [8].

Было обнаружено, что ХЦК ингибирует секрецию кислоты активацией рецепторов ХЦК типа А и механизмом, включающим соматостатин [3].

Секреция желудочного соматостатина-14 увеличивалась в 5 раз под действием ХЦК-8, но угнеталась блокатором рецепторов ХЦК-А локсиглумидом. Эти данные показывают, что ХЦК-8 ингибирует кислотные реакции, стимулируя высвобождение соматостатина в желудке опосредованно через рецептор ХЦК-А [3].

Таким образом, можно полагать, что, поскольку в норме большая доля ХЦК-8 утилизируется печенью, при хроническом гепатите В его катаболизм нарушается и повышается концентрация в крови. Это приводит, с одной стороны, к стимуляции секреторной активности поджелудочной железы и развитию панкреатита, с другой — к угнетению секреции в желудке и развитию атрофического гастрита.

Выводы

У больных хронической HBV-инфекцией установлено повышенное содержание амилазы и липазы в крови, что может указывать на увеличение функциональной активности поджелудочной железы и развитие скрытой формы панкреатита. Одновременно снижение концентрации сывороточного PG1 до значений менее 40 мкг/л может свидетельствовать о заметном уменьшении секреции соляной кислоты и развитии атрофического гастрита. Мы предполагаем, что основным фактором, способствующим развитию указанных нарушений, является ХЦК-8, утилизация которого уменьшается у больных хронической HBV-инфекцией.

Список литературы/References

1. Алейник В.А., Бабич С.М. Изменение панкреатической секреции при введении различных доз трипсина в периферическую и портальную вены // Журнал теоретической и клинической медицины (Ташкент). 2012. № 5. С. 9–12. [Aleynik V.A., Babich S.M. Change of pancreatic secretion in rats under influence of intra-portal introduction of CCK-8. *Zhurnal teoreticheskoy i klinicheskoy meditsiny (Tashkent) = Theoretical and Clinical Medicine Journal (Tashkent)*, 2012, no. 5, pp. 9–12. (In Russ.)] doi: 10.24411/2181-0443/2020-10019
2. Гастроэнтерология. Национальное руководство. Под ред. В.Т. Ивашкина, Т.Л. Лапиной. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. 416 с. [Gastroenterology. National guidance. Eds. Ivashkin V.T., Lapina T.L. Moscow: GEOTAR-Media, 2018. 416 p. (In Russ.)]
3. Adriaenssens A., Lam B.Y.H., Billing L., Skeffington K., Sewing S., Reimann F., Gribble F. A transcriptome-led exploration of molecular mechanisms regulating somatostatin-producing D-cells in the gastric epithelium. *Endocrinology*, 2015, vol. 156, no. 11, pp. 3924–3936. doi: 10.1210/en.2015-1301
4. Akere A., O'Akande K. Upper gastrointestinal endoscopy in patients with cirrhosis: spectrum and prevalence of lesions. *Ann. Trop. Med. Public Health*, 2016, vol. 9, no. 2: 112. doi: 10.4103/1755-6783.177379

5. Gomez G., Greeley G.H. Jr., Thompson J.C., Uchida T. Bile salts in cholecystokin feedback. *Gastrointestinal endocrinology: receptors and post-receptor mechanisms. USA: Academic Press Inc., 2012. pp. 307–321.*
6. Huynh D., Nguyen N.Q. Gastrointestinal dysfunction in chronic liver disease. *Dig. Syst., 2015, vol. 5: 257. doi:10.4172/2161-069X.1000257*
7. Katakura Y., Yotsuyanagi H., Hashizume K., Okuse C., Okuse N., Nishikawa K., Suzuki M., Iino S., Itoh F. Pancreatic involvement in chronic viral hepatitis. *World J. Gastroenterol., 2005, vol. 11, no. 23, pp. 3508–3513. doi: 10.3748/wjg.v11.i23.3508*
8. Katsusuke S., Takeuchi T., Watanabe S., Nishiwaki H. Postprandial plasma cholecystokinin response in patients after gastrectomy and pancreatoduodenectomy. *Am. J. Gastroenterol., 2008, vol. 81, pp. 1038–1042.*
9. Kirchner G.I., Beil W., Bleck J.S., Manns M.P., Wagner S. Prevalence of *Helicobacter pylori* and occurrence of gastroduodenal lesions in patients with liver cirrhosis. *Int. J. Clin. Exp. Med., 2011, vol. 4, no. 1, pp. 26–31.*
10. Leja M., Lapina S., Polaka I., Rudzite D., Vilkoite I., Daugule I., Belkovets A., Pimanov S., Makarenko J., Tolmanis I., Lejniaks A., Boka V., Rumba-Rozenfelde I., Vikmanis U. Pepsinogen testing for evaluation of the success of *Helicobacter pylori* eradication at 4 weeks after completion of therapy. *Medicina (Kaunas), 2014, vol. 50, no. 1, pp. 8–13. doi: 10.1016/j.medic.2014.05.001*
11. Mazaki-Tovi M., Segev G., Yas-Natan E., Lavy E. Serum gastrin concentrations in dogs with liver disorders. *Vet. Rec., 2012, vol. 171, no. 1, pp. 19. doi: 10.1136/vr.100627*
12. Miller L.J. Gastrointestinal hormones and receptors. In: Yamada's Textbook of Gastroenterology. USA: Wiley-Blackwell, pp. 198–226.
13. Oleynik V.M., Zhuraeva M.A., Babich S.M. Peculiarities of secretion of digestive peptidases of the stomach and pancreas in chronic viral hepatitis C. *Eur. Sci. Rev., vol. 2, no. 1–2, pp. 100–103.*
14. Pezzilli R., Morselli-Labate A.M., Casadei R., Campana D., Rega D., Santini D. Chronic asymptomatic pancreatic hyperenzymemia is a benign condition in only half of the cases: a prospective study. *Scand. J. Gastroenterol., 2009, vol. 44, no. 7, pp. 888–893. doi: 10.1080/00365520902839683*
15. Zhuraeva M.A., Aleynik V.M., Ashuraliyeva M.A. Liver as a factor of change of gastrin mechanisms of regulation of digestive glands of the stomach. *Am. J. Med. Sci., 2020, vol. 10, no. 3, pp. 141–146.*

Авторы:

Жураева М.А., к.м.н., доцент, доцент кафедры врачей общей практики — 1, Андиганский государственный медицинский институт, г. Андиган, Узбекистан;
Алейник В.А., д.м.н., профессор, профессор кафедры нормальной физиологии Андиганского государственного медицинского института, г. Андиган, Узбекистан;
Ашуралиева Н.Д., соискатель кафедры врачей общей практики — 1, ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней Андиганского государственного медицинского института, г. Андиган, Узбекистан;
Халикова Д.С., соискатель кафедры врачей общей практики — 1, ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней Андиганского государственного медицинского института, г. Андиган, Узбекистан;
Равзатов Ж.Б., соискатель кафедры врачей общей практики — 1, ассистент кафедры патологической физиологии Андиганского государственного медицинского института, г. Андиган, Узбекистан;
Абдулазизхожиев Б.Р., соискатель кафедры врачей общей практики — 1, ассистент кафедры госпитальной терапии Андиганского государственного медицинского института, г. Андиган, Узбекистан.

Authors:

Zhuraeva M.A., PhD (Medicine), Associate Professor, 1st Department of General Practitioners, Andijan State Medical Institute, Andijan, Uzbekistan;
Aleynik V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Professor of the Department of Normal Physiology, Andijan State Medical Institute, Andijan, Uzbekistan;
Ashuralieva N.D., Degree Applicant of the 1st Department of General Practitioners, Assistant Professor of Propaedeutics of Internal Diseases Department, Andijan State Medical Institute, Andijan, Uzbekistan;
Halikova D.S., Degree Applicant of the 1st Department of General Practitioners, Assistant Professor of Propaedeutics of Internal Diseases Department, Andijan State Medical Institute, Andijan, Uzbekistan;
Ravzatov J.B., Degree Applicant of the 1st Department of General Practitioners, Assistant Professor of Pathophysiology Department, Andijan State Medical Institute, Andijan, Uzbekistan;
Abdulazizkhodzhyev B.K., Degree Applicant of the 1st Department of General Practitioners, Assistant Professor of the Hospital Therapy Department, Andijan State Medical Institute, Andijan, Uzbekistan.

PROFILE OF SEVERAL AUTOANTIBODIES, COMPLEMENT AND VITAMIN D LEVELS IN BRAZILIAN PATIENTS WITH CHIKUNGUNYA INFECTION

J.F. Carvalho^a, L.R. Cordeiro^a, F.F. Silva^b, L. Mota^c, C. Rodrigues^d, C.F. Andrade^{e,f},
C. Caldas^g

^a Federal University of Bahia, Salvador, Brazil

^b University of São Paulo, São Paulo, Brazil

^c University of Brasília, Brasília, Brazil

^d University of Fortaleza, Fortaleza, Brazil

^e National School of Public Health Sérgio Arouca, Rio de Janeiro, Brazil

^f Vassouras University, Rio de Janeiro, Brazil

^g Federal University of Pará, Belém, Brazil

Abstract. *Introduction.* Chikungunya virus infection (CKV) may lead to chronic arthritis in up to 40% of the patients. There are previous data regarding positive autoantibodies in CKV. Objective is to systematically evaluate the prevalence of autoantibodies in CKV patients. *Methods.* All study participants had clinical manifestations being CKV positive at least serologically or by RT-PCR data. The following autoantibodies were assessed: antinuclear antibodies (ANA), anti-dsDNA, anti-Sm, anti-Ro/SS-A, anti-La/SS-B, anti-U1RNP, IgG and IgM anticardiolipin, anticyclic citrullinated peptide (anti-CCP), rheumatoid factor (RF), antiribosomal P protein, lupus anticoagulant, anti-Jo-1 and anti-Scl-70. CH100, C3 and C4 complement components, serum levels of immunoglobulins, C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate, alpha1-acid glycoprotein, antithyroglobulin, antithyroperoxidase, TRAb, 25 hydroxyvitamin D (25OHD), dengue and zika IgG and IgM antibodies were also measured. *Results.* 30 CKV patients were included. Mean age was 59.1±15.7 years, 85% females and 77% Caucasian subjects. Disease duration comprised 4.9±4.0 months. Oligoarthritis was observed in 93% cases. Mean C-reactive protein levels were 10.1±6.8 ng/dL, erythrocyte sedimentation rate — 34.2±19.9 mm/1st hour and alpha1-acid glycoprotein 115.5±52.6 mg/dL. Intramuscular betamethasone depot single dose injection was administered in 54%, prednisone — in 15% and methotrexate — in 23% cases. Importantly, 1/30 (3.3%) cases was positive for ANA, 4/30 (13.3%) — for RF and none was positive for anti-CCP or any other autoantibodies. Complement and immunoglobulin levels were all within the normal range. Low levels of 25OHD were observed in 88% cases.

Key words: Chikungunya, autoantibodies, autoimmunity, arboviruses, rheumatoid arthritis.

Адрес для переписки:

Джозелио Фрейре Карвальо
Бразилия, г. Салвадор, Федеральный университет Баии.
E-mail: jotafc@gmail.com

Contacts:

Jozélio Freire Carvalho
Brazil, Salvador, Federal University of Bahia.
E-mail: jotafc@gmail.com

Для цитирования:

Карвальо Дж.Ф., Кордейро Л.Р., Силва Ф.Ф., Мота Л., Родригес К.,
Андрате К.Ф., Кальдас С. Профиль уровней некоторых аутоантител,
комплемента и витамина D у больных с инфекцией Чикунгунья
в Бразилии // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 979–983.
doi: 10.15789/2220-7619-POS-1614

Citation:

Carvalho J.F., Cordeiro L.R., Silva F.F., Mota L., Rodrigues C., Andrade C.F.,
Caldas C. Profile of several autoantibodies, complement and vitamin D
levels in Brazilian patients with Chikungunya infection // Russian Journal
of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 5,
pp. 979–983. doi: 10.15789/2220-7619-POS-1614

ПРОФИЛЬ УРОВНЕЙ НЕКОТОРЫХ АУТОАНТИТЕЛ, КОМПЛЕМЕНТА И ВИТАМИНА D У БОЛЬНЫХ С ИНФЕКЦИЕЙ ЧИКУНГУНЯ В БРАЗИЛИИ

Карвальо Дж.Ф.¹, Кордейро Л.Р.¹, Силва Ф.Ф.², Мота Л.³, Родригес К.⁴, Андраде К.Ф.^{5,6}, Кальдас С.⁷

¹ Федеральный университет Байи, г. Салвадор, Бразилия

² Университет Сан-Паулу, г. Сан-Паулу, Бразилия

³ Университет г. Бразилиа, г. Бразилиа, Бразилия

⁴ Университет Форталеза, г. Форталеза, Бразилия

⁵ Национальная школа здравоохранения Сержиу Ароука, г. Рио-де-Жанейро, Бразилия

⁶ Университет Васорас, г. Рио-де-Жанейро, Бразилия

⁷ Федеральный университет штата Пара, г. Белен, Бразилия

Резюме. *Введение.* Инфекция вирусом чикунгуња (СКV) может приводить к хроническому артриту у 40% пациентов. Существуют ранее полученные данные об обнаружении аутоантител при СКV-инфекции. Цель — оценка наличия аутоантител у пациентов с СКV. *Методы.* У всех участников исследования были отмечены клинические проявления СКV-инфекции, получены положительные результаты, по крайней мере, серологического анализа или ОТ-ПЦР на СКV и выявлены следующие аутоантитела: антинуклеарные (ANA), анти-dsDNA, анти-Sm, анти-Ro/SS-A, анти-La/SS-B, анти-U1RNP, антикардиолипин IgG и IgM, антициклический цитруллинированный пептид (анти-CCP), ревматоидный фактор (RF), антитела к антирибосомному белку Р, волчаночный антикоагулянт, анти-Jo-1 и анти-Scl-70. Также исследовались уровень компонентов комплемента С3 и С4, общая активность комплемента (СН100), сывороточные уровни иммуноглобулинов, С-реактивный белок, скорость оседания эритроцитов, альфа-кислотный гликопротеин, антитиреоглобулин, антитиреопероксидаза, TRAb, 25-гидроксивитамин D (25ОНD), антитела IgG и IgM к вирусам денге и Зика. *Результаты.* В исследование было включено 30 пациентов с СКV. Средний возраст составлял 59,1±15,7 лет, 85% составляли женщины, 77% — представители европеоидной расы. Давность заболевания составила 4,9±4,0 мес. Олигоартрит отмечен у 93% обследованных. Средние уровни С-реактивного белка составляли 10,1±6,8 нг/дл, СОЭ — 34,2±19,9 мм/ч и альфа-1-кислотный гликопротеин — 115,5±52,6 мг/дл. Внутримышечная инъекция депо бетаметазона в разовой дозе применялась в 54% случаев, преднизон — в 15% и метотрексат — в 23%. Важно отметить, что 1 проба из 30 (3,3%) была положительной на ANA, 4 из 30 (13,3%) — на RF, и ни одна не была положительной на анти-CCP или любые другие аутоантитела. Уровни комплемента и иммуноглобулина были в пределах нормы. Низкие уровни 25ОНD наблюдались в 88% случаев. *Заключение.* Хотя мы наблюдали высокий процент суставных проявлений у пациентов с СКV, настоящее исследование обнаружило низкую частоту аутоантител у пациентов с СКV.

