

2022

ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ

15 сентября 1922 года
День образования государственной
санитарно-эпидемиологической службы России



ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ

июль–август

2022, том 12

№ 4

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

Главный редактор

Тотоян 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, зав. лабораторией нейродегенерации Института Пастера, Монтевидео, Уругвай
Брей П. д.б.н., профессор, зав. лабораторией медицинской энтомологии и биологии переносчиков болезней Института Пастера в Лаосе, 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
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, научный руководитель ФГБУ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА, Санкт-Петербург, Россия
Лоузир Э. профессор, президент 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
Маеда К. д.вет.н., профессор, директор Национального института инфекционных заболеваний, Токио, Япония
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, зав. отделом инфекционной микробиологии Института микробиологии им. Стефана Ангеловфа, София, Болгария
Онищенко Г.Г. д.м.н., профессор, академик РАН, зам. председателя Российской академии образования, 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
Тотоян 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
Хаитов 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
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 30.08.2022 г. Формат 60 x 90 1/8.
Печать офсетная. Усл.-печ. л. 25.
Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.).
Заказ № 1259

© Инфекция и иммунитет
© Северо-Западное отделение медицинских наук, 2022
© НИИЭМ имени Пастера, 2022
© СПб РО РААКИ, 2022

Russian Journal of Infection and Immunity (Infektsiya i immunitet)

July–August

2022, volume 12

No. 4

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, Head of the Laboratory of Neurodegeneration, 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

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, Scientific Director, St. Petersburg, Russian Federation

Hechmi Louzir Professor, Institute Pasteur de Tunis, President, 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

Ken Maeda PhD, MD (Veterinary), Professor, National Institute of Infectious Diseases, Director, Tokyo, Japan

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; Head of the Department of Infectious Microbiology, Sofia, Bulgaria

Gennadiy G. Onishchenko PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Deputy President of the Russian Academy of Education, 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
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 30.08.2022. 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, 2022

© St. Petersburg Pasteur Institute, 2022

© SPb RAACI, 2022

СОДЕРЖАНИЕ

Обзоры

Казачинская Е.И., Арипов В.С., Иванова А.В., Шестопапов А.М.

ЛИХОРАДКА ЛАССА. ЧАСТЬ 2. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ, РАЗРАБОТКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ 609

Киселева И.В., Ксенафонтов А.Д.

РИНО- И РС-ВИРУСЫ В ПАНДЕМИЮ COVID-19 624

Беляков Н.А., Боева Е.В., Загдын З.М., Эсауленко Е.В., Лиознов Д.А., Симакина О.Е.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И ТЕЧЕНИЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ФОНЕ ПАНДЕМИИ COVID-19. СООБЩЕНИЕ 1. ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ, ХРОНИЧЕСКИЙ ГЕПАТИТ С И ТУБЕРКУЛЕЗ 639

Киселевский М.В., Трещалина Е.М., Михайлова И.Н., Мартиросян Д.В., Манина И.В., Решетникова В.В., Козлов И.Г.

ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ИММУНОСУПРЕССИВНЫХ СОСТОЯНИЙ У БОЛЬНЫХ COVID-19 651

Оригинальные статьи

Крюкова А.В., Марков Е.Ю., Николаев В.Б., Попова Ю.О., Климов В.Т., Игумнова С.В., Андреевская Н.М., Уланская А.В., Загоскина Т.Ю., Чеснокова М.В.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И АНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА ИЗВЛЕКАЕМЫХ МОЧЕВИНОЙ ПОВЕРХНОСТНЫХ СТРУКТУР *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* O:1B 659

Попов А.Ф., Маркелова Е.В., Комарова И.А., Костюшко А.В., Щелканов М.Ю.

ВЛИЯНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА КАГОЦЕЛ НА УРОВНИ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ ММР-8 И ММР-9 И ИХ ТКАНЕВЫХ ИНГИБИТОРОВ TIMP-1 И TIMP-2 В ИНДУЦИРОВАННОЙ МОКРОТЕ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ВИРУСНО-БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ 668

Перепелица С.А.

ДИАГНОСТИКА СИНДРОМА АКТИВАЦИИ МАКРОФАГОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСХОДНОГО УРОВНЯ IL-6 У ПАЦИЕНТОВ С НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ SARS-CoV-2 677

Чистякова Г.Н., Мальгина Г.Б., Устюжанин А.В., Ремизова И.И.

ФОРМИРОВАНИЕ ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОГО И ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К SARS-CoV-2 У МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ ПЕРИНАТАЛЬНОГО ЦЕНТРА 688

Лягоскин И.В., Каргополова П.Е., Обьедков Д.А., Егорова И.Ю., Шукуров Р.Р.

ВНУТРИЛАБОРАТОРНАЯ ВАЛИДАЦИЯ «ТИГРАТЕСТ® SARS-CoV-2» — ТЕСТА НА ВЫСВОБОЖДЕНИЕ ИНТЕРФЕРОНА ГАММА *IN VITRO* ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ В КРОВИ Т-ЛИМФОЦИТОВ, СПЕЦИФИЧЕСКИ ОТВЕЧАЮЩИХ НА АНТИГЕНЫ ВИРУСА SARS-CoV-2 701

Троценко О.Е., Бондаренко А.П., Шмыленко В.А., Базыкина Е.А., Пшеничная Н.Ю., Зайцева Т.А., Ткачева Н.К., Огиенко О.Н.

БАКТЕРИАЛЬНАЯ МИКРОФЛОРА РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА, ВЫЯВЛЕННАЯ У БОЛЬНЫХ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ В ПЕРИОД ПРОДОЛЖАЮЩЕГОСЯ РАСПРОСТРАНЕНИЯ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В г. ХАБАРОВСКЕ (ДЕКАБРЬ 2020 — МАРТ 2021 г.) 713

Ермоленко Е.И., Молостова А.С., Барышникова Н.В., Сварваль А.В., Гладышев Н.С., Кащенко В.А., Суворов А.Н.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОБИОТИКОВ И АУТОПРОБИОТИКОВ В МОНОТЕРАПИИ ДИСПЕПСИИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ИНФЕКЦИЕЙ *HELICOBACTER PYLORI* 726

Холопов Д.В., Вязовая А.А., Топузов Э.Э., Алексеева Д.А., Молчанов С.В., Лялина Л.В.

ВЫЯВЛЯЕМОСТЬ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА, ВИРУСНАЯ НАГРУЗКА И ФАКТОРЫ РИСКА У ПАЦИЕНТОВ С ПРЕДРАКОВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ 735

Сафонова М.В., Симонова Е.Г., Лопатин А.А., Долгова А.С., Дедков В.Г.

РАЗРАБОТКА КРИТЕРИЕВ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫХ ИНФЕКЦИЙ ВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ 745

Нечаева О.В., Шульгина Т.А., Зубова К.В., Глинская Е.В., Беспалова Н.В., Дарьин Н.И., Тихомирова Е.И., Афиногенова А.Г.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ВОДНЫХ ДИСПЕРСИЙ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	755
--	------------

Краткие сообщения

Джабал А.Р., Мутиасари Д., Акбар Х., Арфах М., Мархани, Рини, Собак Н.А., Пису А.Д., Тоэмон А.И., Ратнасари А.

ТИП ЦЕРКАРИЙ В ПРЕСНОВОДНЫХ УЛИТКАХ ВОДОХРАНИЛИЩА ТУНГУ ПАМПАНГ, ГОРОД МАКАССАР, ИНДОНЕЗИЯ	765
---	------------

Зуева Е.В., Беляев Н.Н., Вербов В.Н., Лихачев И.В., Бачинин И.А., Хамитова И.В., Коробова З.Р.,
Арсентьева Н.А., Тотолян А.А.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ «N-CoV-2-IgG PS» ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ IgG ЧЕЛОВЕКА К НУКЛЕОКАПСИДНОМУ БЕЛКУ SARS-CoV-2	771
--	------------

Воробьева О.В., Романова Л.П.

СЛУЧАЙ АБСЦЕДИРУЮЩЕЙ ПНЕВМОНИИ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ COVID-19 У МОЛОДОЙ ПАЦИЕНТКИ	779
--	------------

Степанов В.С.

ОЦЕНКА УРОВНЯ СМЕРТНОСТИ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ SARS-CoV-2 В РЕГИОНАХ РОССИИ, НА ОСНОВЕ ЭКОНОМЕТРИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ	783
--	------------

В помощь практическому врачу

Попова А.Ю., Демина Ю.В., Зайцева Н.Н., Кучеренко Н.С., Денисенко А.Н., Точилина А.Г., Белова И.В.,
Белозеров Г.А., Полянина А.В., Садыкова Н.А., Соловьева И.В.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ РИНООРБИТАЛЬНОГО МУКОМИКОЗА У БОЛЬНОЙ, ПЕРЕНЕСШЕЙ COVID-19: ДИАГНОСТИКА И ТАКТИКА ЛЕЧЕНИЯ	790
---	------------

Правила для авторов	797
----------------------------------	------------

Авторский указатель	800
----------------------------------	------------

Предметный указатель	800
-----------------------------------	------------

CONTENTS

Reviews

Kazachinskaja E.I., Aripov V.S., Ivanova A.V., Shestopalov A.M.

LASSA FEVER. PART 2. LABORATORY DIAGNOSTICS, TREATMENT, DEVELOPMENT OF MEDICATIONS 609

Kiseleva I.V., Ksenafontov A.D.

RHINO- AND RS-VIRUSES IN THE COVID-19 PANDEMIC 624

Belyakov N.A., Boeva E.V., Zagdyn Z.M., Esaulenko E.V., Lioznov D.A., Simakina O.E.

**EPIDEMIOLOGY AND COURSE OF INFECTIOUS DISEASES DURING THE COVID-19 PANDEMIC.
REPORT 1. HIV INFECTION, HEPATITIS C AND TUBERCULOSIS** 639

Kiselevskiy M.V., Treshalina H.M., Mikhailova I.N., Martirosyan D.V., Manina I.V., Reshetnikova V.V., Kozlov I.G.

OPPORTUNITIES FOR CORRECTION OF IMMUNOSUPPRESSION IN PATIENTS WITH COVID-19 651

Original articles

*Kryukova A.V., Markov E.Yu., Nikolaev V.B., Popova Yu.O., Klimov V.T., Igumnova S.V., Andreevskaya N.M., Ulanskaya A.V.,
Zagoskina T.Yu., Chesnokova M.V.*

**PHYSICOCHEMICAL AND ANTIGENIC PROPERTIES OF THE UREA-EXTRACTED SURFACE STRUCTURES
OF YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS O:1B** 659

Popov A.F., Markelova E.V., Komarova I.A., Kostushko A.V., Shchelkanov M.Yu.

**AN EFFECT OF THE ANTIVIRAL DRUG KAGOCEL ON THE LEVELS OF MATRIX METALLOPROTEINASES
MMP-8 AND MMP-9 AND THEIR TISSUE INHIBITORS TIMP-1 AND TIMP-2 IN INDUCED SPUTUM DURING
COMBINED TREATMENT OF COMMUNITY-ACQUIRED VIRAL-BACTERIAL PNEUMONIA** 668

Perepelitsa S.A.

**DIAGNOSTICS OF MACROPHAGE ACTIVATION SYNDROME, DEPENDING ON IL-6 INITIAL LEVEL
IN PATIENTS WITH A NOVEL CORONAVIRUS INFECTION** 677

Chistyakova G.N., Malgina G.B., Ustyuzhanin A.V., Remizova I.I.

**FORMATION OF ANTI-INFECTIOUS AND POST-VACCINATION ANTI-SARS-CoV-2 HUMORAL IMMUNITY
IN MEDICAL WORKERS OF THE PERINATAL CENTER** 688

Lyagoskin I.V., Kargopolova P.E., Obyedkov D.A., Egorova I.Yu., Shukurov R.R.

**INTRA-LABORATORY VALIDATED “TIGRATEST® SARS-CoV-2” – TEST ASSESSING RELEASE
OF INTERFERON GAMMA *IN VITRO* TO IDENTIFY PERIPHERAL BLOOD T-LYMPHOCYTES
SPECIFICALLY RESPONDING AGAINST SARS-CoV-2 VIRUS ANTIGENS** 701

*Trotsenko O.E., Bondarenko A.P., Shmylenko V.A., Bazykina E.A., Pshenichnaya N.Yu., Zaitseva T.A.,
Tkacheva N.K., Ogienko O.N.*

**CHARACTERISTICS OF RESPIRATORY TRACT BACTERIAL MICROFLORA DETECTED IN PATIENTS
SUFFERING FROM COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA DURING CONTINUING SPREAD OF THE NEW
CORONAVIRUS INFECTION IN Khabarovsk CITY (DECEMBER 2020 – MARCH 2021)** 713

Ermolenko E.I., Molostova A.S., Baryshnikova N.V., Svarval A.V., Gladyshev N.S., Kashchenko V.A., Suvorov A.N.

**THE CLINICAL EFFECTIVENESS OF PROBIOTICS AND AUTOPROBIOTICS IN TREATMENT
OF HELICOBACTER PYLORI-ASSOCIATED DYSPEPSIA** 726

Kholopov D.V., Vyazovaya A.A., Topuzov E.E., Alekseeva D.A., Molchanov S.V., Lyalina L.V.

**DETECTION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS, VIRAL LOAD AND RISK FACTORS IN PATIENTS
WITH PRECANCEROUS DISEASES AND MALIGNANT NEOPLASMS IN ST. PETERSBURG** 735

Safonova M.V., Simonova E.G., Lopatin A.A., Dolgova A.S., Dedkov V.G.

**DEVELOPMENT OF QUANTITATIVE CRITERIA FOR ASSESSING EPIDEMIC POTENTIAL
OF THE NATURAL-FOCAL VIRAL INFECTIONS** 745

Nechaeva O.V., Shulgina T.A., Zubova K.V., Glinskaya E.V., Bespalova N.V., Darin N.I., Tichomirova E.I., Afinogenova A.G.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF AQUEOUS DISPERSIONS OF SILVER NANOPARTICLES AGAINST PATHOGENS OF PURULENT-INFLAMMATORY DISEASES	755
--	------------

Short communications

Jabal A.R., Mutiasari D., Akbar H., Arfah M., Marhani, Rini, Sobak N.A., Pisu A.J., Toemon A.I., Ratnasari A.

TYPE OF CERCARIA IN FRESHWATER SNAILS AT TUNGGU PAMPANG RESERVOIR, MAKASSAR CITY, INDONESIA	765
--	------------

Zueva E.V., Belyaev N.N., Verbov V.N., Likhachev I.V., Bachinin I.A., Khamitova I.V., Korobova Z.R., Arsentieva N.A., Totolian A.A.

CHARACTERIZING A “N-CoV-2-IgG PS” DIAGNOSTIC KIT TO QUANTIFY SARS-CoV-2 NUCLEOCAPSID PROTEIN-SPECIFIC HUMAN IGG ANTIBODIES	771
---	------------

Vorobeva O.V., Romanova L.P.

A CASE OF ABSCESED PNEUMONIA DUE TO COVID-19 INFECTION IN A YOUNG PATIENT	779
--	------------

Stepanov V.S.

ASSESSING SARS-CoV-2-RELATED MORTALITY RATE IN RUSSIAN REGIONS, BASED ON THE ECONOMETRIC MODEL	783
---	------------

For the practical physicians

Popova A.Yu., Demina Yu.V., Zaytseva N.N., Kucherenko N.S., Denisenko A.N., Tochilina A.G., Belova I.V., Belozerov G.A., Polyagina A.V., Sadykova N.A., Soloveva I.V.

CLINICAL CASE OF RHINO-ORBITAL MUCORMYCOSIS IN A CONVALESCENT COVID-19 PATIENT: DIAGNOSTIC AND TREATMENT TACTICS	790
---	------------

Instructions to Authors	797
--------------------------------------	------------

Author index	800
---------------------------	------------

Subject index	800
----------------------------	------------

ЛИХОРАДКА ЛАССА. ЧАСТЬ 2. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ, РАЗРАБОТКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ*

Е.И. Казачинская^{1,2}, В.С. Арипов², А.В. Иванова², А.М. Шестопапов¹

¹ Научно-исследовательский институт вирусологии Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины Сибирского отделения Российской Академии наук, Новосибирск, Россия

² Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

Резюме. Глобализация и скоростные средства передвижения способствуют распространению инфекций, опасных для человека. Патогены, передаваемые воздушно-капельным путем, обладают пандемическим потенциалом, как в настоящее время показано на примере нового коронавируса SARS-CoV-2. Природно-очаговая лихорадка Ласса (ЛЛ), распространенная в странах западной Африки, в 35 случаях была зарегистрирована на неэндемичных географических районах, так как человек, инфицированный вирусом Ласса (*Lassa virus*, LASV), является источником инфекции длительное время (до двух месяцев). На эндемичных территориях описаны случаи заражения при передаче вируса «от человека к человеку». В Германии зафиксированы факты вторичной передачи вируса от пациентов врачам при осмотре и взятии крови у внешне здорового человека, а также при вскрытии погибшего в результате тяжелого течения ЛЛ. Неспецифические симптомы недомогания при ЛЛ характерны и для других многочисленных заболеваний, распространенных на африканском континенте, например, при малярии и брюшном тифе или при вирусных инфекциях — это желтая лихорадка, лихорадки Чикунгунья, денге и Зика, оспа обезьян и болезнь, вызванная вирусом Эбола. При протекании этих болезней могут быть и схожие дерматологические проявления. Своевременное выявление заболевших и дифференциальная диагностика имеют решающее значение для обеспечения безопасного ухода за пациентами и применения доступной противовирусной терапии (при ЛЛ это препарат рибавирин). Методы научных исследований LASV включают: анализы на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) по определению вирусной РНК, электронную микроскопию, выделение инфекционного вируса на культуре чувствительных клеток, реакцию непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ), иммуноферментный (ИФА) и иммунохроматографический (ИХА) анализы по выявлению антител и/или антигена, а также иммуноблоттинг. Для диагностики ЛЛ в настоящее время, в основном, используют тест-системы на основе молекулярно-генетических методов. С 80-х гг. XX в. и до сих пор для лечения пациентов с ЛЛ используют рибавирин, но накопление этого препарата в плазме в больших количествах вызывает гемолиз, развитие анемии и нарушение функции почек. В связи с этим рассматриваются варианты лечения при уменьшении его концентрации за счет сочетанного использования с другими противовирусными препаратами. Идет поиск новых терапевтических средств, способных ингибировать вирусную репликацию на ранней стадии болезни, так как зарегистрированные вакцины отсутствуют.

Ключевые слова: лихорадка Ласса, вирус Ласса, особо опасные инфекции, этиология, эпидемиология, клиническая картина лихорадки Ласса.

* Часть 1 опубликована в № 3 журнала «Инфекция и иммунитет» за 2022 г.

Адрес для переписки:

Казачинская Елена Ивановна
630559, Россия, Новосибирская область, р.п. Кольцово,
ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора.
Тел.: 8 909 530-74-41.
E-mail: lena.kazachinskaia@mail.ru

Contacts:

Elena I. Kazachinskaia
630559, Russian Federation, Novosibirsk region, Koltsovo,
State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector".
Phone: +7 909 530-74-41.
E-mail: lena.kazachinskaia@mail.ru

Для цитирования:

Казачинская Е.И., Арипов В.С., Иванова А.В., Шестопапов А.М.
Лихорадка Ласса. Часть 2. Лабораторная диагностика, лечение,
разработки лекарственных препаратов // Инфекция и иммунитет. 2022.
Т. 12, № 4. С. 609–623. doi: 10.15789/2220-7619-LFL-1815

Citation:

Kazachinskaia E.I., Aripov V.S., Ivanova A.V., Shestopalov A.M. Lassa fever.
Part 2. Laboratory diagnostics, treatment, development of medications //
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022,
vol. 12, no. 4, pp. 609–623. doi: 10.15789/2220-7619-LFL-1815

LASSA FEVER. PART 2. LABORATORY DIAGNOSTICS, TREATMENT, DEVELOPMENT OF MEDICATIONS

Kazachinskaia E.I.^{a,b}, Aripov V.S.^b, Ivanova A.V.^b, Shestopalov A.M.^a

^a *Research Institute of Virology, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation*

^b *State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector", Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare (Rosпотребнадзор), Kol'tsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

Abstract. Globalization and high-speed means of transportation contribute to the spread of infections dangerous to humans. Airborne pathogens have pandemic potential as currently shown in case of the novel coronavirus SARS-CoV-2. Natural focal Lassa fever (LF) common in West African countries, in 35 cases was registered in non-endemic geographical areas because any person infected with Lassa virus (LASV) is a long-term source of infection (up to two months). Cases of person-to-person infection in endemic territories are described. In Germany, the facts of secondary virus transmission from patients to doctors have been recorded during the examination and blood collection from an apparently healthy person as well as during the autopsy of a deceased subjects due to severe LF course. Nonspecific malaise symptoms in LF are also characteristic of numerous other diseases common on the African continent, e.g., malaria and typhoid fever or viral infections such as yellow fever, Chikungunya, dengue and Zika, monkey pox and Ebola virus disease. In this regard, there may be similar dermatological manifestations. Timely detection of cases and differential diagnosis are crucial to ensure safe patient care and use of affordable antiviral therapy for LL provided by the drug Ribavirin. Research methods for studying LASV use polymerase chain reaction (PCR) for detecting viral RNA, electron microscopy, isolation of infectious virus cultured sensitive cells, indirect immunofluorescence reaction, enzyme immunoassay (ELISA) and immunochromatographic assays for the detection of antibodies and/or antigen as well as immunoblotting. Currently, test kits based on molecular and genetic methods are mainly used for LF laboratory diagnostics. Since the 1980s, ribavirin has been used to treat patients with LF. The serum accumulation of the drug in large quantities causes hemolysis, development of anemia and impaired renal function. In this regard, treatment options are being considered with decline in its concentration due to combined use with other antiviral drugs. A search for new therapeutic agents capable of inhibiting viral replication at disease early stage has been in progress due to lack of any approved vaccines.

Key words: *Lassa fever (LF), Lassa virus (LASV), particularly dangerous infection, etiology, epidemiology, clinical manifestation of LF.*

Введение

Глобализация и скоростные средства передвижения способствуют распространению инфекций, опасных для человека. Патогены, передаваемые воздушно-капельным путем, такие как поксвирусы, вирусы гриппа, Нипах и Ласса обладают пандемическим потенциалом. Ярким примером в настоящее время является коронавирус SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) [35], который вызвал пандемию коронавирусной болезни в 2019 г. (coronavirus disease, COVID-19) [54]. По данным ВОЗ на 14.12.2021 г., COVID-19 охватила уже 223 страны и территории, где зарегистрировано 269 млн подтвержденных случаев, погибли более 5,3 млн человек [68].

Эндемичность лихорадки Ласса (ЛЛ) ограничена ареалами обитания грызунов вида «африканская многососковая крыса» (*Mastomys natalensis*) в Западной Африке, где заражение человека происходит, в основном, при непосредственном контакте с выделениями инфицированных животных, оставленными на продуктах питания или попавшими в питьевую воду. Но передача вируса Ласса (Lassa virus, LASV) может происходить также и от человека к человеку через инфицированную кровь или другие жидкости организма [1, 13, 65], так как больной человек яв-

ляется источником инфекции довольно длительное время — в течение двух месяцев [13]. Описаны импортированные случаи ЛЛ, в результате чего из 35 заболевших человек (это путешественники или специалисты разных профессий, вернувшиеся на родину) погибло почти 20% [16, 49]. При этом в Германии зафиксированы факты вторичной передачи LASV врачам как от внешне здорового пациента, но оказавшегося инфицированным [40], так и при вскрытии тела 40-летней медсестры, погибшей в результате ЛЛ после эвакуации из Того в тяжелом состоянии [52].

Клиническая диагностика ЛЛ сложна, так как заболевание проявляется неспецифическими симптомами, характерными и для других эндемичных инфекций (желтая лихорадка и денге, малярия, брюшной тиф и др.) [15, 66]. К таким симптомам относятся повышение температуры тела, недомогание, боль в животе, рвота, головная боль и миалгия [19]. Кроме того, для большинства экономически слабо развитых стран Африки характерно неудовлетворительное состояние лабораторной сети, что так же усложняет выявление возбудителя. Дерматологические проявления в виде сыпи, связанные с отложением иммунных комплексов в кожных капиллярах, характерны как для ЛЛ, так и для желтой лихорадки, оспы обезьян, лихорадок Чикунгуны, денге, Зика и болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ).

Появление макулопапулезной и эритематозной сыпи описывается в настоящее время и у некоторых заболевших COVID-19, поэтому кожные проявления должны быть дифференцированы по тонким признакам для каждой болезни [20].

Из-за контагиозности и высокой летальности среди тяжело заболевших, LASV классифицирован ВОЗ как патоген категории А с потенциальной угрозой его использования для биотерроризма. Кроме того, в соответствии с «Планом исследований и разработок...» этой организации, LASV включен в список патогенов с эпидемическим потенциалом [79]. Дифференциальная диагностика ЛЛ важна, так как в качестве средства для лечения может быть экстренно применен противовирусный препарат рибовирин [67]. Известно, что рибавирин эффективен, если его прием начат в дебюте болезни [56]. Но важно отметить, что описаны побочные действия препарата — это развитие анемии и нарушение функции почек [38, 70]. Зарегистрированные вакцины для профилактики ЛЛ отсутствуют [46], поэтому актуальны подходящие методы лечения, снижающие токсичность рибовирина. Кроме того, необходимы разработки эффективных и безопасных терапевтических препаратов [42, 53, 57, 67]. Более подробно современные литературные данные по этиологии, эпидемиологии и клинической картине лихорадки Ласса представлены в первой части обзора [2].

Иммунитет и выявляемые биологические маркеры при ЛЛ

Реакция организма человека на инфицирование LASV остается пока не очень понятной. При большинстве других вирусных инфекций первоначально вырабатываются антитела класса IgM, затем их количество резко уменьшается. Период реконвалесценции сопровождается увеличением концентрации антител класса IgG, которые сохраняются еще долгое время после того, как инфекция проходит. А в случае ЛЛ, по результатам некоторых ранних и современных наблюдений, показано, что инфекция может приводить к выработке IgM и IgG почти одновременно или IgG появляются в плазме крови даже раньше, чем IgM [36, 87]. Есть сообщение, что в сыворотках крови нормальных здоровых доноров, проживающих на эндемичных по ЛЛ регионах Сьерра-Леоне, у которых в последнее время не было лихорадочных заболеваний, выявлены высокие уровни IgM, специфичных к LASV, что позволяет предположить, что наличие IgM действительно может не коррелировать с острой инфекцией [41]. И вопреки иммунологической догме показано, что IgM, специфичные к LASV, могут сохраняться у переболевших в течение многих лет [23].

Виремия является основным показателем острой инфекции при заражении LASV [23]. Поэтому для раннего диагностирования ЛЛ предпочтительными методами являются ОТ-ПЦР по определению вирусных РНК [18, 28, 29, 64] или методы ИФА для выявления антигенов [18, 21, 41, 44, 76].

Методы научных исследований LASV и лабораторной диагностики ЛЛ

Сбор, хранение и обращение с образцами, содержащими LASV, требуют соблюдения мер предосторожности по уровню биобезопасности, аналогичному при работе с вирусом Эбола (Ebola virus, EBOV) [77]. По Санитарным правилам РФ LASV относится к 1 группе патогенности [11]. В связи с этим верификация диагноза «лихорадка Ласса», а тем более научные исследования с возбудителем болезни, проводятся только в специализированных центрах с высоким уровнем биозащиты. По стандартам западных стран это наивысший, четвертый, уровень безопасности — BSL-4 (Biosafety level) [21]. В РФ такая работа возможна в учреждениях противочумной системы Роспотребнадзора [8] методами, не требующими накопления возбудителя. В полном объеме научные исследования проводятся в референс-центрах этого ведомства по мониторингу за экзотическими, редко встречающимися и новыми инфекционными болезнями, например, во ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» [9], а также в научных организациях Министерства обороны [14]. Наличие лабораторий уровня BSL-4 во всем мире ограничено, и это, возможно, привело к ограничению исследований по разработке и валидации тест-систем для диагностирования ЛЛ с использованием инфекционного материала [66]. По рекомендации ВОЗ, если отсутствует соответствующее обеспечение для соблюдения мер предосторожности, образцы с подозрением на содержание LASV могут быть инактивированы и подготовлены к анализу в боксе биологической безопасности класса II/III [66]. Инактивация вируса достигается при нагревании биологического образца до 60°C в течение 60 мин. Рекомендуется также использовать сочетанную термическую и химическую инактивацию. В зависимости от предполагаемого последующего тестирования биологического материала (например, молекулярно-генетического или иммунохимического обнаружения патогена, клинических лабораторных тестов и т. д.) выбирают различные методы химической инактивации с использованием растворов, содержащих соли гуанидина, например, тризол и тритон X-100 [66]. Гамма (γ)-облучение также эффективно для инактивации LASV в жидких

и высушенных образцах. Но поскольку доза радиации, поглощаемая вирусом, изменяется в зависимости от температуры нагревания [31], для подтверждения инактивации требуется обязательное эмпирическое тестирование био-безопасности образца [66].

С 1970 г. клинический диагноз ЛЛ стали подтверждать иммунохимическими анализами с использованием антигена LASV, впервые выделенного в 1969 г. [24], и методом фиксации комплекта антителами сывороток крови реконвалесцентов [83]. Методы научных исследований LASV включают: анализы на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) по обнаружению вирусной РНК, электронную микроскопию, выделение инфекционного вируса на культуре чувствительных клеток, реакцию непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ), иммуноферментный (ИФА) и иммунохроматографический (ИХА) анализы по выявлению антител и/или антигена, а также иммуноблоттинг [7, 10, 27, 77]. Для диагностики ЛЛ в настоящее время используют, в основном, тест-системы на основе молекулярно-генетических методов [27, 66].

Электронная микроскопия

Морфологические характеристики LASV, относящегося к семейству *Arenaviridae*, позволяют с помощью электронной микроскопии проводить общую идентификацию этиологического агента аренавирусной инфекции — вириона сферической формы с диаметром от 70 до 150 нм, двойной липидной оболочкой и гладкой поверхностью с Т-образными шипами, состоящими из трех молекул гликопротеина (glycoprotein, GP) [65]. Вирионы содержат включения — крупные однородные гранулы размером 20–25 нм [58], представляющие собой нефункциональные клеточные рибосомы, что и послужило основой для наименования семейства — «агено» (песок) [65].

Выделение вируса на культуре чувствительных клеток и реакция непрямой иммунофлуоресценции

Для исследований используют образцы крови, мочи, рвотных масс, смывов из зева, спинномозговой и плевральной жидкостей заболевших или секционный материал органов (печени, селезенки, легких, почек, сердца и плаценты), полученный при вскрытии в случаях инфекции с летальным исходом. Наиболее ранний срок для выделения LASV из сыворотки крови и смывов из зева — третьи сутки, из мочи — девятые. Из сыворотки крови и смывов из зева вирус можно выделить вплоть до 19-х суток болезни, из мочи — до 32-х [47, 66]. Эндемичность ЛЛ в Сьерре-Леоне, Либерии и Гвинее в 1980 г. подтверждали с использованием метода РНИФ,

используя меченые специфические антитела для выявления антигена в тканях погибших пациентов. Результаты гистопатологических исследований продемонстрировали тропизм LASV к клеткам тканей различных внутренних органов [48].

Для выявления инфекционного LASV, вне зависимости от его генотипа [47], используют культуру клеток Vero (клетки почки африканской зеленой мартышки), при инфицировании которой в течение 3-х суток после инокуляции появляются «бляшки» (очаги погибших клеток), и обычно к пятым суткам от заражения они четко определены, дискретны, имеют размер от 1,5 до 2,0 мм [81]. Цитопатическое действие (ЦПД) на чувствительные клетки биологического образца в виде бляшкообразующих единиц (БОЕ), может указывать на присутствие инфекционного LASV, однако для подтверждения идентичности этого вируса необходимо использовать дополнительные методы, такие как детекция отдельных вирусных антигенов или цельных вирионов методами РНИФ и электронной микроскопии, а также выявление генетического материала с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени (ПЦР-РВ) [30].

Титрованием инфекционного материала на культуре клеток Vero в 50%-ных тканевых цитопатических дозах в миллилитре (ТЦПД₅₀/мл) количественно определяют виремию, и такой показатель может обеспечить дополнительную информацию о характеристике патогена, поскольку его концентрация в крови, в титре равном или выше 10³ ТЦПД₅₀/мл, как правило, приводит к летальному исходу при ЛЛ [47]. Но для получения результатов этот метод требует времени, по крайней мере, нескольких суток (в зависимости от концентрации инфекционных частиц в образце) и не доступен широко из-за необходимости принятия мер предосторожности BSL-4, что ограничивает его полезность для ранней диагностики ЛЛ [66].

Методом РНИФ вирусный антиген может быть обнаружен до развития его явного ЦПД на клетки [33]. Например, при использовании мышинных моноклональных антител (МКА) этим методом показано, что при инфицировании клеток Vero в дозе одна БОЕ/мл, максимальное накопление вирусных частиц происходит на третьи сутки [5]. При исследовании сывороток крови пациентов с подозрением на ЛЛ с октября 1996 г. по февраль 1998 г. в государственном госпитале г. Кенема в Сьерра-Леоне и четырех наблюдательных больницах в Гвинее было обнаружено, что методом РНИФ антитела выявлялись значительно раньше у впоследствии погибших пациентов, чем у выживших (на 9,3 и 14,1 день соответственно, $p < 0,05$). Интересно, что такой связи между выживаемостью пациентов и их антитела-

ми, выявленными в ИФА, отмечено не было [18]. На основе метода РНИФ в 2016 г. описано получение надежного набора по выявлению антител, специфичных к LASV и EBOV, для своевременной и дифференциальной диагностики особо опасных инфекций и организации противоэпидемических мероприятий в случае их завоза на территорию Республики Беларусь. В качестве положительного контроля при выявлении специфических человеческих антител на антигене LASV, фиксированном ацетоном в лизате инфицированных клеток Vero, использовали поликлональные антитела морских свинок, иммунизированных последовательно инактивированным и инфекционным вирусным препаратом в дозе 1000 БОЕ/животное [10].