Ключевые слова: Чикунгуња, аутоантитела, аутоиммунитет, арбовирус, ревматоидный артрит.

Introduction

The Chikungunya virus (CKV), a member of the *Togaviridae* family, *Alphavirus* genus, was first isolated from humans in 1952, in the coastal area of Muawiya, Makondo and Rondo, currently known as Tanzania. Brazil had a large outbreak of CKV between September 2014 and 2017. Until the 37th epidemiological week, 236,287 probable cases of CKV were evaluated and 116,523 were serologically confirmed [4]. In the literature, from 14.4% to 87.2% of these cases may evolve to chronic joint involvement [9].

Previous data have found some percentage of autoantibodies in CKV. In this research line, antinuclear antibodies (ANA), rheumatoid factor, and anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) were previously studied in CKV scenario [2].

Our group has recently described the characteristics of 63 CKV patients from Brazilian Amazon, which the main arthritis pattern identified was oligoarticular, with a predominance of ankles and knees, and also with a chronicity rate of 48%, however no autoantibody was studied. Until now, we do not have any knowledge of studies in which several autoantibodies profile in CKV were systematically analysed [11].

Therefore, this study aims to systematically investigate the profile of several autoantibodies in patients with confirmed CKV infection.

Methods

All study participants had clinical manifestations (fever, rash and arthritis) and positivity for at least serology (IgG and/or IgM) or RT-PCR fulfilling the diagnosis of CKV infection [14]. Anti-Chikungunya IgG and IgM antibodies were detected using a single-serum monoclonal antibody-capture enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique. This research is characterized as a descriptive cross-sectional study that was conducted at a private clinic in Salvador, Bahia State, Brazil. All patients had negative IgM serology for dengue since this arbovirus is an important differential diagnosis.

All patients agreed to participate and were requested to sign an informed consent of participation.

Laboratory evaluation. All tests were collected before treatment. Antinuclear antibodies were detected by indirect immunofluorescence (IIF) using HEp-2 cells as substrate. Anti-dsDNA antibodies were also detected by IIF using *Crithidia luciliae*. The presence of IgG and IgM anticardiolipin antibodies (aCL) was

analyzed by padronized ELISA, and positive values were considered above 10GPL and 10MPL, respectively. The following antibodies anti-Ro/SS-A, anti-La/SS-B, anti-U1RNP and anti-Sm were performed using ELISA and immunodiffusion; anti-CCP by chemiluminescence with microparticles; RF by nephelometry and normal values were considered below 14IU/mL; antiribosomal P by ELISA; lupus anticoagulant by functional assays (activated partial thromboplastin time and diluted Russell viper venom time); anti-Jo-1 and anti-Scl-70 by ELISA and double immunodiffusion; and antithyroglobulin, antithyroperoxidase and TRAb by competitive immunoassay and electrochemiluminescence. Total hemolytic complement activity (CH100) was measured by immunohemolysis assay (normal range 150–350 units/ml). Serum levels of C3 and C4 complement components were determined by immunodiffusion test (Dade Behring Marburg, Marburg, Germany). C3 normal range is 84–167 mg%, and C4 normal range is 16–31 mg%. The erythrocyte sedimentation rate was measured by Westergren method and C-reactive protein by nephelometry. 25OHD was measured by chemiluminescence. Low levels of this vitamin were considered when lower than 20 ng/mL. Serum levels of IgG, IgA and IgM immunoglobulins were measured by nephelometry and IgE by immunofluorimetry.

Chikungunya detection Anti-Chikungunya Virus ELISA (IgG and IgM) (Euroimmun, Germany) was used to detect antibodies to CKV.

Viral RNA was extracted using a QIAmp Viral Mini Kit (Qiagen, Inc., USA), following the manufacturer's instructions and amplified by reverse transcription polymerase chain reaction (PCR) using primers for CHIKV according to previously described protocols. In summary, the RT-PCR assay for detection of CHIKV was realized using the GoTaq® Probe1-Step RT-qPCR System (Promega) following recommendations of the manufacturer. The reaction was carried out using an ABI 7500 Real Time PCR system. The processing of all samples included negative and positive controls as well as internal controls (Ribonuclease P, RNase P) to ensure reliability of the reaction.

Statistical analysis. Results were expressed as mean ± standard deviations (SD), median (range) or frequency as percentage. Windows Excel was the used program.

Results

The main data is summarized in the Table. Mean age of all 30 CKV patients was 59.1±15.7 years, 85% were female and 77% were caucasian while 33% were black or mulatto. The disease duration was 4.9±4.0 months. Comorbidities were reported in 50% of patients and were: osteoarthritis in 50%, systemic hypertension in 25%, obesity in 25% and diabetes in 13%. Nine out 26 (35%) had previously used non-steroidal anti-inflammatory drugs. Oligoarthritis was observed in most of the cases (93%) and polyarthritis in 7%. Ankles followed by the knees were the most common involved joints.

Serology (IgG and or IgM) for CKV was positive in 25 (83.32%) and one patient had positive RT-PCR for CKV at inclusion. Median levels of antibodies to CKV were IgG CKV 15.0 (0–198) and IgM CKV 5.42 (0.293–34.8). All patients were negative for IgM dengue antibodies, but 19% had positive IgG. IgG Zika positivity was detected in 1/30 patient. Ultrasensitive C-reactive protein levels were 10.1±6.8 ng/dL and erythrocyte sedimentation rate 34.2±29.9 mm/1st hour.

Intramuscular betamethasone depot injection in a single dose was administered in 54%, oral prednisone initiated in 15% and methotrexate in 23% of the cases. Importantly, 1/30 (3.3%) was positive for ANA, 4/30 (13.3%) for RF and none was positive for anti-CCP or any other autoantibodies (anti-dsDNA, anti-Ro/SS-A, anti-La/SS-B, anti-RNP, anti-Sm, antiribosomal P, anti-CCP, lupus anticoagulant, IgG and IgM anticardiolipin, anti-Jo-1, anti-Scl-70 and antithyroid antibodies). Titles of RF were very low and were: 17.61, 16.88, 16.30 and 15.7IU/mL. Complement and immunoglobulin levels were all within the normal range. Low levels of 25OHD was observed in 88% of the cases.

Discussion

To our knowledge, this is the first study to systematically evaluate the prevalence of several autoantibodies in patients with CKV infection using highly specific methods. The pathogenesis of arthropathy following

Table. Demographic, clinical and treatment features of the 30 patients with Chikungunya arthritis

| Features | CKV patients (n = 30) |
|---------------------------------|-----------------------|
| Age, years | 59.1±15.7 |
| Caucasian race | 77% |
| Female gender | 88% |
| Disease duration, months | 4.9±4.0 |
| Diabetes mellitus | 13% |
| Systemic arterial hypertension | 25% |
| Obesity | 25% |
| Osteoarthritis | 50% |
| Oligoarthritis | 93% |
| Polyarthritis | 7% |
| C-Reactive protein, mg/dL | 10.1±6.8 |
| ESR*, mm/1 st hour | 34.2±29.9 |
| IgG CKV* median levels (range) | 15.0 (0–198) |
| IgM CKV* median levels (range) | 5.42 (0.293–34.8) |
| Oral prednisone | 15% |
| Intramuscular betamethasone use | 54% |
| Methotrexate use | 23% |
| 25OHD* low levels | 88% |
| ANA* | 3.3% |
| Rheumatoid factor | 13% |

Note. Values are expressed in mean ± SD or percentage (%). ANA: antinuclear antibodies; CKV: Chikungunya infection; ESR: erythrocyte sedimentation rate; 25OHD: 25-hydroxyvitamin D.

infection with CKV is not completely clear; however, based on studies conducted with other arthritogenic viruses, arthritis possibly occurs due to the virus' ability to replicate and mediate the production of tissue damage in joints, which in turn depends on the host immune response [12].

In previous studies, some patients met the international classification criteria for rheumatoid arthritis and spondyloarthritis in the chronic phase of the disease [7]. In addition, there are reports of exacerbation of cutaneous psoriasis and of onset of psoriasis after CKV [6]. In a study that compared untreated rheumatoid arthritis and CKV patients using cytometric analysis of blood mononuclear cells, the authors found higher percentages of activated and effector CD4 β and CD8 β T lymphocytes in CKV and also in rheumatoid arthritis than in healthy controls. In conclusion, CKV and RA patients have similarities regarding clinical features and lymphocyte activation [10].

Furthermore, another article which described 21 new cases of RA following CKV infection and observed autoantibodies. Interesting that after 21 months, 81% had erosions and importantly rheumatoid factor were positive in 57% and anti-CCP in 28% of these cases [2]. Autoimmunity in CKV was reviewed by Tanay in 2017 [13].

A large cross-sectional study was conducted in Colombia with 907 patients with clinically confirmed ($n = 424$) or laboratory-confirmed ($n = 483$) chikungunya virus infection. Of these patients, 65 were randomly selected for eligibility screening, of whom 38 were eligible for study participation in the chronic arthritis group. Synovial fluid analysis revealed no detectable chikungunya virus. Thus, we can assume that the virus can cause arthritis by an autoantibody induction mechanism in infected patients [3].

Recently, Cavalcanti et al. have described increased serum levels of galactin-9 in patients with Chikungunya fever [5]. Galectins are a family of animal lectins with an affinity for beta-galactosides, that have multiple functions including working as receptors in innate immunity and as a control for inflammatory responses in both innate and adaptive immunity. Galactins regulate functions of immune cells, such as lymphocytes and macrophages, which have a main role in the chikungunya inflammatory process. These authors suggested galactin-9 may play a role in the immunopathogenesis of the inflammatory process in chikungunya fever, as morning stiffness may reflect the systemic inflammatory process.

Regarding the antibodies profile in CKV patients, previous studies have evaluated a few numbers of autoantibodies, almost exclusively RF, ANA and anti-CCP. In this line, most of these studies does not describe the laboratory methodology used to detect the autoantibodies. In just a few the methodology was stated using more modern techniques such ELISA for anti-CCP and nephelometry for RF [2, 8]. No autoantibodies were found in the Blettery study, including 147 patients [4]. In Bouquillard et al. study, with

21 patients, the authors found a high positivity for RF of 57.1%, anti-CCP 28.6% and 9.5% for ANA [2].

Antinuclear antibodies were evaluated in 2 studies involving CKV patients being found a positivity from 0 to 30%, on the other hand, the frequency of rheumatoid factor and anti-CCP ranged from 0 to 57.1% and 0 to 56.5% in 8 studies, respectively. Therefore, the real frequency of positivity for autoantibodies was currently unknown. Giving the past studies on the theme, our study differential includes systematic evaluation of several autoantibodies' profile in CKV patients with arthropathy referred to rheumatology service, using highly specific methods for antibodies detection.

We have found a prevalence of 11.5% of rheumatoid factor in our CKV population what is higher than the described in the literature (about 1–2%) on health people. In clinical practice, this fact can make the differentiation between CKV arthropathy and rheumatoid arthritis triggered by virus infection even harder. On the other hand, the presence of anti-CCP should strengthen the suspicion of RA, as well as the presence of bone erosions, as shown in other studies [9]. The main strength of this study relies on its originality about the wide variety of autoantibodies studied in these patients. The use of standardized and recommended techniques in the guidelines for the measurement of autoantibodies is another original point. Moreover in the presence of varied rheumatic manifestations that may happen in the chronic phase of CKV, the positivity of the specific autoantibodies evaluated in this study could help to investigate differential diagnosis, since low positivity found in our population, is an auxiliary element in decision making when added to clinical evaluation. The limitations of this study also need to be addressed. First, the number of patients included was relatively small; second, we did not standardize a specific time after the onset of CKV infection to include patients. Maybe if we performed the autoantibody evaluation in a long-term CKV infection, the positivity for autoantibodies could increase.

Conclusion

This study suggests that the presence of autoantibodies in patients with Chikungunya in about 4 months of infection onset is low. Mainly represented by ANA and RF positivity when standard techniques with good specificity are performed. However, future studies including many participants are needed to confirm the present data.

Highlights

- Chikungunya virus infection may induce autoimmunity;
- We observed a low frequency of autoantibodies in this study with 13.3% of rheumatoid factor and 3.3% of antinuclear antibodies.

No patient had positivity for anti-CCP or evolved with a fullblown autoimmune rheumatic disease.

References

- Blettery M., Brunier L., Polomat K., Moinet F., Deligny C., Arfi S., Jean-Baptiste G., De Bandt M. Brief report: management of chronic post-Chikungunya rheumatic disease: the martinican experience. *Arthritis Rheumatol.*, 2016, vol. 68, no. 11, pp. 2817–2824. doi: 10.1002/art.39775
- Bouquillard E., Combe B. A report of 21 cases of rheumatoid arthritis following Chikungunya fever. A mean follow-up of two years. *Joint Bone Spine*, 2009, vol. 76, no. 6, pp. 654–657. doi: 10.1016/j.jbspin.2009.08.005
- Chang A.Y., Martins K.A.O., Encinales L., Reid S.P., Acuña M., Encinales C., Matranga C.B., Pacheco N., Cure C., Shukla B., Ruiz Arteta T., Amdur R., Cazares L.H., Gregory M., Ward M.D., Porras A., Rico Mendoza A., Dong L., Kenny T., Brueggemann E., Downey L.G., Kamalopathy P., Lichtenberger P., Falls O., Simon G.L., Bethony J.M., Firestein G.S. Chikungunya arthritis mechanisms in the Americas: a cross-sectional analysis of Chikungunya arthritis patients twenty-two months after infection demonstrating no detectable viral persistence in synovial fluid. *Arthritis Rheumatol.*, 2018, vol. 70, no. 4, pp. 585–593. doi: 10.1002/art.40383
- Faria N.R., Lourenco J., Cerqueira E.M., Lima M.M., Pybus O., Alcantara L.C.J. Epidemiology of Chikungunya virus in Bahia, Brazil, 2014–2015. *PLoS Curr.*, 2016, vol. 8: ecurrents.outbreaks.c97507e3e48efb946401755d468c28b2. doi: 10.1371/currents.outbreaks.c97507e3e48efb946401755d468c28b2
- Gualberto Cavalcanti N., Melo Vilar K., Branco Pinto Duarte A.L., Barreto de Melo Rêgo M.J., Pereira M.C., da Rocha Pitta I., Diniz Lopes Marques C., Galdino da Rocha Pitta M. Increased serum levels of galectin-9 in patients with chikungunya fever. *Virus Res.*, 2020, vol. 286: 198062. doi: 10.1016/j.virusres.2020.198062
- Inamadar A.C., Palit A., Sampagavi V.V., Raghunath S., Deshmukh N.S. Cutaneous manifestations of chikungunya fever: observations made during a recent outbreak in south India. *Int. J. Dermatol.*, 2008, vol. 47, no. 2, pp. 154–159. doi: 10.1111/j.1365-4632.2008.03478.x
- Javelle E., Ribera A., Degasse I., Gaüzère B.A., Marimoutou C., Simon F. Specific management of post-chikungunya rheumatic disorders: a retrospective study of 159 cases in Reunion Island from 2006–2012. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2015, vol. 9, no. 3: e0003603. doi: 10.1371/journal.pntd.0003603
- Manimunda S.P., Vijayachari P., Uppoor R., Sugunan A.P., Singh S.S., Rai S.K., Sudeep A.B., Muruganandam N., Chaitanya I.K., Guruprasad D.R. Clinical progression of chikungunya fever during acute and chronic arthritic stages and the changes in joint morphology as revealed by imaging. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2010, vol. 104, no. 6, pp. 392–399.
- Marques C.D.L., Duarte A.L.B.P., Ranzolin A., Dantas A.T., Cavalcanti N.G., Gonçalves R.S.G., Rocha Junior L.F.D., Valadares L.D.A., Melo A.K.G., Freire E.A.M., Teixeira R., Bezerra Neto F.A., Medeiros M.M.D.C., Carvalho J.F., Santos M.S.F., Océa R.A.L.C., Levy R.A., Andrade C.A.F., Pinheiro G.D.R.C., Abreu M.M., Verztman J.F., Merenlender S., Ribeiro S.L.E., Costa I.P.D., Pileggi G., Trevisani V.F.M., Lopes M.I.B., Brito C., Figueiredo E., Queiroga F., Feitosa T., Tenório A.D.S., Siqueira G.R., Paiva R., Vasconcelos J.T.S., Christopoulos G. Recommendations of the Brazilian Society of Rheumatology for diagnosis and treatment of Chikungunya fever. Part 1 — Diagnosis and special situations. *Rev. Bras. Reumatol.*, 2017, vol. 57, pp. 421–437. doi: 10.1016/j.rbre.2017.05.006
- Miner J.J., Yeang H.X.A., Fox J.M., Taffner S., Malkova O.N., Oh S.T., Kim A.H.J., Diamond M.S., Lenschow D.J., Yokoyama W.M. Brief report: chikungunya viral arthritis in the United States: a mimic of seronegative rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol.*, 2015, vol. 67, no. 5, pp. 1214–1220. doi: 10.1002/art.39027
- Pereira A.B.C., Albuquerque L.C.F., Souza R.C.M., Carvalho J.F., Caldas C.A.M. Musculoskeletal manifestations observed in patients diagnosed with Chikungunya virus in 2 municipalities of the Brazilian Amazon Region. *J. Clin. Rheumatol.*, 2020, vol. 26, no. 7S, suppl. 2, pp. S195–S198. doi: 10.1097/RHU.0000000000001366
- Rulli N.E., Melton J., Wilmes A., Ewart G., Mahalingam S. The molecular and cellular aspects of arthritis due to alphavirus infections: lesson learned from Ross River virus. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2007, vol. 1102, pp. 96–108. doi: 10.1196/annals.1408.007
- Tanay A. Chikungunya virus and autoimmunity. *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2017, vol. 29, no. 4, pp. 389–393. doi: 10.1097/BOR.0000000000000396
- Wahid B., Ali A., Rafique S., Idrees M. Global expansion of chikungunya virus: mapping the 64-year history. *Int. J. Infect. Dis.*, 2017, vol. 58, pp. 69–76. doi: 10.1016/j.ijid.2017.03.006

Авторы:

Карвальо Дж. Ф., д.н., кафедра здравоохранения Федерального университета Баии, г. Салвадор, Бразилия;

Кордейро Л. Р., аспирант Школы медицины и здравоохранения Баии Федерального университета Баии, г. Салвадор, Бразилия;

Силва Ф. Ф., докторант академической клиники факультета медицины Университета Сан-Паулу, г. Сан-Паулу, Бразилия;

Мота Л., д.н., ассистент службы ревматологии университетской больницы г. Бразилиа Университета г. Бразилиа, г. Бразилиа, Бразилия;

Родригес К., д.н., доцент, Университет Форталеза, г. Форталеза, Бразилия;

Андрате С. Ф., д.н., доцент кафедры эпидемиологии и количественных методов в здравоохранении Национальной школы здравоохранения Сержиу Ароука, г. Рио-де-Жанейро, Бразилия; факультет медицины, Университет Васорас, г. Рио-де-Жанейро, Бразилия;

Кальдас С., д.н., доцент факультета медицины Центра тропической медицины Федерального университета штата Пара, г. Белен, Бразилия.

Authors:

Carvalho J.F., MD, PhD, Institute for Health Sciences, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil;

Cordeiro L.R., Graduate Student, Bahian School of Medicine and Public Health, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil;

Silva F.F., MD, Doctoral Student, Clinics Hospital of Faculty of Medicine, University of São Paulo, São Paulo, Brazil;

Mota L., MD, PhD, Assistant Professor, Rheumatology Service, University Hospital of Brasília, University of Brasília, Brasília, Brazil;

Rodrigues C., MD, PhD, Assistant Professor, University of Fortaleza, Fortaleza, Brazil;

Andrade C.F., MD, DSc, Assistant Professor, Department of Epidemiology and Quantitative Methods in Health, National School of Public Health Sérgio Arouca, Rio de Janeiro, Brazil; Faculty of Medicine, Vassouras University, Rio de Janeiro, Brazil;

Caldas C., MD, PhD, Assistant Professor, Faculty of Medicine, Tropical Medicine Center, Federal University of Pará, Belém, Brazil.

Поступила в редакцию 15.10.2020

Отправлена на доработку 15.03.2021

Принята к печати 15.03.2021

Received 15.10.2020

Revision received 15.03.2021

Accepted 15.03.2021

PSEUDOMONAS AERUGINOSA SIGNIFICANTLY INCREASES EXPRESSION OF RECEPTOR FOR ADVANCED GLYCATION ENDPRODUCTS (RAGE) IN THE SEPTICEMIA SUFFERING PATIENTS

A. Kariminik, F. Hosseini, E. Nasiri

Islamic Azad University, Kerman Branch, Kerman, Iran

Abstract. Receptor for Advanced Glycation Endproducts (RAGE) is a cell surface receptor, which recognizes several endogenous and exogenous molecules and subsequently induces expression of several molecules including chemokines. Chemokines are members of the cytokine superfamily and participate in several immune system functions, including cell migration, inflammation, angiogenesis/angiostasis etc. CXC ligand 11 (CXCL11) is an important chemokine which participates in the induction of appropriate immune responses against microbes, including bacteria. The main mechanisms responsible to overcome septicemia are yet to be clarified. Thus, it has been hypothesized that RAGE may participate in induction of CXCL11 in response to the microbial agents. Due to the fact that immune responses play key roles in limitation of infection, it has been proposed that RAGE may inhibit spread of septicemia. Therefore, in this project mRNA levels of RAGE and CXCL11 were explored in the patients suffering from septicemia versus healthy controls. RAGE and CXCL11 expression levels in the 80 subjects, including 40 septicemia patients and 40 healthy controls were explored using Real-Time PCR technique. Accordingly, by using the specific primer against RAGE and CXCL11 in a Rotorgene vehicle the mRNA levels have been determined. The septicemia and the sources of the bacteria in the blood were diagnosed using microbial cultures. The results demonstrated that although mRNA levels for RAGE and CXCL11 did not change in the septicemia patients vs. healthy controls, mRNA levels of RAGE were significantly higher in the patients infected by *Pseudomonas aeruginosa* compared to those infected by other bacteria, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Acinetobacter baumannii*. RAGE and CXCL11 mRNA levels did not differ among male and female patients. Based on the results it seems that RAGE is a critical receptor against *P. aeruginosa* during septicemia and more investigations, especially on the RAGE down-stream molecules can clarify its main roles against *P. aeruginosa*.

Key words: septicemia, RAGE, CXCL11, gene expression.

PSEUDOMONAS AERUGINOSA СУЩЕСТВЕННО УСИЛИВАЕТ ЭКСПРЕССИЮ РЕЦЕПТОРА ДЛЯ КОНЕЧНЫХ ПРОДУКТОВ ГЛИКИРОВАНИЯ (RAGE) У ПАЦИЕНТОВ С СЕПТИЦЕМИЕЙ

Кариминик А., Носсеини Ф., Насири Э.

Исламский университет Азад, филиал в г. Керман, г. Керман, Иран

Резюме. Рецептор для конечных продуктов гликирования (RAGE) представляет собой поверхностную структуру, распознающую несколько эндогенных и экзогенных молекул и впоследствии индуцирующую экспрессию нескольких молекул, включая хемокины. Хемокины являются представителями суперсемейства цито-

Адрес для переписки:

Кариминик Ашраф
7635131167, Иран, г. Керман, б-р Имама Али,
Исламский университет Азад, филиал в г. Керман.
Тел.: +98 34 3321 0043.
E-mail: a.kariminik@iauk.ac.ir

Contacts:

Ashraf Kariminik
7635131167, Iran, Kerman, Emam Ali blvd,
Islamic Azad University, Kerman Branch.
Phone: +98 34 3321 0043.
E-mail: a.kariminik@iauk.ac.ir

Для цитирования:

Кариминик А., Носсеини Ф., Насири Э. *Pseudomonas aeruginosa* существенно усиливает экспрессию рецептора для конечных продуктов гликирования (RAGE) у пациентов с септицемией // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 984–988. doi: 10.15789/2220-7619-PAS-1253

Citation:

Kariminik A., Hosseini F., Nasiri E. *Pseudomonas aeruginosa* significantly increases expression of receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) in the septicemia suffering patients // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 984–988. doi: 10.15789/2220-7619-PAS-1253

кинов и участвуют в процессах миграции клеток, воспаления, в ангиогенезе/ангиостазе и т. д. CXС-лиганд 11 (CXCL11) является важным хемокином, участвующим в индукции антимикробного (в том числе антибактериального) ответа. Основные механизмы, ответственные за излечение от сепсиса, еще предстоит выяснить. Было высказано предположение, что RAGE может участвовать в индукции CXCL11 в ответ на микробные агенты. В связи с тем, что иммунный ответ играет ключевую роль в ограничении инфекции, было предположено, что RAGE может сдерживать септицемию. Поэтому в настоящем проекте были исследованы уровни мРНК RAGE и CXCL11 у пациентов, страдающих септицемией, и проведено их сравнение с аналогичными показателями здоровых людей контрольной группы. Уровни экспрессии RAGE и CXCL11 у 80 субъектов, включая 40 пациентов с сепсисом и 40 здоровых людей из контрольной группы, были исследованы с использованием метода ПЦР в реальном времени. В амплификаторе Rotorgene с использованием специфического праймера против RAGE и CXCL11 были определены уровни мРНК. Септицемию и источники бактерий в крови диагностировали с помощью культурального метода. Результаты показали, что, хотя уровни мРНК RAGE и CXCL11 не изменились у пациентов с сепсисом по сравнению со здоровыми людьми из контрольной группы, уровни мРНК RAGE были значительно выше у пациентов, инфицированных *Pseudomonas aeruginosa*, по сравнению с пациентами, инфицированными другими бактериями: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Acinetobacter baumannii*. Уровни мРНК RAGE и CXCL11 не различались у пациентов мужского и женского пола. На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что при сепсисе присутствие RAGE является критическим для диссеминации *P. aeruginosa* в организме, и дополнительные исследования, особенно в отношении молекул, получающих сигналы от RAGE, могут прояснить роль этих рецепторов при сепсисе, индуцированном *P. aeruginosa*.

Ключевые слова: септицемиа, RAGE, CXCL11, экспрессия гена.

Introduction

Extracellular immune receptors are the main pattern recognition receptors (PRRs) and significantly participate in recognition of pathogens. The molecules induce appropriate immune responses by activation of intracellular pathways and expression of immune related molecules such as chemokines [2, 9]. Receptor for Advanced Glycation Endproducts (RAGE) is a cell surface receptor which play key roles in activation of immune cells to activate by recognition of pathogen associated molecular patterns (PAMPs) and also damage associated molecular patterns (DAMPs) [5, 8]. The receptor induce expression of several immune related molecules, like chemokines via activation of corresponded transcription factors [11]. CXCL11, which is called also as Interferon-gamma-inducible protein 9 (IP-9), plays crucial roles in recruitment of T lymphocytes to the infected tissues and also activation of the immune cells against the bacteria [3, 4]. On the other hand, it has been documented that septicemia usually observed in the immunocompromised patients [7]. Therefore, it may be hypothesized that the patients suffering from septicemia may be defected in appropriate expression of innate immune receptors such as RAGE and its down-stream molecule, CXCL11. Our previous investigations revealed that melanoma differentiation-associated protein 5 (MDA5) and retinoic acid-inducible gene 1 (RIG-1), two important intracellular receptors, are up-regulated during septicemia [1]. Thus, we have hypothesized that MDA5 and RIG-1 are the important receptors, which participate in the recognition of bacteria during septicemia. However, there were no publications regarding the status of expression of RAGE and CXCL11 in the patients. Therefore, mRNA levels of RAGE and

CXCL11 were explored in the patients suffering from septicemia compared to healthy controls.

Additionally, this project was explore the mRNA levels of RAGE and CXCL11 among male and female patients and also among the patients infected with various bacteria. Additionally, due to the fact that we had explored the mRNA levels of MDA5 and RIG-1 in the patients, another aim of this project was to evaluate the correlation among the expression of MDA5, RIG-1, RAGE and CXCL11 in the infected patients.

Material and methods

Subjects. This cross-sectional study was carried out on the samples which have prepared in our previous investigations [1]. Accordingly, the sample size (40 patients and 40 controls), including and excluding criteria, place of the sampling (all hospitals of Kerman city, Kerman, Iran), blood culture, mRNA extraction and cDNA synthesizes have been described in details in our previous investigations [1]. The Ethical Committee of Islamic Azad University, Kerman Branch, approved the protocol of the current study. Accordingly, all participants filled out the informed consent form.

Real-time PCR were performed according to our previous study protocol [1], except the primer sequences which were for RAGE:

5'-ATCTTGATTAGCATCCAGG-3' (Forward),
5'-GACCCTGGAAGGAAGCAG-3' (Reverse),

and for CXCL11:

5'-ATCTGTGGTTACGGTGGAGA-3' (Forward),
5'-TGTTTGGGGAAAGAAGTGTG-3' (Reverse).

Data analysis and statistical methods. Due to the abnormality data distribution, Mann-Whitney U test, to analysis the differences between the septicemia

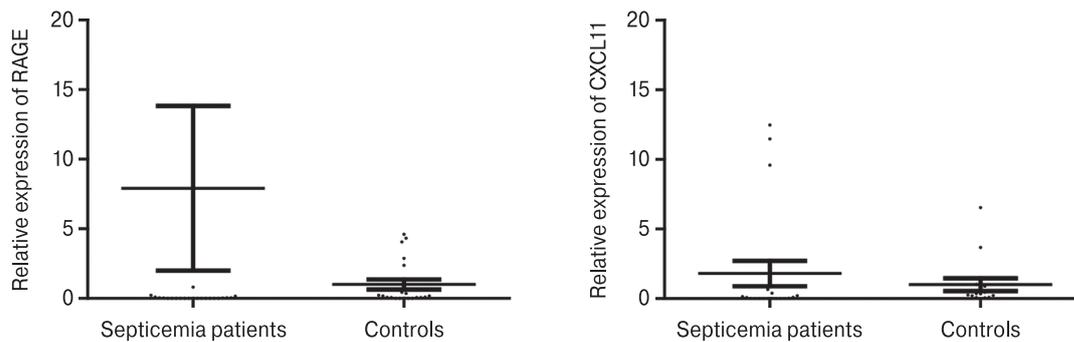


Figure 1. RAGE and CXCL11 expression levels in the septicemia patients and healthy controls

Note. Figure shows mRNA levels of RAGE and CXCL11 did not significantly differ in septicemia patients in comparison to healthy controls.

patients and healthy controls and male versus female cases) and Kruskal–Wallis test, to analysis the differences among the patients infected with various bacteria, under SPSS software version 18. P value was considered significant at < 0.05 .