Молекулярно-генетические методы исследования

В 2000 г. Bowen с соавт. опубликовали результаты молекулярно-генетических исследований по географической картине распространения ЛЛ на основании данных секвенирования последовательностей нуклеотидных оснований (н.о.) гена нуклеопротеина (nucleoprotein, NP) 54-х изолятов LASV. Оказалось, что нуклеотидная и, соответственно, белковая (по аминокислотным остаткам, а.о.) дивергенция среди вирусных изолятов достигает 27 и 15%, соответственно. Авторы также отметили, что, судя по полученной информации о последовательностях н.о. S-сегмента, LASV является вирусом с высокой генетической изменчивостью [22]. Известные в настоящее время вирусные изоляты генотипически разделены на семь линий (I–VII) [51]. Такое разнообразие генотипов LASV, связанных с географическими ареалами, усложняет эффективный дизайн молекулярно-генетических методов диагностики ЛЛ. Использование праймеров, специфичных к определенной последовательности н.о. конкретного генотипа, идеально подходит для исследований его циркуляции в определенных странах/регионах. В контексте же экспортируемых случаев ЛЛ из нескольких стран, где она является эндемичной, для точной диагностики ЛЛ необходимо использовать несколько ПЦР-тест-систем [66] с набором праймеров, специфичных к наиболее консервативным участкам генома разных известных генотипов.

Геном LASV, как и гены других представителей семейства *Arenaviridae*, представляет собой молекулу РНК и состоит из двух сегментов — большого L (large) и малого S (small) размером 7 и 3,4 kb, соединенных консервативными комплементарными последовательностями на 3'- и 5'-концах. L-сегмент обладает амбисентной стратегией кодирования (т. е. имеет участки как негативной-, так и позитивно-нитевой РНК),

кодирует РНК-зависимую РНК-полимеразу (белок L) и матриксный цинк-связывающий Z-белок. S-сегмент генома кодирует NP, а также предшественник гликопротеина (glycoprotein precursor, GPC), состоящий из стабильного сигнального пептида (stable signal peptide, SSP) и двух доменов — GP1 и GP2 [65].

Начиная с 1990-х гг., первые разработанные анализы на основе ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) для обнаружения генетического материала LASV, в основном, были нацелены на S-сегмент вирусной РНК [28, 29, 55, 64]. Протокол ОТ-ПЦР, описанный Demby с соавт. в 1994 г., длительное время считался надежным и использовался многими лабораториями для рутинной диагностики ЛЛ. Выбор праймеров, нацеленных на консервативные районы S-сегмента РНК, кодирующие гены GPC и NP, был основан на фрагментах геномов нескольких изолятов, выделенных в Сьерра-Леоне, Либерии и Нигерии. Это участки 554–578, 602–634, 676–652 н.о. для гена GPC и 2625–2649, 2654–2688, 2770–2746 н.о. для гена NP, соответственно. Такой подход позволил обнаруживать от 1 до 10 копий плазмиды или транскрипта РНК LASV, содержащих целевую последовательность [28]. В 2003 г. при оценке *in silico* было обнаружено, что опубликованные для диагностического использования последовательности некоторых олигонуклеотидных праймеров комплементарны далеко не всем штаммам и изолятам LASV [30]. Когда были подтверждены ложноотрицательные результаты для некоторых вирусных изолятов из Либерии и Нигерии из-за несоответствия последовательности на 3'-конце обратного праймера, протокол ОТ-ПЦР Demby с соавт. от 1994 г. был переработан в 2010 г. Olschlager с соавт. В результате для амплификации была выбрана 5'-область S-сегмента РНК (позиции гена GPC от 20 до 1000 н.о.). При разработке нового набора праймеров (GPC RT-PCR/2007 assay) учитывались 62 последовательности н.о. S-сегмента РНК изолятов LASV, выделенных в эндемичных странах, включая 40 последовательностей, полученных лично авторами. Аналитические и клинические характеристики нового анализа были тщательно валидированы с использованием 11-ти вирусных изолятов из Сьерра-Леоне, Либерии, Кот-д'Ивуара и Нигерии. При этом аналитическая чувствительность метода составляла от 4 до 30 копий геномной РНК/мл [64].

Стандартные ОТ-ПЦР-анализы с набором только амплифицирующих праймеров обычно применяются из-за меньшей сложности в процедуре их выполнения [60, 64]. ПЦР-РВ с использованием таких праймеров и меченого зонда, который гибридизирует ампликон, позволяет повысить специфичность анализа [73, 82]. Будучи более технологически сложным,

прибор для ПЦР-РВ контролирует температуру, обрабатывает данные, анализирует результаты и, следовательно, обладает большей производительностью и более быстрой сквозной обработкой, чем стандартная ОТ-ПЦР с электрофоретической детекцией результатов. Тем не менее, специфичность праймерных и зондовых анализов в сочетании с генетическим разнообразием LASV неизбежно увеличивает вероятность получения ложноотрицательных результатов [66].

С появлением в базе данных GenBank [<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>] дополнительной информации о генетических последовательностях LASV начались исследования по разработке анализов ОТ-ПЦР, нацеленных на L-сегмент РНК, кодирующий полимеразу и белок Z [27, 41]. За последние годы большое количество геномов LASV были полностью секвенированы и оказалось, что последовательности L-генов также демонстрируют высокую генетическую изменчивость, как и последовательности генов GPC и NP, даже в пределах одной генетической линии. Таким образом, генетическое разнообразие LASV является естественной особенностью, которая, скорее всего, будет ограничением в использовании ПЦР-РВ для точной диагностики ЛЛ [27]. На данный момент времени (12.11.2021 г.) в GenBank депонированы результаты секвенирования некоторых частей генома LASV: по S-сегменту — 482 последовательности NP, более 200 последовательностей гена GPC или с включением части гена NP; по L-сегменту — 7 последовательностей гена L и более 100 — гена L с включением части гена Z. Самые свежие данные представлены в 2021 г., и по аффелиции авторов понятно, что исследования LASV проводятся только в экономически развитых странах — это США, Германия, Великобритания, Япония и ЮАР [2].

Одним из простых и надежных методов молекулярно-генетических исследований особо опасных вирусов в настоящее время в литературе описывается метод петлевой изотермической амплификации (loop-mediated isothermal amplification, LAMP). Анализ характеризуется высокой специфичностью, так как при его постановке используют две или три пары праймеров, комплементарных шести или восьми регионам искомой ДНК соответственно. По аналогии с ПЦР учет накопления продуктов реакции может быть проведен как методом электрофореза в агарозном геле, так и визуальным/приборным определением протекания реакции — при измерении оптической плотности реакционной смеси или изменения ее окраски при добавлении специальных интеркалирующих красителей. При этом следует тщательно подбирать концентрацию таких красителей, так как они могут ингибировать процесс амплификации [3].

Внедрение в рутинную диагностику метода быстрого метагеномного секвенирования в реальном времени на платформе WGS (whole genome sequencing analysis) для обнаружения в клиническом образце особо опасных патогенов, таких как *Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis*, *Yersinia pestis*, EBOV, LASV и др., также приобретают все большее значение. Существует возможность внедрения WGS для быстрой и точной диагностики в реальном времени на основе портативного секвенатора MinION производства компании Oxford Nanopore Technologies [86]. Механизм секвенирования MinION основан на транслокации одной нити нуклеиновой кислоты через специальный нанопоровый белок, расположенный в электрически устойчивой полимерной мембране [34]. Сила тока изменяется по мере того, как н.о. проходят через пору в различных комбинациях, и в результате последовательность ДНК может быть выровнена простым считыванием [86].

Молекулярно-генетические методы являются чувствительными и специфичными анализами для обнаружения генетического материала LASV [60], но они не всегда доступны в эндемичных районах [50] и технологически сложны, по сравнению с иммуноферментными анализами [41]. В связи с этим необходимы тест-системы, которые можно использовать в «полевых условиях» — в госпиталях и на дому заболевших. К этому классу диагностических инструментов можно отнести серологические тесты на основе иммунохроматографического анализа (ИХА) [21, 77].

Имуноферментный анализ по выявлению антигена

Учитывая большое генетическое разнообразие LASV, диагноз, основанный на иммуноферментном обнаружении в сыворотке крови вирусного NP (относительно консервативного антигена), может уменьшить варибельность результатов [66]. Обнаружение вирусных антигенов полезно для ранней диагностики в качестве дополнительного теста к молекулярно-генетической диагностике болезни. Причем оба эти подхода являются прогностическими, так как уровень вируса в крови, как правило, обратно пропорционален выживаемости при ЛЛ [18]. Вирусные антигены могут быть обнаружены методом ИФА при их взаимодействии со специфическими антивирусными антителами. В начале 1980-х гг. был разработан тест с использованием двух видов антител класса IgG в качестве компонентов, «захватывающих» и «детектирующих» вирусный антиген. Препараты IgG были получены из сывороток крови инфицированных обезьян вида Макака-резус (как модель ЛЛ) и морских свинок, соответственно.

Этот тест позволял выявлять вирус в титре до 10^2 БОЕ/мл у экспериментально инфицированных животных. Инактивация вируса β -пропиолактоном и γ -облучением не снижала его иммунохимической активности, что важно для безопасной лабораторной работы [61]. Далее этими же авторами было обнаружено, что с использованием данного метода можно выявить антиген и в сыворотках крови пациентов с явными симптомами ЛЛ [44]. Пять видов мышинных моноклональных антител (МКА), специфичных к белку NP, а также поликлональные антитела кролика, иммунизированного инактивированным антигеном, использовали в качестве «захватывающих» и «детектирующих» вирусный антиген, присутствующий в сыворотках крови пациентов [18]. Наряду с методом ИФА появляются и новые высокочувствительные технологии для выявления антигенов LASV. Например, платформа Lumindex MagPix с использованием микросфер xMAP, с которыми посредством ковалентных связей соединены «захватывающие» мышинные МКА, специфичные к белкам NP или GPC LASV. При этом «детектирующие» МКА мечены эфиром биотина. Необходимо отметить, что, несмотря на высокую чувствительность данной платформы по сравнению с ИФА, в литературе нет данных о ее применении на практике, возможно из-за высокой стоимости. В лабораторных условиях была показана возможность дифференциальной диагностики БВБЭ и ЛЛ на примере инфицированных *Macaca mulatta*. При этом образцы сывороток крови животных, инфицированных LASV и EBOV, предварительно были инактивированы γ -облучением и проверены на безопасность [76]. Разработан экспресс-тест на основе иммунохроматографического анализа (ИХА) и пары МКА, специфичных к белку NP, с чувствительностью и специфичностью 90 и 100% соответственно. При его использовании показано, что антигенемия белка NP LASV (антиген в крови) может появляться у пациентов раньше, чем вирусная РНК [21].

Имуноферментный анализ по выявлению антител

Первые иммуноферментные тесты по выявлению антител классов IgM и IgG разработаны на основе антигена LASV, инактивированного β -пропиолактоном и γ -облучением. В первом случае в качестве иммуносорбента для IgM тестируемой сыворотки крови человека использовали антивидовые (козьи) анти-IgM-антитела, во втором — IgG, полученные из сывороток крови инфицированных морских свинок. Экспериментальной моделью были обезьяны вида Макак-резус. В результате показано, что IgM, специфичные к LASV, обнаружи-

ваются с 10-х суток от инфицирования с максимальным титром специфических антител на 36-е сутки и сохраняются в течение 1,5 лет. Антитела класса IgG появлялись в сыворотке крови позже, чем IgM, и их титр достигал пика на 73-е сутки [61]. Применение вышеописанных тестов позволило обнаружить, что сыворотки крови пациентов в острой фазе ЛЛ содержат как вирусный антиген, так и антитела класса IgM. Отмечено также, что повышение титра антител совпадает со снижением антигенемии [44]. Вирусные препараты, инактивированные 0,3%-ным раствором β -пропиолактона и обработанные γ -облучением (в дозе 3×10^6 Рад), использованы в мультиплексном ИФА по одновременному выявлению антител класса IgG, специфичных к LASV, а также к вирусам Эбола, Марбург, лихорадка долины Рифт и Крым-Конго [63]. Показано, что рекомбинантный белок NP LASV, полученный в рекомбинантной бакуловирусной системе экспрессии гена NP в культуре клеток HeLa (клетки раковой опухоли шейки матки), эффективно выявляет антитела класса IgG, присутствующие в сыворотках крови пациентов с ЛЛ и экспериментально инфицированных *Macaca fascicularis* [74]. Рекомбинантные белки NP и GPC LASV, а также белки VP40 и GP EBOV, полученные в эукариотической системе экспрессии соответствующих генов (на культуре клеток почки эмбриона человека, 293Т), оказались подходящими антигенами — аналогами вирусных белков для разработки теста по дифференциальной серологической диагностики ЛЛ и БВБЭ на платформе Lumindex MagPix [76].

Имуноблоттинг по выявлению антител

Рекомбинантный N-терминально усеченный белок NP LASV (штамм Josiah), синтезированный в *E. coli*, аффинно очищенный и полностью денатурированный при концентрации один микрограмм (мкг), использовали для выявления IgG, специфичных к LASV, в сыворотках крови людей при проведении простого иммуноблот-анализа на нитроцеллюлозной мембране. Отмечено, что для обнаружения специфических IgM количество рекомбинантного белка необходимо было увеличить до 5 мкг. Для оценки чувствительности и специфичности разработанного метода было собрано 913 образцов сывороток крови из эндемичных регионов и из районов, в которых LASV не был эндемичным. Показано, что, по сравнению с анализом непрямой иммунофлуоресценции, иммуноблоттинг имел специфичность от 90,0 до 99,3%, в зависимости от географического происхождения образцов. Установлено, что чувствительность анализа была самой высокой для гвинейских образцов (90,7%) и ниже — для либерийских образцов (75%) [80].

Лечение

Еще в 1986 г. в Сьерре-Леоне было обнаружено, что внутривенное введение рибавирина (1- β -D-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3-карбоксамид) снижало летальность с 55 до 5% среди пациентов с тяжелой ЛЛ, у которых при госпитализации в крови был выявлен повышенный уровень аспаратаминотрансферазы, что могло свидетельствовать о начале процесса некроза тканей. Но лечение оказывалось успешным только при условии, если оно проводилось в течение первых шести суток после начала лихорадочного состояния [56]. До сих пор лечение пациентов с ЛЛ основано на применении этого препарата, который является аналогом гуанозина и проявляет широкую противовирусную активность в отношении нескольких видов вирусов, содержащих РНК или ДНК [25], например гепатита С [70], гепатитов А и В [12], гриппа и простого герпеса 1 типа [89], возбудителей лихорадок Крым-Конго, Батаи, боливийской, долины Рифт и лихорадки с почечным синдромом [12]. Кроме того, было замечено, что рибавирин действует в качестве иммуномодулирующего агента, повышая регуляцию специфических генов, стимулированных интерфероном, а также усиливая адаптивный противовирусный иммунный ответ. Но основным механизмом действия рибавирина, скорее всего, является защита инфицированных клеток от гибели и, возможно, снижение воспалительной реакции [25]. Также показано, что этот препарат эффективно подавляет репликацию LASV *in vitro*, но не влияет на снижение виремии *in vivo* при инфицировании химерных мышей линии Ifnar^{-/-}B6 C57BL/6 [25]. Есть данные, что накопление препарата в эритроцитах вызывает гемолиз [38], что приводит к развитию анемии и нарушению функции почек [70]. Описан необычный дерматологический побочный эффект рибавирина — угревидные высыпания [39]. Для снижения тяжелых побочных эффектов у пациентов необходимо полное прекращение лечения или индивидуальное снижение дозы препарата, что, в свою очередь, может снизить его противовирусное действие [26]. Рибавирин (торговые марки: Coregus, Rebetol, Ribasphere, Vilona, Virazole) выпускается в виде капсул и аэрозолей. На сегодняшний день существуют сомнения в эффективности рибавирина и в отсутствии у него серьезных побочных эффектов для здоровья, поэтому необходимы более тщательные исследования этого препарата [75].

При лечении пациентов с ЛЛ рекомендуется проводить комплексное воздействие на организм с применением химиопрепаратов и средств интенсивной терапии — аскорутин, викасола, кортикостероидов, сердечно-сосудистых препаратов, переливание плазмы и цельной крови.

Лечение должно быть направлено на устранение жидкостного, электролитического и осмотического дисбаланса. При развитии шока необходимо сократить потребление соли и воды, а внутрисосудистый объем жидкости увеличивать с помощью коллоидных растворов. В зависимости от степени кровопотери показано немедленное переливание крови (до 1–1,5 л в сутки) и введение сосудосуживающих препаратов, например, гепарина внутривенно в дозе 10 000–50 000 ЕД/сут под контролем свертываемости крови [1, 13].

Иммунную плазму в объеме 250–500 мл рекомендуется вводить на максимально ранних сроках заболевания — в первые 7–10 суток от появления симптомов ЛЛ [6]. Ранее было описано, что введение реконвалесцентной плазмы пациентам с повышенным уровнем аспаратаминотрансферазы при тяжелом течении ЛЛ не предотвращало их гибели [56]. Но есть сообщения об эффективной терапии экспериментально инфицированных животных (морских свинок и приматов вида *Macaca fascicularis*) при введении им антител, выделенных из сывороток крови людей, выживших после ЛЛ. Факт отсутствия развития заболевания и предотвращения гибели животного от летальных доз LASV при введении специфических антител указывает на протективную роль гуморального иммунного ответа [43, 44]. Тем не менее при использовании такого подхода для лечения пациентов с ЛЛ необходим предварительный контроль сывороток крови реконвалесцентов *in vitro* в отношении их нейтрализующей активности для прогнозирования защитной эффективности [43], так как у переболевших людей наблюдается очень слабая гуморальная реакция. Обычно титры нейтрализующих антител низкие и выявляются только через несколько месяцев после выздоровления [44]. Географическое происхождение плазмы также является важным фактором, так как на экспериментальных животных показано, что антитела, специфичные к гомологичным генотипам LASV, нейтрализуют вирус эффективнее [45].

Фавипиравир (Т-705, пиразиновое соединение, ингибитор РНК-полимеразы) — новое противовирусное средство с широким спектром действия против РНК-вирусов, лицензированное в Японии для лечения гриппа [67] и снижающее летальность у тяжело заболевших при других РНК-вирусных инфекциях, включая БВВЭ [59], и, возможно, COVID-19 [37]. Но следует учитывать последние данные по токсичности и тератогенности этого препарата [37]. Впервые фавипиравир был применен в сочетании с рибавирином для лечения пациентов с ЛЛ в Германии, когда два сотрудника госпиталя в г. Кельн заразились при выхаживании медицинского миссионера, эвакуированного из Того в тяжелом состоянии и погибшего, несмотря

на интенсивную терапию. У заболевших врачей был выявлен повышенный уровень трансаминаз печени. В этом же сообщении отмечается, что после выздоровления у них в крови и сперме длительное время (до 52-х суток) определялась вирусная РНК, что позволило предположить потенциальную возможность передачи LASV половым путем [67].

Разработки лекарственных препаратов

Поиск эффективных терапевтических препаратов против ЛЛ идет не быстрыми темпами, так как эта инфекция эндемична только для слабо развитых стран, где фундаментальные исследования противовирусных препаратов невозможны в силу отсутствия специализированных лабораторий типа BSL4 [78]. Использование для лечения рибавирина рекомендуется в случаях, когда угроза жизни превышает риск побочного действия. Снижение токсичности рибавирина, и, соответственно, уменьшение противовирусного эффекта, можно компенсировать при его использовании в меньшей концентрации с другими лекарственными препаратами. Например, синергическое взаимодействие рибавирина и фавипиравира было выявлено при изучении их сочетанного терапевтического потенциала на мышах линии *Ifnar-/-B6 C57BL/6*, инфицированных летальной дозой LASV [62]. Такой подход в лечении был опробован и на людях [67]. Возможно, что новые изостерические аналоги рибавирина, сохраняющие свою биологическую активность в отношении вирусов [89], окажутся менее токсичными и их можно будет использовать в терапевтических целях у людей.

Российскими учеными в конце 1990-х гг. был получен гетерологичный препарат IgG (с титром вируснейтрализующих антител не менее 1:512) из сыворотки крови лошадей, иммунизированных инфекционным LASV. При доклиническом изучении показана безвредность препарата для лабораторных животных (белых мышей, морских свинок, обезьян) и высокая специфическая активность. Экспериментально обоснована тактика введения препарата — как в виде монотерапии, так и в комбинации с вирусологом [4].

Использование иммунной плазмы реконвалесцентов для лечения оказалось успешным, как было сказано выше, в случае присутствия в крови нейтрализующих антител, которые кроме того были специфичны к гомологичному инфицирующему генотипу LASV [45]. Было обнаружено, что такие антитела обычно специфичны к вирусному гликопротеину (GP), который состоит из двух субъединиц — GP1 и GP2, имеющих эпитопы для связывания с клеточными рецепторами (например, с α -дистрогликаном) и слияния с мембраной клетки-хозяина. Эти данные позво-

лили предположить, что препараты МКА, нацеленных на эпитопы комплекса GP, могут иметь терапевтическую пользу для людей [57]. Первые мышинные МКА для исследования антигенной структуры LASV были получены к вирусному препарату, инактивированному γ -излучением, и описаны довольно давно (в 1991 г.). По результатам конкурентного ИФА было обнаружено, что наиболее консервативные эпитопы разных вирусных изолятов локализуются на субъединице GP2 [71]. Эпитопы комплекса GP LASV, распознаваемые антителами естественно инфицированных людей, картированы совсем недавно (в 2016 г.) с использованием делеционных вариантов рекомбинантного белка GP. Рекомбинантные человеческие МКА (113 видов) были получены клонированием генов, кодирующих цепи соответствующих IgG. Для этого были использованы мРНК В-клеток выживших после тяжело перенесенной ЛЛ (пятнадцать человек из Сьерра-Леоне и двое из Нигерии). При выборе доноров В-клеток учитывался нейтрализующий титр специфических поликлональных антител, присутствующих в сыворотках крови. В результате были получены данные о том, что 50% видов МКА специфичны к субъединице GP2 в районе эпитопа слияния с клеткой. Остальные виды МКА, по 25% от общего количества, специфичны к GP1 и общим эпитопам комплекса GP1+GP2 соответственно. Методом иммунопреципитации авторы определили, что вирусные эпитопы для нейтрализующих МКА, в основном, имеют сложные конформационные четвертичные структуры. Из 16-ти видов МКА, нейтрализующих LASV (штамм Josiah, линия IV) *in vitro*, доминирующее количество — 13 видов — специфичны к эпитопам, сформированным комплексом GP1+GP2, а три вида — только к эпитопам субъединицы GP1 [69]. Препарат из 5-ти видов вышеописанных человеческих МКА, перекрестно нейтрализующих *in vitro* вирусные изоляты, отнесенные к линиям I–IV LASV, использовали для лечения приматов вида *Macaca fascicularis*. Животные были инфицированы летальной дозой (3500 БОЕ/мл) вирусного препарата, и их лечение начинали на поздних стадиях болезни. В результате было показано, что МКА на 100% защищали приматов от гибели. Таким образом, эти исследования представляют собой новую стратегию разработки специфических препаратов для лечения людей от ЛЛ [57].

Есть мнение, что исследование антивирусной активности медикаментов, уже одобренных в США Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA) для лечения при других заболеваниях, сократит время разработки препаратов и для терапии при ЛЛ, так как они уже прошли проверку на безопасность, фармакокинетику и вирусные мишени.

Препараты, препятствующие проникновению вируса в клетку, могут блокировать его репликацию и распространение на ранней стадии болезни [85]. Мишенью для противовирусных препаратов может быть стабильный сигнальный пептид (SSP), входящий в состав гликопротеинового комплекса и способствующий слиянию вируса с мембраной инфицируемой клетки. Этот пептид содержит 58 а.о., цепь которых пронизывает двойную липидную вирусную мембрану, в том числе с 8-ю а.о. в эктодомене GP LASV [31]. Например, лосмапимод — экспериментальный антидепрессант (разработанный фирмой GlaxoSmithKline), который действует на макрофаги и эндотелиальные клетки как селективный ингибитор медиаторов воспаления — ферментов, известных как P38 митоген-активированные протеинкиназы [17], был использован при скрининге *in vitro* в числе 102-х видов препаратов, исследуемых для возможного клинического применения при ЛЛ. Было показано, что лосмапимод ингибирует рН-зависимое слияние LASV с клеткой как раз воздействуя на пептид SSP. Интересно, что на другие аренавирусы лосмапимод не оказывал влияния [88]. Для высокопроизводительного скрининга более тысячи препаратов на антивирусную активность были использованы вирусоподобные частицы (ВПЧ) на основе рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, содержащего ген GP LASV и репортерный ген люциферазы. После трех раундов скрининга было установлено, что фенотрин (противопаразитарное средство) и лацидипин (антагонист кальциевых каналов клетки) являются высокоэффективными веществами, ингибирующими проникновение LASV в клетку через кальциевые каналы [85]. Известно, что кальциевые каналы клеток оказались мишенью и для других оболочечных вирусов, например для вируса японского энцефалита [84] и EBOV [72].

При вспышках опасных инфекций, таких как БВВЭ и ЛЛ, географические ареалы этиологических агентов которых могут пересекаться в Африке, а симптомы болезней на ранних стадиях почти неотличимы, интересен подход в использовании лекарственных препаратов, с выявленной *in vitro* антивирусной активностью против EBOV и LASV. Оба эти патогена используют похожие пути проникновения в клетку: контакт с поверхностными рецепторами, макропиноцитоз, прикрепление к эндосомальным рецепторам и рН-зависимое переключение конформации вирусных гликопротеинов для запуска слияния с поздними эндосомами. С использованием ВПЧ, экспонирующих на своей поверхности гликопротеины LASV и EBOV, были протестированы восемь препаратов: амодиахин (противомалярийный), апилимод (противоопухольный), арбидол (противогриппозный),

никлозамин (антигельминтный), зонипорид (кардиопротектор), кломифен (индуктор овуляции у женщин и секреции тестостерона у мужчин), сертралин (антидепрессант) и торимифен (противоопухольный). В результате обнаружено, что пять препаратов (амодиахин, апилимод, арбидол, никлозамин, зонипорид) оказали примерно эквивалентные степени ингибирования проникновения ВПЧ EBOV и LASV в клетки. Три препарата (кломифен, сертралин и торимифен) были более активными против EBOV. Авторы рассматривают использование этих препаратов в виде различных комбинаций для лечения людей [42]. Скрининг натуральных продуктов также может способствовать поиску лекарственных препаратов и исследованию механизмов, лежащих в основе патогенеза LASV. Например, из библиотеки 1058 готовых чистых соединений (производство Weikeqi Biotech, Sichuan, China), выделенных из растительных экстрактов, ингибирующая активность против ВПЧ LASV *in vitro* была обнаружена для бергамотина кожуры грейпфрукта и кастицина семян древовидного кустарника *Vitex agnus-castus* семейства Яснотковые. Авторы считают, что механизм действия этих растительных препаратов, скорее всего, направлен на прямое антивирусное действие через блокирование слияния мембран вируса и клетки [53].

Заключение

Как показал анализ литературы, основными иммуногенами LASV являются белки NP и GPC (GP1/GP2), поэтому при разработке ИФА-тест-систем по выявлению специфических антител используют рекомбинантные аналоги этих белков. При этом, вопреки иммунологической догме, инфекция может приводить к выработке антител классов IgM и IgG почти одновременно, а IgG появляются в плазме крови заболевших даже раньше, чем IgM, что является препятствием при определении фазы болезни — острой, первичной или повторной ЛЛ. Кроме того, IgM, специфичные к LASV, могут сохраняться у переболевших в течение многих лет.

Время является основным показателем острой инфекции при заражении LASV. Показано, что антигенемия белка NP LASV может появляться у пациентов раньше, чем вирусная РНК. В связи с этим методы выявления вирусных РНК и антигенов в сыворотке крови пациентов с ЛЛ имеют решающее значение для подтверждения диагноза, применения мер предосторожности при уходе за пациентами и доступной противовирусной терапии, например препарата рибавирин.

Известные в настоящее время изоляты LASV генотипически разделены на семь линий (I—

VII). Такое разнообразие его генотипов, связанных с географическими ареалами, усложняет эффективный дизайн молекулярно-генетических методов диагностики ЛЛ. Использование праймеров, специфичных к конкретному генотипу, идеально подходит для исследований его циркуляции в определенных странах/регионах. В контексте же экспортируемых случаев ЛЛ из нескольких стран, где она является эндемичной, для точной диагностики ЛЛ необходимо использовать несколько ПЦР-тест-систем с набором праймеров, специфичных к консервативным участкам генома разных известных вирусных генотипов. Ранее при разработке молекулярно-генетических методов диагностики исследователи, в основном, использовали последовательности генов GPC и NP S-сегмента генома LASV, но с появлением в базе данных GenBank дополнительной информации о новых генетических последовательностях, начались разработки анализов на основе ОТ-ПЦР с праймерами, нацеленными на L-сегмент РНК, кодирующий полимеразу и белок Z.

Тест-системы на основе молекулярно-генетических методов являются чувствительными и специфичными для обнаружения РНК LASV, но не всегда доступны в эндемичных районах и технологически сложны по сравнению с иммуноферментными анализами. В связи с этим необходимы тесты, которые можно использовать в «полевых условиях» — в госпиталях и в домашних условиях. Например, на основе иммунохроматографического анализа (ИХА). Учитывая большое генетическое разнообразие LASV, диагноз, основанный на иммуноферментном обнаружении в сыворотке крови вирусного нуклеопротеина (относительно консервативного антигена), может оказаться более достоверным. Причем оба эти подхода лабораторной диагностики являются прогностическими, так как уровень вируса в крови, как правило, обратно пропорционален выживаемости при ЛЛ.

На протяжении длительного времени единственным средством для лечения пациентов с ЛЛ является рибавирин, но из-за токсичности его применение рекомендовано только тогда когда угроза жизни превышает риск развития тяжелых побочных эффектов в виде анемии и нарушения функции почек. Использование иммунной плазмы реконвалесцентов для лечения может быть успешным в случае присутствия в крови нейтрализующих антител, специфичных к вирусному гликопротеину, которые, кроме того, специфичны именно к гомологичному инфицирующему генотипу LASV. Альтернативой использованию иммунной плазмы реконвалесцентов является получение рекомбинантных человеческих МКА клонированием генов, кодирующих цепи IgG В-клеток пациентов, выживших после тяжелой ЛЛ. Кроме того, в настоящее время ведутся исследования по поиску безопасных препаратов, обладающих широкой антивирусной активностью. Показано, что химически синтезированные или природные молекулы (например, экстрагированные из растений), нацеленные на проникновение LASV (а именно на SSP, который способствует слиянию вируса с мембраной инфицируемой клетки), могут блокировать *in vitro* вирусную репликацию. Для безопасности скрининга потенциальных анти-LASV препаратов *in vitro* используют ВПЧ, экспонирующие на своей поверхности вирусные гликопротеины. Интересен подход в исследовании лекарственных препаратов на ингибирующую активность против двух этиологических агентов — EBOV и LASV, так как географические ареалы этих вирусов могут пересекаться в Африке, и симптомы вызываемых ими болезней на ранних стадиях почти неотличимы.