Results

Identification of septicemia. Due to the fact that the samples which are used in this project were obtained in our previous investigations, the infected patients were as our previous study as follow: 7 *Escherichia coli*, 10 *Staphylococcus aureus*, 17 *Acinetobacter baumannii* and 6 *Pseudomonas aeruginosa* infected patients.

Expression levels of RAGE and CXCL11. Results demonstrated that RAGE mRNA levels in the peripheral blood immune cells (PBIC) of the septicemia patients were 0.0204 (0.0048–0.2180) and in the PBIC of healthy controls were 0.1362 (0.0254–1.8975). Statistical analysis demonstrated no significant difference ($p = 0.095$). CXCL11 mRNA levels in the septicemia patients were 0.0483 (0.0033–0.5981) and in healthy controls were 0.3489 (0.0935–0.8956). Statistical analysis demonstrated no significant difference ($p = 0.057$). Fig. 1 shows the expression levels of RAGE and CXCL11 in both septicemia patients and healthy controls.

Expression levels of RAGE ($p = 0.079$) and CXCL11 ($p = 0.208$) were also not significantly differ in the female when compared to male septicemia patients (Fig. 2).

Results shows that, although RAGE mRNA levels ($p = 0.020$) were significantly in the *P. aeruginosa* (23.5920 [1.0118–100.2772]) infected septicemia patients than the patients with *E. coli* (0.0204 [3.0005–0.4805]), *S. aureus* (0.0342 [0.0110–0.8573]), *A. baumannii* (0.0087 [0.0021–0.0302]) infection, the mRNA levels of CXCL11 were not changed among the groups ($p = 0.382$, Fig. 3).

The results also revealed that there were a positive moderate correlation between RAGE and MDA5 mRNA levels in the septicemia patients. However, there were no significant correlations between other variables in the septicemia patients (Table).

Discussion

The results demonstrated that patients were not expressed RAGE and CXCL11 in different manner when compared to the healthy controls. However, the results revealed that the patients who infected by *P. aeruginosa* had higher mRNA levels of RAGE than the patients who were infected by other bacteria. Therefore, it appears that, although RAGE cannot be considered as important receptor against septic-

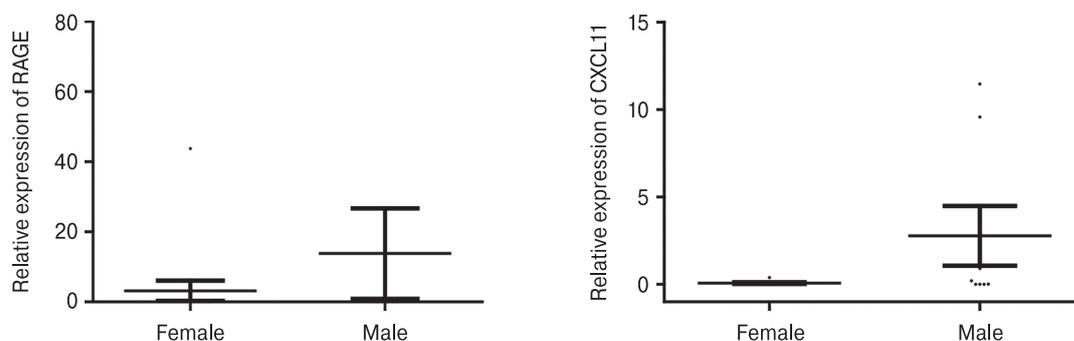


Figure 2. RAGE and CXCL11 expression levels in the female in comparison to male septicemia patients

Note. RAGE and CXCL11 mRNA levels did not significantly differ between the female and male septicemia patients.

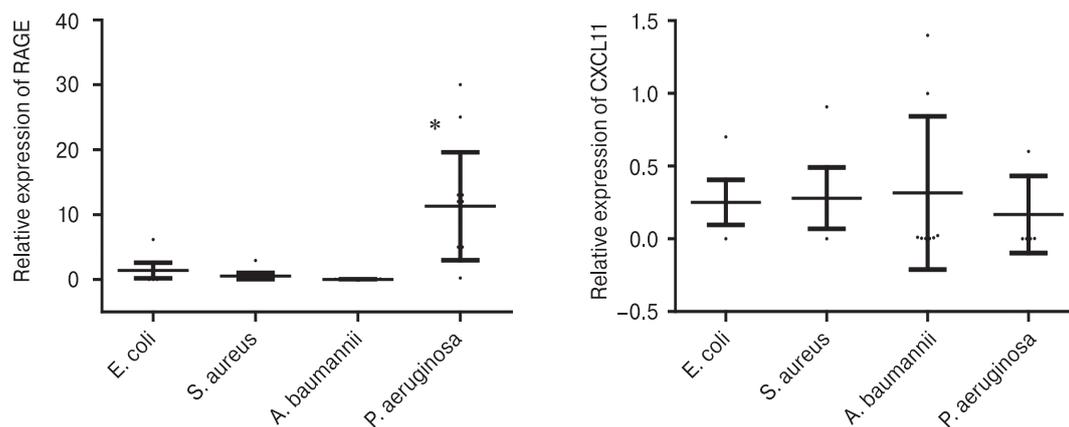


Figure 3. RAGE and CXCL11 expression levels in the septicemia patients

Note. RAGE, but not CXCL11, mRNA levels were significantly increased in *Pseudomonas aeruginosa* in comparison to *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter baumannii* infected patients. *P value: 0.02.

Table. Correlation between age and mRNA levels of RAGE, MDA5, RIG-1 and CXCL11 in the septicemia patients

| | | | RAGE | MDA5 | RIG1 | CXCL11 | Age |
|----------------|--------|-------------------------|--------|---------------|--------|--------|--------|
| Spearman's rho | RAGE | Correlation Coefficient | 1.000 | 0.402* | 0.052 | -0.006 | -0.046 |
| | | P value | | 0.042 | 0.809 | 0.983 | 0.818 |
| | MDA5 | Correlation Coefficient | 0.402* | 1.000 | 0.361 | 0.237 | 0.034 |
| | | P value | 0.042 | | 0.070 | 0.360 | 0.871 |
| | RIG1 | Correlation Coefficient | 0.052 | 0.361 | 1.000 | -0.233 | -0.030 |
| | | P value | 0.809 | 0.070 | | 0.386 | 0.889 |
| | CXCL11 | Correlation Coefficient | -0.006 | 0.237 | -0.233 | 1.000 | 0.185 |
| | | P value | 0.983 | 0.360 | 0.386 | | 0.492 |

Note. Table illustrates that there were a positive moderate correlation between RAGE and MDA5 mRNA levels in the septicemia patients.

mia, it is important molecule to recognize *P. aeruginosa* in the Iranian patients who were suffered from septicemia. Interestingly, the results also confirmed that there is a significant positive correlation between MDA5 and RAGE in infected patients. As mentioned previously, MDA5 is a main intracellular sensor which induces expression of several immune related molecules such as RAGE [12]. Due to the fact that our previous results demonstrated that MDA5 and RIG-1 significantly increased in the septicemia patients [1], hence, it seems that the results confirmed the roles played by MDA5 to increase expression of RAGE. So, it may be hypothesized that RAGE activated immune responses against *P. aeruginosa* in dependent of MDA, but not RIG-1 and CXCL11. It has been documented that septicemia patients up-regulate pro-inflammatory molecules in the nuclear factor- κ B (NF- κ B) dependent manner [6, 13]. NF- κ B is an important well-known transcription factor which is activated by several intracellular sign-

aling pathways, including MDA5 and also RAGE dependent pathways [8, 10]. Thus, it may be concluded that the septicemia patients who were infected by *P. aeruginosa* expressed RAGE to overcome the bacteria infection in a positive feedback with MDA5 in NF- κ B dependent

The results also revealed that RAGE and CXCL11 mRNA levels were not changed between male and female patients and also had not correlate with age. Thus, it may be proposed that sex and age are not the critical risk factors for taking place of septicemia.

Finally, due to the results, it seems that the type of bacteria in the septicemia is a critical factor for involvement of RAGE, as an important extracellular receptor, during septicemia.

Acknowledgements

This project was supported by a grant from the Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran.

References

- Asadpour-Behzadi A., Kariminik A. RIG-1 and MDA5 are the important intracellular sensors against bacteria in septicemia suffering patients. *J. App. Biomed.*, 2018, vol. 16, no. 4, pp. 358–361. doi: 10.1016/j.jab.2018.01.009
- Bagheri V., Askari A., Arababadi M.K., Kennedy D. Can Toll-Like Receptor (TLR) 2 be considered as a new target for immunotherapy against hepatitis B infection? *Hum. Immun.*, 2014, vol. 75, no. 6, pp. 549–554. doi: 10.1016/j.humimm.2014.02.018

3. Ball J.A., Vlisidou I., Blunt M.D., Wood W., Ward S.G. Hydrogen peroxide triggers a dual signaling axis to selectively suppress activated human T lymphocyte migration. *J. Immunol.*, 2017, vol. 198, no. 9, pp. 3679–3689. doi: 10.4049/jimmunol.1600868
4. Erdel M., Laich A., Utermann G., Werner E.R., Werner-Felmayer G. The human gene encoding SCYB9B, a putative novel CXC chemokine, maps to human chromosome 4q21 like the closely related genes for MIG (SCYB9) and INP10 (SCYB10). *Cytogenet. Cell Genet.*, 1998, vol. 81, no. 3–4, pp. 271–272. doi: 10.1159/000015043
5. Franklin T.C., Wohleb E.S., Zhang Y., Fogaca M., Hare B., Duman R.S. Persistent increase in microglial RAGE contributes to chronic stress-induced priming of depressive-like behavior. *Biol. Psychiatry*, 2018, vol. 83, no. 1, pp. 50–60. doi: 10.1016/j.biopsych.2017.06.034
6. Gao F., Yang Y.Z., Feng X.Y., Fan T.T., Jiang L., Guo R., Liu Q. Interleukin-27 is elevated in sepsis-induced myocardial dysfunction and mediates inflammation. *Cytokine*, 2016, vol. 88, pp. 1–11. doi: 10.1016/j.cyto.2016.08.006
7. Kalil A.C., Opal S.M. Sepsis in the severely immunocompromised patient. *Curr. Infect. Dis. Rep.*, 2015, vol. 17, no. 6: 487. doi: 10.1007/s11908-015-0487-4
8. Kang J.H., Hwang S.M., Chung I.Y. S100A8, S100A9 and S100A12 activate airway epithelial cells to produce MUC5AC via extracellular signal-regulated kinase and nuclear factor-kappaB pathways. *Immunology*, 2015, vol. 144, no. 1, pp. 79–90. doi: 10.1111/imm.12352
9. Karimi-Googheri M., Arababadi M.K. TLR3 plays significant roles against hepatitis B virus. *Mol. Biol. Rep.*, 2014, vol. 41, no. 5, pp. 3279–3286. doi: 10.1007/s11033-014-3190-x
10. Matsukura S., Kokubu F., Kurokawa M., Kawaguchi M., Ieki K., Kuga H., Odaka M., Suzuki S., Watanabe S., Homma T., Takeuchi H., Nohtomi K., Adachi M. Role of RIG-I, MDA-5, and PKR on the expression of inflammatory chemokines induced by synthetic dsRNA in airway epithelial cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2007, vol. 143, no. 1, pp. 80–83. doi: 10.1159/000101411
11. Panezai J., Ghaffar A., Altamash M., Sundqvist K.G., Engstrom P.E., Larsson A. Correlation of serum cytokines, chemokines, growth factors and enzymes with periodontal disease parameters. *PLoS One*, 2017, vol. 12, no. 11: e0188945. doi: 10.1371/journal.pone.0188945
12. Schnurr M., DUEWELL P. Induction of immunogenic cell death by targeting RIG-I-like helicases in pancreatic cancer. *Oncotarget*, 2014, vol. 3, no. 9: e955687. doi: 10.4161/21624011.2014.955687
13. Selvaraj V., Manne N.D., Arvapalli R., Rice K.M., Nandyala G., Fankenhanel E., Blough E.R. Effect of cerium oxide nanoparticles on sepsis induced mortality and NF-kappaB signaling in cultured macrophages. *Nanomedicine (Lond.)*, 2015, vol. 10, no. 8, pp. 1275–1288. doi: 10.2217/nmm.14.205

Авторы:

Кариминик А., к.н., кафедра микробиологии, Исламский университет Азад, филиал в г. Керман, г. Керман, Иран;
Хоссейни Ф., магистр, кафедра микробиологии, Исламский университет Азад, филиал в г. Керман, г. Керман, Иран;
Назири Э., магистр, кафедра микробиологии, Исламский университет Азад, филиал в г. Керман, г. Керман, Иран.

Authors:

Kariminik A., PhD, Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran;
Hosseini F., MSc, Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran;
Nasiri E., MSc, Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran.

Поступила в редакцию 19.07.2019
Отправлена на доработку 09.05.2020
Принята к печати 29.11.2020

Received 19.07.2019
Revision received 09.05.2020
Accepted 29.11.2020

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА ТЕЧЕНИЕ МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ С СОПУТСТВУЮЩИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ

А.В. Кукурика¹, Е.И. Юровская², В.А. Ляхимец³

¹ Городской противотуберкулезный диспансер г. Макеевки, г. Макеевка, Украина

² Республиканская клиническая туберкулезная больница, г. Донецк, Украина

³ Городской противотуберкулезный диспансер г. Донецка, г. Донецк, Украина

Резюме. Эпидемиологическая значимость сочетанных форм особо опасных инфекций изучена недостаточно, в отличие от моноинфекций. В настоящее время отмечается тенденция к повышению заболеваемости мультирезистентным туберкулезом. Формирование тяжелых форм заболевания обусловлено другими широко распространенными инфекциями, такими как хронические вирусные гепатиты и ВИЧ. Полиморбидные состояния искажают клинические проявления туберкулеза, снижают эффективность противотуберкулезной терапии и ухудшают прогноз заболевания. Факторы риска для больных данной категории нуждаются в анализе для тщательного мониторинга пациентов и обеспечения инфекционного контроля. Цель исследования — анализ факторов, влияющих на течение мультирезистентного туберкулеза у ВИЧ-инфицированных больных с сопутствующими вирусными гепатитами. *Материалы и методы.* Проанализированы случаи сочетанной патологии мультирезистентного туберкулеза, ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов с доминирующим диагнозом «туберкулез». *Результаты и обсуждение.* Выявлено влияние иммунологического статуса на течение сочетанной патологии. Поскольку все исследуемые больные имели 4 клиническую стадию ВИЧ-инфекции, туберкулез развивался как оппортунистическая инфекция. Выраженная иммуносупрессия (CD4 < 200 кл/мкл) способствовала прогрессированию генерализованного туберкулезного процесса. Неблагоприятным фактором являлся длительно протекающий иммунодефицит, в подавляющем большинстве случаев антиретровирусная терапия назначалась лишь после выявления туберкулеза. Отмечена зависимость клинической формы туберкулеза от уровня CD4-лимфоцитов: изолированное поражение органов грудной клетки преобладало у пациентов с уровнем CD4-лимфоцитов более 200 кл/мкл, генерализация ТБ-процесса — при CD4 менее 200 кл/мкл. У пациентов с милиарным туберкулезом наблюдался более высокий показатель летальности, чем у больных другими клиническими формами туберкулеза, вне зависимости от приема антиретровирусных препаратов. Выявлено, что в структуре больных преобладали социально дезориентированные

Адрес для переписки:

Кукурика Анастасия Владимировна
51005677, Украина, г. Макеевка, ул. Сормовская, 7,
Городской противотуберкулезный диспансер г. Макеевки.
Тел.: +380 (713) 76-72-55.
E-mail: nastya_kukurika@mail.ru

Contacts:

Anastasia V. Kukurika
51005677, Ukraine, Makeevka, Sormovskaya str., 7,
Makeevka Municipal TB Dispensary.
Phone: +380 (713) 76-72-55.
E-mail: nastya_kukurika@mail.ru

Для цитирования:

Кукурика А.В., Юровская Е.И., Ляхимец В.А. Эпидемиологический анализ факторов, влияющих на течение мультирезистентного туберкулеза у ВИЧ-инфицированных больных с сопутствующими вирусными гепатитами // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 989–993. doi: 10.15789/2220-7619-ЕАО-1504

Citation:

Kukurika A.V., Yourovskaya E.I., Lyakhimets V.A. Epidemiological analysis of factors influencing the course of multidrug-resistant tuberculosis in HIV-infected patients with concomitant viral hepatitis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 989–993. doi: 10.15789/2220-7619-ЕАО-1504

молодые люди с вирусным гепатитом С, распространенность которого обусловлена влиянием отягощающих факторов, таких как злоупотребление алкоголем, наркотиками, пребывание в пенитенциарных учреждениях. На фоне комбинированного лечения существенного влияния вирусных гепатитов на течение полиморбидных состояний и эффективность проводимой терапии не выявлено.

Ключевые слова: мультирезистентный туберкулез, ВИЧ-инфекция, вирусные гепатиты, факторы, противотуберкулезные препараты, антиретровирусная терапия.

EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS OF FACTORS INFLUENCING THE COURSE OF MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS IN HIV-INFECTED PATIENTS WITH CONCOMITANT VIRAL HEPATITIS

Kukurika A.V.^a, Yourovskaya E.I.^b, Lyakhimets V.A.^c

^a Makeevka Municipal Tuberculosis Dispensary, Makeevka, Ukraine

^b Republican Clinical Tuberculosis Hospital, Donetsk, Ukraine

^c Donetsk Municipal Tuberculosis Dispensary, Donetsk, Ukraine

Abstract. The epidemiological significance of combined forms of especially dangerous infections has not been studied enough, unlike mono-infections. Currently, there is a tendency towards an increase in the incidence of multidrug-resistant tuberculosis. The formation of severe forms of the disease is caused by other widespread infections, such as chronic viral hepatitis and HIV. Polymorbid conditions distort the clinical manifestations of tuberculosis, reduce the effectiveness of anti-tuberculosis therapy and worsen the prognosis of the disease. Risk factors among patients in this category need analysis to carefully monitor patients and ensure infection control. Objective is to analyze the factors affecting the course of multidrug-resistant tuberculosis in HIV-infected patients with concomitant viral hepatitis. *Materials and methods.* Cases of the combined pathology of multiresistant tuberculosis, HIV infection and viral hepatitis with a dominant diagnosis of tuberculosis are analyzed. *Results and discussion.* The influence of the immunological status on the course of combined pathology was revealed. Since all the patients under study had clinical stage 4 of HIV infection, tuberculosis developed as an opportunistic infection. Severe immunosuppression (CD4 < 200 cells/ml) contributed to the progression of the generalized tuberculosis process. Long-term immunodeficiency was an unfavorable factor; in the overwhelming majority of cases, antiretroviral therapy was prescribed only after tuberculosis was detected. The dependence of the clinical form of tuberculosis on the level of CD4-lymphocytes was noted: isolated lesion of the chest organs prevailed in patients with a level of CD4-lymphocytes more than 200 cells/ml, generalization of TB process — with CD4 less than 200 cells/ml. Patients with miliary tuberculosis had a higher mortality rate compared to patients with other clinical forms, regardless of antiretroviral therapy. It was revealed that socially disoriented young people with viral hepatitis C prevailed in the structure of patients, the prevalence of which was due to the influence of aggravating factors, such as alcohol and drug abuse, and stay in prisons. Against the background of combined treatment, there was no significant effect of viral hepatitis on the course of polymorbid conditions and the effectiveness of the therapy.

Key words: multidrug-resistant tuberculosis, HIV-infection, viral hepatitis, factors, anti-tuberculosis drugs, antiretroviral therapy.

Эпидемиологическая значимость сочетанных форм особо опасных инфекций изучена недостаточно, в отличие от моноинфекций [3]. В настоящее время течение мультирезистентного туберкулеза (МРТБ) характеризуется формированием тяжелых форм заболевания, поскольку социально дезадаптированный контингент принес в эпидемический процесс хронические вирусные гепатиты (ВГ) и ВИЧ-инфекцию [1, 9]. Полиморбидные состояния искажают клинические проявления туберкулеза (ТБ), снижают эффективность противотуберкулезной терапии (ПТП) и ухудшают прогноз заболевания [2, 10]. Социальная и экономическая значимость сочетанных инфекций требует эффективных мер, направленных на их профилактику [8]. Для тщательного мониторинга пациентов и обеспечения инфекционного контроля необходим анализ факторов риска у больных данной категории [5]. Цель исследо-

вания — анализ факторов, влияющих на течение мультирезистентного туберкулеза у ВИЧ-инфицированных больных с сопутствующими вирусными гепатитами.

Материалы и методы

Проведен ретроспективный анализ 118 случаев сочетанной патологии МРТБ, ВИЧ-инфекции и ВГ с доминирующим диагнозом ТБ. Больные находились под наблюдением в Республиканской клинической туберкулезной больнице г. Донецка в период с I квартала 2017 по I квартал 2020 г. включительно.

Диагностику и лечение проводили в соответствии с клиническими протоколами медицинской помощи «Туберкулез» и «ВИЧ-инфекция у взрослых и подростков» [4, 6]. Развитие гепатотоксических реакций на фоне приема ПТП и антиретровирусной терапии (АРТ) анали-

зировали по уровню аланинаминотрансферазы (АЛТ), которую исследовали ежемесячно. Динамику биохимических показателей крови оценивали согласно шкале нежелательных явлений, предложенной в «Федеральных клинических рекомендациях по профилактике, диагностике и лечению ТБ у больных ВИЧ-инфекцией» [7]. При статистической обработке данных учитывали доли (P) и средние ошибки (m). Статистическую значимость различий показателей определяли по критерию Фишера, критическим уровнем которого считали $p \leq 0,05$.

Таблица 1. Характеристики ВИЧ-инфекции

Table 1. Characteristics of HIV infection

| n = 118 | n | P±m, % |
|---|-----|---------|
| Стадия ВИЧ-инфекции Stage of HIV infection | | |
| 4Б | 70 | 59±6,4 |
| 4В | 48 | 41±6,4 |
| Длительность ВИЧ-инфекции Duration of HIV infection | | |
| Впервые выявлен First identified | 10 | 8,5±3,6 |
| < 1 года < 1 year | 10 | 8,5±3,6 |
| От 1 до 5 лет From 1 to 5 years | 26 | 22±5,4 |
| От 6 до 10 лет From 6 to 10 years | 48 | 61±6,3 |
| > 10 лет > 10 years | 24 | |
| Количество CD4-лимфоцитов Quantity of CD4 lymphocytes | | |
| < 50 | 30 | 51±6,5 |
| 50–100 | 18 | |
| 100–200 | 12 | |
| > 200 | 58 | |
| АРТ Antiretroviral therapy | | |
| Получали Received | 102 | 86±4,5 |
| Не получали Not received | 16 | 14±4,5 |
| Сроки назначения АРТ Timeframe for antiretroviral therapy | | |
| До ТБ Before TB | 14 | 14±4,8 |
| После ТБ After TB | 88 | 86±4,8 |
| Длительность АРТ Duration of antiretroviral therapy | | |
| < 1 года < 1 year | 54 | 53±7,0 |
| От 1 до 5 лет From 1 to 5 years | 34 | 33±6,6 |
| > 5 лет > 5 years | 14 | 14±4,8 |

Результаты

Среди пациентов преобладали мужчины (78%), медиана возраста составила 36,4 года.

В результате исследования установлено влияние иммунологического статуса на течение сочетанной инфекции. Все больные имели 4 клиническую стадию ВИЧ-инфекции, в 61% случаев ТБ развивался на фоне длительно протекающего иммунодефицита как оппортунистическая инфекция. Выраженная иммуносупрессия ($CD4 < 200$ кл/мкл) наблюдалась в 51% случаев. Несмотря на большое количество больных с длительно существующей ВИЧ-инфекцией, в 86% случаев АРТ назначалась только после выявления ТБ на поздних стадиях (табл. 1).

Изучены характеристики туберкулезного процесса. Среди клинических форм инфильтративный ТБ составил 41%, диссеминированный — 31%, милиарный — 25%, фиброзно-кавернозный — 3%. У больных наблюдалась зависимость формы ТБ от уровня CD4-лимфоцитов. Установлено, что изолированное поражение органов грудной клетки (ОГК) достоверно преоб-

Таблица 2. Клинические формы ТБ в зависимости от уровня CD4-лимфоцитов

Table 2. Clinical forms of TB infection coupled to level of CD4-lymphocytes

| Клиническая форма Clinical form | ТБ ОГК Chest TB (n = 88) | | Милиарный ТБ Miliary TB (n = 30) | |
|------------------------------------|--------------------------------|---------|--|----------|
| | n | P±m, % | n | P±m, % |
| CD4 | | | | |
| < 50 (n = 30) | 20 | 43±7,5 | 10 | 73±11,4* |
| 50–200 (n = 30) | 18 | | 12 | |
| > 200 (n = 58) | 50 | 57±7,5* | 8 | 27±11,4 |

Примечание. * — $p \leq 0,05$.

Note. * — $p \leq 0,05$.

Таблица 3. Летальность больных в зависимости от формы ТБ-процесса

Table 3. Mortality of patients coupled to form of TB process

| n = 118 | ТБ ОГК Chest TB (n = 88) | | Милиарный ТБ Miliary TB (n = 30) | |
|---|--------------------------------|---------|--|----------|
| | n | P±m, % | n | P±m, % |
| Летальность Mortality | 6 | 7±3,8 | 14 | 47±12,9* |
| На АРТ Receiving antiretroviral therapy | 4 | 67±27,2 | 8 | 57±18,7* |
| Без АРТ Without antiretroviral therapy | 2 | 33±27,2 | 6 | 43±18,7* |

Примечание. * — $p \leq 0,05$.

Note. * — $p \leq 0,05$.

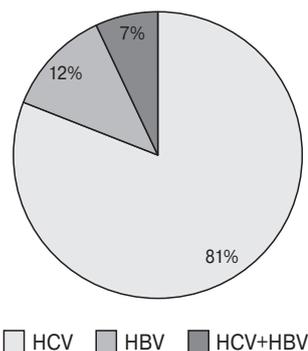


Рисунок. Этиологическая структура вирусных гепатитов

Figure. Etiological structure of viral hepatitis

ладало у пациентов с уровнем CD4-лимфоцитов более 200 кл/мкл, генерализация ТБ-процесса — при CD4 менее 200 кл/мкл (табл. 2).

Показатель летальности у больных с милиарным ТБ превышал таковой у пациентов с легочной локализацией туберкулезного процесса в 7 раз ($p \leq 0,05$) вне зависимости от применения АРТ (табл. 3).

В этиологической структуре ВГ превалировал HCV (рис.). Распространенность гемоконтактных гепатитов в структуре полиморбидной патологии обусловлена влиянием социальных факторов, основными из которых стали длительное потребление инъекционных наркотиков, алкоголя, пребывание в пенитенциарных учреждениях (табл. 4).

Применение комплексного лечения при полиморбидной патологии не сопровождалось высокой частотой развития гепатотоксических реакций. На старте лечения у 48% пациентов отмечено повышение АЛТ в 1,25–2,5 раза выше нормы, соответствующее I степени гепатотоксичности, достоверно снизившееся к концу терапии (табл. 5).

Заключение

Эпидемиологический анализ отягощающих факторов продемонстрировал следующее:

1. ВИЧ-инфекция являлась ведущим фактором активизации латентного туберкулезного процесса. Выраженный иммунодефицит способствовал прогрессированию генерализованных форм туберкулеза.
2. Летальность больных с милиарным туберкулезом была существенно выше, чем у паци-

Таблица 4. Социальные факторы риска

Table 4. Social risk factors

| Факторы Factors | n = 118 | |
|--|---------|--------|
| | n | P±m, % |
| Злоупотребление алкоголем Alcohol abuse | 76 | 64±6,2 |
| Употребление инъекционных наркотиков Injecting drug user | 76 | 64±6,2 |
| Нарушение режима лечения Patient non-compliance | 70 | 60±6,4 |
| Нахождение в местах лишения свободы Imprisonment | 28 | 24±5,5 |
| Неработающий контингент Non-working contingent | 102 | 86±4,5 |

Таблица 5. Уровень АЛТ в динамике лечения

Table 5. Dynamic alanine aminotransferase level during therapy

| АЛТ Alanine aminotransferase | n = 118 | | | |
|------------------------------------|-----------------------|---------|-------------------|--------|
| | Начальный Baseline | | Конечный Final | |
| | n | P±m, % | n | P±m, % |
| N | 52 | 44±6,5 | 62 | 53±6,5 |
| 1,25–2,5 N | 56 | 48±6,5* | 38 | 32±6,1 |
| 2,6–5 N | 4 | 3±2,4 | 8 | 7±3,3 |
| 5,1–10 N | 6 | 5±2,9 | 4 | 3±2,4 |
| > 10 N | – | – | – | – |

Примечание. * — $p \leq 0,05$.

Note. * — $p \leq 0.05$.

ентов с изолированной легочной локализацией процесса, поскольку причиной смерти являлась полиорганная недостаточность.

3. Характерно позднее начало приема АРТ после выявления туберкулеза на фоне длительно протекающей ВИЧ-инфекции. В большинстве случаев АРТ не оказывала должного положительного влияния на течение сочетанной инфекции.

4. Преобладало поражение печени вирусом гепатита С, что обусловлено социальными факторами, такими как злоупотребление алкоголем, приемом и наркотиками, пребывание в местах лишения свободы.

5. Анализ развития гепатотоксичности на фоне вирусных гепатитов, комбинированного лечения противотуберкулезными и антиретровирусными препаратами не выявил их дополнительного негативного воздействия на функциональное состояние печени.