Конфликт интересов

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Список литературы/References

1. Андаев Е.И., Мельникова О.В., Титенко А.М. Санитарная охрана территории от завоза и распространения особо опасных вирусных инфекций. Сообщение 5. Лихорадка Ласса // Проблемы особо опасных инфекций. 2008. № 1 (95). С. 17–22. [Andaev E.I., Mel'nikova O.V., Titenko A.M. Sanitary protection of the territories from delivery and distribution of especially dangerous viral infections. Message 5. Lassa Fever. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2008, no. 1 (95), pp. 17–22. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2008-1(95)-17-22
2. Казачинская Е.И., Арипов В.С., Иванова А.В., Шестопалов А.М. Лихорадка Ласса. Часть 1. Этиология, эпидемиология, клиническая картина // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 3. С. 427–438. [Kazachinskaya E.I., Arifov V.S., Ivanova A.V., Shestopalov A.M. Lassa fever. Part 1. Etiology, epidemiology and clinical manifestations. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 3, pp. 427–438. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-EEA-1814
3. Карташов М.Ю., Чуб Е.В., Микрюкова Т.П., Найденова Е.В., Терновой В.А. Перспективы применения петлевой изотермической амплификации в диагностике опасных инфекционных болезней, вызванных вирусами I группы патогенности // Проблемы особо опасных инфекций. 2020. № 2. С. 22–30. [Kartashov M.Yu., Chub E.V., Mikryukova T.P., Naidenova E.V., Ternovoy V.A. Prospects for the use of loop isothermal amplification in the diagnosis of particularly dangerous infectious diseases caused by the viruses of the pathogenicity group I. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2020, no. 2, pp. 22–30. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2020-2-22-30

4. Краснянский В.П., Градобоев В.Н., Борисевич И.В., Потрываева Н.В., Лебединская Е.В., Черникова Н.К., Тиманькова Г.Д. Разработка и изучение свойств иммуноглобулина против лихорадки Ласса // Вопросы вирусологии. 1997. Т. 42, № 4. С. 71–73. [Krasnyansky V.P., Gradoboev V.N., Borisevich I.V., Petryaeva N.I., Chernikova N.T., Timenkov G.D. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 1997, vol. 42, no. 4, pp. 168–171. (In Russ.)]
5. Куницкая Л.Я., Быстрова С.И., Чередниченко И.А., Зайцева В.Н., Владыко А.С. Получение антителпродуцирующих гибридом к вирусу Ласса // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1991. № 3. С. 67–70. [Kunitskaya L.Ya., Bystrova S.I., Cherednichenko I.A., Zaitseva V.N., Vladyko A.S. Obtaining antibody-producing hybrids to Lassa virus. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology*, 1991, no. 3, pp. 67–70. (In Russ.)]
6. Маркин В.А., Марков В.И. Вирусные геморрагические лихорадки – эволюция эпидемиологического потенциала // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2002. № 1. С. 91–98. [Markin V.A., Markov V.I. Viral hemorrhagic fevers-evolution epidemiological potential. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology*, 2002, no. 1, pp. 91–98. (In Russ.)]
7. Осипова Н.И. Разработка иммуноферментных тест-систем для диагностики особо опасных геморрагических лихорадок (вирус Эбола, вирус Марбург, вирус Мачупо, вирус Ласса) // Ветеринария. Реферативный журнал. 2010. № 1. С. 209. [Osipova N.I. Development of enzyme immunoassay systems for the diagnosis of particularly dangerous hemorrhagic fevers (Ebola virus, Marburg virus, Machupo virus, Lassa virus). *Veterinariya. Referativnyi zhurnal = Veterinary Medicine. Abstract Journal*, 2010, no. 1, p. 209. (In Russ.)]
8. Противочумные учреждения. [Anti-plague institutions.] URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/region/structure/str_chum.php (28.02.2021)
9. Референс-центры по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней в рамках ММСП 2005. [Reference centers for monitoring pathogens of infectious and parasitic diseases within the framework of the IHR 2005.] URL: <http://77.rospotrebnadzor.ru/index.php/san-epid/40-2009-08-20-06-08-14/2872-2005> (28.02.2021)
10. Рустамова Л.М., Семенов С.Ф., Богданова Н.Л., Владыко А.С., Красько А.Г. Набор для выявления антител к возбудителям особо опасных вирусных инфекций Ласса и Эбола методом непрямой иммунофлуоресценции // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2016. Т. 16, № 2. С. 115–119. [Rustamova L.M., Semenov S.F., Bogdanova N.L., Vladyko A.S., Krasko A.G. The kit for identification of antibodies against Lassa and Ebola viruses by indirect immunofluorescence. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*, 2016, vol. 16, no. 2, pp. 115–119. (In Russ.)]
11. СП 1.3.3118-13. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности). Электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. [Sanitary rules P 1.3118-13. Safety of work with microorganisms of the I–II groups of pathogenicity (danger). Electronic fund of legal and regulatory and technical documentation.] URL: <http://docs.cntd.ru/document/573319206> (25.02.2021)
12. Терехин С.А., Клименко И.С., Бутенко А.М., Гребенщикова Т.В., Ларичев В.Ф. Определение активности рибавирина в опытах in vitro на модели вируса Батаи // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2010. Т. 12, № 1. С. 54–56. [Terekhin S.A., Klimenko I.S., Butenko A.M., Grebennikova T.V., Larichev V.F. In vitro activity of ribavirin in experimental model of Batai virus. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2010, vol. 12, no. 1, pp. 54–56. (In Russ.)]
13. Шатохина И.А., Тимофеев М.А. Геморрагическая лихорадка Ласса // Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. 2015. № 1 (10). С. 39–44. [Shatokhina I.V., Timofeev M.A. Lassa fever. *Infektsionnye bolezni: Novosti. Mneniya. Obuchenie = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2015, no. 1 (10), pp. 39–44. (In Russ.)]
14. Электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. О Центре специальной лабораторной диагностики и лечения особо опасных и экзотических инфекционных заболеваний. [Electronic fund of legal and regulatory and technical documentation. About the Center for Special Laboratory diagnostics and Treatment of especially dangerous and exotic infectious diseases.] URL: <http://docs.cntd.ru/document/901749158> (28.02.2021)
15. Akhmetzhanov A.R., Asai Y., Nishiura H. Quantifying the seasonal drivers of transmission for Lassa fever in Nigeria. *Philos. Trans. R. Soc. B: Biol. Sci.*, 2019, vol. 374, no. 1775: 20180268. doi: 10.1098/rstb.2018.0268
16. Arruda L.B., Haider N., Olayemi A., Simons D., Ehichioya D., Yinka-Ogunleye A., Ansumana R., Thomason M.J., Asogun D., Ihekweazu C., Fichet-Calvet E., Kock R.A. The niche of one health approaches in Lassa fever surveillance and control. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 2021, vol. 20, no. 1: 29. doi: 10.1186/s12941-021-00431-0
17. Aston N., Bamborough P., Buckton J., Edwards C., Holmes D., Jones K., Patel V., Smee P., Somers D., Vitulli G., Walker A. p38 α Mitogen-activated protein kinase inhibitors: optimization of a series of biphenylamides to give a molecule suitable for clinical progression. *J. Medicinal Chemistry*, 2009, vol. 52, no. 20, pp. 6257–6269. doi: 10.1021/jm9004779
18. Bausch D.G., Rollin P.E., Demby A.H., Coulibaly M., Kanu J., Conteh A.S., Wagoner K.D., McMullan L.K., Bowen M.D., Peters C.J., Ksiazek T.G. Diagnosis and clinical virology of Lassa fever as evaluated by enzyme-linked immunosorbent assay, indirect fluorescent-antibody test, and virus isolation. *J. Clin. Microbiol.*, 2000, vol. 38, no. 7, pp. 2670–7.
19. Baumann J., Knüpfel M., Ouedraogo J., Traoré B.Y., Heitzer A., Kané B., Maiga B., Sylla M., Kouriba B., Wölfel R. Lassa and Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Viruses, Mali. *Emerg. Infect. Dis.*, 2019, vol. 25, no. 5, pp. 999–1002. doi: 10.3201/eid2505.181047
20. Bothra A., Maheswari A., Singh M., Pawar M., Jodhani K. Cutaneous manifestations of viral outbreaks. *Australas. J. Dermatol.*, 2021, vol. 62, no. 1, pp. 27–36. doi: 10.1111/ajd.13421
21. Boisen M.L., Hartnett J.N., Shaffer J.G., Goba A., Momoh M., Sandi J.D., Fullah M., Nelson D.K.S., Bush D.J., Rowland M.M., Heinrich M.L., Koval A.P., Cross R.W., Barnes K.G., Lachenauer A.E., Lin A.E., Nekoui M., Kotliar D., Winnicki S.M., Siddle K.J., Gbakie M., Fonnies M., Koroma V.J., Kanneh L., Kulakosky P.C., Hastie K.M., Wilson R.B., Andersen K.G., Folarin O.O., Happi C.T., Sabeti P.C., Geisbert T.W., Saphire E.O., Khan S.H., Grant D.S., Schieffelin J.S., Branco L.M., Garry R.F. Field validation of recombinant antigen immunoassays for diagnosis of Lassa fever. *Sci. Rep.*, 2018, vol. 8: 5939. doi: 10.1038/s41598-018-24246-w

22. Bowen M.D., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Hustad H.L., Bausch D.G., Demby A.H., Bajani M.D., Peters C.J., Nichol S.T. Genetic diversity among Lassa virus strains. *J. Virol.*, 2000, vol. 74, no. 15, pp. 6992–7004. doi: 10.1128/jvi.74.15.6992-7004.2000
23. Branco L.M., Grove J.N., Boisen M.L., Shaffer J.G., Goba A., Fullah M., Momoh M., Grant D.S., Garry R.F. Emerging trends in Lassa fever: redefining the role of immunoglobulin M and inflammation in diagnosing acute infection. *J. Virol.*, 2011, no. 8: 478. doi: 10.1186/1743-422X-8-478.
24. Buckley S.M., Casals J. Lassa fever, a new virus disease of man from West Africa. 3. Isolation and characterization of the virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1970, vol. 19, no. 4, pp. 680–691. doi: 10.4269/ajtmh.1970.19.680
25. Carrillo-Bustamante P., Nguyen T.H.T., Oestereich L., Günther S., Guedj J., Graw F. Determining Ribavirin's mechanism of action against Lassa virus infection. *Sci. Rep.*, 2017, vol. 7, no. 1: 11693. doi: 10.1038/s41598-017-10198-0
26. Crowcroft N.S., Meltzer M., Evans M., Shetty N., Maguire H., Bahl M., Gair R., Brink N., Lockwood D., Gregor S., Jones J., Nicoll A., Gopal R., Brown D., Bannister B. The public health response to a case of Lassa fever in London in 2000. *J. Infect.*, 2004, vol. 48, no. 3, pp. 221–228. doi: 10.1016/j.jinf.2003.11.009
27. Dedkov V.G., Magassouba N., Safonova M.V., Naydenova E.V., Ayginin A.A., Soropogui B., Kourouma F., Camara A.B., Camara J., Krizkiy A.A., Tuchkov I.V., Shchelkanov M.Y., Maleev V.V. Development and evaluation of a one-step quantitative RT-PCR assay for detection of Lassa Virus. *J. Virol. Methods.*, 2019, no. 271: 113674. doi: 10.1016/j.jviromet.2019.113674
28. Demby A.H., Chamberlain J., Brown D.W., Clegg C.S. Early diagnosis of Lassa fever by reverse transcription-PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 1994, vol. 32, no. 12, pp. 2898–2903. doi: 10.1128/JCM.32.12.2898-2903.1994.
29. Drosten C., Götting S., Schilling S., Asper M., Panning M., Schmitz H., Günther S. Rapid detection and quantification of RNA of Ebola and Marburg viruses, Lassa virus, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Rift Valley fever virus, dengue virus, and yellow fever virus by real-time reverse transcription-PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 2002, vol. 40, no. 7, pp. 2323–2330. doi: 10.1128/jcm.40.7.2323-2330.2002.
30. Drosten C., Kummerer B.M., Schmitz H., Günther S. Molecular diagnostics of viral hemorrhagic fevers. *Antiviral. Res.*, 2003, no. 57, pp. 61–87. doi: 10.1016/S0166-3542(02)00201-2
31. Eichler R., Lenz O., Strecker T., Eickmann M., Klenk H.D., Garten W. Identification of Lassa virus glycoprotein signal peptide as a trans-acting maturation factor. *EMBO Rep.*, 2003, vol. 4, no. 11, pp. 1084–1088. doi: 10.1038/sj.embor.embor7400002
32. Elliott L.H., McCormick J.B., Johnson K.M. Inactivation of Lassa, Marburg, and Ebola viruses by gamma irradiation. *J. Clin. Microbiol.*, 1982, no. 16, pp. 704–708.
33. El Mekki A.A., van der Groen G. A comparison of indirect immunofluorescence and electron microscopy for the diagnosis of some haemorrhagic viruses in cell cultures. *J. Virol. Methods*, 1981, vol. 3, no. 2, pp. 61–69. doi: 10.1016/0166-0934(81)90002-1
34. Feng Y., Zhang Y., Ying C., Wang D., Du C. Nanopore-based fourth-generation DNA sequencing technology. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2015, vol. 13, no. 1, pp. 4–16. doi: 10.1016/j.gpb.2015.01.009.
35. Fernandez-Montero J.V., Soriano V., Barreiro P., de Mendoza C., Artacho M.A. Coronavirus and other airborne agents with pandemic potential. *Curr. Opin. Environ. Sci. Health.*, 2020, vol. 17, pp. 41–48. doi: 10.1016/j.coesh.2020.09.001
36. Gabriel M., Adomeh D.I., Ehimuan J., Oyakhilome J., Omomoh E.O., Ighodalo Y., Olorok T., Bonney K., Pahlmann M., Emmerich P., Lelke M., Brunotte L., Öschlagger S., Thomé-Bolduan C., Becker-Ziaja B., Busch C., Oda I., Ogbaini-Emovon E., Okokhere P.O., Okogbenin S.A., Akpede G.O., Schmitz H., Asogun D.A., Günther S. Development and evaluation of antibody-capture immunoassays for detection of Lassa virus nucleoprotein-specific immunoglobulin M and G. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2018, vol. 12: e0006361. doi: 10.1371/journal.pntd.0006361
37. Ghasemnejad-Berenji M., Pashapour S. Favipiravir and COVID-19: a simplified summary. *Drug Res. (Stuttg.)*, 2021, vol. 71, no. 3, pp. 166–170. doi: 10.1055/a-1296-7935
38. Guo H., Sun S., Yang Z., Tang X., Wang Y. Strategies for ribavirin prodrugs and delivery systems for reducing the side-effect hemolysis and enhancing their therapeutic effect. *J. Control Release*, 2015, no. 209, pp. 27–36. doi: 10.1016/j.jconrel.2015.04.016
39. Gupta M., Aggarwal M., Bhari N. Acneiform eruptions: an unusual dermatological side effect of ribavirin. *Dermatol. Ther.*, 2018, vol. 31, no. 5: e12679. doi: 10.1111/dth.12679
40. Haas W.H., Breuer T., Pfaff G., Schmitz H., Köhler P., Asper M., Emmerich P., Drosten C., Gölnitz U., Fleischer K., Günther S. Imported Lassa fever in Germany: surveillance and management of contact persons. *Clin. Infect. Dis.*, 2003, vol. 36, no. 10, pp. 1254–1258. doi: 10.1086/374853
41. Happi A.N., Happi C.T., Schoepp R.J. Lassa fever diagnostics: past, present, and future. *Curr. Opin. Virol.*, 2019, vol. 37, pp. 132–138. doi: 10.1016/j.coviro.2019.08.002
42. Hulseberg C.E., Fénéant L., Szymańska-de Wijs K.M., Kessler N.P., Nelson E.A., Shoemaker C.J., Schmaljohn C.S., Polyak S.J., White J.M. Arbidol and other low-molecular-weight drugs that inhibit Lassa and Ebola viruses. *J. Virol.*, 2019, vol. 93, no. 8: e02185-18. doi: 10.1128/JVI.02185-18.15
43. Jahrling P.B. Protection of Lassa virus-infected guinea pigs with Lassa-immune plasma of guinea pig, primate, and human origin. *J. Med. Virol.*, 1983, no. 12, pp. 93–102. doi: 10.1002/jmv.1890120203
44. Jahrling P.B., Niklasson B.S., McCormick J.B. Early diagnosis of human Lassa fever by ELISA detection of antigen and antibody. *Lancet*, 1985, vol. 1, no. 8423, pp. 250–252. doi: 10.1016/s0140-6736(85)91029-3
45. Jahrling P.B., Peters C.J. Passive antibody therapy of Lassa fever in cynomolgus monkeys: importance of neutralizing antibody and Lassa virus strain. *Infect. Immun.*, 1984, vol. 44, no. 2, pp. 528–533.
46. Johnson D.M., Cubitt B., Pfeffer T.L., de la Torre J.C., Lukashevich I.S. Lassa virus vaccine candidate ML29 generates truncated viral RNAs which contribute to interfering activity and attenuation. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 2: 214. doi: 10.3390/v13020214
47. Johnson K.M., McCormick J.B., Webb P.A., Smith E.S., Elliott L.H., King I.J. Clinical virology of Lassa fever in hospitalized patients. *J. Infect. Dis.*, 1987, no. 155, pp. 456–464. doi: 10.1093/infdis/155.3.456
48. Knobloch J., McCormick J.B., Webb P.A., Dietrich M., Schumacher H.H., Dennis E. Clinical observations in 42 patients with Lassa fever. *Tropenmed. Parasitol.*, 1980, vol. 31, no. 4, pp. 389–398.
49. Kofman A., Choi M.J., Rollin P.E. Lassa fever in travelers from West Africa, 1969–2016. *Emerg. Infect. Dis.*, 2019, vol. 25, no. 2, pp. 245–248. doi: 10.3201/eid2502.180836

50. Ibekwe T.S., Nwegbu M.M., Asogun D., Adomeh D.I., Okokhere P.O. The sensitivity and specificity of Lassa virus IgM by ELISA as screening tool at early phase of Lassa fever infection. *Niger Med. J.*, 2012, vol. 53, pp. 196–199.
51. Ibukun F.I. Inter-lineage variation of Lassa virus glycoprotein epitopes: a challenge to Lassa virus vaccine development. *Viruses*, 2020, vol. 12, no. 4: 386. doi: 10.3390/v12040386
52. Lehmann C., Kochanek M., Abdulla D., Becker S., Böll B., Bunte A., Cadar D., Dormann A., Eickmann M., Emmerich P., Feldt T., Frank C., Fries J., Gabriel M., Goetsch U., Gottschalk R., Günther S., Hallek M., Häussinger D., Herzog C., Jensen B., Kolibay F., Krakau M., Langebartels G., Rieger T., Schaade L., Schmidt-Chanasit J., Schömig E., Schüttfort G., Shimabukuro-Vornhagen A., von Bergwelt-Baildon M., Wieland U., Wiesmüller G., Wolf T., Fätkenheuer G. Control measures following a case of imported Lassa fever from Togo, North Rhine Westphalia, Germany, 2016. *Euro Surveill.*, 2017, vol. 22, no. 39: 17-00088. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.39.17-00088
53. Liu Y., Guo J., Cao J., Zhang G., Jia X., Wang P., Xiao G., Wang W. Screening of botanical drugs against Lassa virus entry. *J. Virol.*, 2021, vol. 95, no. 8: e02429-20. doi: 10.1128/JVI.02429-20
54. Lotfi M., Hamblin M.R., Rezaei N. COVID-19: Transmission, prevention, and potential therapeutic opportunities. *Clin. Chim. Acta*, 2020, vol. 508, pp. 254–266. doi: 10.1016/j.cca.2020.05.044
55. Lunkenheimer K., Hufert F.T., Schmitz H. Detection of Lassa virus RNA in specimens from patients with Lassa fever by using the polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, 1990, vol. 28, no. 12, pp. 2689–2692. doi: 10.1128/JCM.28.12.2689-2692.1990
56. McCormick J.B., King I.J., Webb P.A., Scribner C.L., Craven R.B., Johnson K.M., Elliott L.H., Belmont-Williams R. Lassa fever. Effective therapy with ribavirin. *N. Engl. J. Med.*, 1986, vol. 314, no. 1, pp. 20–26. doi: 10.1056/NEJM198601023140104
57. Mire C.E., Cross R.W., Geisbert J.B., Borisevich V., Agans K.N., Deer D.J., Heinrich M.L., Rowland M.M., Goba A., Momoh M., Boisen M.L., Grant D.S., Fullah M., Khan S.H., Fenton K.A., Robinson J.E., Branco L.M., Garry R.F., Geisbert T.W. Human-monoclonal-antibody therapy protects nonhuman primates against advanced Lassa fever. *Nat. Med.*, 2017, vol. 23, no. 10, pp. 1146–1149. doi: 10.1038/nm.4396
58. Murphy F.A., Webb P.A., Johnson K.M., Whitfield S.G., Chappell W.A. Arenoviruses in Vero cells: ultrastructural studies. *J. Virol.*, 1970, vol. 6, no. 4, pp. 507–518.
59. Nguyen T.H., Guedj J., Anglaret X., Laouénan C., Madelain V., Taburet A.M., Baize S., Sissoko D., Pastorino B., Rodallec A., Piorowski G., Carazo S., Conde M.N., Gala J.L., Bore J.A., Carbonnelle C., Jacquot F., Raoul H., Malvy D., de Lamballerie X., Mentre F.; JIKI study group. Favipiravir pharmacokinetics in Ebola-infected patients of the JIKI trial reveals concentrations lower than targeted. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2017, vol. 11, no. 2: e0005389. doi: 10.1371/journal.pntd.0005389
60. Nikisins S., Rieger T., Patel P., Muller R., Gunther S., Niedrig M. International external quality assessment study for molecular detection of Lassa virus. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2015, vol. 9, no. 5: e0003793.
61. Niklasson B.S., Jahrling P.B., Peters C.J. Detection of Lassa virus antigens and Lassa virus specific immunoglobulins G and M by enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.*, 1984, no. 20, pp. 239–244.
62. Oestereich L., Rieger T., Lüdtke A., Ruibal P., Wurr S., Pallasch E., Bockholt S., Krasemann S., Muñoz-Fontela C., Günther S. Efficacy of Favipiravir alone and in combination with Ribavirin in a lethal, immunocompetent mouse model of Lassa fever. *J. Infect. Dis.*, 2016, vol. 213, no. 6, pp. 934–938. doi: 10.1093/infdis/jiv522
63. O’Hearn A.E., Voorhes M.A., Fetterer D.P., Wauquier N., Coomber M.R., Bangura J., Fair J.N., Gonzalez J.P., Schoepp R.J. Serosurveillance of viral pathogens circulating in West Africa. *J. Virol.*, 2016, vol. 13, no. 1: 163. doi: 10.1186/s12985-016-0621-4
64. Olschläger S., Lelke M., Emmerich P., Panning M., Drosten C., Hass M., Asogun D., Ehichioya D., Omilabu S., Günther S. Improved detection of Lassa virus by reverse transcription-PCR targeting the 5’ region of S RNA. *J. Clin. Microbiol.*, 2010, vol. 48, no. 6, pp. 2009–2013. doi: 10.1128/JCM.02351-09
65. Purushotham J., Lambe T., Gilbert S.C. Vaccine platforms for the prevention of Lassa fever. *Immunol. Lett.*, 2019, no. 215, pp. 1–11. doi: 10.1016/j.imlet.2019.03.008
66. Raabe V., Koehler J. Laboratory Diagnosis of Lassa Fever. *J. Clin. Microbiol.*, 2017, vol. 55, no. 6, pp. 1629–1637. doi: 10.1128/JCM.00170-17
67. Raabe V.N., Kann G., Ribner B.S., Morales A., Varkey J.B., Mehta A.K., Lyon G.M., Vanairdale S., Faber K., Becker S., Eickmann M., Strecker T., Brown S., Patel K., De Leuw P., Schuettfort G., Stephan C., Rabenau H., Klena J.D., Rollin P.E., McElroy A., Ströher U., Nichol S., Kraft C.S., Wolf T.; Emory Serious Communicable Diseases Unit. Favipiravir and ribavirin treatment of epidemiologically linked cases of Lassa fever. *Clin. Infect. Dis.*, 2017, vol. 65, no. 5, pp. 855–859. doi: 10.1093/cid/cix40
68. Report World Health Organization. WHO coronavirus disease (COVID-19) dashboard. URL: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019> (06.10.2021)
69. Robinson J.E., Hastie K.M., Cross R.W., Yenni R.E., Elliott D.H., Rouelle J.A., Kannadka C.B., Smira A.A., Garry C.E., Bradley B.T., Yu H., Shaffer J.G., Boisen M.L., Hartnett J.N., Zandonatti M.A., Rowland M.M., Heinrich M.L., Martínez-Sobrido L., Cheng B., de la Torre J.C., Andersen K.G., Goba A., Momoh M., Fullah M., Gbakie M., Kanneh L., Koroma V.J., Fonnier R., Jalloh S.C., Kargbo B., Vandi M.A., Gbetuwa M., Ikponmwoosa O., Asogun D.A., Okokhere P.O., Follarin O.A., Schieffelin J.S., Pitts K.R., Geisbert J.B., Kulakoski P.C., Wilson R.B., Happi C.T., Sabeti P.C., Gevao S.M., Khan S.H., Grant D.S., Geisbert T.W., Saphire E.O., Branco L.M., Garry R.F. Most neutralizing human monoclonal antibodies target novel epitopes requiring both Lassa virus glycoprotein subunits. *Nat. Commun.*, 2016, no. 7: 11544. doi: 10.1038/ncomms11544
70. Russmann S., Grattagliano I., Portincasa P., Palmieri V.O., Palasciano G. Ribavirin-induced anemia: mechanisms, risk factors and related targets for future research. *Curr. Med. Chem.*, 2006, vol. 13, no. 27, pp. 3351–3357. doi: 10.2174/092986706778773059
71. Ruo S.L., Mitchell S.W., Kiley M.P., Roumillat L.F., Fisher-Hoch S.P., McCormick J.B. Antigenic relatedness between arenaviruses defined at the epitope level by monoclonal antibodies. *J. Gen. Virol.*, 1991, vol. 72, no. 3, pp. 549–555. doi: 10.1099/0022-1317-72-3-549.
72. Sakurai Y., Kolokoltsov A.A., Chen C.C., Tidwell M.W., Bauta W.E., Klugbauer N., Grimm C., Wahl-Schott C., Biel M., Davey R.A. Ebola virus. Two-pore channels control Ebola virus host cell entry and are drug targets for disease treatment. *Science*, 2015, no. 347, pp. 995–998. doi: 10.1126/science.1258758

73. Safronetz D., Lopez J.E., Sogoba N., Traore S.F., Raffel S.J., Fischer E.R., Ebihara H., Branco L., Garry R.F., Schwan T.G., Feldmann H. Detection of Lassa virus, Mali. *Emerg. Infect. Dis.*, 2010, vol. 16, no. 7, pp. 1123–1126. doi: 10.3201/eid1607.100146
74. Saijo M., Georges-Courbot M.C., Marianneau P., Romanowski V., Fukushi S., Mizutani T., Georges A.J., Kurata T., Kurane I., Morikawa S. Development of recombinant nucleoprotein-based diagnostic systems for Lassa fever. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2007, vol. 14, no. 9, pp. 1182–1189. doi: 10.1128/CVI.00101-07
75. Salam A.P., Cheng V., Edwards T., Olliaro P., Sterne J., Horby P. Time to reconsider the role of ribavirin in Lassa fever. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2021, vol. 15, no. 7: e0009522. doi: 10.1371/journal.pntd.0009522
76. Satterly N.G., Voorhees M.A., Ames A.D., Schoepp R.J. Comparison of MagPix assays and enzyme-linked immunosorbent assay for detection of hemorrhagic fever viruses. *J. Clin. Microbiol.*, 2017, vol. 55, no. 1, pp. 68–78. doi: 10.1128/JCM.01693-16
77. Takah N.F., Brangel P., Shrestha P., Peeling R. Sensitivity and specificity of diagnostic tests for Lassa fever: a systematic review. *BMC Infect. Dis.*, 2019, vol. 19, no. 1: 647. doi: 10.1186/s12879-019-4242-6
78. Tani H., Shuzo U. Arenavirus research and antiviral candidate. *Uirusu*, 2018, vol. 68, no. 1, pp. 51–62. doi: 10.2222/jsv.68.51
79. Tang H., Abouleila Y., Mashaghi A. Lassa hemorrhagic shock syndrome-on-a-chip. *Biotechnol. Bioeng.*, 2021, vol. 118, no. 3, pp. 1405–1410. doi: 10.1002/bit.27636
80. Ter Meulen J., Koulemou K., Wittekindt T., Windisch K., Strigl S., Conde S., Schmitz H. Detection of Lassa virus antinucleoprotein immunoglobulin G (IgG) and IgM antibodies by a simple recombinant immunoblot assay for field use. *J. Clin. Microbiol.*, 1998, vol. 36, pp. 3143–3148. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9774554/>
81. Tomori O., Johnson K.M., Kiley M.P., Elliott L.H. Standardization of a plaque assay for Lassa virus. *J. Med. Virol.*, 1987, vol. 22, no. 1, pp. 77–89. doi: 10.1002/jmv.1890220110
82. Trombley A.R., Wachter L., Garrison J., Buckley-Beason V.A., Jahrling J., Hensley L.E., Schoepp R.J., Norwood D.A., Goba A., Fair J.N., Kulesh D.A. Comprehensive panel of real-time TaqMan polymerase chain reaction assays for detection and absolute quantification of filoviruses, arenaviruses, and New World hantaviruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2010, vol. 82, no. 5, pp. 954–960. doi: 10.4269/ajtmh.2010.09-0636
83. Troup J.M., White H.A., Fom A.L., Carey D.E. An outbreak of Lassa fever on the Jos plateau, Nigeria, in January-February 1970. A preliminary report. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1970, vol. 19, no. 4, pp. 695–696. doi: 10.4269/ajtmh.1970.19.695
84. Wang S., Liu Y., Guo J., Wang P., Zhang L., Xiao G., Wang W. Screening of FDA approved drugs for inhibitors of Japanese encephalitis virus infection. *J. Virol.*, 2017, vol. 91, no. 21: e01055-17. doi: 10.1128/JVI.01055-17
85. Wang P., Liu Y., Zhang G., Wang S., Guo J., Cao J., Jia X., Zhang L., Xiao G., Wang W. Screening and identification of Lassa virus entry inhibitors from an FDA-approved drug library. *J. Virol.*, 2018, vol. 92, no. 16: e00954-18. doi: 10.1128/JVI.00954-18
86. Wolkowicz T. The utility and perspectives of NGS-based methods in BSL-3 and BSL-4 laboratory — sequencing and analysis strategies. *Brief Funct. Genomics*, 2018, vol. 17, no. 6, pp. 471–476. doi: 10.1093/bfgp/elx033
87. Wulff H., Johnson K.M. Immunoglobulin M and G responses measured by immunofluorescence in patients with Lassa or Marburg virus infections. *Bull. World Health Organ.*, 1979, vol. 57, pp. 631–635. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/118812>
88. Zhang X., Yan F., Tang K., Chen Q., Guo J., Zhu W., He S., Banadyga L., Qiu X., Guo Y. Identification of a clinical compound losmapimod that blocks Lassa virus entry. *Antiviral. Res.*, 2019, no. 167, pp. 68–77. doi: 10.1016/j.antiviral.2019.03.014
89. Zhurilo N.I., Chudinov M.V., Matveev A.V., Smirnova O.S., Konstantinova I.D., Miroshnikov A.I., Prutkov A.N., Grebenkina L.E., Pulkova N.V., Shvets V.I. Isosteric ribavirin analogues: synthesis and antiviral activities. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2018, vol. 28, no. 1, pp. 11–14. doi: 10.1016/j.bmcl.2017.11.029

Авторы:

Казачинская Е.И., д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела экспериментального моделирования патогенеза инфекционных заболеваний Научно-исследовательского института вирусологии Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины Сибирского отделения Российской Академии наук, Новосибирск, Россия; ведущий научный сотрудник отдела биоинженерии ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

Арипов В.С., аспирант, младший научный сотрудник отдела биоинженерии ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

Иванова А.В., к.б.н., старший научный сотрудник отдела биоинженерии ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

Шестопалов А.М., д.б.н., профессор, зав. отделом экспериментального моделирования патогенеза инфекционных заболеваний Научно-исследовательского института вирусологии Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины Сибирского отделения Российской Академии наук, Новосибирск, Россия.

Authors:

Kazachinskaja E.I., PhD, MD (Biology), Leading Researcher, Department of Experimental Modeling of Pathogenesis of Infectious Diseases, Research Institute of Virology, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation; Leading Researcher, Department of Bioengineering, State Research Centre of Virology and Biotechnology “Vector” of Rosпотребнадзор, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

Aripov V.S., PhD Candidate, Junior Researcher, Department of Bioengineering, State Research Centre of Virology and Biotechnology “Vector” of Rosпотребнадзор, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

Ivanova A.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Department of Bioengineering, State Research Centre of Virology and Biotechnology “Vector” of Rosпотребнадзор, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

Shestopalov A.M., PhD, MD (Biology), Professor, Head of the Department of Experimental Modeling of Pathogenesis of Infectious Diseases, Research Institute of Virology, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 04.11.2021
Отправлена на доработку 21.11.2021
Принята к печати 19.02.2022

Received 04.11.2021
Revision received 21.11.2021
Accepted 19.02.2022

РИНО- И РС-ВИРУСЫ В ПАНДЕМИЮ COVID-19

И.В. Киселева^{1,2}, А.Д. Ксенафонтов³

¹ ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Острые респираторные вирусные инфекции являются самыми многочисленными заболеваниями человека, с развитием которых связывают несколько сотен различных вирусов. Один из наиболее распространенных на планете респираторных патогенов — это риновирус человека, который является причиной более половины всех случаев острых респираторных вирусных инфекций; на долю сезонных коронавирусов человека приходится 10–15% простудных заболеваний; респираторно-синцитиальный (РС) вирус — наиболее частая причина госпитализации младенцев с респираторными заболеваниями; также широко распространены вирусы гриппа, аденовирусы, вирус парагриппа человека и метапневмовирусы. Считается, что вирусные простудные заболевания — это в основном самостоятельно купирующиеся, легко протекающие инфекции, которые обычно проходят в течение 8–10 дней. Однако не стоит недооценивать роль обычных сезонных респираторных вирусов в общей массе респираторных патогенов. Оказалось, что в экстраординарных условиях пандемий они ведут себя по-разному. Это было очень четко продемонстрировано в последнюю пандемию гриппа 2009 г. Если одни вирусы под гнетом агрессивного пандемического штамма сдали свои позиции, то другие, и ярким тому примером может служить риновирус, — продолжали активно бороться за существование и не только циркулировали наравне с пандемическим патогеном, но и в ряде случаев задерживали его распространение. Так происходило, например, в ряде европейских стран, где наступление пандемического вируса гриппа H1N1pdm09 было приостановлено начавшейся ежегодной осенней вспышкой риновирусной инфекции. Спустя десять лет от начала пандемии гриппа H1N1pdm09 разразилась пандемия COVID-19, вызванная новым коронавирусом SARS-CoV-2. Эта пандемия нарушила устоявшиеся эпидемиологические и патогенетические взаимосвязи. Уровень циркуляции многих респираторных патогенов значительно изменился. Например, глобальная активность гриппа уже второй год находится на гораздо более низком уровне, чем ожидалось. Во многих регионах мира сезон гриппа так и не начался. Но что интересно: риновирусы, а с ними и РС-вирус, снова проявили свою уникальную способность конкурировать с высокопатогенными и агрессивными возбудителями. При значительном сокращении циркуляции многих сезонных респираторных вирусов, именно риновирус и РС-вирус оказались наиболее часто обнаруживаемыми вирусами. В настоящем обзоре мы свели воедино основные биологические характеристики таких генетически удаленных вирусов, как риновирус, вирус гриппа А, РС-вирус и SARS-CoV-2, в попытке понять, что их объединяет и разделяет, почему так по-разному они ведут себя в экстремальных пандемических условиях и что позволяет риновирусам и РС-вирусам сосуществовать с SARS-CoV-2, который, в свою очередь, почти полностью вытеснил вирус гриппа.

Ключевые слова: COVID-19, острые респираторные вирусные инфекции, грипп, риновирусные инфекции, РС-вирусные инфекции.

Адрес для переписки:

Киселева Ирина Васильевна
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. академика Павлова, 12,
ФГБНУ Институт экспериментальной медицины.
Тел.: 8 (812) 234-68-60.
Факс: 8 (812) 234-68-68.
E-mail: irina.v.kiseleva@mail.ru

Contacts:

Irina V. Kiseleva
197376, Russian Federation, St. Petersburg,
Academician Pavlov str., 12, Institute of Experimental Medicine.
Phone: +7 (812) 234-68-60.
Fax: +7 (812) 234-68-68.
E-mail: irina.v.kiseleva@mail.ru

Для цитирования:

Киселева И.В., Ксенафонтов А.Д. Рино- и РС-вирусы в пандемию COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4. С. 624–638. doi: 10.15789/2220-7619-RAR-1826

Citation:

Kiseleva I.V., Ksenafontov A.D. Rhino- and RS-viruses in the COVID-19 pandemic // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 624–638. doi: 10.15789/2220-7619-RAR-1826

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 21-75-30003.