Список литературы/References

1. Азовцева О.В., Грицюк А.В., Гемаева М.Д., Карпов А.В., Архипов Г.С. ВИЧ-инфекция и туберкулез как наиболее сложный вариант коморбидности // Вестник Новгородского государственного университета. 2020. Т. 117, № 1. С. 79–84. [Azovtseva O.V., Gritsyuk A.V., Gemaeva M.D., Karpov A.V., Arkhipov G.S. HIV infection and tuberculosis as the most complex form of comorbidity. *Vestnik Novgorodskogo gosudarstvennogo universiteta = Bulletin of Novgorod State University, 2020, vol. 117, no. 1, pp. 79–84. (In Russ.)*] doi: 10.34680/2076-8052.2020.1(117).79-84

2. Азовцева О.В., Пантелеев А.М., Карпов А.В., Архипов Г.С., Вебер В.Р., Беляков Н.А., Архипова Е.И. Анализ медико-социальных факторов, влияющих на формирование и течение коинфекции ВИЧ, туберкулеза и вирусного гепатита // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 5–6. С. 787–799. [Azovtseva O.V., Panteleev A.M., Karpov A.V., Arkhipov G.S., Veber V.R., Belyakov N.A., Arkhipova E.I. Analysis of medical and social factors affecting the formation and course of co-infection HIV, tuberculosis and viral hepatitis. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2019, vol. 9, no. 5–6, pp. 787–799. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2019-5-6-787-799
3. Бородулина Е.А., Вдоушкина Е.С., Кузнецова А.Н., Гладунова Е.П. Особенности коморбидной патологии (ВИЧ/туберкулез) при летальных исходах // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2019. Т. 11, № 4. С. 70–78. [Borodulina E.A., Vdoushkina E.S., Kuznetsova A.N., Gladunova E.P. Features of concomitant HIV/tuberculosis diseases with fatal outcomes. *VICH-infektsiia i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2019, vol. 11, no. 4, pp. 70–78. (In Russ.)] doi: 10.22328/2077-9828-2019-11-4-70-78
4. ВИЧ-инфекция у взрослых и подростков: унифицированный клинический протокол медицинской помощи. Утвержден приказом МЗ ДНР № 1374 от 07.08.18. Донецк, 2018. С. 40–110. [HIV infection in adults and adolescents: unified clinical protocol of medical care. Approved by the Order No. 1374 of the Ministry of Healthcare of Donetsk People's Republic on August 7th, 2018. pp. 40–110. (In Russ.)]
5. Нечаев В.В., Иванов А.К., Яковлев А.А., Мусатов В.Б., Федуняк О.И., Васильева М.В., Беляков В.С., Кравцова А.И. Эпидемиология социально значимых сочетанных инфекций. Факторы риска летальных исходов. *Pacific Medical Journal*. 2018. № 3. С. 64–68. [Nechaev V.V., Ivanov A.K., Yakovlev A.A., Musatov V.B., Fedunyak O.I., Vasilieva M.V., Belyakov V.S., Kravtsova A.I. Epidemiology of socially significant co-infections. Risk factors for deaths. *Pacific Medical Journal*, 2018, no. 3, pp. 64–68. (In Russ.)] doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2018.3.68–71
6. Туберкулез: унифицированный клинический протокол медицинской помощи. Утвержден Приказом МЗ ДНР № 571 от 24.03.20. Донецк, 2020. С. 12–23. [Tuberculosis: unified clinical protocol of medical care. Approved by the Order No. 571 of the Ministry of Healthcare of Donetsk People's Republic on March 3rd, 2020. pp. 12–23. (In Russ.)]
7. Федеральные клинические рекомендации по профилактике, диагностике и лечению туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией. М.: Российское общество фтизиатров, 2016. 42 с. [Federal clinical guidelines for prevention, diagnosis and treatment of tuberculosis in patients with HIV infection. *Moscow: Russian Society of Phthisiologists*, 2016. 42 p. (In Russ.)]
8. Dara M., Ehsani S., Mozalevskis A., Vovc E., Simões D. Tuberculosis, HIV, and viral hepatitis diagnostics in eastern Europe and central Asia: high time for integrated and people-centred services. *Lancet*, 2020, vol. 20, pp. 48–53. doi: 10.1016/S1473-3099(19)30524-9
9. Flexner C., Thomas D.L., Swindells S. Creating demand for long-acting formulations for the treatment and prevention of HIV, tuberculosis, and viral hepatitis. *Curr. Opin. HIV AIDS*, 2019, vol. 14, no. 1, pp. 13–20. doi: 10.1097/COH.0000000000000510
10. Truman B.I., Mermin J.H., Dean H.D. Measuring progress in reducing disparities in HIV, tuberculosis, viral hepatitis, and sexually transmitted diseases in the united states: a summary of this theme issue. *Am. J. Public Health*, 2018, vol. 108, no. S4, pp. S240–S241. doi: 10.2105/AJPH.2018.304761

Авторы:

Кукурика А.В., врач-фтизиатр Городского противотуберкулезного диспансера г. Макеевки, г. Макеевка, Украина;

Юровская Е.И., врач-фтизиатр Республиканской клинической туберкулезной больницы, г. Донецк, Украина;

Ляхимец В.А., врач-фтизиатр Городского противотуберкулезного диспансера г. Донецка, г. Донецк, Украина.

Authors:

Kukurika A.V., TB specialist, Makeevka Municipal TB Dispensary, Makeevka, Ukraine;

Yurovskaya E.I., TB specialist, Republican Clinical Tuberculosis Hospital, Donetsk, Ukraine;

Lyakhimets V.A., TB specialist, Donetsk Municipal TB Dispensary, Donetsk, Ukraine.

Поступила в редакцию 10.06.2020

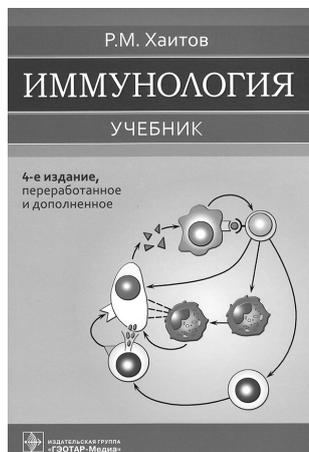
Принята к печати 28.03.2021

Received 10.06.2020

Accepted 28.03.2021

Иммунология

Автор: Рахим Мусаевич Хаитов — доктор медицинских наук, профессор, академик РАН.



Новое, 4-е издание учебника «Иммунология», вышедшее в свет в сентябре 2021 г., — это обновленная, переработанная и дополненная версия учебника, который за последние 15 лет стал одним из лучших учебников по иммунологии. Он используется повсеместно. По всей России и в странах СНГ по нему учатся студенты ВУЗов медицинского и биологического профилей, по нему готовятся врачи, избравшие профессию аллерголога-иммунолога, им пользуются исследователи в самых разных областях естественных наук — иммунологии, аллергологии, микробиологии, вирусологии, инфектологии, вакцинологии и других смежных с ними науках. Словом, учебник «Иммунология» Р.М. Хаитова — это один из лучших в нашей стране, один из самых востребованных и признанных учебников.

В чем достоинства этого учебника? В чем причины успеха прежних изданий и каковы основы для успеха нового, 4-го издания? Тут много факторов, и все они важны:

- хороший, доступный язык изложения;
- множество иллюстраций, облегчающих понимание и освоение нового материала;
- простота объяснения очень сложных живых систем и процессов;
- широкий, практически всеобъемлющий охват областей иммунологии;
- современность, представление самых последних достижений в областях науки, которым учит этот учебник;
- достоверность и научное качество сведений, составляющих содержание учебника;
- практическая ориентированность научных знаний, всегда направленная на их полезное применение в интересах здоровья человека.

Современное научное знание об иммунитете — это огромный объем сведений. Учебник иммунологии должен помочь студентам медицинских или биологических ВУЗов понять и запомнить самое важное и при этом не утопить обучающихся в изобилии научных фактов, способах их получения, значении этих знаний для нашей иммунной защиты от различных опасностей.

Доступность, иллюстрированность, простота

Сколь угодно сложные структуры и процессы, их взаимное влияние необходимо представить в учебнике для студентов в максимально упрощенном, понятном виде. Упрощая, нельзя исказить природу живой системы, описываемых в ней объектов и событий. Недопустимо отойти от научного знания об этих объектах и явлениях, с ними связанных. Для схематизации и упрощения сложных процессов полезны графические иллюстрации, и к ним предъявляются те же требования — не исказить действительности, не сформировать ложных представлений, которые не соответствуют истинной природе описываемых объектов и явлений.

В учебнике Р.М. Хаитова схемы и пояснения к ним просты и понятны, вполне соответствуют строгим научным представлениям, достаточны для быстрого понимания и запоминания, что является несомненным достоинством этой книги.

Полнота охвата

Учебник иммунологии должен отразить или хотя бы обозначить все самые значительные области иммунологии. Именно таким и является учебник Р.М. Хаитова. При самом придирчивом анализе не удастся найти каких-либо значительных разделов современной иммунологии, которых не было бы в книге Р.М. Хаитова. Специализированные области иммунологии, такие как иммунология опухолей и иммунология старения, без сомнений, не включены в структуру этого учебника преднамеренно. Эти разделы иммунологии оставлены для самостоятельных, специализированных учебников, поскольку указанные области науки очень сложны и их целесообразно рассматривать отдельно, обстоятельно и всерьез. Впрочем, автор может восполнить этот пробел в следующем издании учебника, так как им опубликованы ряд оригинальных и обзорных статей по этой теме, а также монография «Иммунитет и рак» (Р.М. Хаитов, З.Г. Кадагидзе, ГЭОТАР-Медиа, 2018). Это же касается и иммунологии старения. Р.М. Хаитов опубликовал достаточно экспериментальных и обзорных статей по иммунологии старения.

В учебнике Р.М. Хаитова есть все, что составляет содержание науки иммунологии:

- а) понимание предназначения иммунитета, его особенной роли, границ ответственности этой системы в организме живого существа;
- б) знание, что функция иммунной защиты обеспечивается определенными типами клеток и молекул, процессами, в которых они участвуют и которые они выполняют;

в) сведения о природе и свойствах многих сотен типов и подтипов клеток, стадий их развития и преобразования в ходе выполнения своих функций; детальное знание о большом разнообразии веществ, обеспечивающих координированное функционирование клеточных сообществ и в конечном счете иммунную защиту живого существа;

г) знания о процессах иммунного реагирования и иммунной защиты на всех уровнях: от уровня целого организма, его отдельных органов и систем до уровня клеток, молекул и атомов, составляющих эти молекулы, реакций, в которых происходят химические и физические превращения на молекулярном и супрамолекулярном уровнях.

Особо следует отметить, что значительная часть учебника посвящена патологическим процессам, при которых функционирование иммунной системы значительно нарушено, — иммунным дефицитам, аллергии, аутоиммунным болезням. Это несомненное достоинство учебника. В этих разделах фундаментальные знания иммунологии проецируются на клинически значимые, практически важные области медицины. Яркими примерами успешного клинического применения указан путь от фундаментальной иммунологии к практике медицины и здоровью человека, что очень важно при обучении нового поколения медиков и биологов;

д) большой интерес представляет раздел по вакцинации. Сформулированы требования к вакцинирующим препаратам. Рассмотрены новые поколения вакцин, в том числе векторные вакцинирующие препараты (Гам-КОВИД-Вак) против новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2, вакцины на основе нуклеиновых кислот (ДНК- и РНК-вакцины), аллерговакцины.

Современность и новизна

Учебник иммунологии обязан содержать фундаментальные знания, многие из которых добыты давно. Студенту необходимо узнать основополагающие факты, о которых ученые узнали год, десять или сто лет назад. То есть в учебнике должна быть представлена информация, ставшая классической и неоднократно описанная во многих предшествующих учебниках и руководствах по иммунологии. В то же время хороший учебник обязан быть максимально современным, освещать самые последние достижения в данной области науки и техники. Сочетание классического знания и суперсовременных сведений в одном издании — это сложная задача для автора. Классику описать не сложно, да и то нельзя просто переписать у предшественников. Необходимо подать фундаментальные основы, хорошо известные всем специалистам в данной области, в каком-то оригинальном виде, при этом не потеряв главного — сути этих принципиальных знаний. Так, в иммунологии из учебника кочуют сведения о структуре иммуноглобулинов и генов, кодирующих эти белки, о факторах и реакциях в системе комплемента, о механизмах экстравазации лейкоцитов при воспалении и многие другие классические знания, которые не менялись в течение десятилетий, но без которых трудно представить полноценный учебник иммунологии.

Наряду с классическими, основополагающими сведениями, учебник должен представить самые последние, самые современные достижения, открытия, факты, знания. А это — совершенно иной пласт науки. Это то, что интенсивно разрабатывается и изучается в настоящее время, обсуждается на периодических встречах профессионалов (конгрессах, конференциях, симпозиумах, рабочих совещаниях), публикуется в профессиональных научных журналах. В учебнике должны быть охвачены все значительные области иммунологии, но следить за публикацией последних достижений во всех областях очень сложно или почти невозможно. Это — одна из самых трудных задач для автора учебника. Несмотря на трудность задачи, в рецензируемом издании Р.М. Хаитову успешно удалось представить как общие, классические сведения, формирующие основы иммунологии, так и наиболее интересные и перспективные новые достижения этой науки.

Сложность понимания и представления современных знаний в учебнике для студентов

Последние годы сильно изменили биологию в целом и иммунологию в частности. Причиной тому — технологическая революция, которая произошла в последние 20–25 лет и по сей день продолжается с нарастающей скоростью. Этот процесс основывается на создании мощных компьютеров с огромной производительностью и практически неограниченными объемами памяти. Важно и то, что эти компьютеры стали доступны всем, ими можно пользоваться, выходя в сеть со своего ноутбука. В свою очередь, мощные компьютерные системы позволили создать автоматизированные системы анализа, синтеза, секвенирования, измерения концентраций тысяч веществ и многое другое, что потрясает воображение. Раньше иммунологи анализировали одну или несколько клеточных популяций, один или несколько клеточных белков (цитокины, хемокины, рецепторы и т. д.), измеряли экспрессию мРНК одного или нескольких генов. Теперь в одном анализе можно получать данные об экспрессии всех (более 20 тыс.) генов, продукции сотен белков, структуре миллионов рецепторов (TCR- и BCR-секвенирование). Современные системы и методы исследования дают гигантские массивы данных, которые невозможно анализировать как раньше. Чтобы соответствовать современному уровню, биолог (иммунолог) теперь не может ограничиться флуоресценцией одного или нескольких белков в клетке (микроскопия, цитометрия), или измерением уровня экспрессии мРНК одного или нескольких генов (РВ-ПЦР), или измерением концентрации нескольких цитокинов в биологической жидкости (иммуноферментный или иммунохемилюминесцентный анализы). Теперь метод РНК-секвенирования дает возможность оценить экспрессию мРНК сразу всех генов, а мультиплексные методы протеомики — продукцию сразу многих сотен белков. Раньше иммунолог окрашивал интересующий его белок на гистологическом срезе

(иммуногистохимия), а теперь мультиплексная иммуногистофлуоресценция использует окрашивание до 50 молекулярных маркеров на одном гистологическом срезе, что позволяет типировать каждую клетку, а затем переводить эту информацию в виртуальный (компьютерный) образ, где уже нет среза, но есть вся информация о нем. Такой виртуальный гистологический срез содержит информацию о каждой клетке, ее позиции и молекулярных особенностях, о размерах и форме клеток, о количестве клеток разных типов, о контактах любых клеток друг с другом, о дистанции между клетками одного типа или клетками разных типов, о клеточных скоплениях и сообществах и т. д. Компьютерная система может содержать подобную информацию о сотнях полей зрения на одном срезе, может сравнивать десятки и сотни разных срезов между собой. Компьютерные системы обучены реконструировать структуру ткани в объеме (виртуальные 3D-изображения), могут «крутить» это изображение в пространстве, позволяя исследователю лучше рассмотреть какие-то детали. То есть современные автоматизированные и компьютеризированные системы могут делать то, что никак не мог бы сделать гистолог. Возможности такого современного анализа бесконечно большие, но его не может выполнять классический биолог, гистолог или иммунолог. Слишком велики массивы данных. Чтобы с ними работать, нужны специальные программы и специально обученные профессионалы биоинформатики.

Как следствие описанной революции, которая привела к получению гигантских объемов сведений в каждом современном анализе, произошла радикальная трансформация научных публикаций в биологии вообще и, в частности, в иммунологии. Современные научные статьи уже настолько насыщены информацией, настолько сложны для понимания, что даже многим классическим иммунологам «не по зубам». Статьи изобилуют Heat map, PCA plot, TSNE plot, UMAP plot, Cluster map, Volcano plot и еще десятками других форм презентации данных. Понять, что в них содержится, слишком сложно даже зрелым профессионалам-иммунологам. А как эту самую современную информацию трансформировать в простые и понятные формы для студентов, только начинающих осваивать основы иммунологии? Это весьма непростая задача для автора учебника.

На этом самом современном уровне еще сложнее охватить все новые публикации во всех значительных областях иммунологии. Исследователь может читать и знать новости в своей области науки, в которой он работает, а автор учебника должен знать все, должен успевать следить за стремительным развитием всех областей иммунологии. Это — почти невыполнимая задача. Остается лишь удивляться и с большим уважением констатировать, что Р.М. Хаитову это удалось. 4-е издание учебника «Иммунология» содержит все значительные достижения иммунологии последних лет.

Не вызывает сомнений, что 4-е издание учебника «Иммунология» Р.М. Хаитова будет по достоинству оценено студентами и преподавателями медицинских и биологических ВУЗов, а также исследователями в самых разных областях медицины и биологии. Выход в свет данного издания — это замечательное событие, которое нам и хотелось отметить, впечатлениями о котором мы делимся с читателями журнала «Инфекция и иммунитет».

Рецензенты:

академик РАН А.Л. Гинцбург
академик РАН А.Г. Габибов
академик РАН С.М. Деев
академик РАН В.В. Зверев
академик РАН А.Г. Румянцев
академик РАН Х.П. Тахчиди
академик РАН В.А. Ткачук
академик РАН Н.Д. Ющук
профессор Р.И. Атауллаханов

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Статьи представляются в редакцию через систему электронного издательства (<http://iimmun.ru>) в соответствии с требованиями журнала «Инфекция и иммунитет» и «Инструкцией для авторов», представленной на сайте. С февраля 2016 года журнал «Инфекция и иммунитет» публикует статьи на двух языках (русском и английском).

Основные виды статей, публикуемых в журнале

Оригинальная статья

Статья должна описывать результаты законченного исследования. Допускается объем статьи до 20 машинописных страниц, включая рисунки, таблицы. Статья должна содержать: 1) введение; 2) материалы и методы; 3) результаты исследований; 4) обсуждение результатов; 5) благодарности.

- **Введение** содержит обоснование цели и задач проведенного исследования.
- **Материалы и методы** могут излагаться в виде отдельных фрагментов с короткими подзаголовками.
- Все нетрадиционные модификации методов должны быть описаны с достаточной степенью подробности. Для всех используемых в работе реактивов, животных, клеточных культур и т.д. необходимо точно указывать производителей и/или источники получения (с названиями страны, фирмы, института).
- **Результаты** описываются в логической последовательности в виде отдельных фрагментов, разделенных подзаголовками, без элементов обсуждения, без повторения методических подробностей, без дублирования цифровых данных, приведенных в таблицах и рисунках.
- В **обсуждении** проводится детальный анализ полученных данных в сопоставлении с данными литературы, что служит обоснованием выводов и заключений авторов.
- Раздел **«Благодарности»** не является обязательным, но крайне желателен. В этом разделе авторы могут выразить признательность организации, субсидировавшей проведение исследований, коллегам, консультировавшим работу в процессе ее выполнения и/или написания, а также техническому персоналу за помощь в выполнении исследований. Благодарности за предоставление специфических реактивов или оборудования, как правило, помещаются в разделе «Материалы и методы».

Краткие сообщения

Журнал публикует небольшие по объему статьи, которые имеют безусловную новизну и значимость. Эти статьи проходят ускоренное рецензирование и публикуются в короткие сроки. Общий объем краткого сообщения ограничен 8 машинописными страницами, количество рисунков и/или таблиц не может быть более 3, а список использованных литературных источников не должен превышать 15. Титульный лист оформляется, как описано ниже (см. «Подготовка статей»). Разделы краткого сообщения аналогичны вышеописанным разделам оригинальной статьи, но не выделяются заголовками и подзаголовками, результаты могут быть изложены вместе с обсуждением.

Обзорные статьи и лекции

Обзорные статьи и лекции в основном заказываются редакцией или могут быть рекомендованы одним из членов редколлегии. Более подробную информацию о правилах оформления этих статей можно узнать в редакции.

Библиографические стандарты описания цитируемых публикаций

Описание статьи из журнала:

Салина Т.Ю., Морозова Т.И. Иммунологические методы в дифференциальной диагностике // Туберкулез и болезни легких. 2011. Т. 88, № 11. С. 50–53.

Salina T.Yu., Morozova T.I. Immunological methods in differential diagnostics. Tuberculosis and Lung Diseases, 2011, vol. 88, no. 11, pp. 50–53.

Описание статьи из книги (монографии):

Шурыгина И.А., Чеснокова М.В., Климов В.Т. Псевдотуберкулез. Новосибирск: Наука, 2003. 320 с.

Shurygina I.A., Chesnokova M.V., Klimov V.T. Pseudotuberculosis. Novosibirsk: Nauka, 2003. 320 p.

Примеры правильного оформления англоязычных ссылок:

Turenne C.Y., Wallace R., Behr M.A. Mycobacterium avium in the postgenomic era. Clin. Microb. Rev., 2007, vol. 20, no. 2, pp. 205–229.

Goodman J.W., Parslow T.G. Immunoglobulin proteins. Basic and Clinical Immunology. Ed. Stites D.P., Terr A.I., Parslow T.G. Appleton & Lange, 1994, pp. 66–79.

Ссылки на литературные источники в тексте статьи, в рисунках и таблицах обозначаются арабскими цифрами в квадратных скобках [1, 2, 3,...]. Не допускаются ссылки на диссертации, авторефераты диссертаций, публикации в сборниках, методические документы местного уровня. Количество источников не ограничено. В каждой ссылке приводятся все авторы работы. Неопубликованные статьи в список не включаются.

Обозначения, сокращения и единицы измерения

Для сложных терминов или названий, наиболее часто используемых в тексте статьи, можно ввести (в круглых скобках после первого упоминания полного названия термина) не более 3–5 нетрадиционных сокращений. Узаконенные международными номенклатурами сокращения используются в соответствующей транскрипции. Например, для термина «интерлейкин» используется сокращение «IL», а не русскоязычный вариант «ИЛ»; аналогично этому используются сокращения: «TNF», а не «ТНФ» или «ФНО»; «CD», а не «СД». Названия микроорганизмов приводятся в оригинальной транскрипции с использованием курсива (*E. coli*, *Streptococcus pyogenes*). Единицы измерения приводятся без точки после их сокращенного обозначения, регламентированного международными правилами (с, ч, см, мл, мг, кДа и т.д.).

Оформление иллюстративного материала

Иллюстративный материал должен быть оригинальным, т.е. ранее нигде не опубликованным. Общее количество иллюстраций (таблиц и рисунков) не должно превышать восьми. При большем количестве иллюстраций их публикация оплачивается автором. Публикация цветных иллюстраций (независимо от их количества) также оплачивается автором.

Размеры иллюстраций:

- максимальная высота — 210 мм
- максимальная ширина для 1 столбца — 82 мм, для 2 столбцов — 170 мм

Таблицы. Каждая таблица предоставляется отдельным файлом. Таблицы нумеруются арабскими цифрами отдельно от нумерации рисунков (графиков и фотографий). Название печатается над таблицей. Весь текст на русском языке, содержащийся в таблице, включая единицы измерения, должен быть переведен на английский язык; при этом перевод следует помещать в ячейку с соответствующим русским текстом отдельной строкой. Название таблицы и текст примечания к ней также должны быть переведены на английский язык и приведены под русским текстом с новой строки. Для пометок в таблицах следует использовать одну или несколько (*). Пояснения печатаются после соответствующего количества (*) под таблицей. Единицы измерения, при необходимости, включаются в заголовки строк или столбцов.

Рисунки (графики и фотографии). В тексте статьи названия рисунков (графиков, фотографий) и таблиц размещаются сразу после абзаца, где на них дается первая ссылка. Все рисунки нумеруются последовательно арабскими цифрами по мере их включения в текст статьи. Названия рисунков и подписи к ним выносятся в виде списка в отдельный файл. В списке указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные. Названия рисунков и примечаний к ним, нарисовочные подписи, текст легенды должны быть переведены на английский язык и размещены под соответствующим текстом с новой строки. Рисунки могут быть представлены в графических форматах с расширением .tif (разрешение не менее 300 dpi при 100% масштабе), .eps или .ai. Изображения, встроенные в документы Word, не принимаются. Графики и диаграммы предоставляются вместе с таблицами, на основе которых они были созданы, или с численными обозначениями показателей, отображаемых соответствующими графическими элементами (столбиками, секторами и т.п.) в виде файлов с расширениями .doc или, предпочтительнее, .xls.

Плата за публикацию статей

При соблюдении правил публикация статей в журнале «Инфекция и иммунитет» является бесплатной для авторов и учреждений, в которых они работают. Редакция может потребовать оплату в следующих случаях: 1) за публикацию цветных иллюстраций; 2) при большом количестве иллюстративного материала (свыше 8 иллюстраций).

Подготовка статей

При предоставлении статьи авторы должны руководствоваться требованиями, приведенными в нижеследующих пунктах. Статья может быть отклонена, если она им не соответствует.

1. Направляя статью в журнал, авторы гарантируют, что поданные материалы не были ранее опубликованы полностью или по частям, в любой форме, в любом месте или на любом языке. Так же авторы гарантируют, что статья не представлена для рассмотрения и публикации в другом журнале. С момента принятия статьи к печати в журнале «Инфекция и иммунитет» приведенный в ней материал не может быть опубликован авторами полностью или по частям в любой форме, в любом месте и на любом языке без согласования с руководством журнала. Исключением может являться: 1) предварительная или последующая публикация материалов статьи в виде тезисов или короткого резюме; 2) использование материалов статьи как части лекции или обзора; 3) использование автором представленных в журнал материалов при написании диссертации или книги. Воспроизведение всего издания или части любым способом запрещается без письменного разрешения издателей. Нарушение закона будет преследоваться в судебном порядке. Охраняется Законом РФ № 5351-1 «Об авторском праве и смежных правах» от 09.07.93 г.
2. Файл отправляемой статьи представлен в формате .doc, .docx, .rtf.
3. Помимо файла со статьей, предоставлены следующие файлы:
 - 1) Файл с метаданными (при загрузке в систему ему присваивается имя «Метаданные»):
 - фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность автора, ответственного за дальнейшую переписку с редакцией (на русском и английском языках);
 - название учреждения, где работает ответственный автор (в русском и официально принятом английском вариантах);
 - почтовый адрес для переписки с указанием почтового индекса (на русском и английском языках);
 - телефон, факс (с указанием кода страны и города), e-mail;
 - фамилия и инициалы остальных соавторов, их ученые степени, ученые звания, должности;
 - полное название статьи, направляемой в редакцию;
 - количество страниц текста, количество рисунков, количество таблиц;
 - раздела журнала, для которого предназначена данная работа: «Лекции», «Обзоры», «Оригинальные статьи», «Краткие сообщения», «В помощь практическому врачу»;
 - дата отправления работы.
 - 2) Отсканированная копия файла с метаданными подписанная всеми авторами (при загрузке в систему ему присваивается имя «Подписи авторов»).

- 3) Титульный лист (при загрузке в систему ему присваивается имя «Титульный лист»), по форме:
 - название статьи (без использования каких-либо сокращений, на русском и английском языках);
 - фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность каждого из соавторов статьи (полностью, на русском и английском языках);
 - подразделение и учреждение, в котором выполнялась работа; в случае, если авторами статьи являются сотрудники разных учреждений, то последние нумеруются по порядку, начиная с единицы, и соответствующая цифра размещается после фамилии автора, представляющего данное учреждение; для маркировки авторов в англоязычной части статьи вместо цифр используются латинские буквы (a, b, c, d и т.д.);
 - сокращенное название статьи для верхнего колонтитула (не более 35 символов, включая пробелы и знаки препинания, на русском и английском языках);
 - не менее 6 ключевых слов на русском и английском языках;
 - адрес для переписки с указанием номера телефона, факса и адреса e-mail.
- 4) Резюме (при загрузке в систему ему присваивается имя «Резюме»). Предоставляется в виде одного абзаца без ссылок и специфических сокращений. Объем — не менее 300 слов. Резюме в полном объеме представляется также в переводе на английский язык. В отдельных случаях, по решению редакционной коллегии, может быть затребован развернутый вариант резюме на английском языке.
- 5) Рисунки, если они есть — каждый отдельным файлом (при загрузке в систему каждому рисунку присваивается имя «Рисунок_Порядковый номер рисунка. Название рисунка»).
- 6) Файл в формате .doc, .docx, .rtf со списком, в котором указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные.
- 7) Таблицы, если они есть — каждая отдельным файлом (название каждой таблицы должно быть приведены заголовком в файле с самой таблицей).
- 8) Файл с цитируемой литературой (при загрузке в систему ему присваивается имя «Литература») в виде таблицы из четырех столбцов (альбомная ориентация), где:

| Порядковый номер ссылки | Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные | Ф.И.О., название публикации и источника на английском языке | Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или ее DOI |
|---|--|---|--|
| Размещаются в таблице в алфавитном порядке, вначале русскоязычные, затем на языках с латинской графикой | Указывать по библиографическому стандарту, представленному выше | Официальное англоязычное название публикации и источника, где она опубликована — для русскоязычных статей. В редких случаях, когда не существует официальных англоязычных названий, редакция просит предоставлять их перевод, обозначая его красным цветом шрифта. Для англоязычных публикаций и источников в этом столбце ставится прочерк | В том случае, если информация о статье не размещена на официальном сайте издания, допустимо использовать URL статьи со сторонних сайтов, в т.ч. системы www.e-library.ru . DOI статьи приводится в квадратных скобках после URL-адреса |

4. Текст должен быть набран с одинарным межстрочным интервалом; используется кегль шрифта в 14 пунктов; для выделения используется курсив, а не подчеркивание; все ссылки на иллюстрации, графики и таблицы расположены в соответствующих местах в тексте, а не в конце документа.
5. Текст соответствует стилистическим и библиографическим требованиям.
6. Если вы отправляете статью в рецензируемый раздел журнала, то вы согласны с требованиями слепого рецензирования, подробнее о котором можно узнать на сайте журнала (<http://iimmun.ru>) в рубрике «Рецензирование» раздела «О журнале».