This work was supported financially by the Russian Science Foundation, grant No. 21-75-30003.

RHINO- AND RS-VIRUSES IN THE COVID-19 PANDEMIC

Kiseleva I.V.^{a,b}, Ksenafontov A.D.^c

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

^b St. Petersburg University, St. Petersburg, Russian Federation

^c Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Acute respiratory viral infections are distributed across the globe and are the most numerous human diseases caused by several hundreds of diverse viruses. Human rhinovirus is one of the most common respiratory pathogens worldwide, causing more than half of all acute respiratory viral infection cases. Seasonal human coronaviruses account for 10–15% of common cold cases; respiratory syncytial (RS) virus is the most common cause of respiratory hospitalization in infants; influenza viruses, adenoviruses, human parainfluenza virus, metapneumoviruses, and some other pathogens are also widespread. It is believed that viral common colds are mostly self-limited, causing mild infections that usually resolve within 8–10 days. However, the role of common seasonal respiratory viruses in total respiratory morbidity should not be underestimated. It turned out that during extraordinary conditions of pandemics, they behave differently. This was clearly demonstrated in the last 2009 influenza pandemic. Whereas some viruses lost relevance under the burden of a new aggressive pandemic strain, others, e.g., rhinovirus, continued to fight for existence and not only circulated along with the pandemic pathogen, but delayed its spread in some cases. For instance, the data from some European countries pointed out that the circulation of the H1N1pdm09 influenza A pandemic virus was interrupted by the annual rhinovirus outbreak. Ten years after the H1N1pdm09 influenza pandemic, a new virus outbreak emerged — the COVID-19 pandemic has begun. This pandemic, caused by the SARS-CoV-2 virus, has disrupted well-established pathogenetic and epidemiological relationships. The level of circulation of many respiratory pathogens has changed dramatically. For instance, global influenza activity has been at a much lower level than expected for the second year from now. In many regions of the world, the flu season has not been started yet. But what is interesting is that rhinoviruses together with RS-virus again showed their unique ability to compete with highly pathogenic and aggressive pathogens. Along with profoundly reduced circulation of many other seasonal respiratory viruses, rhinovirus, and RS-virus are the most frequently detected viruses. In this review, we have brought together the main biological characteristics of such genetically distinct viruses such as rhinovirus, influenza A virus, RS-virus, and SARS-CoV-2. We focused on their main similarities and discrepancies in the attempt to understand why they behave so differently in extreme pandemic conditions as well as what allows rhinoviruses and RS-viruses to coexist with SARS-CoV-2, which in turn almost fully replaced the influenza virus.

Key words: COVID-19, acute respiratory viral infections, influenza, rhinovirus infection, RS-virus infection.

Введение

Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) являются самыми распространенными и многочисленными заболеваниями человека, возбудителями которых являются сотни различных вирусов. Чаще всего встречаются риновирусы человека, на долю которых приходится более половины всех случаев ОРВИ [25], сезонные коронавирусы человека, которые являются причиной 10–15% случаев простудных заболеваний, респираторно-синцитиальный (РС), или ортопневмовирус человека, — наиболее частая причина госпитализации младенцев с респираторными заболеваниями (до 60%), вирусы гриппа, аденовирусы, вирус парагриппа человека и метапневмовирусы [25, 45]. Считается, что вирусные простудные заболевания — это, в основном, легко протекающие инфекции [79]. Однако не стоит недооценивать роль респираторных вирусов, в частности, риновирусов человека и РС-вируса, в общей массе респираторных патогенов.

В самом начале распространения по миру SARS-CoV-2 предполагали, что пандемия будет развиваться в соответствии с одним из двух сценариев: вирусы SARS-CoV-2 будут циркулировать параллельно с другими респираторными

вирусами или вытеснят их [49]. Но с течением времени стало ясно, что может иметь место третий, комбинированный, сценарий: совместная циркуляция различных респираторных вирусов со штаммами SARS-CoV-2 может приводить как к кооперативным, так и к конкурентным формам вирус-вирусных взаимодействий. Если до 2020 г. наиболее часто обнаруживаемым вирусом был вирус гриппа, за которым следовал риновирус [82], то появление нового коронавируса 2019 г. сопровождалось значительным сокращением циркуляции многих сезонных респираторных вирусов, за исключением риновируса и РС-вируса [10].

Полагают, что, поскольку существует более 170 серотипов риновирусов, предшествующая риновирусная инфекция обеспечивает слабую иммунологическую защиту человека при следующем заражении, что является причиной высокой частоты последующих инфекций [14]. Однако значительное количество серотипов не объясняет, почему риновирусы не исчезают во время пандемий. Многие другие респираторные вирусы, такие, например, как аденовирусы человека, также имеют большое количество серотипов [43], что не помогает им выживать в пандемию COVID-19. И наоборот, у РС-

вируса различают всего два серотипа, А и В [31], что не мешает им достаточно активно циркулировать в пандемию COVID-19.

Взаимодействие респираторных вирусов при их совместной циркуляции в периоды пандемий

Возможное взаимовлияние респираторных патогенов освещалось в литературе [4, 70, 72, 111, 114]. Наиболее полная информация касается двух последних пандемий — пандемии гриппа H1N1pdm09 и COVID-19. Было установлено, что взаимоотношения между риновирусами, РС-вирусами и вирусами гриппа (а в пандемию COVID-19 сюда добавился и коронавирус SARS-CoV-2) во время их совместной циркуляции проявляются в нескольких вариантах: распространение вирусов гриппа задерживается сезонными риновирусами [3, 4, 10, 12, 13] или блокируется пандемическим вирусом SARS-CoV-2 [106]; в свою очередь, пандемический SARS-CoV-2 может блокироваться риновирусом [20] или циркулировать вместе с ним [10]; РС-вирусы сосуществуют не только с сезонными вирусами гриппа и риновирусами, но и с SARS-CoV-2 (рис. 1).

Ниже мы более подробно остановимся на возможных вариантах этих взаимоотношений.

Распространение вируса гриппа А может быть приостановлено риновирусом. Девятилетний анализ более 44 тысяч случаев респираторных заболеваний в Глазго (Великобритания) показал, что взаимодействие между повсеместно распространенным риновирусом человека во время его максимальной активности и вирусом сезонного гриппа А может снизить ак-

тивность последнего [71], т. е. распространение вируса гриппа А может быть остановлено или, по крайней мере, сдерживается риновирусом. Некоторые исследователи полагают, что конкурентные взаимоотношения между риновирусом и пандемическим вирусом H1N1pdm09 отсрочили развитие пандемии в Европе. Данные из ряда европейских стран указывают на то, что циркуляция пандемического вируса гриппа H1N1pdm09 была прервана ежегодной осенней эпидемией риновируса [2, 111]. Другие исследования также показали, что риновирус задерживал распространение пандемического вируса гриппа H1N1pdm09 [3, 4]. Этот феномен объясняли тем, что риновирус может подавлять последующее заражение вирусом гриппа за счет активации противовирусной защиты в слизистой оболочке дыхательных путей, которая является мишенью для обоих вирусов [111].

Риновирусы давно известны как одна из самых частых причин простудных заболеваний, зачастую протекающих бессимптомно. Такие бессимптомные инфекции могут запускать экспрессию генов, стимулированную интерфероном, в эпителии верхних дыхательных путей [46, 110]. Таким образом, риновирусная инфекция может защитить хозяина, блокируя его последующее заражение другими, более высоковирулентными вирусами.

Интересно, что в пандемию гриппа H1N1pdm09 уровень циркуляции РС-вируса, наоборот, снизился и вернулся к прежнему уровню, только когда пандемия пошла на убыль [39].

SARS-CoV-2 задерживает распространение большинства респираторных вирусов, включая вирусы гриппа. Примечательно, что на протяжении всей пандемии, вызванной SARS-CoV-2,

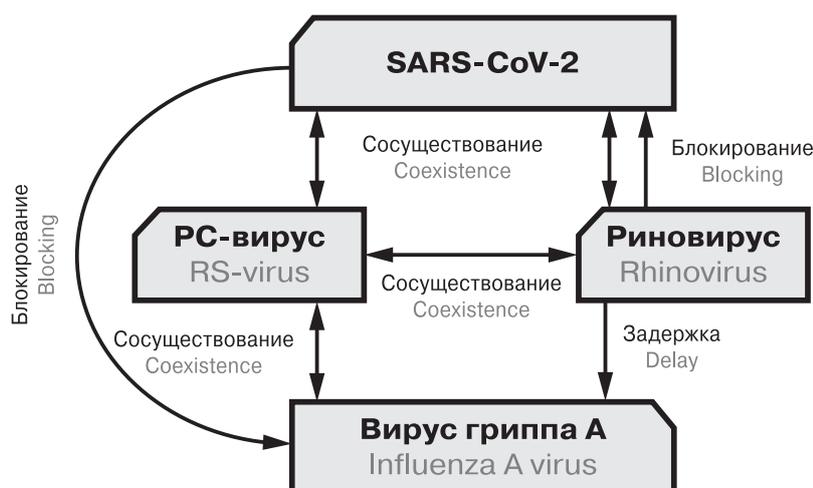


Рисунок 1. Варианты взаимоотношений между риновирусами, РС-вирусами, вирусами гриппа А и SARS-CoV-2 при их социркуляции в период пандемий (по материалам, опубликованным в [2, 3, 4, 10, 20, 48, 61, 71, 106, 111])

Figure 1. Variants of the relationship between rhinoviruses, RS-viruses, influenza A viruses and SARS-CoV-2 during their co-circulation in pandemics (based on [2, 3, 4, 10, 20, 48, 61, 71, 106, 111])

во всем мире наблюдается 99%-ное снижение выделения вирусов гриппа [48, 61]. Низкий уровень циркуляции отмечен и для аденовирусов [48]. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по состоянию на 27 января 2022 г., глобальная активность гриппа находится на более низком уровне, чем ожидалось для этого времени года [106]. В Северном полушарии активность гриппа вернулась к межсезонному уровню, а в Южном полушарии сезон гриппа так и не начался. Большинство стран сообщают в ВОЗ о спорадическом обнаружении гриппа при высоком уровне случаев COVID-19; в регионах, где COVID-19 широко распространен, циркуляция вирусов гриппа по-прежнему значительно снижена [106].

Некоторые исследователи полагают, что грипп вновь возникнет после пандемии SARS-CoV-2 и снова будет циркулировать [9]. С другой стороны, широкое распространение SARS-CoV-2 может привести к тому, чего не удавалось сделать человечеству за все годы изучения гриппа — если не полностью победить его, то хотя бы вытеснить из циркуляции [50].

Риновирус может блокировать распространение нового коронавируса SARS-CoV-2. Конкурентные взаимоотношения были зарегистрированы не только для риновируса + вирус гриппа А, но и для риновируса + SARS-CoV-2. Согласно экстраординарному исследованию Центра вирусных исследований Университета МРС в Глазго (Великобритания), экспериментальная риновирусная инфекция может блокировать репликацию SARS-CoV-2 в клетках дыхательных путей человека, вызывая индукцию интерферона, что по мнению авторов может уменьшить тяжесть течения COVID-19 [20].

SARS-CoV-2 может социркулировать с такими респираторными патогенами, как РС-вирус и риновирусы. Наиболее частыми респираторными инфекционными агентами во время пандемии COVID-19 были сезонные коронавирусы, рино- и РС-вирусы. Так, исследование, проведенное в Италии с декабря 2019 г. по март 2020 г., показало интересную тенденцию в распространении респираторных патогенов: риновирус (22,3%) и РС-вирус (23,7%) оказались наиболее часто обнаруживаемыми вирусами, за ними следовал SARS-CoV-2 (14,1%) [10]. Wu и соавт. [111] предположили, что ежегодные вспышки риновируса могут определять время и степень тяжести сезонных эпидемий гриппа и продолжающейся пандемии COVID-19. В Израиле, в самом начале пандемии COVID-19, была отмечена низкая заболеваемость РС-вирусной инфекцией, однако к лету 2021 г. количество детей, госпитализированных с этим диагнозом, существенно увеличилось [103].

Любопытно, что во время пандемии COVID-19 и гриппозных пандемий именно риновирусы и, в определенной степени, РС-вирусы создают огромное социально-экономическое бремя, будучи наиболее распространенными респираторными патогенами, обнаруживаемыми у пациентов, отвечающих соответствующим клиническим критериям для госпитализации [5, 27].

Все вышесказанное указывает на необходимость пересмотра существующей концепции риновирусной инфекции и должно стимулировать интерес к ее изучению.

Что же позволяет риновирусам и РС-вирусам сосуществовать с SARS-CoV-2, который при этом вытеснил вирус гриппа? Чтобы попытаться понять, что объединяет SARS-CoV-2, вирус гриппа А, РС-вирус и риновирус человека и каковы различия между ними, мы сравнили их основные известные биологические характеристики.

Таксономия, морфология, структура, репликация

Все четыре вируса — SARS-CoV-2, вирус гриппа А, РС-вирус и риновирус человека — принадлежат к царству РНК-содержащих вирусов *Orthornavirae* [30, 43, 44]. Два из них, вирус гриппа А и РС-вирус, относятся к типу *Negarnaviricota*, их геном представлен молекулами РНК отрицательной полярности, а два других вируса — риновирус и SARS-CoV-2 — являются носителями положительного генома и относятся к классу *Pisoniviricetes* типа *Pisuviricota*. РС-вирусы, ранее относившиеся к семейству *Paramyxoviridae*, по последней классификации занимают место в семействе *Pneumoviridae* наряду с метапневмовирусами [43, 44]. SARS-CoV-2 рассматривается Международным комитетом по таксономии вирусов как сестринский клайд по отношению к клайду вируса SARS-CoV [30] (рис. 2).

Как было отмечено выше, на сегодняшний день, в период продолжающейся пандемии COVID-19, риновирусы остаются в циркуляции вместе с другим представителем класса *Pisoniviricetes* — SARS-CoV-2. Достаточно активно циркулируют и представители класса *Monjiviricetes* — РС-вирусы. Напротив, представители того же типа *Negarnaviricota*, относящиеся к другому классу — *Insthoviricetes* (вирусы гриппа человека), — продемонстрировали загадочный феномен замещения новым пандемическим патогеном SARS-CoV-2 [48, 61, 106]. Анализ детальной схемы, приведенной на рис. 2, не позволяет найти какие-либо закономерности, объясняющие этот феномен.

Инфекционные частицы вируса гриппа, SARS-CoV-2, РС- и риновирусов состоят из геномной РНК, окруженной белковой оболочкой.

Капсид всех этих вирусов имеет икосаэдрическую форму с кубическим типом симметрии. На электронных фотографиях вирионы SARS-CoV-2, РС-вируса и вируса гриппа А выглядят частицами среднего размера в диаметре (80–120 нм); напротив, риновирусы человека имеют меньшие размеры (около 30 нм) [101].

Все известные вирусы делятся на два типа в зависимости от структуры их вириона: оболочечные и безоболочечные вирусы [87]. Вирус гриппа А, РС-вирусы и SARS-CoV-2 известны как вирусы с липидной оболочкой, которая состоит из фрагментов хозяйских клеточных мембран и включает гликопротеины вируса.

Будучи оболочечными вирусами, вирусы гриппа А, РС-вирусы и SARS-CoV-2 экологически неустойчивы к температуре (чувствительны к нагреванию) [21, 26, 37, 75]; они разрушаются кислотами, детергентами и сушкой [21, 26, 35, 37, 68, 85, 102], чувствительны к окислителям, липидным растворителям, УФ-облучению и формальдегиду [85].

Напротив, безоболочечные риновирусы экологически более устойчивы к повышенным температурам и могут легко выдерживать сухую и кислую среду [28, 36, 56, 64, 78]. По сравнению с оболочечными вирусами, вирусы без оболочки, как правило, хорошо размножаются в кислой

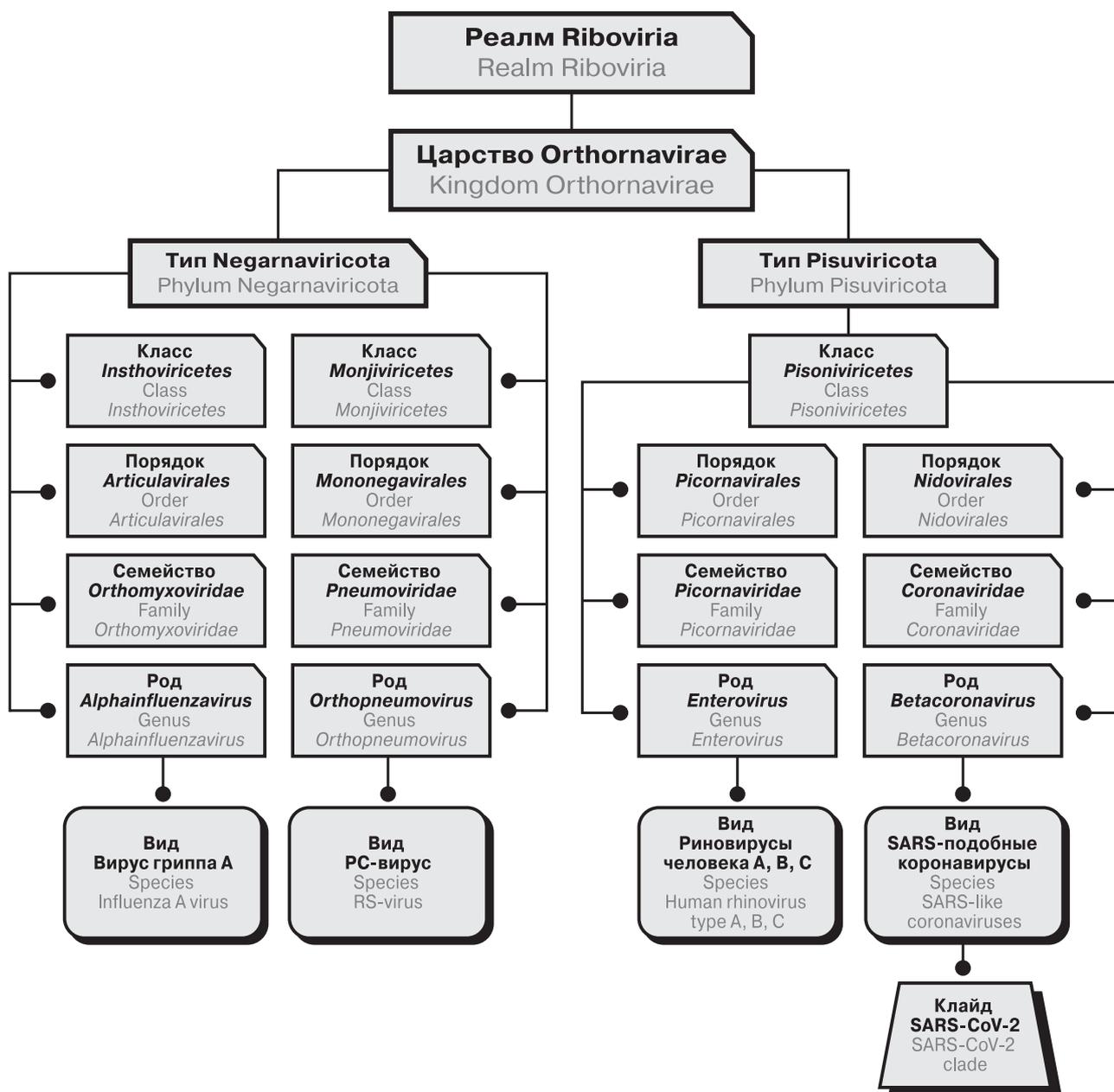


Рисунок 2. Таксономия респираторных вирусов, рассматриваемых в данном обзоре (составлена на основе материалов, приведенных в [30, 43, 44])

Figure 2. Taxonomy of respiratory viruses discussed in the review (based on [30, 43, 44])

среде [29, 59, 73, 81]. Однако, в отличие от многих других пикорнавирусов [73, 81], риновирусы чувствительны к кислой среде [45, 69, 73] и нестабильны при рН ниже 5–6 [43, 73].

Из-за своей сложной внешней структуры оболочечные вирусы, как правило, демонстрируют более высокую стабильность и дольше выживают благодаря своей способности адаптироваться к различным условиям окружающей среды [38, 55]. Напротив, из-за низкой устойчивости к суровым условиям окружающей среды риновирусы менее стабильны и выживают как в хозяйском организме, так и за его пределами в течение более короткого времени [45, 73].

Риновирусы, как и любые другие безоболочечные вирусы, трудно поддаются стерилизации, поскольку легко приспосабливаются к изменениям температуры [73]. Отсутствие липидной оболочки способствует их устойчивости к детергентам и высушиванию. Оболочечные же вирусы легче стерилизовать, поскольку они не обладают высокой устойчивостью к высушиванию и термообработке [64].

Липидная оболочка оболочечных вирусов «инкрустирована» гликопротеинами. Липидная оболочка SARS-CoV-2 содержит белок оболочки E, белок-шип S и мембранный белок M. Белок нуклеокапсида образует ядро вириона [6]. Спайковый белок S обеспечивает связь вируса с поверхностью клетки-хозяина [40]. Существует мнение, что связывание спайкового S-белка с рецепторами в момент проникновения вируса в клетку в конечном счете приводит к нарушениям свертываемости крови, гиперактивации тромбоцитов и тромбозам [32]. Вирион SARS-CoV-2 содержит многоосновный сайт расщепления, который, как известно, отвечает за повышенную трансмиссивность и патогенность других вирусов, в частности, вирусов гриппа птиц. Частицы вируса гриппа А окружены липидным бислоем, который содержит два основных гликопротеина — гемагглютинин (HA) и нейраминидазу (NA), а также белок M2 ионного канала [9]. G-гликопротеин РС-вируса отвечает за прикрепление вируса к клеткам-хозяевам, а его F-белок отвечает за слияние мембран вируса и клетки-хозяина и за образование синцития [17, 18].

Напротив, структура вириона безоболочечного риновируса человека проще [99]: его капсид не покрыт липидной оболочкой [91] и состоит из четырех структурных белков вируса (VP1–VP4). Остальные вирусные белки отвечают за репликацию вируса и последующую сборку [41]. Белки капсида обладают высокой степенью гетерогенности, что приводит к широкому антигенному разнообразию [91, 101]. В настоящее время известны три серологически различных вида риновирусов человека: А, В и С. В общей сложности среди трех видов ри-

новирусов идентифицировано более 170 типов, которые могут циркулировать в человеческой популяции [67].

Все обсуждаемые в обзоре патогены представляют собой одноцепочечные РНК-вирусы с линейным типом молекулы нуклеиновой кислоты (рис. 3). Вирус гриппа А содержит сегментированную РНК, а его геном состоит из восьми генов различной длины: PB2, PB1, PA, NA, NP, NA, M и NS. Каждый сегмент генома вируса гриппа кодирует по крайней мере один белок [15] и связан с белковым комплексом [9, 19]. Напротив, геномы РС-вируса, SARS-CoV-2 и риновируса не сегментированы, в результате чего, в отличие от вирусов гриппа, эти вирусы не способны к генетической реассортации.

На поверхности клеток-хозяев вирусам соответствуют специфические рецепторы, к которым они прикрепляются, и, в свою очередь, каждый вирус имеет особый вирусный белок, который связывается с клеточным рецептором. Для риновирусов главным поверхностным белком является VP1, который играет важную роль в прикреплении к поверхности клетки-хозяина [45, 91, 98]. SARS-CoV-2 прикрепляется к клеткам-хозяевам с помощью белка клеточной поверхности ACE2 через рецептор-связывающий домен S-белка [63, 89, 98]. Присоединение к клетке-хозяину вируса гриппа А происходит через рецептор-связывающий домен, расположенный в HA1 [22]. Прикрепление РС-вируса к поверхности чувствительной клетки связано с гликопротеинами F и G [17].

Все четыре вируса проникают в клетку посредством эндоцитоза [17, 22, 45, 91, 98], а SARS-CoV-2 также может использовать слияние плазматических мембран [89].

Клетки-хозяева обычно не реплицируют РНК, поэтому РНК-вирусы, включая SARS-CoV-2, должны кодировать фермент РНК-зависимую РНК-полимеразу, которая необходима для репликации генома и продукции мРНК [54, 93, 113]. Есть некоторые различия в организации генома: вирус гриппа А и РС-вирус содержат отрицательный геном — (–)РНК; два других содержат плюс-нить РНК — (+)РНК (рис. 4). Для всех (–)РНК-вирусов важным этапом является синтез мРНК из геномной (–)РНК при помощи РНК-зависимой-РНК-полимеразы. Сам по себе геном (–)РНК-вирусов не является инфекционным [92, 93]. Важно отметить, что в отличие от остальных вирусов, синтез РНК вириона вируса гриппа происходит в ядре.

Для вирусов с (+) геномом, после их проникновения в клетку-хозяина, первым этапом репликации является трансляция геномной (+)РНК с образованием белков, необходимых для синтеза антигеномных копий. (+)РНК является инфекционной, т. е. введение геномной

(+)РНК в восприимчивую клетку приводит к завершению инфекционного цикла [93, 94].

Новые вирусные частицы высвобождаются из инфицированной клетки через почкование (РС-вирус и вирус гриппа А), экзоцитоз (SARS-CoV-2) или литические/нелитические механизмы (риновирус) [17, 22, 45, 65].

Эпидемиология и патогенез

Температурная чувствительность репликации. Риновирусы человека имеют относительно низкую оптимальную температуру репликации в культуре клеток HeLa (33°C), что отражает их адаптацию к репликации в области носоглотки [45, 88]. Однако некоторые риновирусы устойчивы к температуре и могут размножаться при более высокой температуре (37°C) [77, 78]. В клетках MDCK вирусы гриппа А могут реплицироваться в широком диапазоне температур от 32 до 38°C [53], а в развивающихся куриных эмбрионах предельная температура инкубации еще выше и достигает 40°C [51, 52]. SARS-CoV-2 эффективно реплицируется в клетках Vero в диапазоне 33–37°C [60]. РС-вирус, несмотря на высокий уровень репликации в верхних дыхательных путях человека, также обла-

дает способностью к активному размножению при повышенной температуре инкубации. Так, в культуре клеток Vero РС-вирус размножается в широком диапазоне температур от 32°C до 40°C [47]. Продемонстрированная способность респираторных вирусов реплицироваться *in vitro* за верхними пределами температурного оптимума подтверждает тот факт, что эти вирусы также могут инфицировать нижние дыхательные пути, вызывая их повреждение.

Патогенез и клинические проявления. Основным путем проникновения риновируса, РС-вируса, вируса гриппа А и SARS-CoV-2 являются верхние дыхательные пути. В целом респираторные симптомы типичны для большинства вирусных инфекций верхних дыхательных путей [25] и примерно одинаковы для всех вирусных патогенов. Исследования показали, что идентифицировать вирус на основе наличия тех или иных клинических симптомов не представляется возможным [100].

Вирус гриппа и SARS-CoV-2 вызывают острую респираторную инфекцию, которая может проявляться в различных формах — от бессимптомных до тяжелых, ведущих к летальному исходу. Существует несколько различий в патогенезе SARS-CoV-2 и вируса гриппа А,

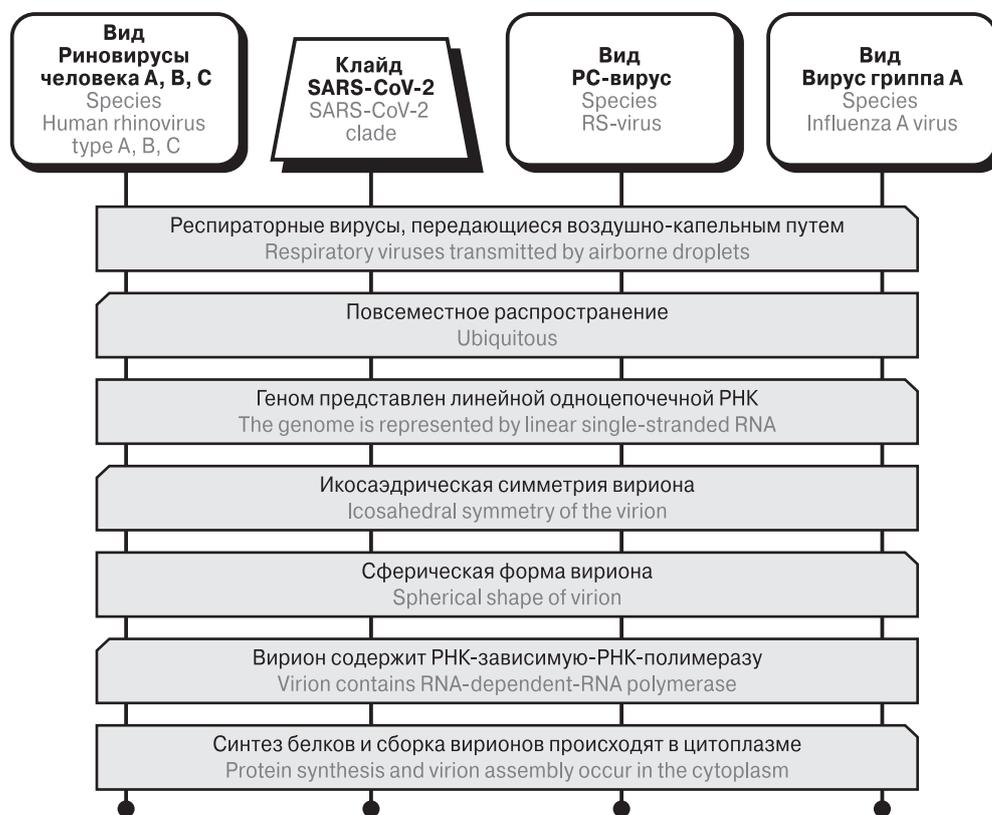


Рисунок 3. Общие черты риновирусов, вирусов гриппа А, РС-вирусов и SARS-CoV-2 (по материалам, опубликованным в [17, 33, 34, 50, 65, 91])

Figure 3. Common features between rhinoviruses, influenza A viruses, RS-viruses and SARS-CoV-2 (based on [17, 33, 34, 50, 65, 91])

например, последний имеет более короткий инкубационный период. Хотя симптомы обоих заболеваний схожи, доля пациентов с тяжелым заболеванием различается. Клиническая картина COVID-19 похожа на грипп и многие другие ОРВИ. Отличительным симптомом является нарастающая одышка, что может указывать на развитие пневмонии. Осложнения тяжелой формы COVID-19 включают в себя пневмонию, сепсис, острый респираторный дистресс-синдром, поражения сердца, менингоэнцефалит, миокардит, тромбоз и почечную недостаточность [8].

COVID-19 может вызывать неврологические осложнения [11]. К сожалению, пока еще мало что известно о патогенезе инфекции SARS-CoV-2 в центральной нервной системе. Kumari и соавт. [58]

предположили, что прямое инфицирование клеток центральной нервной системы вместе с воспалительной реакцией, индуцированной в головном мозге, приводит к тяжелому заболеванию. Что касается гриппа, то доля тяжелых и крайне тяжелых случаев и осложнений ниже [7, 42, 112].

Риновирусная инфекция не вызывает непосредственно развитие симптомов ОРВИ, но индуцирует воспалительную реакцию [79, 108]. Как правило, риновирусная инфекция протекает в легкой форме и проходит самостоятельно, но она также может быть связана с бронхиолитом (у младенцев) и пневмонией (у пациентов с ослабленным иммунитетом) [74]. Риновирусы являются основными детскими патогенами, которые поражают как верхние, так и нижние

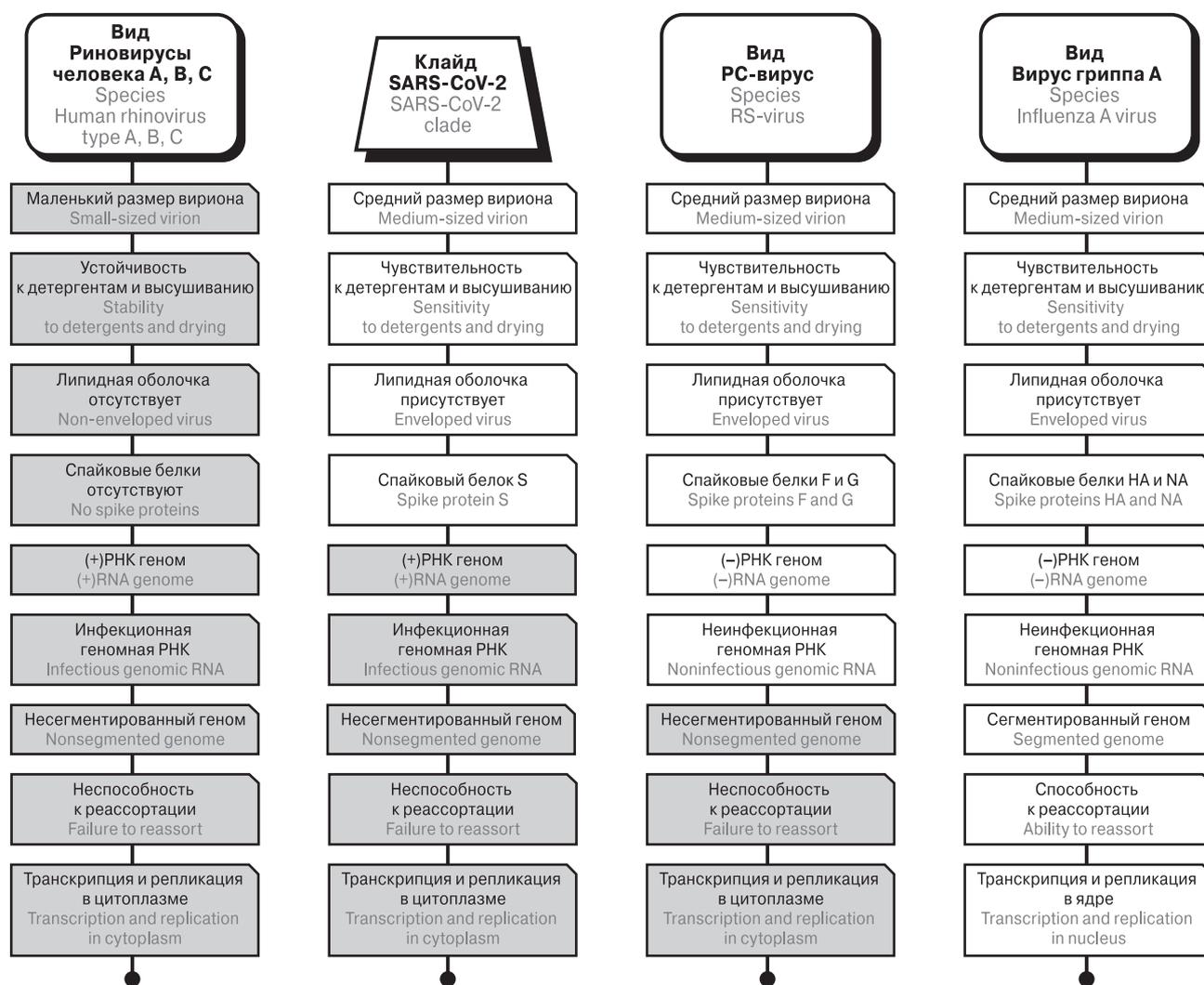


Рисунок 4. Отличительные черты риновирусов, вирусов гриппа А, РС-вирусов и SARS-CoV-2 (по материалам, опубликованным в [17, 33, 34, 50, 65, 91])

Figure 4. Distinctive features of rhinoviruses, influenza A viruses, RS-viruses and SARS-CoV-2 (based on [17, 33, 34, 50, 65, 91])

Примечание. Белые прямоугольники — признаки, по которым другие вирусы отличаются от риновирусов; серые прямоугольники — признаки, общие у риновирусов и других вирусов.

Note. White rectangles denote features of other viruses differed from rhinoviruses; gray rectangles — common features for rhinoviruses and other viruses.

дыхательные пути, и часто вызывают обострения астмы и пневмонию [24, 77]. Дефектный иммунный ответ на риновирусную инфекцию с участием интерферона-лямбда считается одним из механизмов обострения у детей-астматиков [24]. В отличие от вируса гриппа, риновирус человека не вызывает цитопатических изменений в эпителиальных клетках носа [109], однако может вызывать поражение бронхиального эпителия [77] и нарушение эпителиально-го барьера дыхательных путей [86, 95].

Таким образом, в патогенезе риновирусной инфекции есть один очень важный момент, который отличает риновирусы от других респираторных патогенов и сближает их с новыми коронавирусами. В отличие от многих других респираторных вирусов, клинические симптомы риновирусной инфекции в первую очередь вызваны иммунным ответом хозяина на инфекцию, а не цитопатическим действием вируса [23, 80, 108].

РС-вирус является наиболее частой причиной инфекции нижних дыхательных путей у детей в возрасте до 2 лет, приводя к развитию бронхоолита и пневмонии. Кроме того, РС-инфекция является доказанным фактором риска возникновения у детей бронхиальной астмы. Вирус подавляет образование интерферона клетками, но при этом активирует синтез провоспалительных цитокинов. Наблюдается инфильтрация легочной ткани макрофагами, что усугубляет повреждение легких [90]. В тяжелых случаях у больных детей развивается острая дыхательная недостаточность. У взрослых респираторно-синцитиальные инфекции наиболее часто отмечаются в возрасте 50 лет и старше, особенно у лиц с хроническими заболеваниями дыхательной системы и вторичным иммунодефицитом [17]. РС-вирус индуцирует аутоиммунные и аллергические процессы, что, как и риновирус, в какой-то степени может роднить его с SARS-CoV-2.

Сезонность. Сезонные колебания с преобладанием в холодное время года типичны для гриппа, РС- и риновирусных инфекций [62, 83, 84, 105]. В отличие от РС- и риновирусов, вызывающих только локальные вспышки, вирусы гриппа типа А являются причиной эпидемий и пандемий. Что касается SARS-CoV-2, то пока рано говорить о сезонности его распространения. Через шесть месяцев после начала пандемии ВОЗ предположила, что, в отличие от других коронавирусов, новый вирус не является сезонным. «Это будет одна большая волна», — заявила официальный представитель ВОЗ доктор Маргарет Харрис на пресс-конференции в июле 2020 г. [66]. Позиция ВОЗ заключалась в том, что на COVID-19 не влияют ни низкие температуры, ни жара, и нет никаких доказательств того, что COVID-19 будет следо-

вать сезонным колебаниям. Но позднее было высказано мнение о том, что сезон все-таки влияет на передачу вируса [1], который с течением времени может зарекомендовать себя как эндемический респираторный вирус человека [16].

Заболеваемость и смертность. По оценкам ВОЗ, во всем мире ежегодные эпидемии гриппа вызывают около 1 млрд случаев инфекции [57], порядка 9,5 млн госпитализаций и около 410 тыс. летальных исходов [96]. В эту оценку не включена заболеваемость и смертность от гриппа во время пандемии COVID-19.

Глобальная заболеваемость COVID-19 иная. Годовой уровень смертности примерно в 2,8–6,2 раза выше, чем от сезонного гриппа (коэффициенты были рассчитаны на основе данных, представленных в [96, 97, 104]). Уровень ежегодного заражения SARS-CoV-2 составляет около 125 млн случаев, а частота госпитализаций — около 20 млн.

Несмотря на то, что рино- и РС-вирус являются частой причиной острых респираторных вирусных инфекций, общее количество случаев, связанных с ними, неизвестно; скорее всего, это происходит потому, что эпидемиологический надзор за респираторными вирусами негриппозной этиологии еще до конца не налажен. Статистические данные по госпитализации и смертности от РС- и риновирусной инфекции также отсутствуют. Такая информация на сегодняшний день доступна только для некоторых стран. Например, по данным Панамериканской организации здравоохранения, в Северной Америке зарегистрировано около 16 000 лабораторно подтвержденных случаев риновирусной инфекции (средние данные с 2017 по 2020 г.), в среднем — 695 случаев в Центральной Америке за тот же период и 185 случаев — в Южной Америке. Примерно такие же значения приводятся и для РС-вирусной инфекции [76].

Краткое изложение сходства и различий между риновирусами, SARS-CoV-2, РС-вирусами и вирусом гриппа А

Как было продемонстрировано выше, риновирусы, РС-вирусы, вирус гриппа А и SARS-CoV-2 имеют ряд общих биологических свойств: они распространены повсеместно и являются наиболее часто встречающимися РНК-вирусами, связанными с глобально распространенными респираторными инфекциями. Это респираторные вирусы, геном которых представлен одноцепочечной линейной молекулой РНК. Форма вириона — сферическая, симметрия — икосаэдрическая. В состав вириона всех четырех вирусов входит РНК-зависимая-РНК-полимераза.

Синтез белков и сборка вирионов происходят в цитоплазме (рис. 3). Различия в клинической картине заболеваний, вызванных этими вирусами, не настолько выражены, чтобы мы могли абсолютно точно идентифицировать возбудителя острой респираторной инфекции без специфической диагностики. Собственно, на этом общие черты и заканчиваются.

Что же отличает рино- и РС-вирусы от всех остальных? Что общего у них и SARS-CoV-2? Если сравнивать по 9 основным биологическим свойствам только три вируса (рино-, вирус гриппа и SARS-CoV-2), можно заметить, что наибольшие отличия имеются между вирусом гриппа и риновирусом. В свою очередь, риновирус по ряду свойств схож с новым коронавирусом (рис. 4). Однако, если добавить в схему РС-вирус, циркулирующий в природе наравне с риновирусом вне зависимости от эпидемиологической ситуации, не появляется никакого логического объяснения этого явления — РС-вирусу в большей степени присущи характеристики, свойственные вирусу гриппа, а между риновирусом и РС-вирусом гораздо больше различий, чем сходства.

Таким образом, на уровне морфологии, структуры, воспроизведения и физико-химических свойств не представляется возможным выделить общие признаки, которые бы характеризовали исключительно рино- и РС-вирусы. Возможно, именно комбинация определенных признаков приводит к способности рино- и РС-вирусов сосуществовать с такими патогенными для человека вирусами, как SARS-CoV-2.

Что касается клинических проявлений инфекции, респираторные симптомы гриппа, рино- и РС-вирусной инфекции и COVID-19 схожи, но доля пациентов с тяжелым заболеванием выше всего среди пациентов, инфицированных SARS-CoV-2.

Интересно, что в патогенезе риновирусной инфекции есть один очень важный момент, который отличает риновирусы от других респираторных патогенов и сближает их с коронавирусами. В отличие от многих других респираторных вирусов, клинические симптомы риновирусной инфекции в первую очередь вызваны иммунным ответом хозяина на инфекцию, а не цитопатическим действием вируса [23].

Заключение

Особенности пандемии COVID-19 и вызвавшего ее возбудителя активнейшим образом изучают без малого два года. Опубликовано более 300 тыс. научных статей. Это в 2 раза превышает количество материалов, касающихся вирусов гриппа за почти столетнюю историю их изучения, в 15 раз больше, чем статей, опубликован-

ных о респираторно-синцитиальной инфекции и в 50 раз больше публикаций о риновирусах с момента их открытия в 1950-х гг. Тем не менее многие вопросы остаются открытыми, в частности: что позволяет некоторым респираторным патогенам, таким как SARS-CoV-2 и РС-или риновирусы, сосуществовать, в то время как тот же SARS-CoV-2 вытесняет из циркуляции другие респираторные вирусы?

Риновирусы известны как одна из самых частых причин простудных заболеваний. Их значение в эпидемиологическом процессе долгое время умалялось, отчасти это было связано с преимущественно легким течением вызванного им заболевания [95]. В последние годы появились данные, заставившие исследователей пересмотреть свой взгляд на роль риновирусов. Было показано, что распространение сезонного гриппа А может сдерживаться риновирусом [71], а конкурентные взаимоотношения между риновирусом и вирусом H1N1pdm09 затормозили развитие пандемии гриппа в Европе [2, 3, 4, 111].

Уникальные особенности риновирусов подтвердились в пандемию COVID-19. Оказалось, что SARS-CoV-2 задерживает распространение большинства респираторных вирусов [72, 106], за исключением риновирусов [10] и, в несколько меньшей степени, — РС-вирусов [103]. Более того, экспериментально показано, что риновирус в системе *in vitro* может блокировать репликацию SARS-CoV-2 в клетках бронхиального эпителия человека [20].

Таким образом, риновирусная инфекция может защитить хозяина, блокируя его последующее заражение другими, более высоковирулентными вирусами, а сами риновирусы являются уникальными патогенами, на циркуляцию которых не влияют такие катаклизмы, как эпидемии и пандемии.

О роли РС-вирусов известно меньше, однако, тот факт, что сегодня, в пандемию COVID-19, они циркулируют почти с такой же активностью, что и риновирусы, позволяет сделать вывод о том, что и их роль в эпидемиологическом процессе недооценена.

Среди рассмотренных в обзоре биологических свойств вирусов нет общих характеристик, объединяющих риновирусы и РС-вирусы, которые могли бы объяснить, почему на их циркуляцию не влияют другие вирусные патогены. Филогенетически и по своим основным свойствам они очень далеки друг от друга. Их принадлежность к одному царству Orthornavirae вряд ли играет ключевую роль. Вероятно, причина кроется в еще не обнаруженных тонких молекулярных механизмах инфекций, вызываемых этими агентами.

Есть еще один интересный момент в патогенезе рино- и РС-инфекции, который отличает

их от других респираторных патогенов, но сближает их с возбудителем COVID-19. Они активируют синтез провоспалительных цитокинов, индуцируя аутоиммунные и аллергические процессы [23, 80, 107]. Возможно, в этом и кроется ответ на многие поставленные вопросы. Пока

еще слишком много «белых пятен», чтобы делать какие-либо выводы. Однако, представленная совокупность данных, касающиеся рино- и РС-вирусов человека, должна стимулировать интерес к изучению всех сезонных респираторных вирусов, включая рино- и РС-вирусы.

Список литературы/References

1. Aboubakr H.A., Sharafeldin T.A., Goyal S.M. Stability of SARS-CoV-2 and other coronaviruses in the environment and on common touch surfaces and the influence of climatic conditions: a review. *Transbound. Emerg. Dis.*, 2021, vol. 68, no. 2, pp. 296–312. doi: 10.1111/tbed.13707
2. Anderson R.M., Fraser C., Ghani A.C., Donnelly C.A., Riley S., Ferguson N.M., Leung G.M., Lam T.H., Hedley A.J. Epidemiology, transmission dynamics and control of SARS: the 2002–2003 epidemic. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 2004, vol. 359, no. 1447, pp. 1091–1105. doi: 10.1098/rstb.2004.1490
3. Ånestad G., Nordbø S.A. Does rhinovirus inhibit influenza A(H1N1) pandemic? *Tidsskr. Nor. Laegeforen.*, 2010, vol. 130, no. 19, pp. 1932–1934. doi: 10.4045/tidsskr.10.0660
4. Ånestad G., Nordbø S.A. Virus interference. Did rhinoviruses activity hamper the progress of the 2009 influenza A (H1N1) pandemic in Norway? *Med. Hypotheses*, 2011, vol. 77, no. 6, pp. 1132–1134. doi: 10.1016/j.mehy.2011.09.021
5. Arden K.E., Mackay I.M. Newly identified human rhinoviruses: molecular methods heat up the cold viruses. *Rev. Med. Virol.*, 2010, vol. 20, no. 3, pp. 156–176. doi: 10.1002/rmv.644
6. Barreto-Vieira D.F., da Silva M.A.N., Garcia C.C., Miranda M.D., Matos A.D.R., Caetano B.C., Resende P.C., Motta F.C., Siqueira M.M., Girard-Dias W., Archanjo B.S., Barth O.M. Morphology and morphogenesis of SARS-CoV-2 in Vero-E6 cells. *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz.*, 2021, vol. 116: e200443. doi: 10.1590/0074-02760200443
7. Beeching N.J., Fletcher T.E., Beadsworth M.B.J. COVID-19: testing times. *BMJ*, 2020, vol. 369, no. m1403, pp. 1–2. doi: 10.1136/bmj.m1403
8. Berlin D.A., Gulick R.M., Martinez F.J., Severe COVID-19. *N. Engl. J. Med.*, 2020, vol. 383, no. 25, pp. 2451–2460. doi: 10.1056/NEJMc2009575
9. Breen M., Nogales A., Baker S.F., Martínez-Sobrido L. Replication-competent influenza A viruses expressing reporter genes. *Viruses*, 2016, vol. 8, no. 7, pp. 179. doi: 10.3390/v8070179
10. Calderaro A., De Conto F., Buttrini M., Piccolo G., Montecchin S., Maccari C., Martinelli M., Di Maio A., Ferraglia F., Pinardi F., Montagna P., Arcangeletti M.C., Chezzi C. Human respiratory viruses, including SARS-CoV-2, circulating in the winter season 2019–2020 in Parma, Northern Italy. *Int. J. Infect. Dis.*, 2020, vol. 102, pp. 79–84. doi: 10.1016/j.ijid.2020.09.1473
11. Carod-Artal F.J., Neurological complications of coronavirus and COVID-19. *Rev. Neurol.*, 2020, vol. 70, no. 9, pp. 311–322. doi: 10.33588/rn.7009.2020179
12. Casalegno J.S., Ottmann M., Bouscambert-Duchamp M., Valette M., Morfin F., Lina B. Impact of the 2009 influenza A(H1N1) pandemic wave on the pattern of hibernal respiratory virus epidemics, France, 2009. *Euro Surveill.*, 2010, vol. 15, no. 6: 19485.
13. Casalegno J.S., Ottmann M., Duchamp M.B., Escuret V., Billaud G., Frobert E., Morfin F., Lina B. Rhinoviruses delayed the circulation of the pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus in France. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2010, vol. 16, no. 4, pp. 326–329. doi: 10.1111/j.14690691.2010.03167.x
14. Charles C.H., Yelmene M., Luo G.X. Recent advances in rhinovirus therapeutics. *Curr. Drug Targets Infect. Disord.*, 2004, vol. 4, no. 4, pp. 331–337. doi: 10.2174/1568005043340551
15. Cheung T.K., Poon L.L. Biology of influenza a virus. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2007, vol. 1102, pp. 1–25. doi: 10.1196/annals.1408.001
16. Cimolai N. Complicating infections associated with common endemic human respiratory coronaviruses. *Health Secur.*, 2021, vol. 19, no. 2, pp. 195–208. doi: 10.1089/hs.2020.0067
17. Collins P.L., Fearn R., Graham B.S. Respiratory syncytial virus: virology, reverse genetics, and pathogenesis of disease. *Curr. Top Microbiol. Immunol.*, 2013, vol. 372, pp. 3–38. doi: 10.1007/978-3-642-38919-1_1
18. Cowton V.M., McGivern D.R., Fearn R. Unravelling the complexities of respiratory syncytial virus RNA synthesis. *J. Gen. Virol.*, 2006, vol. 87, no. 7, pp. 1805–1821. doi: 10.1099/vir.0.81786-0
19. De Vlucht C., Sikora D., Pelchat M. Insight into influenza: a virus cap-snatching. *Viruses*, 2018, vol. 10, no. 11: 641. doi: 10.3390/v10110641
20. Dee K., Goldfarb D.M., Haney J., Amat J.A.R., Herder V., Stewart M., Szemiel A.M., Baguelin M., Murcia P.R. Human rhinovirus infection blocks SARS-CoV-2 replication within the respiratory epithelium: implications for COVID-19 epidemiology. *J. Infect. Dis.*, 2021, vol. 224, no. 1, pp. 31–38. doi: 10.1093/infdis/jiab147
21. Dehbandi R., Zazouli M.A. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *Lancet Microbe*. 2020, vol. 1, no. 4: e145. doi: 10.1016/s2666-5247(20)30093-8
22. Dou D., Revol R., Östbye H., Wang H., Daniels R. Influenza A virus cell entry, replication, virion assembly and movement. *Front Immunol.*, 2018, vol. 9: 1581. doi: 10.3389/fimmu.2018.01581
23. Dreschers S., Dumitru C.A., Adams C., Gulbins E. The cold case: are rhinoviruses perfectly adapted pathogens? *Cell Mol. Life. Sci.*, 2007, vol. 64, no. 2, pp. 181–191. doi: 10.1007/s00018-006-6266-5
24. Drysdale S.B., Mejias A., Ramilo O. Rhinovirus — not just the common cold. *J. Infect.*, 2017, vol. 74, no. 1, pp. 41–46. doi: 10.1016/s0163-4453(17)30190-1
25. Eccles R. Understanding the symptoms of the common cold and influenza. *Lancet Infect. Dis.*, vol. 2005, no. 5, pp. 718–725. doi: 10.1016/s1473-3099(05)70270-x

26. Eslami H., Jalili M. The role of environmental factors to transmission of SARS-CoV-2 (COVID-19). *AMB Express*, 2020, vol. 10, no. 92. doi: 10.1186/s13568-020-01028-0
27. Fendrick A.M., Monto A.S., Nightengale B., Sarnes M. The economic burden of non-influenza-related viral respiratory tract infection in the United States. *Arch. Intern. Med.*, 2003, vol. 163, no. 4, pp. 487–494. doi: 10.1001/archinte.163.4.487
28. Firquet S., Beaujard S., Lobert P.E., Sané F., Caloone D., Izard D., Hober D. Survival of enveloped and non-enveloped viruses on inanimate surfaces. *Microbes Environ.*, 2015, vol. 30, no. 2, pp. 140–144. doi: 10.1264/jsme2.ME14145
29. Geller C., Varbanov M., Duval R.E. Human coronaviruses: insights into environmental resistance and its influence on the development of new antiseptic strategies. *Viruses* 2012, vol. 4, no. 11, pp. 3044–3068. doi: 10.3390/v4113044
30. Gorbalenya A.E., Baker S.C., Baric R.S., de Groot R.J., Drosten C., Gulyaeva A.A., Haagmans B.L., Lauber C., Leontovich A.M., Neuman D.W., Penzar D., Perlman S., Poon L.L.M., Samborskiy D.V., Sidorov I.A., Sola I., Ziebuhr J. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat. Microbiol.*, 2020, vol. 5, no. 4, pp. 536–544. doi: 10.1038/s41564-020-0695-z
31. Hall C.B., Walsh E.E., Schnabel K.C., Long C.E., McConnochie K.M., Hildreth S.W., Anderson L.J. Occurrence of groups A and B of respiratory syncytial virus over 15 years: associated epidemiologic and clinical characteristics in hospitalized and ambulatory children. *J. Infect. Dis.*, 1990, vol. 162, no. 6, pp. 1283–1290. doi: 10.1093/infdis/162.6.1283
32. Hanff T.C., Mohareb A.M., Giri J., Cohen J.B., Chirinos J.A. Thrombosis in COVID-19. *Am. J. Hematol.*, 2020, vol. 95, no. 12, pp. 1578–1589. doi: 10.1002/ajh.25982
33. Harrison A.G., Lin T., Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 transmission and pathogenesis. *Trends Immunol.*, 2020, vol. 41, no. 12, pp. 1100–1115. doi: 10.1016/j.it.2020.10.004
34. Hasöksüz M., Kiliç S., Saraç F. Coronaviruses and SARS-CoV-2. *Turk. J. Med. Sci.*, 2020, vol. 50, no. SI-1, pp. 549–556. doi: 10.3906/sag-2004-127
35. Hemalatha M., Kiran U., Kuncha S.K., Kopperi H., Gokulan C.G., Mohan S.V., Mishra R.K. Surveillance of SARS-CoV-2 spread using wastewater-based epidemiology: comprehensive study. *Sci. Total Environ.*, 2021, vol. 768, pp. 144704. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.144704
36. Hendley J.O., Wenzel R.P., Gwaltney J.M. Jr. Transmission of rhinovirus colds by self-inoculation. *N. Engl. J. Med.*, 1973, vol. 288, no. 26, pp. 1361–1364. doi: 10.1056/nejm197306282882601
37. Henwo A.F. Coronavirus disinfection in histopathology. *J. Histotechnol.*, 2020, vol. 43, no. 2, pp. 102–104. doi: 10.1080/01478885.2020.1734718
38. Hirose R., Ikegaya H., Naito Y., Watanabe N., Yoshida T., Bandou R., Daidoji T., Itoh Y., Nakaya T. Survival of SARS-CoV-2 and influenza virus on the human skin: Importance of hand hygiene in COVID-19. *Clin. Infect. Dis.*, 2020: ciae1517. doi: 10.1093/cid/ciae1517
39. Hirsh S., Hindiyeh M., Kolet L., Regev L., Sherbany H., Yaary K., Mendelson E., Mandelboim M. Epidemiological changes of respiratory syncytial virus (RSV) infections in Israel. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 3: e90515. doi: 10.1371/journal.pone.0090515
40. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S., Schiergens T.S., Herrler G., Wu N.H., Nitsche A., Müller M.A., Drosten C., Pöhlmann S. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*, 2020, vol. 181, no. 2, pp. 271–280.e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052
41. Hrebík D., Füzik T., Gondová M., Šmerdová L., Adamopoulos A., Šedo O., Zdráhal Z., Plevka P. ICAM-1 induced rearrangements of capsid and genome prime rhinovirus 14 for activation and uncoating. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2021, vol. 118, no. 19: e2024251118. doi: 10.1073/pnas.2024251118
42. Hui D.S., I. Azhar E., Madani T.A., Ntoumi F., Kock R., Dar O., Ippolito G., McHugh T.D., Memish Z.A., Drosten C., Zumla A., Petersen E. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health — the latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. *Int. J. Infect. Dis.*, 2020, vol. 91, pp. 264–266. doi: 10.1016/j.ijid.2020.01.009
43. ICTV. Virus taxonomy. Classification and nomenclature of viruses. Ninth Report of the International Committee on taxonomy of viruses; 9th ed. Eds. King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. *Academic Press: London*, 2012. URL: https://www.academia.edu/8097730/Ninth_Report_of_the_International_Committee_on_Taxonomy_of_Viruses
44. ICTV. Virus taxonomy: 2020 Release. URL: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>
45. Jacobs S.E., Lamson D.M., St. George K., Walsh T.J. Human rhinoviruses. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2013, vol. 26, no. 1, pp. 135. doi: 10.1128/CMR.00077-12
46. Jartti T., Jartti L., Peltola V., Waris M., Ruuskanen O. Identification of respiratory viruses in asymptomatic subjects: asymptomatic respiratory viral infections. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2008, vol. 27, no. 12, pp. 1103–1107. doi: 10.1097/INF.0b013e31817e695d
47. Karron R.A., Wright P.F., Crowe J.E. Jr., Clements-Mann M.L., Thompson J., Makhene M., Casey R., Murphy B.R. Evaluation of two live, cold-passaged, temperature-sensitive respiratory syncytial virus vaccines in chimpanzees and in human adults, infants, and children. *J. Infect. Dis.*, 1997, vol. 176, no. 6, pp. 1428–1436. doi: 10.1086/514138
48. Kim D., Quinn J., Pinsky B., Shah N.H., Brown I. Rates of co-infection between SARS-CoV-2 and other respiratory pathogens. *JAMA*, 2020, vol. 323, no. 20, pp. 2085–2086. doi: 10.1001/jama.2020.6266
49. Kiseleva I., Grigorieva E., Larionova N., Al Farroukh M., Rudenko L. COVID-19 in light of seasonal respiratory infections. *Biology (Basel)*, 2020, vol. 9, no. 9: 240. doi: 10.3390/biology9090240
50. Kiseleva I., Larionova N. Influenza: a century of research. Eds. Kiseleva I., Larionova N. *Bentham Science Publishers Ltd.: Sharjah, UAE*, 2021, 202 p. doi: 10.2174/97816810884401210101
51. Kiseleva I., Larionova N., Kuznetsov V., Rudenko L. Phenotypic characteristics of novel swine-origin influenza A/California/07/2009 (H1N1) virus. *Influenza Other Respir. Viruses*, 2010, vol. 4, no. 1, pp. 1–5. doi: 10.1111/j.1750-2659.2009.00118.x
52. Kiseleva I., Rekstin A., Al Farroukh M., Bazhenova E., Katelnikova A., Puchkova L., Rudenko L. Non-mouse-adapted H1N1pdm09 virus as a model for influenza research. *Viruses*, 2020, vol. 12, no. 6: 590. doi: 10.3390/v12060590
53. Kiseleva I., Su Q., Toner T.J., Szymkowiak C., Kwan W.S., Rudenko L., Shaw A.R., Youil R. Cell-based assay for the determination of temperature sensitive and cold adapted phenotypes of influenza viruses. *J. Virol. Methods*, 2004, vol. 116, no. 1, pp. 71–78. doi: 10.1016/j.jviromet.2003.10.012

54. Koonin E.V., Gorbalenya A.E., Chumakov K.M. Tentative identification of RNA-dependent RNA polymerases of dsRNA viruses and their relationship to positive strand RNA viral polymerases. *FEBS Lett.*, 1989, vol. 252, no. 1–2, pp. 42–46. doi: 10.1016/0014-5793(89)80886-5
55. Kormuth K.A., Lin K., Qian Z., Myerburg M.M., Marr L.C., Lakdawala S.S., Environmental persistence of influenza viruses is dependent upon virus type and host origin. *mSphere*, 2019, vol. 4, no. 4: e00552-19. doi: 10.1128/mSphere.00552-19
56. Kramer A., Schwebke I., Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect. Dis.*, 2006, vol. 6: 130. doi: 10.1186/1471-2334-6-130
57. Krammer F., Smith G.J.D., Fouchier R.A.M., Peiris M., Kedzierska K., Doherty P.C., Palese P., Shaw M.L., Treanor J., Webster R.G., García-Sastre A. Influenza. *Nat. Rev. Dis. Primers*, 2018, vol. 4, no. 1: 3. doi: 10.1038/s41572-018-0002-y
58. Kumari P., Rothan H.A., Natekar J.P., Stone S., Pathak H., Strate P.G., Arora K., Brinton M.A., Kumar M. Neuroinvasion and encephalitis following intranasal inoculation of SARS-CoV-2 in K18-hACE2 mice. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 1: 132. doi: 10.3390/v13010132
59. Lamarre A., Talbot P.J. Effect of pH and temperature on the infectivity of human coronavirus 229E. *Can J. Microbiol.*, 1989, vol. 35, no. 10, pp. 972–974. doi: 10.1139/m89-160
60. Laporte M., Raeymaekers V., Van Berwaer R., Vandeput J., Marchand-Casas I., Thibaut H.J., Van Looveren D., Martens K., Hoffmann M., Maes P., Pöhlmann S., Naesens L., Stevaert A. The SARS-CoV-2 and other human coronavirus spike proteins are fine-tuned towards temperature and proteases of the human airways. *PLoS Pathog.*, 2021, vol. 17, no. 4: e1009500. doi: 10.1371/journal.ppat.1009500
61. Laurie K.L., Rockman S. Which influenza viruses will emerge following the SARS-CoV-2 pandemic? *Influenza Other Respir. Viruses*, 2021, vol. 15, no. 5, pp. 573–576. doi: 10.1111/irv.12866
62. Leotte J., Trombetta H., Faggion H.Z., Almeida B.M., Nogueira M.B., Vidal L.R., Raboni S.M. Impact and seasonality of human rhinovirus infection in hospitalized patients for two consecutive years. *J. Pediatr. (Rio J.)*, 2017, vol. 93, no. 3, pp. 294–300. doi: 10.1016/j.jped.2016.07.004
63. Lu R., Zhao X., Li J., Niu P., Yang B., Wu H., Wang W., Song H., Huang B., Zhu N., Bi Y., Ma X., Zhan F., Wang L., Hu T., Zhou H., Hu Z., Zhou W., Zhao L., Chen J., Meng Y., Wang J., Lin Y., Yuan J., Xie Z., Ma J., Liu W.J., Wang D., Xu W., Holmes E.C., Gao G.F., Wu G., Chen W., Shi W., Tan W. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*, 2020, vol. 395, no. 10224, pp. 565–574. doi: 10.1016/s0140-6736(20)30251-8
64. Mahl M.C., Sadler C. Virus survival on inanimate surfaces. *Can. J. Microbiol.*, 1975, vol. 21, no. 6, pp. 819–823. doi: 10.1139/m75-121
65. Malik Y.A. Properties of coronavirus and SARS-CoV-2. *Malays J. Pathol.*, 2020, vol. 42, no. 1, pp. 3–11.
66. Mandal A. COVID-19 pandemic is “one big wave” says WHO. 2020. URL: <https://www.news-medical.net/news/20200730/COVID-19-pandemic-is-one-big-wave-says-WHO.aspx>
67. McIntyre C.L., Knowles N.J., Simmonds P. Proposals for the classification of human rhinovirus species A, B and C into genotypically assigned types. *J. Gen. Virol.*, 2013, vol. 94, no. 8, pp. 1791–1806. doi: 10.1099/vir.0.053686-0
68. Mohan S.V., Hemalatha M., Kopperi H., Ranjith I., Kumar A.K. SARS-CoV-2 in environmental perspective: occurrence, persistence, surveillance, inactivation and challenges. *Chem. Eng. J.*, 2021, vol. 405, pp. 126893. doi: 10.1016/j.cej.2020.126893
69. Murray, P.R. Baron, E. Jorgenson, J.H. Pfaller, M. Tenover, R.H. Manual of clinical microbiology. Ed. Murray P.R.; 9th ed. USA: ASM Press, 2003, vol. 1, 1482 p.
70. Nickbakhsh S., Ho A., Marques D.F.P., McMenamin J., Gunson R.N., Murcia P.R. Epidemiology of seasonal coronaviruses: Establishing the context for COVID-19 emergence. *J. Infect. Dis.*, 2020, vol. 222, no. 1, pp. 17–25. doi: 10.1093/infdis/jiaa185
71. Nickbakhsh S., Mair C., Matthews L., Reeve R., Johnson P.C.D., Thorburn F., von Wissmann B., Reynolds A., McMenamin J., Gunson R.N., Murcia P.R. Virus–virus interactions impact the population dynamics of influenza and the common cold. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2019, vol. 116, no. 52, pp. 27142–27150. doi: 10.1073/pnas.1911083116
72. Nowak M.D., Sordillo E. M., Gitman M.R., PanizMondolfi A.E. Co-infection in SARS-CoV-2 infected patients: where are influenza virus and rhinovirus/enterovirus? *J. Med. Virol.*, 2020, vol. 92, no. 10, pp. 1699–1700. doi: 10.1002/jmv.25953
73. Oliveira A.C., Ishimaru D., Gonçalves R.B., Smith T.J., Mason P., Sá-Carvalho D., Silva J.L. Low temperature and pressure stability of picornaviruses: implications for virus uncoating. *Biophys. J.*, 1999, vol. 76, no. 3, pp. 1270–1279. doi: 10.1016/S0006-3495(99)77290-5
74. Ortega H., Nickle D., Carter L. Rhinovirus and asthma: challenges and opportunities. *Rev. Med. Virol.*, 2020, vol. 31, no. 4: e2193. doi: 10.1002/rmv.2193
75. Otter J.A., Donskey C., Yezli S., Douthwaite S., Goldenberg S.D., Weber D.J. Transmission of SARS and MERS coronaviruses and influenza virus in healthcare settings: the possible role of dry surface contamination. *J. Hosp. Infect.*, 2016, vol. 92, no. 3, pp. 235–250. doi: 10.1016/j.jhin.2015.08.027
76. PAHO. Flu Net home page. 2010–2021. URL: http://ais.paho.org/hip/viz/ed_flu.asp
77. Papadopoulos N.G., Bates P.J., Bardin P.G., Papi A., Leir S.H., Fraenkel D.J., Meyer J., Lackie P.M., Sanderson G., Holgate S.T., Johnston S.L. Rhinoviruses infect the lower airways. *J. Infect. Dis.*, 2000, vol. 181, no. 6, pp. 1875–1884. doi: 10.1086/315513
78. Papadopoulos N.G., Sanderson G., Hunter J., Johnston S.L. Rhinoviruses replicate effectively at lower airway temperatures. *J. Med. Virol.*, 1999, vol. 58, no. 1, pp. 100–104. doi: 10.1002/(sici)1096-9071(199905)58:1<100::aid-jmv16>3.0.co2-d
79. Pappas D.E., Hendley J.O. The common cold and decongestant therapy. *Pediatr. Rev.*, 2011, vol. 32, no. 2, pp. 47–54. doi: 10.1542/pir.32-2-47
80. Pappas D.E., Hendley J.O., Hayden F.G., Winther B. Symptom profile of common colds in school-aged children. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2008, vol. 27, no. 1, pp. 8–11. doi: 10.1097/INF.0b013e31814847d9
81. Pérez L., Carrasco L. Entry of poliovirus into cells does not require a low-pH step. *J. Virol.*, 1993, vol. 67, no. 8, pp. 4543–4548. doi: 10.1128/jvi.67.8.4543-4548.1993