**Вы можете оформить подписку на журнал
 «Инфекция и иммунитет» через отделения связи:
 Каталог «Роспечать» — индекс 95001;
 Объединенный каталог «Пресса России» и электронный каталог «Российская периодика»
 в сети Internet на сайте www.agrk.org — индекс 41392.
 Цена свободная.
 Подписка на электронную версию журнала
 на сайте www.elibrary.ru**

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

| | | | | | | | |
|----------------------|-----|------------------|-----|---------------------|-----|------------------|-----|
| Абдулазизхожиев Б.К. | 973 | Крицкая И.В. | 875 | Шайхразиева Н.Д. | 934 | Luong M.T. | 905 |
| Агафонова Е.В. | 934 | Кукурика А.В. | 989 | Шапаков Н.А. | 917 | Milichkina A.M. | 887 |
| Алейник В.А. | 973 | Куликов С.Н. | 934 | Шелканов М.Ю. | 837 | Morozova N.F. | 887 |
| Апт А.С. | 809 | Куличенко А.Н. | 917 | Эсауленко Е.В. | 875 | Mota L. | 979 |
| Ашуралиева Н.Д. | 973 | Линге И.А. | 809 | Юровская Е.И. | 989 | Nasiri E. | 984 |
| Байдакова Е.В. | 875 | Лопушов Д.В. | 934 | Amyrosyeva T.V. | 887 | Navyshnaya M.V. | 887 |
| Бляхер М.С. | 943 | Лялина Л.В. | 875 | Andrade C.F. | 979 | Nguyen T.T.T. | 905 |
| Буланович Ю.А. | 927 | Ляхимец В.А. | 989 | Autukhova N.L. | 887 | Novikova N.A. | 905 |
| Бурова Л.А. | 853 | Малеев В.В. | 837 | Babilo A.S. | 887 | Obasi D.O. | 958 |
| Буц Л.В. | 875 | Малецкая О.В. | 820 | Bachurin H.V. | 865 | Obeten U.N. | 958 |
| Буцкая М.Ю. | 875 | Манахов К.М. | 951 | Belyaev N.N. | 887 | Okafor A.C. | 958 |
| Васильев Д.В. | 875 | Михайлов Н.В. | 965 | Bezugly M.B. | 865 | Petrova O.A. | 887 |
| Васильева О.В. | 917 | Новак К.Е. | 875 | Bichurina M.A. | 905 | Podushkina E.A. | 887 |
| Власов Е.В. | 943 | Останкова Ю.В. | 875 | Bondarenko S.V. | 887 | Polishchuk N.N. | 865 |
| Гаврилова Е.А. | 853 | Пигаревский П.В. | 853 | Bukina Yu.V. | 865 | Ponomareva N.V. | 905 |
| Галимов Р.Р. | 875 | Платонов А.Е. | 820 | Caldas C. | 979 | Popova A.Yu. | 887 |
| Галкина И.В. | 837 | Повышева Е.В. | 951 | Carvalho J.F. | 979 | Rodrigues C. | 979 |
| Гилязова А.Р. | 951 | Подопригора Е.И. | 917 | Cherkovskaya O.S. | 865 | Romanenkova N.I. | 905 |
| Гилязутдинова Г.Ф. | 934 | Прислегина Д.А. | 820 | Cordeiro L.R. | 979 | Rozaeva N.R. | 905 |
| Горелова Г.В. | 965 | Равзатов Ж.Б. | 973 | Dashkevich A.M. | 887 | Rubaniuk L.V. | 887 |
| Горзий Е.С. | 875 | Решетникова И.Д. | 934 | David C.N. | 958 | Sadovnikov G.V. | 887 |
| Гребенкина Е.В. | 875 | Рыжиков А.Б. | 927 | David E.E. | 958 | Salazhkova I.F. | 887 |
| Дедков В.Г. | 837 | Савельев В.Н. | 917 | Drobyshevskaya V.G. | 887 | Samoilovich E.O. | 887 |
| Дубянский В.М. | 820 | Савельева И.В. | 917 | Dronina A.M. | 887 | Selivanova S.G. | 905 |
| Дуриманов А.Г. | 927 | Сайфуллин М.А. | 943 | Egorova S.A. | 887 | Semeiko G.V. | 887 |
| Жураева М.А. | 973 | Самков А.А. | 943 | Emeribole M.N. | 958 | Shepelevich L.P. | 887 |
| Зверева Н.Н. | 943 | Сарксян Д.С. | 951 | Esmanchik O.P. | 887 | Shilov M.V. | 887 |
| Зиятдинов В.Б. | 934 | Святченко С.В. | 927 | Ezeilo U.R. | 958 | Shmeleva N.P. | 887 |
| Иванова Е.В. | 927 | Серикина Е.Н. | 875 | Glinskaya I.N. | 887 | Silva F.F. | 979 |
| Иванова К.И. | 927 | Сиволодский Е.П. | 965 | Golitsyna L.N. | 905 | Skuranovich A.L. | 887 |
| Ильина М.А. | 943 | Смирнова Н.А. | 875 | Gubanova A.V. | 887 | Smirnov V.S. | 887 |
| Ильичева Т.Н. | 927 | Старкова Д.А. | 965 | Hosseini F. | 984 | Smolenskiy V.Yu. | 887 |
| Исаева Г.Ш. | 934 | Таран Т.В. | 917 | Igwenyi I. | 958 | Svetogor T.N. | 887 |
| Калинина Е.Л. | 875 | Торжкова П.Ю. | 927 | Ivanov V.M. | 887 | Tarasenko A.A. | 887 |
| Капустин И.В. | 943 | Тоголян Арег А. | 875 | Kanaeva O.I. | 905 | Tkach L.M. | 887 |
| Кирхар Н.В. | 875 | Тоголян Артем А. | 853 | Karaban I.A. | 887 | Totolian Areg A. | 887 |
| Ковалев Д.А. | 917 | Тулская Е.А. | 943 | Kariminik A. | 984 | Verbov V.N. | 887 |
| Колосова Н.П. | 927 | Тюрин Ю.А. | 934 | Khamitova I.V. | 887 | Volosar L.A. | 887 |
| Кольцов Н.С. | 875 | Федорова И.М. | 943 | Kireichuk V.V. | 887 | Yameen M.A. | 958 |
| Котелева С.И. | 943 | Халикова Д.С. | 973 | Korobova Z.R. | 887 | Zagorskaya T.O. | 887 |
| Котович Л.М. | 875 | Хорькова Е.В. | 875 | Lazaryk O.L. | 865 | Zinych O.L. | 865 |
| Краева Л.А. | 965 | Цыбульский А.В. | 837 | Leonov A.V. | 905 | Zueva E.V. | 887 |
| Красноперова М.А. | 875 | Черепанова Е.А. | 875 | Likhachev I.V. | 887 | Zverev V.V. | 905 |

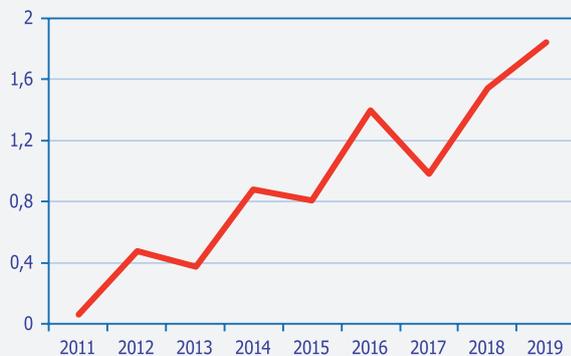
ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

| | | | | | |
|------------------------------------|----------|--|-----|------------------------------------|---------------|
| антимикобактериальные агенты | 809 | первичная вирусная пневмония | 837 | asymptomatic course | 887 |
| антимикробные пептиды | 837 | переносчики возбудителей инфекций | 820 | autoantibodies | 979 |
| антиретровирусная терапия | 989 | плазмин | 853 | autoimmunity | 979 |
| антрацилиновая кислота | 965 | плазмидоген | 853 | bacteroids | 865 |
| атрофический гастрит | 973 | пневмония | 837 | BBIBP-CorV vaccine | 887 |
| биотрансформация L-триптофана | | популяционный иммунитет | 927 | biofilms | 958 |
| антрацилиновым путем | 965 | преднизолон | 943 | biovar <i>tryptophandestruens</i> | 965 |
| вакцинация | 875 | природно-очаговые инфекции | 951 | Chikungunya | 979 |
| вирус гриппа | 927 | продукция интерферонов <i>in vitro</i> | 943 | circulation | 905 |
| вирусные гепатиты | 989 | противотуберкулезные препараты | 989 | coronaviruses | 887 |
| вирусный гепатит В | 875 | противоэпидемические мероприятия | 934 | COVID-19 | 837, 887, 934 |
| ВИЧ-инфекция | 951, 989 | ПЦР-диагностика | 917 | CXCL11 | 984 |
| врожденный иммунитет | 837 | реакция торможения геммагглютинации | 927 | diarrheagenic <i>E. coli</i> (DEC) | 958 |
| геморрагическая лихорадка | | респираторное заболевание | 837 | diarrheal stool | 958 |
| с почечным синдромом | 820, 951 | серопреvalентность | 934 | enterovirus infection | 905 |
| геноварианты биовара Эль-Тор | 917 | смертность от гриппа | 927 | epidemic process | 905 |
| генотипы | 875 | специфические IgG-антитела | | Gam-COVID-Vac vaccine (Sputnik V) | 887 |
| гиппурат натрия | 965 | к вирусу SARS-CoV-2 | 934 | gene expression | 984 |
| группы риска | 927 | специфические IgM-антитела | | identification | 905 |
| гуморальный иммунитет | 934 | к вирусу SARS-CoV-2 | 934 | IFN α | 943 |
| заболеваемость | 875 | стрептокиназа | 853 | IFN γ | 943 |
| заболеваемость населения | 820 | сывороточные гидролазы желудка | 973 | IgG Fc-связывающая активность | |
| защитные титры антител | 927 | сывороточные гидролазы | | стрептококков | 853 |
| идентификация | 965 | поджелудочной железы | 973 | microbiome | 865 |
| иммунный ответ | 809 | туберкулез | 809 | morbidity | 887 |
| иммуноопосредованное повреждение | 951 | тяжелое заболевание | 927 | multi-drug resistance | 958 |
| инфекционный мононуклеоз | 943 | факторы | 989 | multiplex PCR | 958 |
| клещевой вирусный энцефалит | 820 | хемоаттрактанты | 809 | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | 809 |
| климатические факторы | 820 | холера Эль-Тор | 917 | parietal microbiota | 865 |
| клиника | 917 | хроническая почечная патология | 951 | polymerase chain reaction | 958 |
| коронавирусы | 837 | хронический гепатит В | 973 | population | 887 |
| Крымская геморрагическая лихорадка | 820 | эволюция возбудителя | 917 | RAGE | 984 |
| лабораторное обоснование | | экспериментальный стрептококковый | | rats | 865 |
| интерферонотерапии | 943 | гломерулонефрит | 853 | Republic of Belarus | 887 |
| легочное воспаление | 809 | элиминация | 875 | rheumatoid arthritis | 979 |
| лихорадка Западного Нила | 820 | эпидемиологический надзор | 917 | <i>Salmonella</i> | 865 |
| медицинские работники | 934 | эпидемиология | 917 | SARS-CoV-2 | 887 |
| мультирезистентный туберкулез | 989 | <i>Acinetobacter baumannii</i> | 965 | septicemia | 984 |
| нейтрофилы | 809 | antibiotic resistance | 958 | seroprevalence | 887 |
| острое повреждение почек | 951 | anti-nucleocapsid antibodies | 887 | <i>Streptococcus pyogenes</i> | 853 |
| панкреатит | 973 | anti-RBD antibodies | 887 | vaccination | 887 |
| патогенез | 917 | arboviruses | 979 | vancomycin | 865 |

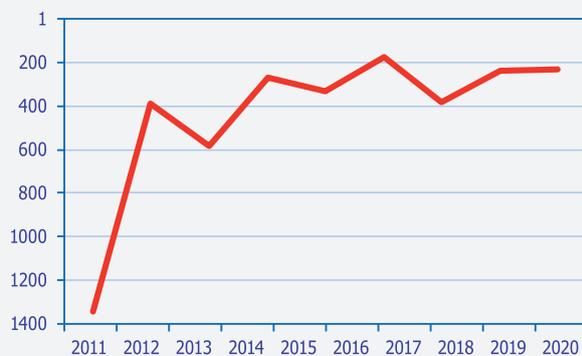
РОССИЙСКИЙ ИНДЕКС НАУЧНОГО ЦИТИРОВАНИЯ

| Название показателя | Значение |
|---|------------|
| Общее число выпусков журнала | 49 |
| Общее число статей из журнала | 2417 |
| Общее число статей с полными текстами | 2166 |
| Суммарное число цитирований журнала в РИНЦ | 3065 |
| Среднее число статей в выпуске | 49 |
| Число выпусков в год | 6 |
| <hr/> | |
| Место в общем рейтинге SCIENCE INDEX за 2020 год | 233 |
| Место в рейтинге SCIENCE INDEX за 2020 год по тематике "Медицина и здравоохранение" | 38 |
| <hr/> | |
| Место в рейтинге по результатам общественной экспертизы | 770 |
| Средняя оценка по результатам общественной экспертизы | 2,852 |
| Число анкет с проставленной оценкой данному журналу | 236(14,6%) |

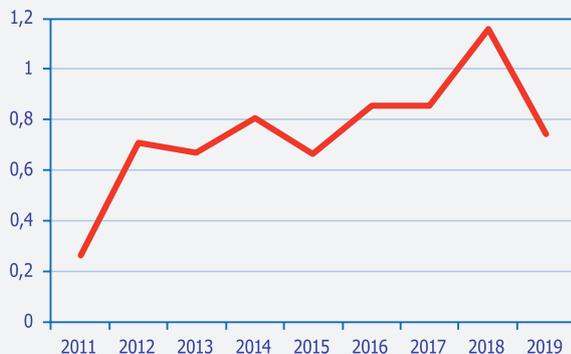
Показатель журнала в рейтинге SCIENCE INDEX



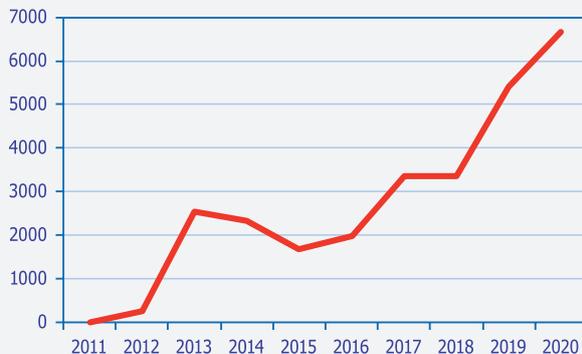
Место журнала в рейтинге SCIENCE INDEX



Двухлетний импакт-фактор РИНЦ



Число загрузок статей за год



Подписной индекс:
Роспечать – 95001
Пресса России – 41392

ISSN 2220-7619



9 772220 761900