82. Poole S., Brendish N.J., Clark T.W. SARS-CoV-2 has displaced other seasonal respiratory viruses: results from a prospective cohort study. *J. Infect.*, 2020, vol. 81, no. 6, pp. 966–972. doi: 10.1016/j.jinf.2020.11.010
83. Roebuck M.O. Rhinoviruses in Britain 1963–1973. *J. Hyg.*, 1976, vol. 76, no. 1, pp. 137–146. doi: 10.1017/s0022172400055029
84. Rose E.B., Wheatley A., Langley G., Gerber S., Haynes A. Respiratory syncytial virus seasonality — United States, 2014–2017. *MMWR Morb. Mortal Wkly. Rep.*, 2018, vol. 67, no. 2, pp. 71–76. doi: 10.15585/mmwr.mm6702a4
85. Sagripanti J.L., Lytle C.D. Inactivation of influenza virus by solar radiation. *Photochem. Photobiol.*, 2007, vol. 83, no. 5, pp. 1278–1282. doi: 10.1111/j.1751-1097.2007.00177.x
86. Sajjan U., Wang Q., Zhao Y., Gruenert D.C., Hershenson M.B. Rhinovirus disrupts the barrier function of polarized airway epithelial cells. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2008, vol. 178, no. 12, pp. 1271–1281. doi: 10.1164/rccm.200801-136OC
87. Sakudo A., Onodera T., Tanaka Y. Inactivation of viruses. In: Sterilization and disinfection by plasma: sterilization mechanisms, biological and medical applications (medical devices and equipment); 1st ed. Eds. Sakudo A., Shintani H. N.Y.: Nova Science Publishers: United States, 2010, pp. 49–60.
88. Savolainen C., Blomqvist S., Hovi T. Human rhinoviruses. *Paediatr. Respir. Rev.*, 2003, vol. 4, no. 2, pp. 91–98. doi: 10.1016/s1526-0542(03)00030-7
89. Shang J., Wan Y., Luo C., Ye G., Geng Q., Auerbach A., Li F. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2020, vol. 117, no. 21, pp. 11727–11734. doi: 10.1073/pnas.2003138117
90. Sow F.B., Gallup J.M., Krishnan S., Patera A.C., Suzich J., Ackermann M.R. Respiratory syncytial virus infection is associated with an altered innate immunity and a heightened pro-inflammatory response in the lungs of preterm lambs. *Respir. Res.*, 2011, vol. 12, no. 1, pp. 106. doi: 10.1186/1465-9921-12-106
91. Stobart C.C., Nosek J.M., Moore M.L. Rhinovirus biology, antigenic diversity, and advancements in the design of a human rhinovirus vaccine. *Front. Microbiol.*, 2017, vol. 8: 2412. doi: 10.3389/fmicb.2017.02412
92. Strauss J.H., Strauss E.G. Minus-strand RNA viruses. In: Viruses and human disease; 2nd ed. Eds. Strauss J.H., Strauss E.G. London: Academic Press, 2008, pp. 137–191. doi: 10.1016/B978-0-12-373741-0.50007-6
93. Strauss J.H., Strauss E.G. Overview of viruses and virus infection. In: Viruses and human disease; 2nd ed. Eds. Strauss J.H., Strauss E.G. London: Academic Press, 2008, pp. 1–33. doi: 10.1016/B978-0-12-373741-0.50004-0
94. Strauss J.H., Strauss E.G. Plus-strand RNA viruses. In Viruses and human disease; 2nd ed. Eds. Strauss J.H., Strauss E.G. London: Academic Press, 2008, pp. 63–136. doi: 10.1016/B978-0-12-373741-0.50006-4
95. To K.K.W., Yip C.C.Y., Yuen K.Y. Rhinovirus — from bench to bedside. *J. Formos. Med. Assoc.*, 2017, vol. 116, no. 7, pp. 496–504. doi: 10.1016/j.jfma.2017.04.009
96. Troeger C., Blacker B.F., Khalil I.A., Rao P.C., Cao S., Zimsen S.R.M., Albertson S., Stanaway J.D., Deshpande A., Farag T., Forouzanfar M.H., Abebe Z., Adetifa I.M.O., Adhikari T.B., Akibu M., Al Lami F.H., Al-Eyadhy A., Alvis-Guzman N., Amare A.T., Amoako Y.A., Antonio C.A.T., Aremu O., Asfaw E.T., Asgedom S.W., Atey T.M., Attia E.F., E. Avokpaho F.G.A., Ayele H.T., Ayuk T.B., Balakrishnan K., Barac A., Bassat Q., Behzadifar M., Behzadifar M., Bhaumik S., Bhutta Z.A., Bijani A., Brauer M., Brown A., Camargos P.A.M., Castañeda-Orjuela C.A., Colombara D., Conti S., Dadi A.F., Dandona L., Dandona R., Do H.P., Dubljanin E., Edessa D., Elkout H., Endries A.Y., Fijabi D.O., Foreman K.J., Fullman N., Garcia-Basteiro A.L., Gessner B.D., Gething P.W., Gupta R., Gupta T., Hailu G.B., Hassen H.Y., Hedayati M.T., Heidari M., Hibstu D.T., Horita N., Ilesanmi O.S., Jakovljevic M.B., Jamal A.A., Kahsay A., Kasaeian A., Kassa D.H., Khader Y.S., Khan E.A., Khan M.N., Khang Y.-H., Kim Y.J., Kissoon N., Knibbs L.D., Kochhar S., Koul P.A., Kumar G.A., Lodha R., Abd El Razek H.M., Malta D.C., Mathew J.L., Mengistu D.T., Mezgebe H.B., Mohammad K.A., Mohammed M.A., Momeniha F., Murthy S., Nguyen C.T., Nielsen K.R., Ningrum D.N.A., Nirayo Y.L., Oren E., Ortiz J.R., Mahesh P.A., Postma M.J., Qorbani M., Quansah R., Rai R.K., Rana S.M., Ranabhat C.L., Ray S.E., Rezai M.S., Ruhago G.M., Safiri S., Salomon J.A., Sartorius B., Savic M., Sawhney M., She J., Sheikh A., Shiferaw M.S., Shigematsu M., Singh J.A., Somayaji R., Sufiyan M.B., Taffere G.R., Temsah M.-H., Thompson M.J., Tobe-Gai R., Topor-Madry R., Tran B.X., Tran T.T., Tuem K.B., Ukwaja K.N., Vollset S.E., Walson J.L., Weldegebreal F., Werdecker A., West T.E., Yonemoto N., El Sayed Zaki M., Zhou L., Zodpey S., Vos T., Lim S.S., Naghavi M., Murray C.J.L., Mokdad A.H., Hay S.I., Reiner R.C. Jr. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory infections in 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Infect. Dis.*, 2018, vol. 18, no. 11, pp. 1191–1210. doi: 10.1016/s1473-3099(18)30310-4
97. Troeger C.E., Blacker B.F., Khalil I.A., Zimsen S.R.M., Albertson S.B., Abate D., Abdela J., Adhikari T.B., Aghayan S.A., Agrawal S., Ahmadi A., Aichour A.N., Aichour I., Aichour M.T.E., Al-Eyadhy A., Al-Raddadi R.M., Alahdab F., Alene K.A., Aljunid S.M., Alvis-Guzman N., Anber N.H., Anjomshoa M., Antonio C.A.T., Aremu O., Atalay H.T., Atique S., Attia E.F., Avokpaho E.F.G.A., Awasthi A., Babazadeh A., Badali H., Badawi A., Banoub J.A.M., Barac A., Bassat Q., Bedi N., Belachew A.B., Bennett D.A., Bhattacharyya K., Bhutta Z.A., Bijani A., Carvalho F., Castañeda-Orjuela C.A., Christopher D.J., Dandona L., Dandona R., Dang A.K., Daryani A., Degefa M.G., Demeke F.M., Dhimal M., Djalalinia S., Doku D.T., Dubey M., Dubljanin E., Duken E.E., Edessa D., El Sayed Zaki M., Fakhim H., Fernandes E., Fischer F., Flor L.S., Foreman K.J., Gebremichael T.G., Geremew D., Ghadiri K., Goulart A.C., Guo J., Ha G.H., Hailu G.B., Haj-Mirzaian A., Haj-Mirzaian A., Hamidi S., Hassen H.Y., Hoang C.L., Horita N., Hostiuic M., Irvani S.S.N., Jha R.P., Jonas J.B., Kahsay A., Karch A., Kasaeian A., Kassa T.D., Kefale A.T., Khader Y.S., Khan E.A., Khan G., Khan M.N., Khang Y.-H., Khoja A.T., Khubchandani J., Kimokoti R.W., Kisa A., Knibbs L.D., Kochhar S., Kosen S., Koul P.A., Koyanagi A., Defo B.K., Kumar G.A., Lal D.K., Lamichhane P., Leshargie C.T., Levi M., Li S., Macarayan E.R.K., Majdan M., Mehta V., Melese A., Memish Z.A., Mengistu D.T., Meretoja T.J., Mestrovic T., Miazgowski B., Milne G.J., Milosevic B., Mirrakhimov E.M., Moazen B., Mohammad K.A., Mohammed S., Monasta L., Morawska L., Mousavi S.M., Muhammed O.S.S., Murthy S., Mustafa G., Naheed A., Nguyen H.L.T., Nguyen N.B., Nguyen S.H., Nguyen T.H., Nisar M.I., Nixon M.R., Ogbo F.A., Olagunju A.T., Olagunju T.O., Oren E., Ortiz J.R., Mahesh P.A., Pakhale S., Patel S., Paudel D., Pigott D.M., Postma M.J., Qorbani M., Rafay A., Rafiei A., Rahimi-Movaghar V., Rai R.K., Rezai M.S., Roberts N.L.S., Ronfani L., Rubino S., Safari S., Safiri S., Saleem Z., Sambala E.Z., Samy A.M., Santric Milicevic M.M., Sartorius B., Sarvi S., Savic M., Sawhney M., Saxena S., Seyedmousavi S., Shaikh M.A., Sharif M., Sheikh A., Shigematsu M.,

- Smith D.L., Somayaji R., Soriano J.B., Sreeramareddy C.T., Sufiyan M.B., Temsah M.-H., Tessema B., Teweldemedhin M., Tortajada-Girbés M., Tran B.X., Tran K.B., Tsadik A.G., Ukwaja K.N., Ullah I., Vasankari T.J., Vollset S.E., Vu G.T., Wada F.W., Waheed Y., Eoin West T., Wiyongse C.S., Yimer E.M., Yonemoto N., Zaidi Z., Vos T., Lim S.S., Murray C.J.L., Mokdad A.H., Hay S.I., Reiner R.C.Jr. Mortality, morbidity, and hospitalisations due to influenza lower respiratory tract infections, 2017: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Respir. Med.*, 2019, vol. 7, no. 1, pp. 69–89. doi: 10.1016/s2213-2600(18)30496-x
98. Trougakos I.P., Stamatiopoulou K., Terpos E., Tsitsilonis O.E., Aivalioti E., Paraskevis D., Kastritis E., Pavlakis G.N., Dimopoulos M.A. Insights to SARS-CoV-2 life cycle, pathophysiology, and rationalized treatments that target COVID-19 clinical complications. *J. Biomed. Sci.*, 2021, vol. 28, no. 1, pp. 9. doi: 10.1186/s12929-020-00703-5
99. Tuthill T.J., Gropelli E., Hogle J.M., Rowlands D.J. Picornaviruses. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2010, vol. 343, pp. 43–89. doi: 10.1007/82_2010_37
100. Tyrrell D.A., Cohen S., Schlarb J.E. Signs and symptoms in common colds. *Epidemiol. Infect.*, 1993, vol. 111, no. 1, pp. 143–156. doi: 10.1017/s0950268800056764
101. Waman V.P., Kolekar P.S., Kale M.M., Kulkarni-Kale U. Population structure and evolution of rhinoviruses. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 2: e88981. doi: 10.1371/journal.pone.0088981
102. Weber T.P., Stilianakis N.I. Inactivation of influenza A viruses in the environment and modes of transmission: a critical review. *J. Infect.*, 2008, vol. 57, no. 5, pp. 361–373. doi: 10.1016/j.jinf.2008.08.013
103. Weinberger Opek M., Yeshayahu Y., Glatman-Freedman A., Kaufman Z., Sorek N., Brosh-Nissimov T. Delayed respiratory syncytial virus epidemic in children after relaxation of COVID-19 physical distancing measures, Ashdod, Israel, 2021. *Euro Surveill.*, 2021, vol. 26, no. 29: 2100706. doi: 10.2807/1560-7917.Es.2021.26.29.2100706
104. WHO. Coronavirus disease (COVID-19) dashboard. 2021. URL: <https://covid19.who.int>
105. WHO. Influenza (Seasonal). URL: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal))
106. WHO. Overview of influenza activity globally. Influenza Update No. 411 of 27 January 2022. URL: <https://www.who.int/publications/m/item/influenza-update-n-411>
107. Winther B. Rhinovirus infections in the upper airway. *Proc. Am. Thorac. Soc.*, 2011, vol. 8, no. 1, pp. 79–89. doi: 10.1513/pats.201006-039RN
108. Winther B. Rhinoviruses. In: International Encyclopedia of Public Health, Ed. Heggenhougen H.K. Academic Press: Oxford, 2008, pp. 577–581. doi: 10.1016/B978-012373960-5.00610-9
109. Winther B., Gwaltney J.M., Hendley J.O. Respiratory virus infection of monolayer cultures of human nasal epithelial cells. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1990, vol. 141, no. 4, pp. 839–845. doi: 10.1164/ajrccm/141.4_Pt_1.839
110. Wolsk H.M., Følsgaard N.V., Birch S., Brix S., Hansel T.T., Johnston S.L., Kebabdzte T., Chawes B.L., Bønnelykke K., Bisgaard H. Picornavirus-induced airway mucosa immune profile in asymptomatic neonates. *J. Infect. Dis.*, 2016, vol. 213, no. 8, pp. 1262–1270. doi: 10.1093/infdis/jiv594
111. Wu A., Mihaylova V.T., Landry M.L., Foxman E.F. Interference between rhinovirus and influenza A virus: a clinical data analysis and experimental infection study. *Lancet Microbe*, 2020, vol. 1, no. 6, pp. e254–e262. doi: 10.1016/s2666-5247(20)30114-2
112. Wu Z., McGoogan J.M. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*, 2020, vol. 323, no. 13, pp. 1239–1242. doi: 10.1001/jama.2020.2648
113. Zanotto P.M., Gibbs M.J., Gould E.A., Holmes E.C. A reevaluation of the higher taxonomy of viruses based on RNA polymerases. *J. Virol.*, 1996, vol. 70, no. 9, pp. 6083–6096. doi: 10.1128/JVI.70.9.6083-6096.1996
114. Zlateva K.T., van Rijn A.L., Simmonds P., Coenjaerts F.E.J., van Loon A.M., Verheij T.J.M., de Vries J.J.C., Little P., Butler C.C., van Zwet E.W., Goossens H., Ieven M., Claas E.C.J.; GRACE Study Group. Molecular epidemiology and clinical impact of rhinovirus infections in adults during three epidemic seasons in 11 European countries (2007–2010). *Thorax*, 2020, vol. 75, no. 10, pp. 882–890. doi: 10.1136/thoraxjnl-2019-214317

Авторы:

Киселева И.В., д.б.н., профессор, зав. лабораторией общей вирусологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия; профессор кафедры фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

Ксенафонтов А.Д., аспирант ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Kiseleva I.V., PhD, MD (Biology), Professor, Head of the Laboratory of General Virology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation; Professor, Department of Fundamental Problems of Medicine and Medical technologies, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation;

Ksenafontov A.D., PhD Student, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 20.11.2021
Принята к печати 19.02.2022

Received 20.11.2021
Accepted 19.02.2022

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И ТЕЧЕНИЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ФОНЕ ПАНДЕМИИ COVID-19. СООБЩЕНИЕ 1. ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ, ХРОНИЧЕСКИЙ ГЕПАТИТ С И ТУБЕРКУЛЕЗ

Н.А. Беляков^{1,2}, Е.В. Боева^{1,2}, З.М. Загдын³, Е.В. Эсауленко², Д.А. Лиознов¹,
О.Е. Симакина²

¹ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Россия

³ НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Патологические состояния различной природы способны к взаимному отягощению, существенно влияя на общее бремя болезни, ее проявления и тяжесть. Данный аналитический обзор посвящен взаимодействию между возбудителями социально значимых инфекций — вирусами иммунодефицита человека (ВИЧ), гепатита С, микобактерией туберкулеза и SARS-CoV-2. Представлены зарубежные и собственные данные, освещающие вопросы синдемии и интерференции патогенов. Приведены результаты эпидемиологического анализа на территории Северо-Западного федерального округа (СЗФО), которые показали отсутствие существенного влияния пандемии, вызванной новой коронавирусной инфекцией (COVID-19), на эпидемиологический показатель заболеваемости ВИЧ, вирусным гепатитом С или туберкулезом на популяционном уровне, что может быть обусловлено различными механизмами передачи инфекций и требуемой инфицирующей дозы возбудителя. Отмечено отсутствие негативного влияния течения COVID-19 на показатели смертности при ВИЧ-инфекции, вирусном гепатите С и туберкулезе на территориях СЗФО. Особое внимание уделено клинической картине сочетанного течения ВИЧ-инфекции, туберкулеза и COVID-19. Продемонстрированы данные, позволяющие сделать вывод, что наиболее худший прогноз и риск летального исхода имеют пациенты в прогрессирующей стадии заболевания, которая характеризуется наличием оппортунистических инфекций, особенно СПИД-индикаторных состояний, с диссеминированной формой туберкулеза и в цирротической стадии вирусного гепатита. Показана значимость тяжелых проявлений инфекционной патологии в случаях ухудшения прогноза развития COVID-19. Исходя из опыта двух лет пандемии, определены проблемы, способствующие синдемии новой коронавирусной инфекции и других состояний, а также причины высокой летальности от COVID-19, к которым можно отнести: ограничение ресурсов для неинфекционных направлений медицинской помощи; недостаточное финансирование плановой и высокотехнологической помощи; снижение объема первичной диагностики и выявления инфекционной и неинфекционной патологии; отложенные и ограниченные исследования по направлениям; отвлечение специалистов от профилактической и диспансерной работы вне инфекционной патологии; дефицит лекарственных средств и расходных материалов; со-

Адрес для переписки:

Боева Екатерина Валериевна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 911 792-91-94.
E-mail: kathrine.boeva@gmail.com

Contacts:

Ekaterina V. Boeva
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 911 792-91-94.
E-mail: kathrine.boeva@gmail.com

Для цитирования:

Беляков Н.А., Боева Е.В., Загдын З.М., Эсауленко Е.В., Лиознов Д.А.,
Симакина О.Е. Эпидемиология и течение инфекционных заболеваний
на фоне пандемии COVID-19. Сообщение 1. ВИЧ-инфекция,
хронический гепатит С и туберкулез // Инфекция и иммунитет. 2022.
Т. 12, № 4. С. 639–650. doi: 10.15789/2220-7619-EAC-1958

Citation:

Belyakov N.A., Boeva E.V., Zagdyn Z.M., Esaulenko E.V., Lioznov D.A.,
Simakina O.E. Epidemiology and course of infectious diseases during
the COVID-19 pandemic. Report 1. HIV infection, hepatitis C and
tuberculosis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya
i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 639–650. doi: 10.15789/2220-7619-
EAC-1958

циальная нестабильность и ухудшение благополучия населения, свойственные пандемиям. Определена роль персонализированного подхода к пациентам с сопутствующими соматическими и инфекционными заболеваниями как меры профилактики тяжелого течения и осложнений COVID-19.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, ВИЧ-инфекция, хронический гепатит С, туберкулез, эпидемиология, синдемия.

EPIDEMIOLOGY AND COURSE OF INFECTIOUS DISEASES DURING THE COVID-19 PANDEMIC. REPORT 1. HIV INFECTION, HEPATITIS C AND TUBERCULOSIS

Belyakov N.A.^{a,b}, Boeva E.V.^{a,b}, Zagdyn Z.M.^c, Esaulenko E.V.^b, Lioznov D.A.^a, Simakina O.E.^b

^a Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

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

^c Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Pathological conditions of various natures are capable of mutual aggravation, significantly affecting the overall burden of the disease, its manifestations and severity. This analytical review is devoted to the interaction between pathogens of socially significant infections — human immunodeficiency viruses (HIV), hepatitis C, *Mycobacterium tuberculosis* and SARS-CoV-2. Foreign and own data covering the issues of syndemia and interference of pathogens are presented. The results of epidemiological analysis in the North-Western Federal District (NWFD) are presented, which demonstrated the absence of a significant impact of the pandemic caused by a new coronavirus infection (COVID-19) on the epidemic incidence of HIV, viral hepatitis C or tuberculosis at the population level, which may be due to various mechanisms of transmission of infections and the required infectious dose of the pathogen. The absence of a negative effect of COVID-19 on mortality rates in HIV infection, viral hepatitis C and tuberculosis in the territories of the NWFD was noted. Special attention is paid to the clinical picture of the combined course of HIV infection, tuberculosis and COVID-19. The data are demonstrated, which allow us to conclude that the worst prognosis and risk of death are patients in the progressive stage of the disease, which is characterized by the presence of opportunistic infections, especially AIDS-indicator conditions, with disseminated tuberculosis and in the cirrhotic stage of viral hepatitis. The significance of severe manifestations of infectious pathology in cases of deterioration of the prognosis of COVID-19 is shown. Based on the experience of two years of the pandemic, the problems contributing to the syndrome of new coronavirus infection and other conditions, as well as the causes of high mortality from COVID-19, which include: limited resources for non-infectious areas of medical care; insufficient funding for planned and high-tech care; a decrease in the volume of primary diagnosis and detection of infectious and non-infectious pathology; delayed and limited research in areas; distraction of specialists from preventive and dispensary work outside of infectious pathology; shortage of medicines and consumables; social instability and deterioration of the well-being of the population, characteristic of pandemics. The role of a personalized approach to patients with concomitant somatic and infectious diseases as a preventive measure for the severe course and complications of COVID-19 is determined.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, HIV infection, hepatitis C, tuberculosis, epidemiology, syndemy.

Введение в проблему COVID-19

Пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19), как и многие другие эпидемии зоонозного происхождения у людей, определяет важность изучения эволюции данного подсемейства и понимания последствий возникновения новых штаммов, молекулярных процессов, влияющих на их адаптацию, трансмиссивность, патогенность и тропизм к различным тканям [2, 8].

РНК-вирусы, включая подсемейство коронавирусов, обладают недостаточным механизмом проверки репликации вирионов, что в значительной мере повышает частоту возникновения мутаций и появление новых штаммов вирусов. Экспериментальное исследование эволюции SARS-CoV-2 в относительно благоприятных условиях оценило фоновую частоту формирования мутаций генома в $2,9\text{--}3,7 \times 10^{-6}$ на цикл

репликации [2, 22]. Чаще всего мутации происходят в гене S, и наличие нескольких точечных мутаций может быть достаточно для преобразования штамма вируса SARS-CoV-2, вызывающего легко протекающее заболевание, в штамм с измененным тропизмом к клеткам хозяина, способный спровоцировать развитие тяжелой системной патологии. Эти мутации (особенно в гене белка S) способны увеличивать скорость репликации, повышать трансмиссивность и приводить к избеганию иммунного ответа, что показали исследования на молекулярно-генетическом, эпидемиологическом и клиническом уровнях в ходе пандемии [4, 31].

За последние два года один за другим появлялись и распространялись новые варианты штамма SARS-CoV-2, в большей степени связанные с повышенной трансмиссивностью. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) определила список штаммов, вызываю-

ших обеспокоенность (Variants of Concern, VOC), в который входят: Alpha (B.1.1.7), Beta (B.1.351), Gamma (P.1), Delta (B.1.617.2) и Omicron (B.1.1.529) [31, 39]. Случаи COVID-19, вызванные первыми штаммами, отличались тяжелой клинической картиной, высокой летальностью, характерной для пациентов зрелого и пожилого возраста с сопутствующими заболеваниями. Накопление мутаций в гене S-белка и формирование штамма Omicron привело к вовлечению в эпидемический процесс лиц разных возрастов, в том числе к активному распространению инфекции среди детей. В настоящее время различают несколько подлиний штамма Omicron: BA.1, BA.1.1, BA.2 и другие. Не исключается, что ввиду высокой контагиозности, подлиния BA.2 — стелс-Омикрон (stealth, невидимый) — может стать причиной новой волны подъема заболеваемости коронавирусной инфекцией в мире (рис. 1) [25, 39]

По общемировым данным Университета Джонса Хопкинса (Johns Hopkins University of Medicine) на 5 апреля 2022 г., факт инфицирования SARS-CoV-2 был установлен в 493 874 319 случаев, летальные исходы от нового коронавируса составили 6 170 555, а общее количество введенных доз различных вакцин достигло 11 008 611 938. Показатель смертности в мире составил 1,25% (1,91% на конец 2021 г.). По количеству инфицированных лидировали следующие страны: США (81,5 млн), Индия (43 млн), Бразилия (30 млн), Франция (26,2 млн), Германия (21,7 млн), Великобритания (21,5 млн) [28].

Закономерность формирования подъемов заболеваемости COVID-19 в мире и в Российской Федерации (РФ) свидетельствует о том, что каждая из волн приходит в нашу страну с задержкой в несколько недель. Количество заре-

гистрированных случаев SARS-CoV-2 в России на начало апреля 2022 г. достигло 17 926 104, число смертей составило 370 311. На протяжении всей пандемии в РФ, Северо-Западный федеральный округ (СЗФО) отличался неблагоприятными показателями по заболеваемости и смертности от COVID-19 [19].

На конец 2021 г. на 11 территориях СЗФО зарегистрировано 1 273 967 (в 2020 г. — 486 908) случаев новой коронавирусной инфекции, где вирус был идентифицирован и подтвержден лабораторным тестированием в независимости от тяжести клинических признаков или симптомов (код по международной классификации болезни 10-го пересмотра (МКБ-10) — U07.1). Показатель заболеваемости COVID-19 в округе составил 9108,6 случаев на 100 тыс. населения, что существенно превышало данные по РФ (5022,0). Выше среднего по СЗФО и РФ показатели заболеваемости были зарегистрированы на трех территориях: в Ненецком автономном округе (НАО) (11 296,7 на 100 тыс. населения), Псковской области (10 270,7) и Санкт-Петербурге (8227,9) [19].

Показатель смертности в 2021 г. выше среднего по округу (249,3 на 100 тыс. населения) наблюдался в Санкт-Петербурге (377,8 на 100 тыс. населения) и в Мурманской области (289,7). В Архангельской области данный показатель был значительно ниже среднего уровня по СЗФО — 94,2 на 100 тыс. населения. Смертность по РФ составляла 172,3 на 100 тыс. населения.

По состоянию на 31.12.2021 г. показатель летальности по СЗФО был равен 2,7%, в РФ — 3,4%. Летальность выше среднего значения по СЗФО наблюдалась в Мурманской (3,8%), Вологодской (3,3%) областях, в Санкт-Петербурге (3,3%) и Ленинградской области (3,1%).

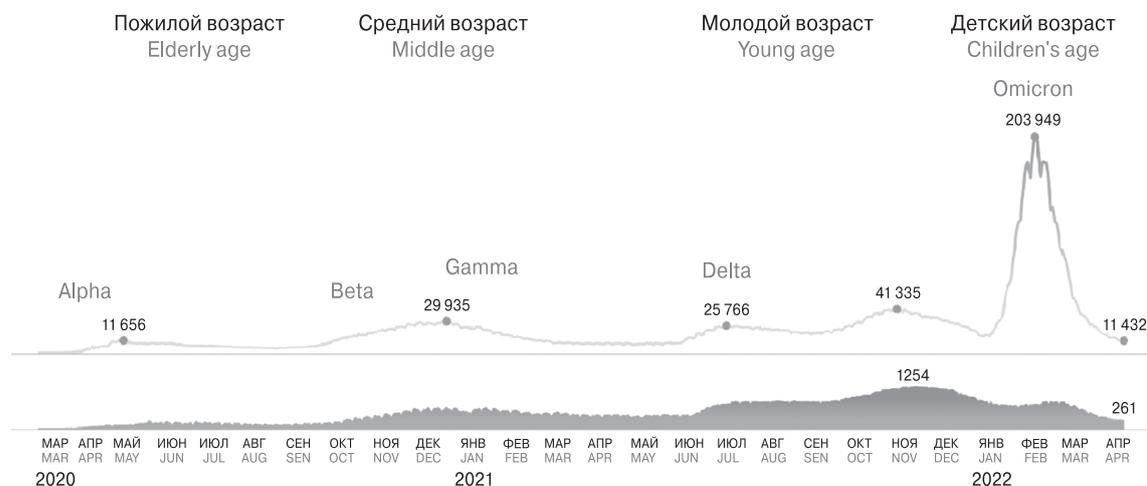


Рисунок 1. Заболеваемость и смертность на фоне разных штаммов SARS-CoV-2 и расширение преимущественного возраста инфицированных пациентов

Figure 1. Morbidity and mortality rate related to various SARS-CoV-2 strains as well as extended preferable patient age

Слагаемые пандемии и роль SARS-CoV-2 на фоне существующей в социуме микробиоты

Термин «синдемия», который до начала пандемии COVID-19 был менее употребим, в медико-биологической трактовке может рассматриваться как процесс сочетания заболеваний, аналогичный понятию коморбидности [33, 34]. Однако эти понятия не тождественны, так как синдемия глобализирует проблему бремени заболеваний и в большей степени рассматривает ее со стороны значимости для социума в целом. Синдемия — это суммирование негативных эффектов при сочетании различных эпидемиологических или медико-социальных факторов, тогда как коморбидность представляет собой сочетание нескольких заболеваний или синдромов, имеющих одну природу или единое начало и, как правило, сосредоточено в определенных нозологических границах.

Патологические состояния различной природы способны к взаимному отягощению, что существенно влияет на общее бремя болезни, ее проявления и тяжесть. Во взаимодействии между инфекционными патогенами различают косвенные и прямые механизмы. Эти процессы были хорошо изучены при ВИЧ-обусловленной иммуносупрессии, начиная с 90-х гг. прошедшего столетия, когда эпидемия ВИЧ-инфекции начиналась в сочетании с распространением вируса гепатита С, наркоманией, а позднее — с присоединением туберкулеза [10]. На фоне иммуносупрессии показано взаимно отягощающее влияние каждого заболевания, а также поведенческих особенностей и вредных пристрастий ряда пациентов. Начальным и главным патогеном в большинстве случаев являлся ВИЧ, который создавал неблагоприятный фон — иммуносупрессию. На определенном этапе заболевания иммунодефицит определяет возможность присоединения других инфекций, в том числе оппортунистических, которые относятся к условно-патогенной микрофлоре и в обычных условиях не представляют опасности для человека [7, 10].

В настоящее время выделяют следующие виды синергических взаимодействий между разными возбудителями и заболеваниями (табл. 1) [32, 37]:

- одно заболевание может потенцировать передачу другого, например, в условиях ВИЧ-инфекции существенно возрастает риск инфицирования вирусом гепатита С;
- один возбудитель может усиливать вирулентность другого;
- некоторые заболевания способны провоцировать изменения в биохимических показателях крови и приводить к органным пато-

логиям, создавая благоприятные условия для присоединения других микроорганизмов;

- между возбудителями заболеваний может наблюдаться «летальный» синергизм, например: сочетанное течение гриппа и пневмококковой инфекций коррелирует с повышенной смертностью от вторичной бактериальной пневмонии;

- прямое взаимодействие определяется возможной генетической рекомбинации между различными возбудителями.

Наряду с этим, некоторые заболевания обладают контрсиндемическим взаимодействием, когда одна болезнь уменьшает проявления или исключает развитие другой. Среди возбудителей вирусных инфекций данный феномен получил название интерференции. Различают гетерологическую интерференцию в пределах разных семейств возбудителей, гомологическую — в рамках одного и того же семейства и гетеротипичную — когда конкурирующие вирусы относятся к разным серотипам одного и того же вида [21]. Интерференция также может сопровождаться вытеснением вирусных конкурентов вновь пришедшим или мутированным патогеном.

Таким образом, многие исследования определили большое пространство для разнородных отношений между патогенами, которые могут меняться и сочетаться между собой в определенных клинических условиях, что показано в табл. 1.

Оценка взаимодействия социально значимых инфекций — ВИЧ, ХГС, туберкулез — на фоне пандемии

При рассмотрении ВИЧ-инфекции, хронического гепатита С (ХГС) и туберкулеза возникает вопрос о возможном гипотетическом влиянии SARS-CoV-2 на заболеваемость и смертность среди ранее присутствующих в обществе инфекций. Следует также отметить, что каждый из перечисленных патогенов (ВИЧ, SARS-CoV-2, вирус гепатита С и др.) обладают способностью к системным поражениям с явлениями полиморфизма, что может суммировать повреждающий эффект при их сочетанном воздействии [10].

В настоящее время у пациентов с ВИЧ именно полиморфная коморбидность может определять исход основного заболевания и отягощенное течение COVID-19 [7]. Пожилой возраст и наличие сопутствующих заболеваний сердечно-сосудистой, эндокринной, мочевыделительной систем, аутоиммунные и онкологические процессы существенно повышают риск инфицирования и смертности людей, живущих с ВИЧ (ЛЖВ), от новой коронавирусной инфекции [40]. Не исключается значение раз-

Таблица 1. Многообразие взаимоотношений и взаимовлияний между патогенами в разных клинических условиях

Table 1. Diversity of interactions and interconnections between pathogens in various clinical settings

Характер отношений между микробиотой Type of inter-pathogen interaction	Варианты сочетания Types of pathogen combinations	Клинические примеры Clinical cases
Нейтральная микробиота Neutral microbiota	Опportunистическая микробиота в условиях сохраненного иммунитета Opportunistic microbiota in preserved immunity	Многолетнее течение ВИЧ-инфекции, доминирование одного или другого патогена в динамике патологического процесса. Переход в другие взаимоотношения между микробиотой при СПИДе, формирование нескольких патогенов [12, 13] The long-term course of HIV infection, intermittent dominance of diverse pathogens during pathological process. Transition to other relationships between the AIDS-associated microbiota, the formation of several pathogens [12, 13]
Конкурентная микробиота (реализация интерференции) Competitive microbiota (interference)	SARS-CoV-2, грипп и ОРВИ SARS-CoV-2, influenza and ARVI	Вытеснение сезонных ОРВИ и гриппа новым коронавирусом, рассматриваются молекулярные клеточные механизмы для создания биологических и лекарственных средств [16] Seasonal SARS and influenza displaced by a new coronavirus, molecular cellular mechanisms are considered to create biological and medicinal means [16]
Взаимно потенцирующая (формирование синдемии) Mutual potentiation (syndemy development)	ВИЧ и симбиотическая микробиота разного вида (микробы, вирусы, грибы, простейшие) HIV and symbiotic microbiota of various types (bacteria, viruses, fungi, protozoa)	Стадия СПИДа при ВИЧ-инфекции, при адекватной АРТ микрофлора восстанавливается. Синдемия может реализовываться через опосредованные механизмы, например поведенческие и социальные [12] The AIDS stage in HIV infection, with proper ART, the microbiota is restored. Syndemy can be elaborated via indirect, e.g., behavioral and social mechanisms [12]
Сочетания патогенов с разнонаправленными свойствами Divergent pathogen combinations	Существующие штаммы больного, микробиота стационара и суперинфекция от других больных, вторичная иммуносупрессия Existing patient strains, hospital microbiota and superinfection from other patients, secondary immunosuppression	Рецидивы иммуносупрессии на фоне АРТ при ВИЧ-инфекции; тяжелые госпитализированные пациенты с разной патологией, включая COVID-19, септические состояния при иммуносупрессии [17] Relapsed immunosuppression during background of ART in HIV infection; severe hospitalized patients with various pathologies, including COVID-19, septic conditions with immunosuppression [17]
Обострение активности начального патогена лишь при тяжелом течении COVID-19 Exacerbated activity of the initial pathogen only in severe COVID-19	COVID-19 и туберкулез, инвазивный аспергиллез, ВИЧ при выраженной иммуносупрессии COVID-19 and tuberculosis, invasive aspergillosis, HIV with severe immunosuppression	Пожилой и старческий возраст, неустойчивая ремиссия или обострение исходной инфекции [4] Elderly and senile age, unstable remission or exacerbation of the initial infection [4]
Усиление патогенных проявлений COVID-19 на фоне тяжелого течения первичной инфекции Augmented COVID-19 manifestations concomitant with severe course of the primary infection	ВИЧ, туберкулез, аспергиллез, другие вирусные, бактериальные и микотические инфекции в сочетании с COVID-19 HIV, tuberculosis, aspergillosis, other viral, bacterial and mycotic infections combined with COVID-19	Септические состояния, COVID-19 как внутрибольничная инфекция в отделениях ОРИТ [18] Septic conditions, COVID-19 as nosocomial infection at intensive care units [18]

Примечание. Предусматривается динамический процесс возможной смены патогенов, оппортунистов и лидеров инфекции в зависимости от состояния иммунитета, условий лечения пациента, тяжести заболевания и сопутствующей соматической патологии.

Note. A dynamic process of potential pathogen change, opportunists and infection leaders is envisaged depending on the state of immunity, patient treatment, disease severity and concomitant somatic pathology.

личных отягощающих факторов у ЛЖВ, такие как хроническое воспаление, множественная инфекционная и неинфекционная коморбидность, предрасположенность к гематологическим и метаболическим нарушениям, которые могут утяжелять клинические проявления COVID-19 [7, 40].

В 2021 г. группа исследователей во главе с P. Ssentongo провели систематический обзор и метаанализ литературы с целью оценки восприимчивости ЛЖВ к SARS-CoV-2 и смертности от данного возбудителя. Установлено, что ЛЖВ имеют не только повышенный шанс инфицирования COVID-19, но и гораздо более высокий (на 80%) риск развития летального исхода по сравнению с общей популяцией [35].

В свою очередь было продемонстрировано, что у пациентов, имеющих удовлетворительные показатели количества CD4-лимфоцитов и неопределяемый уровень рибонуклеиновой кислоты (РНК) ВИЧ, течение COVID-19 не имело существенных отличий от общей популяции [14].

Альтернативная точка зрения основывается на том, что иммуносупрессия и низкие показатели CD4-лимфоцитов способны предупредить развитие цитокинового шторма, спровоцированного COVID-19, что не подтверждается реальной клинической практикой [29, 38].

С учетом того факта, что количество пациентов с COVID-19 в РФ за весь период с момента начала регистрации в 6–10 раз превосходило число инфицированных ВИЧ, вирусом гепатита С и туберкулезом, сложившиеся условия

представляются достаточно благоприятными для контакта инфицированных и неинфицированных людей и повышения их уязвимости к SARS-CoV-2 [11, 13].

Однако анализ, проведенный в СЗФО, показал, что течение пандемии COVID-19 существенно не повлияло на эпидемические показатели заболеваемости ВИЧ, ВГС или туберкулезом на популяционном уровне ввиду особенностей механизмов передачи этих инфекций и требуемой инфицирующей дозы их возбудителей (рис. 2) [7]. Это может быть также обусловлено периодическими ограничениями общественной активности, ношением средств индивидуальной защиты, которые снижали возможность инфицирования всеми перечисленными возбудителями.

Временное ограничение в проведении плановой диспансеризации, лабораторного скрининга также могли повлиять на частоту диагностирования данных инфекций. В целом среднее время выявления и установления случая инфицирования ВИЧ составляет несколько месяцев или лет, вирусным гепатитом — согласуется с проведением диспансеризации и специального тестирования, туберкулезом — с реализацией профилактических обследований или дифференциальной диагностики с другими заболеваниями. Проведение некоторых мероприятий, в том числе профилактических, было ограничено и затруднительно в периоды подъема заболеваемости COVID-19 [10].

Несоответствие эпидемиологических показателей и клиники тяжелых случаев инфекций на фоне коронавируса

Другой вопрос связан с тем, как SARS-CoV-2 влияет на течение основного заболевания при наличии у пациента предшествующих ВИЧ-инфекции, ХГС или туберкулеза. Статистика свидетельствует о том, что наиболее худший прогноз и риск летального исхода имеют пациенты в прогрессирующей стадии заболевания, которая характеризуется наличием оппортунистических инфекций, особенно СПИД-индикаторных состояний, с диссеминированной формой туберкулеза и в цирротической стадии гепатита [15, 30].

Клиническая картина COVID-19 наиболее детально изучена при ВИЧ-инфекции. Установлено, что у пациентов на ранних стадиях ВИЧ-инфекции она практически не отличалась от таковой в общей популяции людей [36]. Однако у ВИЧ-инфицированных пациентов в стадии вторичных заболеваний, с низким количеством CD4-лимфоцитов и высокой вирус-

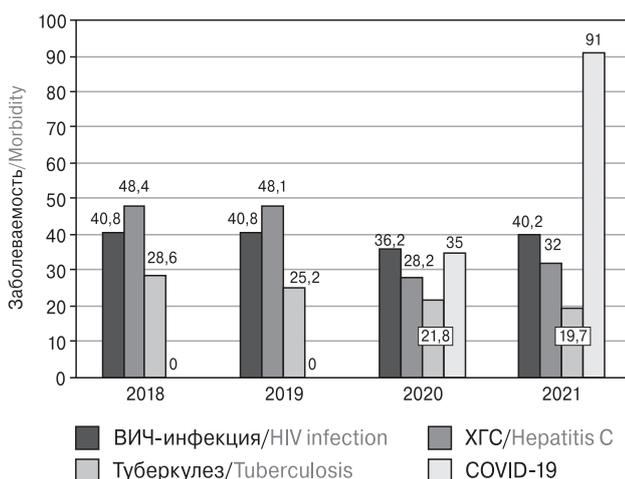


Рисунок 2. Показатели заболеваемости ВИЧ-инфекцией, ХГС и туберкулезом до и после начала пандемии COVID-19 в СЗФО РФ (на 100 тысяч жителей)

Figure 2. Morbidity rate for HIV-infection, chronic HCV-infection and tuberculosis before and after the onset of COVID-19 in the Northwestern Federal District of the Russian Federation

ной нагрузкой, с присоединением SARS-CoV-2 ассоциированы более частые госпитализации и летальность, о чем свидетельствуют результаты исследования 896 ЛЖВ, проведенного в штате Нью-Йорк [9].

Другое исследование, проведенное в Западном Кейле (ЮАР), после корректировки на другие факторы риска, показало, что наличие ВИЧ в 2,14 раза увеличивает риск смерти пациента от COVID-19. При этом наибольшая частота неблагоприятного исхода заболевания, несмотря на проводимую антиретровирусную терапию (АРТ), была отмечена у представителей негроидной расы из числа ЛЖВ.

В настоящее время мировое клиническое сообщество сходится во мнении, что прогрессирующая иммуносупрессия (< 200 кл/мкл), отсутствие АРТ и высокий показатель вирусной нагрузки ВИЧ в контексте сопутствующих заболеваний, существенно повышают риск наступления смерти от COVID-19 и других инфекций [36].

Из вышесказанного следует, что на клиническом уровне при анализе конкретных случаев прослеживаются явления синдемии, которые теряются при обычном эпидемиологическом анализе больших массивов случаев, где удельный вес пациентов с ВИЧ ничтожно мал.

В результате прямого и иммуноопосредованного повреждения гепатоцитов вирусом SARS-CoV-2, COVID-19 у людей с хронической патологией печени в анамнезе может приводить к развитию менее благоприятных исходов заболевания по сравнению с другими тяжелооболеченными пациентами [26].

Данные метаанализа 8 исследований по изучению распространенности сопутствующих заболеваний и смертности пациентов, инфицированных COVID-19, показали, что уровень смертности у пациентов с хроническими заболеваниями печени составляет в среднем 0–2% [18].

Недавние исследования подтверждают тот факт, что у пациентов с хроническими заболеваниями печени в стадии цирроза довольно высок риск декомпенсации состояния. Одно из исследований включало 228 пациентов, 43 из которых имели стадию цирроза печени. Прогрессирование повреждения печени с развитием декомпенсации наблюдалось у 57% пациентов, летальность составила 43%, а повышение уровня билирубина и соотношения АСТ/АЛТ являлись предикторами неблагоприятного исхода у больных с циррозом печени [5].

По данным В.В. Тестова и соавт. [12] пандемия новой коронавирусной инфекции привела в России к снижению показателя регистрации впервые выявленных больных туберкулезом до 25,7%, а также к уменьшению регистрации

пациентов с рецидивом туберкулеза на 22,7%, чем можно объяснить рекордно низкие показатели по заболеваемости в РФ. До сих пор вопрос взаимного влияния SARS-CoV-2 и туберкулеза остается дискуссионным.

Результаты одноцентрового исследования, проведенного ГБУЗ «Московский научно-практический центр борьбы с туберкулезом», показал, что больные коинфекцией COVID-19/туберкулез в трети случаев требуют лечения в отделении реанимации и интенсивной терапии, более чем в четверти случаев требуется проведение трахеостомии. Летальность при коинфекции COVID-19/туберкулез по данным авторов составляет 10,2%, почти половина смертей приходится на возрастную группу от 41 до 50 лет [27]. В то же время метаанализ, проведенный Y. Gao и соавт. показал, что туберкулез не был связан с повышенным риском смертности у пациентов с COVID-19 [36].

Существенно осложняет ситуацию широкая распространенность туберкулеза среди населения ЛЖВ, который по настоящее время остается основной причиной смерти пациентов с иммуносупрессией [20].

В своей работе О.Н. Зубань, обследовавший 526 больных с коинфекцией COVID-19/туберкулез и отсутствием или наличием ВИЧ-инфекции, установил, что каждый третий случай коинфекции COVID-19/туберкулез приходится на пациентов с ВИЧ-инфекцией. Установлено, что коинфекция ВИЧ/туберкулез и COVID-19 наиболее характерна для возрастной группы от 31 года до 50 лет; втрое чаще, чем без ВИЧ-инфекции, заболевают мужчины и, в подавляющем большинстве, неработающие трудоспособного возраста. Летальность также оказалась выше при коинфекции COVID-19/ВИЧ/туберкулез: 8,9% против 6,8% у ВИЧ-негативных. Тяжесть состояния пациентов с тройной инфекцией определяется в основном ВИЧ (100% в стадиях IVБ и IVВ), туберкулезом и другими вторичными, а также интеркуррентными заболеваниями: на одного больного приходится 1,7 локализаций туберкулеза и 3,2 сопутствующих заболевания. Менее половины (44,2%) больных коинфекцией ВИЧ/туберкулез, заболевших COVID-19, получают АРТ, у 46,9% сывороточный уровень CD4 лимфоцитов не превышал 100 кл/мкл, у 15,0% — составлял от 100 до 350 кл/мкл [12, 27].

Предварительные данные подтверждают существование синдемии между COVID-19 и тяжелыми клиническими состояниями, сравнимые с ранее встречавшимся в России сочетанным течением ВИЧ-инфекции, парентеральных гепатитов, туберкулеза, наркомании и комплекса СПИД-индикаторных болезней [11].

Исходя из этого можно полагать, что маркером проявлений сосуществования COVID-19, ВИЧ, вирусных гепатитов и туберкулеза является не показатель заболеваемости, а течение болезни в целом с участием вируса SARS-CoV-2 в сочетании с индивидуальными показателями пациента и учетом тяжести течения сопутствующих инфекций и летальности. Но показатель смертности для трех социально значимых инфекций на территории СЗФО не выявил роста числа летальных исходов на фоне пандемии [6], исключение составили наиболее тяжелые случаи в условиях стационара, идентичные тем, которые прослеживались при сахарном диабете, метаболических нарушениях и других исходных хронических патологиях со стороны органов и систем (табл. 2) [6, 11].

Можно ли рассматривать снижение заболеваемости и смертности в период пандемии ВИЧ-инфекции, ХГС и туберкулеза с другой позиции, а именно как реализации противоположной закономерности — интерференции под воздействием SARS-CoV-2? Вероятно нет, поскольку необходимо принять во внимание общую тенденцию снижения заболеваемости и смертности от этих трех болезней, которая в России прослеживалась в течение нескольких лет до пандемии и по величинам убывания не отличалась от периода COVID-19 [6, 11]. Следовательно, мы склонны полагать, что три рассматриваемые инфекции, за исключением их тяжелых клинических случаев, эпидемиологически мало зависят от SARS-CoV-2.

Сфера организационных и медико-социальных проблем, приводящих к синдемии COVID-19. Анализ избыточной смертности

Осложненное течение COVID-19 тесно связано с другими отягощающими болезнями — диабетом, ожирением, сердечно-сосудистой патологией и другими соматическими заболеваниями [4]. В этой связи в расширенную трактовку понятия синдемия следует включать в нее при COVID-19 все тяжелые коморбидные состояния различной природы, в том числе пожилой возраст, который до настоящего времени остается наиболее значимым отягощающим фактором в госпитальной статистике.

К нерешенным проблемам, приводящим к синдемии COVID-19 и другим состояниям, можно отнести:

- ограничение ресурсов для неинфекционных направлений медицинской помощи;
- недостаточное финансирование плановой и высокотехнологической помощи;

- отложенные и ограниченные исследования по направлениям;
- отвлечение специалистов от профилактической и диспансерной работы вне инфекционной патологии;
- дефицит лекарственных средств и расходных материалов, ограничивающих диагностику и терапию больных по направлениям;
- снижение объема первичной диагностики и выявления инфекционной и неинфекционной патологии;
- социальная нестабильность и ухудшение благополучия населения, свойственные пандемиям.

Указанные проблемы типичны и встречаются в деятельности всех стран, включая Россию. При этом в нашей стране и даже в отдельно взятом регионе, в данном случае СЗФО, причины неблагоприятного обеспечения лечебного процесса в системе здравоохранения могут быть по-разному оценены или существенно различаться. Так, при анализе показателей исходов пневмонии результирующими являются летальность и смертность [2, 4].

Мы провели опрос и обсуждение причин неблагоприятных исходов COVID-19 среди экспертов, участвующих в лечебно-диагностическом процессе на всех этапах — от амбулаторного звена до стационара и патологоанатомического отделения. Среди всех указанных ранее проблем эксперты отметили пять основных: появление новых высокопатогенных штаммов SARS-CoV-2; недостаточный охват населения вакцинацией; организационные проблемы адекватного амбулаторного ведения больных с COVID-19, включая избыточную нагрузку на персонал и недостаточную подготовку врачей; поздняя госпитализация тяжелых больных, недостаток квалифицированного персонала и хорошо оснащенного коечного фонда; перебои или дефицит лекарственных средств, расходного материала, кислорода и др. Многие специалисты высказывали собственную точку зрения на проблему, поскольку каждый видел ее под своим углом профессиональной оценки.

Конечным критерием неудач в сфере общественного здоровья и здравоохранения является показатель избыточной смертности. По предварительным опубликованным результатам данный показатель в пандемию COVID-19 практически сравнялся и достиг за многие годы своего максимума. За период с апреля 2020 по январь 2022 г. он составил 917 436 человек, из которых по данным РОССТАТа количество умерших от новой коронавирусной инфекции составляет 581 604 человек, а по опубликованным данным оперштаба — 367 013 [17, 20].

Более полное представление о негативном вкладе COVID-19, сопутствующих и не связан-

Таблица 2. Показатели заболеваемости, смертности и число обследований больных на ВИЧ-инфекцию, ХГС и туберкулез до и после начала (2020 и 2021 гг.) новой коронавирусной инфекции в СЗФО РФ

Table 2. Parameters of morbidity, mortality and the number of patients examined for HIV infection, chronic HCV and tuberculosis before and after the onset (2020 and 2021) of COVID-19 in the Northwestern Federal District of the Russian Federation

Показатели/годы Parameters/years	2018	2019	2020	2021
ВИЧ-инфекция/HIV infection				
Заболеваемость на 100 тыс. населения/Morbidity rate per 100,000 population	40,8	40,8	36,2	40,4
Смертность на 100 000 населения/Mortality rate per 100,000 population	17,3	17,6	16,5	17,7
Число обследований на ВИЧ/Number of HIV-tested subjects	3 417 605	3 615 427	2 940 675 (-18,7%)	3 320 798 (+12,9)
Хронический ВГС/Chronic HCV				
Заболеваемость/Morbidity	48,4	48,06	28,21	32*
Смертность на 100 тыс. населения/Mortality rate per 100,000 population	1,4	1,3	0,8	–
Число обследований/Number of tested subjects	1 310 734	1 247 669	996 578 (-20,1%)	–
Туберкулез/Tuberculosis				
Заболеваемость на 100 тыс. населения/Morbidity rate per 100,000 population	28,6	25,2	21,8	19,7
Смертность на 100 тыс. населения/Mortality rate per 100,000 population	3,6	2,7	2,6	–
Число обследований/Number of tested subjects	8 438 700	8 649 574	7 766 547 (-10,2%)	8 190 040 (-5,3%)

Примечание. *Предварительные данные.

Note. *Preliminary data.

ных с последствиями коронавируса заболеваний мы получим спустя несколько лет по окончании пандемии, после ликвидации ее медико-биологических и социальных последствий.

Персонализация и дифференцированный подход к больным групп риска

Вопросы системного и персонализированного подхода обостряются в период массовых заболеваний и эпидемий в силу необходимости отбора групп приоритетного контроля с целью наблюдения за их состоянием с применением стандартных и высокотехнологичных исследований и методов лечения с учетом доступности, эффективности и трудоемкости этих исследований и методов. Созданные международные и отечественные методические рекомендации по ведению пациентов безусловно базируются на клиническом опыте и исследовательских данных, и отражают стремление к систематизации и созданию универсального алгоритма оказания медицинской помощи. Однако практически они не в силах охватить все многообразие сопутствующих состояний и индивидуальных особенностей организма. Здоровье населения и индивидуума, как и исходы заболевания, зависят от многих факторов, которые необходимо учитывать при проведении диагностических и лечебных мероприятий. Сопутствующая соматическая патология,

возможность синдемического течения социально значимых заболеваний, интерференции возбудителей требуют персонализированного подхода в качестве меры профилактики тяжелого течения и осложнений COVID-19.

Необходимо отметить тот факт, что в нашей стране действовал наиболее расширенный перечень рекомендованных лекарственных средств, который, вопреки предписаниям ВОЗ и профессиональных сообществ, повторялся в восьми изданиях временных методических рекомендаций Минздрава РФ [3, 5]. Данный перечень корректировался по мере формирования клинического опыта, однако применение рекомендованных средств терапии не предотвращало высокую летальность пациентов с коморбидными состояниями и возрастом свыше 60 лет в отделениях интенсивной терапии [5].

Заключение

В настоящее время можно предварительно оценить последствия COVID-19 и других социально значимых инфекций. Пока не удалось создать эффективных противовирусных препаратов, а ранее разработанные для других заболеваний средства себя не проявили. Специфическая терапия COVID-19 была затруднительна, поскольку рекомендуемые для ее лечения лекарственные средства либо недостаточно эффективны, либо их эффективность не была доказана в полной мере. Вакцинация существенно не повлияла на эпидемические

показатели, но позволила снизить тяжесть течения инфекции и летальность от нее даже в тех случаях, когда заболевание было вызвано мутировавшими штаммами SARS-CoV-2 [4, 5].

На фоне проводимой терапии и вакцинации природные процессы интерференции и синдемии, по-видимому, протекают спонтанно, и мы достоверно не можем определить свой вклад в сложные взаимодействия микробиоты у пациентов с COVID-19. Место персонализации на фоне интерферентных взаимоотношений вирусов и противовирусной терапии еще не определено. В настоящем исследовании на территории

СЗФО РФ не было выявлено значимого влияния COVID-19 на эпидемические проявления социально значимых инфекций — ВИЧ, ХГС и туберкулеза.

Проведенный анализ тяжелых случаев ВИЧ-инфекции, ХГС, туберкулеза, а также других состояний при новой коронавирусной инфекции свидетельствует о том, что вопрос исходов лечения во многом определяется одним из вариантов развития синдемии — коморбидности процессов, что ранее уже рассматривалось в публикациях, и имеет свое клиническое и патофизиологическое развитие [4, 5, 23].

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. [Azovtzeva 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. Багненко С.Ф., Беляков Н.А., Рассохин В.В., Трофимова Т.Н., Самарина А.В., Симаненков В.И., Симбирцев А.С., Ястребова Е.Б., Боева Е.В., Лукина О.В., Строкова Л.А., Бакулина Н.В., Бакулин И.Г., Ковеленов А.Ю., Тотолян А.А. Начало эпидемии COVID-19. СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2020. 326 с. [Bagnenko S.F., Belyakov N.A., Rassokhin V.V., Trofimova T.N., Samarina A.V., Simanenkov V.I., Simbirtsev A.S., Yastrebova E.B., Boeva E.V., Lukina O.V., Strokova L.A., Bakulina N.V., Bakulin I.G., Kovelenov A.Yu., Totolian A.A. The beginning of the COVID-19 epidemic. *St. Petersburg: Baltic Medical Educational Center*, 2020. 326 p. (In Russ.)]
3. Багненко С.Ф., Полушин Ю.С., Шлык И.В., Теплов В.М., Карпова Е.А., Гаврилова Е.Г., Афанасьев А.А., Хряпа А.А., Бовкун И.В., Калмансон Л.М., Малинина Д.А., Скворцова Р.Д., Коробенков Е.А. Опыт работы ПСПбГМУ им. И.П. Павлова по оказанию помощи больным с новой коронавирусной инфекцией: первые итоги и уроки // Вестник анестезиологии и реаниматологии. 2021. Т. 18, № 2. С. 7–16. [Bagnenko S.F., Polushin Yu.S., Shlyk I.V., Teplov V.M., Karpova E.A., Gavrilova E.G., Afanasyev A.A., Khryapa A.A., Bovkun I.V., Kalmanson L.M., Malinina D.A., Skvortsova R.D., Korobenzov E.A. The Pavlov University experience in medical assistance for patients with the novel coronavirus infection: first results and lessons. *Vestnik anesteziologii i reanimatologii = Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*, 2021, vol. 18, no. 2, pp. 7–16. (In Russ.)] doi: 10.21292/2078-5658-2021-18-2-7-16
4. Беляков Н.А., Багненко С.Ф., Рассохин В.В., Трофимова Т.Н., Колбин А.С., Лукина О.В., Симбирцев А.С., Трофимов В.И., Емельянов О.В., Кабанов М.Ю., Незнанов Н.Г., Рыбакова М.Г., Исаева Е.Р., Дидур М.Д., Тотолян А.А. Эволюция пандемии COVID-19. СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2021. 410 с. [Belyakov N.A., Bagnenko S.F., Rassokhin V.V., Trofimova T.N., Kolbin A.S., Lukina O.V., Simbirtsev A.S., Trofimov V.I., Emel'yanov O.V., Kabanov M.Yu., Neznanzov N.G., Rybakova M.G., Isaeva E.R., Didur M.D., Totolian A.A. The evolution of the COVID-19 pandemic. *St. Petersburg: Baltic Medical Educational Center*, 2021. 410 p. (In Russ.)]
5. Беляков Н.А., Багненко С.Ф., Трофимова Т.Н., Рассохин В.В., Незнанов Н.Г., Тотолян А.А., Лобзин Ю.В., Дидур М.Д., Лизонов Д.А., Рыбакова М.Г., Колбин А.С., Харит С.М., Клишко Н.Н., Пантелеев А.М., Стома И.О., Ястребова Е.Б. Последствия пандемии COVID-19. СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2022. 464 с. [Belyakov N.A., Bagnenko S.F., Trofimova T.N., Rassokhin V.V., Neznanzov N.G., Totolian A.A., Lobzin Yu.V., Didur M.D., Lioznov D.A., Rybakova M.G., Kolbin A.S., Kharit S.M., Klimko N.N., Panteleev A.M., Stoma I.O., Yastrebova E.B. Consequences of the COVID-19 pandemic. *St. Petersburg: Baltic Medical Educational Center*. 2022. 464 p. (In Russ.)]
6. Беляков Н.А., Боева Е.В., Симакина О.Е., Светличная Ю.С., Огурцова С.В., Серебрякова С.Л., Эсауленко Е.В., Загдын З.М., Язенок А.В., Лизонов Д.А., Стома И.О. Пандемия COVID-19 и ее влияние на течение других инфекций на Северо-Западе России // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2022. Т. 14, № 1. С. 7–24. [Belyakov N.A., Boeva E.V., Simakina O.E., Svetlichnaya Yu.S., Ogurtsova S.V., Serebryakova S.L., Esaulenko E.V., Zagdyn Z.M., Yazenok A.V., Lioznov D.A., Stoma I.O. COVID-19 pandemic and its impact on other infections in Northwest Russia. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2022, vol. 14, no. 1, pp. 7–24. (In Russ.)] doi: 10.22328/2077-9828-2022-14-1-7-24
7. Беляков Н.А., Рассохин В.В. ВИЧ-инфекция и коморбидные состояния. СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2020. 680 с. [Belyakov N.A., Rassokhin V.V. HIV infection and comorbid conditions. *St. Petersburg: Baltic Medical Educational Center*, 2020. 680 p. (In Russ.)]
8. Беляков Н.А., Трофимова Т.Н., Кулагина Е.Н., Митюрин Д.В., Соколов А.Р., Тучапский А.К., Фирсов В.В., Шелаев Ю.Б., Шелаева Е.П. По следам мировых эпидемий. От юстиниановой чумы до новой коронавирусной инфекции. СПб.: Лики. 2021. 296 с. [Belyakov N.A., Trofimova T.N., Kulagina E.N., Mityurin D.V., Sokolov A.R., Tuchapskii A.K., Firsov V.V., Shelaev Yu.B., Shelaeva E.P. In the footsteps of the world's epidemics. From Justinian plague to a new coronavirus infection. *St. Petersburg: Liki*, 2021. 296 p. (In Russ.)]
9. Винокуров А.С., Никифорова М.В., Оганесян А.А., Винокурова О.О., Юдин А.Л., Юматов Е.А. COVID-19. Поражение печени — особенности визуализации и возможные причины // Медицинская визуализация. 2020. Т. 24, № 3. С. 26–36. [Vinokurov A.S., Nikiforova M.V., Oganesyanyan A.A., Vinokurova O.O., Yudin A.L., Yumatov E.A. COVID-19. Liver damage — visualization features and possible causes. *Meditsinskaya vizualizatsiya = Medical Visualization*, 2020, vol. 24, no. 3, pp. 26–36. (In Russ.)] doi: 10.24835/1607-0763-2020-3-26-36

10. Вирус иммунодефицита человека – медицина: Руководство для врачей / Под ред. Н.А. Белякова, А.Г. Рахмановой. 2-е издание. СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2011. 656 с. [Human immunodeficiency virus-medicine: a guide for physicians. Eds. N.A. Belyakov, A.G. Rakhmanova. 2nd ed. St. Petersburg: Baltic Medical Educational Center, 2011. 656 p. (In Russ.)]
11. ВИЧ-инфекция и коморбидные состояния в Северо-Западном федеральном округе Российской Федерации в 2018 году: аналитический обзор. Под ред. Н.А. Белякова. СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2019. 56 с. [HIV infection and comorbid conditions in the Northwestern Federal District of the Russian Federation in 2018: analytical review. Ed. by N.A. Belyakov. HIV infection and comorbid conditions in the North-Western Federal District of the Russian Federation in 2018. Analytical review. St. Petersburg: St. Petersburg Pasteur Institute, 2019. 56 p. (In Russ.)]
12. Зубань О.Н., Смирнова О.В., Решетников М.Н. COVID-19 у больных ВИЧ и туберкулезом // Туберкулез и социально значимые заболевания. 2021. № 1. С. 32–39. [Zuban O.N., Smirnova O.V., Reshetnikov M.N. COVID-19 in tuberculosis patients: single care center experience. *Tuberkulez i sotsial'no znachimye zabolevaniya = Tuberculosis and Socially Significant Diseases*, 2021, no. 1, pp. 32–39. (In Russ.)]
13. Курганова Т.Ю., Мельникова Т.Н., Ковалев Н.Ю., Огурцова С.В., Симакина О.Е., Загдын З.М., Беляков Н.А. Эпидемиология трех коинфекций: ВИЧ, вирусного гепатита и туберкулеза – в Вологодской области как модель развития инфекций в Северо-Западном федеральном округе // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2020. Т. 12, № 1. С. 7–16. [Kurganova T.Yu., Melnikova T.N., Kovalev N.Yu., Ogurtsova S.V., Simakina O.E., Zagdyn Z.M., Belyakov N.A. Epidemiology of three coinfections: HIV, viral hepatitis and tuberculosis in the Vologda region as a model of infection development in the northwestern federal district. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2021, vol. 13, no. 1, pp. 7–16. (In Russ.)] doi: 10.22328/2077-9828-2021-13-1-7-16
14. Мазус А.И., Нагибина М.В., Бессараб Т.П., Цыганова Е.В., Литвинова Н.Г., Белова Е.Г., Набиуллина Д.Р., Кесаева М.Ю. COVID-19/ВИЧ коинфекция: характеристика пациентов Московского мегаполиса // Терапия. 2021. Т. 46, № 4. С. 18–24. [Mazus A.I., Nagibina M.V., Bessarab T.P., Tsyganova E.V., Litvinova N.G., Belova E.G., Nabiullina D.R., Kesaeva M.Yu. COVID-19/HIV coinfection: characteristics of patients of the Moscow metropolis. *Terapiya = Therapy*, 2021, vol. 46, no. 4, pp. 18–24. (In Russ.)] doi: 10.18565/therapy.2021.4.18-24
15. Мишина А.В., Мишин В.Ю., Эргешов А.Э., Собкин А.Л., Сергеева Н.В., Пилипенко С.В., Романов В.В. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19), сочетанная с туберкулезом, у больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции с иммунодефицитом // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2021. Т. 13, № 1. С. 80–87. [Mishina A.V., Mishin V.Yu., Ergeshov A.E., Sobkin A.L., Sergeeva N.V., Pilipenko S.V., Romanov V.V. New coronaviral infection (COVID-19) combined with tuberculosis in patients at late stages of HIV infection with immunodeficiency. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2021, vol. 13, no. 1, pp. 80–87. (In Russ.)] doi: 10.22328/2077-9828-2021-13-1-80-87
16. Стопкоронавирус.рф. Оперативные данные. [Stopcoronavirus.rf. Operational data. (In Russ.)] URL: <https://stopcoronavirus.rf> (28.04.2022)
17. Сыраева Г.И., Колбин А.С., Сергеева Т.А., Мишинова С.А. Регистрация сообщений о нежелательных лекарственных реакциях при лечении COVID-19 в Российской Федерации и США // Клиническая фармакология и терапия. 2022. Т. 31, № 1. С. 91–96. [Sirayeva G.I., Kolbin A.S., Sergeeva T.A., Mishinova S.A. Registration of of drug adverse reactions during treatment of COVID-19 in the Russian Federation and the United States. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya = Clinical Pharmacology and Therapy*, 2022, vol. 31, no. 1, pp. 91–96. (In Russ.)] doi: 10.32756/0869-5490-2022-1-91-96
18. Тестов В.В., Стерликов С.А., Васильева И.А., Сидорова И.А., Михайлова Ю.В. Федеральный регистр лиц, больных туберкулезом, как инструмент мониторинга влияния противоэпидемических мероприятий, вызванных пандемией COVID-19, на систему оказания противотуберкулезной помощи // Туберкулез и болезни легких. 2020. Т. 98, № 11. С. 6–11. [Testov V.V., Sterlikov S.A., Vasilyeva I.A., Sidorova I.A., Mikhaylova Yu.V. Federal register of TB cases as a tool for monitoring the impact of COVID-19 pandemic response activities on the TB care system. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2020, vol. 98, no. 11, pp. 6–11. (In Russ.)] doi: 10.21292/2075-1230-2020-98-11-6-11
19. Управление федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по городу Санкт-Петербургу. О распространении новой коронавирусной инфекции, вызванной штаммом «омикрон» в Санкт-Петербурге. [Department of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-being in the city of St. Petersburg. On the spread of a new coronavirus infection caused by the omicron strain in St. Petersburg. (In Russ.)] URL: <https://78.rospotrebnadzor.ru/covid-19> (03.05.2022)
20. Федеральная служба государственной статистики. [Federal State Statistics Service. (In Russ.)] URL: <https://rosstat.gov.ru> (28.04.2022)
21. Ahmadi M.H. Would the interference phenomenon be applied as an alternative option for prophylaxis against COVID-19? *Bioimpacts*, 2021, vol. 11, no. 3, pp.169–172. doi: 10.34172/bi.2021.12
22. Alexandridi M., Mazej J., Palermo E., Hiscott J. The Coronavirus pandemic – 2022: viruses, variants & vaccines. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2022, vol. 63, pp. 1–9. doi: 10.1016/j.cytogfr.2022.02.002
23. Almeida-Filho N. Syndemic, infodemic, pandemic of COVID-19: towards a pandemic of emerging diseases. *Salud Colect.*, 2021, vol. 17: e3748. (In Spanish). doi: 10.18294/sc.2021.3748
24. Bajaj J.S., Garcia-Tsao G., Biggins S.W., Kamath P.S., Wong F., McGeorge S., Shaw J., Pearson M., Chew M., Fagan A., de la Rosa Rodriguez R., Worthington J., Olofson A., Weir V., Trisolini C., Dwyer S., Reddy K.R. Comparison of mortality risk in patients with cirrhosis and COVID-19 compared with patients with cirrhosis alone and COVID-19 alone: multicentre matched cohort. *Gut*, 2021, vol. 70, pp. 531–536. doi: 10.1136/gutjnl-2020-322118
25. Chen J., Wang R., Gilby N.B., Wei G.W. Omicron variant (B.1.1.529): infectivity, vaccine breakthrough, and antibody resistance. *J. Chem. Inf. Model.*, 2022, vol. 62, no. 2, pp. 412–422. doi: 10.1021/acs.jcim.1c01451
26. Chen T., Wu D., Chen H., Yan W., Yang D., Chen G., Ma K., Xu D., Yu H., Wang H., Wang T., Guo W., Chen J., Ding C., Zhang X., Huang J., Han M., Li S., Luo X., Zhao J., Ning Q. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ*, 2020, vol. 368: m1091. doi: 10.1136/bmj.m1091
27. Gao Y., Liu M., Chen Y., Shi S., Geng J., Tian J. Association between tuberculosis and COVID-19 severity and mortality: a rapid systematic review and meta-analysis. *J. Med. Virol.*, 2021, vol. 93, no. 1, pp. 194–196. doi: 10.1002/jmv.26311

28. Johns Hopkins University and Medicine. Coronavirus resource center. April, 5, 2022. URL: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
29. Nagarakanti S.R., Okoh A.K., Grinberg S., Bishburg E. Clinical outcomes of patients with COVID-19 and HIV coinfection. *J. Med. Virol.*, 2021, vol. 93, pp. 1687–1693. doi: 10.1002/jmv
30. NIH. COVID-19 Treatment guidelines. Special considerations in people with HIV. Retrieved January 23, 2021. URL: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/special-populations/hiv> (25.01.2022)
31. Papanikolaou V., Chrysovergis A., Rizos V., Tsiambaos E., Katsinis S., Manoli A., Papouliakos S., Roukas D., Mastronikolis S., Peschos D., Batistatou A., Kyrodimos E., Mastronikolis N. From delta to Omicron: S1RBD/S2 mutation/deletion equilibrium in SARS-CoV-2 defined variants. *Gene*, 2022, vol. 814: 146134. doi: 10.1016/j.gene.2021.146134
32. Piret J., Boivin G. Viral Interference between respiratory viruses. *Emerg. Infect. Dis.*, 2022, vol. 28, no. 2, pp. 273–281. doi: 10.3201/eid2802.211727
33. Singer M. Development, coinfection, and the dynamics of pregnancy in Sub-Saharan Africa. *Infect. Dis. Poverty*, 2013, vol. 2, no. 1: 26. doi: 10.1186/2049-9957-2-26
34. Singer M. Introduction to Syndemics: a critical systems approach to public and community health. *Jossey-Bass*, 2009. 304 p.
35. Ssentongo P., Heilbrunn E.S., Ssentongo A.E., Advani S., Chinchilli V.M., Nunez J.J., Du P. Epidemiology and outcomes of COVID-19 in HIV-infected individuals: a systematic review and meta-analysis. *Sci. Rep.*, 2021, vol. 11: 6283. doi: 10.1038/s41598-021-85359-3
36. Tesoriero J.M., Swain C.A.E., Pierce J.L., Zamboni L., Wu M., Holtgrave D.R., Gonzalez C.J., Udo T., Morne J.E., Hart-Malloy R., Rajulu D.T., Leung S.J., Rosenberg E.S. Elevated COVID-19 outcomes among persons living with diagnosed HIV infection in New York state: results from a population-level match of HIV, COVID-19, and hospitalization databases. *MedRxiv*, 2020, 11.04.20226118. doi: 10.1101/2020.11.04.20226118
37. Tsai A.C., Mendenhall E., Trostle J.A., Kawac I. Co-occurring epidemics, syndemics, and population health. *Lancet*, 2017, vol. 389, iss. 10072, pp. 978–982. doi: 10.1016/s0140-6736(17)30403-8
38. Western Cape Department of Health in collaboration with the National Institute for Communicable Diseases, South Africa. Risk factors for COVID-19 death in a population cohort study from the Western Cape Province, South Africa. *Clin. Infect. Dis.*, 2020, vol. 73, no. 7, pp. e2005–e2015. doi: 10.1093/cid/ciaa1198
39. WHO. Tracking SARS-CoV-2 variants. May 25, 2022. URL: <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>
40. Yang J., Zheng Y., Gou X., Pu K., Chen Z., Guo Q., Ji R., Wang H., Wang Y., Zhou Y. Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Infect. Dis.*, 2020, vol. 94, pp. 91–95. doi: 10.1016/j.ijid.2020.03.017

Авторы:

Беляков Н.А., д.м.н., профессор, академик РАН, зав. кафедрой социально значимых инфекций ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия; главный научный сотрудник ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия; руководитель Северо-Западного Окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Боева Е.В., к.м.н., ассистент кафедры социально значимых инфекций ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия; врач-инфекционист, зав. отделением хронической вирусной инфекции Северо-Западного Окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Загдын З.М., д.м.н., старший научный сотрудник научно-методического отдела ФГБУ Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии 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;

Люзнов Д.А., д.м.н., зав. кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Симакина О.Е., к.б.н., научный сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Belyakov N.A., PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Head of the Department of Socially Significant Infections, First Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation; Chief Researcher of the Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation; Head of North-West District Center for Prevention and Control of AIDS, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Boeva E.V., PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Socially Significant Infections, First Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation; Infectious Disease Doctor, Head of Department of Chronic Viral Infection in North-West District Center for Prevention and Control of AIDS, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Zagdyn Z.M., PhD, MD (Medicine), Senior Researcher, Scientific and Methodological Department, Research Institute of Phthiopulmonology, 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;

Lioznov D.A., PhD, MD (Medicine), Head of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, First Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;

Simakina O.E., PhD (Medicine), Researcher, Laboratory of Immunology and Virology of HIV infection, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ИММУНОСУПРЕССИВНЫХ СОСТОЯНИЙ У БОЛЬНЫХ COVID-19

М.В. Киселевский^{1,2}, Е.М. Трещалина¹, И.Н. Михайлова¹, Д.В. Мартиросян³,
И.В. Манина⁴, В.В. Решетникова¹, И.Г. Козлов^{5,6}

¹ ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, Москва, Россия

² Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

⁴ ООО Институт аллергологии и клинической иммунологии, Москва, Россия

⁵ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

⁶ ФГБУ НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дм. Рогачева, Москва, Россия

Резюме. Обзор выполнен посредством поиска тематической информации среди доступных источников литературы в базах данных Pubmed, Scopus, Web of Science, eLibrary, 49 из которых (1997–2022 гг. издания) вошли в данный обзор. Анализ этих работ направлен на особенности индуцированной цитокиновым штормом гипервоспалительной реакции с признаками иммуносупрессии, сопровождающейся выраженной лимфопенией со снижением количества CD4⁺ Т-хелперов при тяжелом течении COVID-19. Прогностическим фактором неблагоприятного прогноза служит коррелирующий с тяжестью заболевания маркер системной воспалительной реакции — растворимый рецептор IL-2, а также соотношение нейтрофилов к лимфоцитам и дисбаланс субпопуляций лимфоцитов. Направленная на ослабление воспалительной реакции иммуносупрессивная терапия тяжелых форм COVID-19 усугубляет иммунную дисфункцию, подавляя Т-клеточный ответ, в основном, за счет Th1 лимфоцитов, участвующих в идентификации и элиминации внутриклеточных патогенов, в частности вирусов. При этом страдает клеточно-опосредованный иммунитет, который обеспечивают цитотоксические Т-лимфоциты, натуральные киллеры и макрофаги. Для предупреждения или ослабления иммуносупрессии, сопровождающей тяжелое течение и приводящей к серьезным и длительным осложнениям, а также к присоединению вторичных инфекций, необходима своевременная и адресная иммунокоррекция. В борьбе с цитокиновым штормом важно не упустить момент развития иммуносупрессивного состояния, переходящего в иммунопаралич, что следует из последних публикаций, освещающих тактику лечения иммуноопосредованных осложнений коронавирусной инфекции. В обзоре рассмотрены возможности иммуносупрессивной терапии, помимо глюкокортикостероидов и моноклональных антител, блокирующих IL-6 или его рецепторы. Приведены примеры работ с использованием мезенхимальных стволовых клеток (МСК) для снижения системной воспалительной реакции при COVID-19. Подвергнуто анализу применение антиген-специфических Treg и их сочетаний с антагонистами фактора некроза опухолей α (TNF α), интерферона γ (IFN γ) и с низкими дозами IL-2 у пациентов с SARS-CoV-2-инфекцией. Прогностические перспективы технологии CAR-T-клеток и CAR-NK-клеток рассмотрены в плане новых терапевтических подходов, нацеленных на «обучение» эффекторных клеток распознавать поверхностный шиповидный (S) белок вируса SARS-CoV-2. Целесообразность

Адрес для переписки:

Киселевский Михаил Валентинович
115478, Россия, Москва, Каширское ш., 24,
ФГБУ НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.
Тел.: 8 (903) 199-49-72.
E-mail: kisele@inbox.ru

Contacts:

Mikhail V. Kiselevskiy
115478, Russian Federation, Moscow, Kashirskoe hw, 24,
N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology.
Phone: +7 (903) 199-49-72.
E-mail: kisele@inbox.ru

Для цитирования:

Киселевский М.В., Трещалина Е.М., Михайлова И.Н., Мартиросян Д.В., Манина И.В., Решетникова В.В., Козлов И.Г. Возможности коррекции иммуносупрессивных состояний у больных COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4. С. 651–658. doi: 10.15789/2220-7619-OFC-1917

Citation:

Kiselevskiy M.V., Treshalina H.M., Mikhailova I.N., Martirosyan D.V., Manina I.V., Reshetnikova V.V., Kozlov I.G. Opportunities for correction of immunosuppression in patients with COVID-19 // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 651–658. doi: 10.15789/2220-7619-OFC-1917

иммунокорректирующей терапии подчеркивается также сравнительным анализом эффективности ИЛ-7 или ИЛ-15 у пациентов с COVID-19 с иммуносупрессией. Критическая оценка коррекции иммуносупрессивных состояний у пациентов с COVID-19 в постковидный период с помощью низкодозной терапии препаратами ИЛ-2 позволила выявить ее способность восстанавливать клеточный иммунный ответ. В результате в качестве заместительной цитокиновой терапии у этих пациентов, при переходе от гипервоспалительной к гиповоспалительной фазе иммунного ответа, может быть рекомендована низкодозная ИЛ-2 терапия.

Ключевые слова: COVID-19, цитокиновый шторм, Т-клеточный ответ, иммунокорректирующая терапия, ИЛ-2.

OPPORTUNITIES FOR CORRECTION OF IMMUNOSUPPRESSION IN PATIENTS WITH COVID-19

Kiselevskiy M.V.^{a,b}, Treshalina H.M.^a, Mikhailova I.N.^a, Martirosyan D.V.^c, Manina I.V.^d, Reshetnikova V.V.^a, Kozlov I.G.^{e,f}

^a N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation

^b National University of Science and Technology "MISIS", Moscow, Russian Federation

^c Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

^d Institute of Allergology and Clinical Immunology, Moscow, Russian Federation

^e Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

^f Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

Abstract. Here, we review thematic publications in available literature sources of the databases PubMed, Scopus, Web of Science, eLibrary, 49 of which were dated of the years 1997–2022. Analysis of such reports is aimed at assessing features of cytokine storm-induced hyperinflammatory reaction with signs of immunosuppression accompanied by pronounced lymphopenia and lowered count of CD4⁺T helpers during severe COVID-19. The prognostic factor for unfavorable prognosis was based on the marker of systemic inflammatory reaction correlating with the disease severity — the soluble IL-2 receptor as well as the neutrophil-to-lymphocyte ratio and the lymphocyte subset imbalance. An immunosuppressive therapy of severe forms of COVID-19, aimed at weakening the inflammatory response, exacerbates immune dysfunction by suppressing the T cell function, mainly due to Th1 lymphocytes involved in recognizing and eliminating intracellular pathogens particularly viruses. Upon that, cell-mediated immunity becomes compromised that relies on cytotoxic T-lymphocytes, natural killer cells and macrophages. Timely and targeted immunocorrection is required to prevent or reduce the immunosuppression that accompanies a severe disease course and leads to serious and prolonged complications, as well as to association of secondary infections. In fight against the cytokine storm, it is important not to miss a time point of developing immunosuppressive condition that transitions into immunoparalysis as follows from recent publications covering the tactics of treating immune-mediated complications of coronavirus infection. The review discusses opportunities for immunosuppressive therapy along with glucocorticosteroids and monoclonal antibodies blocking IL-6 or cognate receptors. Studies using mesenchymal stem cells (MSCs) to reduce systemic inflammatory response at COVID-19 are outlined in the review. The use of antigen-specific Treg and their combinations with antagonists of tumor necrosis factor- α (TNF α), interferon- γ (IFN γ) as well as low-dose IL-2 in patients with SARS-CoV-2 infection were analyzed. The prognostic perspectives for CAR-T cells and CAR-NK cells technology have been considered as novel therapeutic approaches aimed at “training” effector cells to recognize the surface SARS-CoV-2 virus spike-like (S) protein. The feasibility of a therapeutic approach is also emphasized by comparatively analyzed of efficacy of using IL-7 or IL-15 during lymphopenia in patients with COVID-19. Here, side effects complicating immunocorrection come to the fore. Critical evaluation of corrected immunosuppressive conditions in patients with COVID-19 in the post-COVID-19 period by using low-dose IL-2 therapy revealed its ability to repair cellular immune response. As a result, a low-dose IL-2 therapy is recommended as a cytokine replacement therapy in such patients with COVID-19 during hyper-to-hypo-inflammatory phase transition in immune response.

Key words: COVID-19, cytokine storm, T-cell response, immunocorrection therapy, IL-2.

Введение

Факторы риска, связанные с поступлением в отделение интенсивной терапии и смертью пациентов с COVID-19, включают пожилой возраст, сопутствующие заболевания, повышенный индекс массы тела, уровень в крови трансаминаз, лактатдегидрогеназы, Д-димера, ферритина и лимфопению на фоне увеличения растворимого рецептора интерлейкина-2 (ИЛ-2Р) [21]. Недавние исследования показали, что лимфопения (число лимфоцитов < 1,0 × 10⁹/л) является одним из кри-

териев тяжести COVID-19 и может рассматриваться как проявление иммуносупрессии [2, 45]. Уменьшение числа CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток и цитокиновый шторм с повышением уровня медиаторов воспаления в крови, например ИЛ-6, являются типичными лабораторными отклонениями при тяжелом течении коронавирусных инфекций, таких как MERS-CoV (Betacoronavirus) и SARS-CoV (COVID-19). Динамика субпопуляций лимфоцитов и воспалительных цитокинов в периферической крови при COVID-19 остается в значительной степени неясной [25].

Лимфопения у больных COVID-19 как показатель тяжести течения заболевания

Лимфопения указывает на степень прогрессирования заболевания; она зарегистрирована у 85% больных COVID-19 в критическом состоянии, что обеспечивает ее значимую прогностическую ценность. Лимфопения наблюдается не только при COVID-19, но и при других вирусных инфекциях, в частности при тяжелом течении гриппа и MERS. Предполагаемые механизмы лимфопении включают миграцию лимфоцитов в ткани паренхиматозных органов, гиперлактацемию, вызывающую подавление пролиферации лимфоцитов, а также воспалительный цитокиновый шторм, приводящий к апоптозу этих клеток [20]. В когортном исследовании ($n = 191$) показано, что выявленная у пациентов лимфопения почти в 3 раза более выражена у невыживших пациентов в сравнении с выжившими [8]. Ретроспективное клиническое исследование ($n = 589$) продемонстрировало, что часто встречающаяся лимфопения у пожилых пациентов с COVID-19 и с сопутствующими заболеваниями является важным прогностическим признаком тяжелого течения и смерти при COVID-19. У большинства умерших пациентов лимфопения была выраженной [15].

Прогностическим параметром можно считать как относительное, так и абсолютное количество лимфоцитов в периферической крови. Относительное количество лимфоцитов у больных с тяжелой вирусной интоксикацией снижалось до 5% от нормы в течение 2 недель после начала заболевания и увеличивалось примерно до 10% в период выздоровления. Однако у больных с умеренной интоксикацией отклонения этого показателя были незначительными [41]. Снижение относительного числа лимфоцитов ниже 20% у больных COVID-19 в течение первых 10–12 дней заболевания рассматривается как неблагоприятный прогностический фактор, а снижение лимфоцитов ниже 5% связано с высоким риском смерти, и такие пациенты нуждались в интенсивной терапии. У пациентов в отделениях интенсивной терапии среднее число лимфоцитов составляло 800 кл/мкл, а в тяжелых случаях абсолютное число лимфоцитов резко снижалось до 100 кл/мкл [47]. Явно выраженная лимфопения наблюдалась у терминальных пациентов в отличие от выздоравливающих. Это свидетельствует о прогрессивном нарушении иммунного статуса при тяжелой вирусной интоксикации с развитием иммунодепрессии вплоть до иммунопаралича. Маркером системной воспалительной реакции при тяжелой степени заболевания может служить выраж отношения нейтрофилов к лимфоцитам (Н/Л). Подобный феномен описан для пациентов с сеп-

сисом, у которых нарушение соотношения Н/Л коррелирует с тяжестью заболевания, определяемой по шкале APACHE II, и 28-дневной летальностью [26]. При относительно благоприятном течении COVID-19 лимфопения не сопровождается значительными колебаниями количества нейтрофилов в крови.

Субпопуляционный состав лимфоцитов на фоне лимфопении

Прогностическое значение для прогрессирования заболевания у пациентов с COVID-19 имеет не только лимфопения, но также изменение соотношения отдельных субпопуляций лимфоцитов. У пациентов с COVID-19, особенно с тяжелым течением, лимфопения развивалась преимущественно в результате снижения количества $CD4^+$ Т-хелперов. Однако число $CD8^+$ Т-клеток и В-лимфоцитов не претерпевало существенных изменений. Выраженная лимфопения была связана не только со снижением количества Т-хелперов, но и с торможением их дифференцировки из наивных клеток в клетки памяти, играющие особенно важную роль в адаптивном противоинфекционном иммунитете. Хорошо известно, что баланс между наивными Т-хелперными клетками и Т-клетками памяти имеет решающее значение для развития эффективного иммунного ответа [33]. Как известно, $CD4^+$ Т-клетки — ключевые игроки в регуляции иммунных ответов (в частности за счет продукции ИЛ-2 — регулятора пролиферации и дифференцировки иммунных клеток), способствуют продукции вирус-специфических антител В-клетками, а также формированию клонов цитотоксических лимфоцитов с противовирусной активностью [12, 46].

Клинические наблюдения показали, что у всех пациентов с COVID-19, поступивших в отделение интенсивной терапии с показанием к искусственной вентиляции легких, снижен уровень $CD4^+$ и $CD8^+$ клеток и изменен иммунорегуляторный индекс $CD4^+/CD8^+$ [43, 44]. Кроме того, у пациентов с тяжелым течением COVID-19 лимфопения проявляется снижением абсолютного количества эффекторов врожденного иммунитета: NK-клеток и $\gamma\delta$ Т-клеток, ответственных за противовирусный иммунитет. У пациентов с тяжелым течением COVID-19, как правило, снижено и количество Т-регуляторных клеток (Treg), которые задействованы в ослаблении чрезмерного воспалительного ответа на вирусную инфекцию [3, 10, 37].

В острой фазе COVID-19 вирусные антигены распознаются Т-клетками при участии главного комплекса гистосовместимости класса I (МНС I). Снижение уровня экспрессии МНС I коррелируют с тяжестью вирусной инфекции [38]. У пациентов с COVID-19, наряду с лимфопенией, наблюдаются патоморфологические изменения в иммунокомпетентных и других

жизненно важных органах. В частности, снижается интенсивность миелопоэза в костном мозге и уменьшается число $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток в селезенке и лимфатических узлах. В сердце отмечена дегенерация и некроз кардиомиоцитов параллельно с инфильтрацией интерстиция моноцитами, лимфоцитами и/или нейтрофилами. В печени, наряду с дегенерацией и очаговым некрозом гепатоцитов, отмечена нейтрофильно-лимфоцитарная инфильтрация. В легких при развитии выраженного отека в альвеолярных перегородках также наблюдается инфильтрация лимфоцитами и моноцитами. Эти данные свидетельствуют о том, что полиорганная недостаточность имеет иммунозависимый характер и сопровождается перераспределением клеток-эффекторов [48].

Важную роль в регуляции иммунитета играет IL-2, который определяется в цитоплазме Т-клеток. Этот цитокин повышает цитотоксическую активность NK- и Т-клеток и формирует эффекторные иммунные механизмы для элиминации инфицированных клеток, что в свою очередь снижает репликацию вируса. IL-2 усиливает секрецию IFN γ лимфоцитами и способен индуцировать на мембране активированных иммунных клеток экспрессию высокоаффинного IL-2-рецептора (IL-2R) [18]. Основными продуцентами IL-2 являются $CD4^+$ Т-клетки. Критическое снижение этой субпопуляции лимфоцитов при тяжелом течении COVID-19 и высокий уровень растворимого IL-2R приводят к дефициту IL-2 и, соответственно, к снижению эффекторных иммунных клеток, как цитотоксических лимфоцитов и натуральных киллеров, так и супрессорных Treg клеток.

Иммунотерапия и иммунокоррекция при COVID-19

Лечение больных COVID-19 во многом сосредоточено на проведении иммуносупрессивной терапии для подавления чрезмерной воспалительной реакции. Имеющиеся данные свидетельствуют об эффективности иммуносупрессивной терапии, в частности, при применении глюкокортикостероидов, а также моноклональных антител, блокирующих IL-6 или рецепторы IL-6, для борьбы с цитокиновым штормом [36, 42].

Иммунная дисфункция у больных COVID-19, с одной стороны, проявляется чрезмерной активацией иммунной системы, а другой — лимфопенией, свидетельствующей об иммуносупрессии. Оба эти состояния являются серьезными проблемами у пациентов с COVID-19 [14]. В этой связи высказывается мнение, что применение у больных COVID-19 иммуностимулирующих препаратов может быть также оправдано, как и применение иммуносупрессантов [35].

Значительные перспективы в лечении больных COVID-19 связывают с клеточными про-

дуктами, обладающими иммуномодулирующей активностью. Клиническое применение в лечении COVID-19-пациентов с тяжелым острым респираторным синдромом уже нашли мезенхимальные стволовые клетки (МСК). Ранее было показано, что МСК могут обладать толлерогенной активностью и снижают проявление системной воспалительной реакции за счет продукции противовоспалительных факторов [23]. МСК оказывают положительное влияние при лечении заболеваний легких, таких как идиопатический фиброз легких, острый респираторный дистресс-синдром, рак легких, астма и хроническая обструктивная болезнь легких. В настоящее время более чем в 70 клинических испытаниях оценивают возможность использования МСК для терапии COVID-19. Хотя большинство этих испытаний все еще находятся на ранних стадиях, предварительные данные обнадеживают [6].

Другим перспективным направлением клеточной терапии на фоне цитокинового шторма является адоптивная иммунотерапия с использованием Treg. Для этих целей используется аутологичные $CD4^+CD25^{high}CD127^{low}$ клетки или индуцированные трансформирующим фактором роста β (TGF- β) и трансретиноевой кислотой Treg. Выделенные из периферической крови пациентов Treg подвергаются экспансии в условиях *ex vivo* под воздействием IL-2. Для предупреждения развития неспецифической иммуносупрессии в ответ на массивное воздействие Treg предлагается использовать антиген-специфические Treg, однако это направление, очевидно, существенно усложнит технологию получения конечного клеточного продукта [4, 27, 28, 49].

В качестве перспективной стратегии при COVID-19 рассматривается комбинация Treg и антагонистов фактора некроза опухолей α (TNF α), интерферона γ (IFN γ) и IL-6 для снижения системной воспалительной реакции в сочетании с дополнительной индукцией Treg *in vivo* путем введения TGF- β в комбинации с малой дозой IL-2. Такая схема была апробирована и одобрена при лечении аутоиммунных заболеваний [39]. Полученные ранее данные дают основание предполагать, что Treg, подвергнутые экспансии *ex vivo*, могут восстанавливать гомеостаз этих клеток у пациентов с недостаточной активностью Treg, вызванной инфекцией SARS-CoV-2, и, следовательно, подавлять чрезмерное воспаление и цитокиновый шторм.

В первом исследовании эффективности адоптивной иммунотерапии Treg у двух пациентов с COVID-19 в критическом состоянии (несмотря на применение тоцилизумаба) были получены обнадеживающие результаты. После 3-х инфузий Treg в количестве 1×10^8 клеток на пациента (на 1, 3 и 7-й день) наблюдали снижение уровня провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-8, IL-12, TNF α , IFN γ и MCP-4) и улучшение состояния больных; при этом при проведении адоптивной иммунотерапии не отмечено побочных реакций.

Вместе с тем авторы признают, что оба пациента получали другие виды лечения, которые могли способствовать их выздоровлению. Таким образом, применение Treg рассматривается как перспективный вариант клеточной терапии у больных COVID-19 с системной воспалительной реакцией и цитокиновым штормом [17].

В настоящее время технологии CAR-T- и CAR-NK-клеток являются перспективными стратегиями для разработки новых методов терапии инфекции, вызванной SARS-CoV-2. Большинство подходов нацелено на «обучение» эффекторных клеток распознавать поверхностный шиповидный (S) белок вируса [29, 30, 40]. Однако пока в основном проводятся доклинические исследования или инициирована I фаза клинических испытаний. Поэтому перспективность этого направления еще предстоит оценить; кроме того, при использовании CAR-лимфоцитов необходимо учитывать вероятность выраженных иммуноопосредованных реакций, в том числе синдрома высвобождения цитокинов, характерных для данного вида адоптивной иммунотерапии [31]. Вместе с тем применение иммуносупрессивных стратегий может увеличить риск вторичной инфекции за счет подавления пролиферации и активности Т- и В-лимфоцитов, а также NK-клеток, жизненно важных для борьбы с патогенами [16, 34].

Поэтому, несмотря на важность терапевтических стратегий, направленных на борьбу с гипервоспалением при COVID-19, необходимо учитывать, что последствием цитокинового шторма является развитие иммуносупрессии, проявляющейся прогрессирующей лимфопенией и нарушением субпопуляционного состава лимфоцитов. Кроме того, чрезмерное применение иммуносупрессирующих препаратов и клеточных технологий, направленных на ограничение активности иммунной системы, неизбежно приведет к усугублению дисфункции иммунитета.

В этой связи представляется целесообразным для предотвращения иммунопаралича и присоединения вторичных инфекций проводить иммунокоррекцию на определенном этапе развития заболевания. Существуют опасения, связанные с предположением, что иммуностимулирующая терапия у пациентов с гипервоспалительной фазой заболевания может способствовать усилению воспалительной реакции и обострению заболевания. Однако сепсисоподобный характер осложнений, вызванных COVID-19, позволяет предположить, что цитокиновая терапия может способствовать нормализации иммунного статуса и уменьшению числа вторичных инфекций, как это было ранее показано у больных с иммунодепрессивными состояниями при тяжелой травме и сепсисе [7, 32]. Также было продемонстрировано, что у ВИЧ-инфицированных пациентов с генерализованной инфекцией введение IL-7 приводило к избирательному увеличению содержания

CD4⁺ Т-клеток [5]. Недавнее клиническое исследование показало эффективность IL-7 у пациентов с COVID-19 и тяжелой лимфопенией (количество лимфоцитов менее 700 кл/мкл). 12 больных получали IL-7 в дозе 3–10 мкг/кг внутримышечно 2 раза в неделю в течение 2 недель. Контрольная группа состояла из 13 пациентов с аналогичной тяжестью заболевания и сопутствующими заболеваниями. IL-7 хорошо переносился и не влиял на уровень провоспалительных цитокинов (TNF α , IL-1 β и IL-6). Через 15 суток после первой инъекции содержание лимфоцитов в крови больных, получавших IL-7, более чем в два раза превышало количество лимфоцитов у пациентов контрольной группы. Вторичные инфекции на фоне проводимой цитокиновой терапии IL-7 наблюдались реже по сравнению с контрольной группой [11, 24].

IL-15 также обладает потенциальным эффектом иммунокоррекции, однако модельные эксперименты выявили гепатотоксичность при его применении [19], а данные клинических исследований показали, что наряду с активацией NK-клеток и Т-киллеров, IL-15 вызывает лихорадку, гипотензию и печеночную недостаточность, что ограничивает перспективы его клинического применения [7].

Учитывая патогенез иммуносупрессивной реакции у больных COVID-19, представляется целесообразным включение в комплексную терапию регуляторного цитокина IL-2, стимулирующего пролиферацию и активацию лимфоцитов. Важно отметить, что регуляция клеточного и гуморального иммунитета во многом связана с продукцией IL-2. Эти теоретические данные подтверждаются результатами клинических исследований рекомбинантного IL-2 у больных с иммуносупрессивным статусом, связанным с системными воспалительными реакциями, вызванными сепсисом или тяжелой травмой. Показаниями к иммунокорректирующей терапии могут быть прогрессирующая лимфопения (ниже 900 кл/мкл) и снижение числа Т-хелперов [2]. Такая стратегия особенно значима для длительных хронических постковидных синдромов, терапия которых, как правило, симптоматическая и направлена на восстановление полиорганной дисфункции.

Таким образом, заместительная цитокиновая терапия со стимулирующим действием IL-2 на цитотоксичность и пролиферативную активность лимфоцитов представляется целесообразной у пациентов с COVID-19 при переходе от гипервоспалительной к гиповоспалительной фазе. Первое клиническое исследование эффективности низких доз рекомбинантного IL-2 (1,0 млн МЕ в сутки) у больных с лимфопенией на фоне тяжелого течения COVID-19 продемонстрировало достоверное увеличение количества лимфоцитов у пациентов, получавших IL-2, по сравнению с контрольной группой. Иммунокорректирующая

терапия ИЛ-2 приводила также к снижению уровня С-реактивного белка. По мнению авторов, полученные результаты свидетельствуют о том, что назначение ИЛ-2 может быть безопасной и перспективной адьювантной терапией для пациентов с тяжелой формой COVID-19, а его эффекты могут быть опосредованы увеличением количества лимфоцитов. Положительные эффекты низкодозной (0,5–1,0 млн МЕ) терапии ИЛ-2 при лимфопении, развившейся также на фоне сепсиса, позволяют считать оправданным ее применение при COVID-19 у пациентов с прогрессирующим уменьшением относительного и абсолютного количества циркулирующих лимфоцитов (ниже 20% и 900 клеток/мкл соответственно) [1].

Вместе с тем при выборе тактики иммунореабилитации следует принимать во внимание, что на фоне гиперовоспалительной фазы у больных COVID-19 отмечается увеличение сыровоточных концентраций ИЛ-2, который, наряду с другими цитокинами, может участвовать в развитии цитокинового шторма и системной воспалительной реакции [13].

Следовательно, при выборе тактики лечения иммуноопосредованных осложнений корона-вирусной инфекции приходится пройти между Сциллой и Харибдой, чтобы в борьбе с цитокиновым штормом не упустить момент развития иммуносупрессивного состояния, переходящего в иммунопаралич [22].

Список литературы/References

1. Киселевский М.В., Ситдикова С.М., Абдуллаев А.Г., Шляпников С.А., Чикилева И.О. Иммуносупрессия при сепсисе и возможности ее коррекции // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 2018. Т. 177, № 5. С. 105–107. [Kiselevskiy M.V., Sitdikova S.M., Abdullaev A.G., Shlyapnikov S.A., Chikileva I.O. Immunosuppression in sepsis and possibility of its correction. *Vestnik hirurgii im. I.I. Grekova = Grekov's Bulletin of Surgery*, 2018, vol. 177, no. 5, pp. 105–107. (In Russ.)] doi: 10.24884/0042-4625-2018-177-5-105-107
2. Лебедев В.Ф., Гаврилин С.В., Киров М.Ю., Неймарк М.И., Левит А.Л., Малкова О.Г., Останин А.А., Черных Е.Р., Стрельцова Е.И., Конь Е.М., Николенко А.В., Лебедев М.Ф., Чернышкова М.В., Вашенков В.В., Рудь А.А. Результаты многоцентрового проспективного контролируемого исследования эффективности препарата рекомбинантного интерлейкина-2 человека (ронколейкина) в комплексной интенсивной терапии тяжелого сепсиса // Интенсивная терапия. 2007. № 3. [Lebedev V.F., Gavrilin S.V., Kirov M.YU., Nejmark M.I., Levit A.L., Malkova O.G., Ostanin A.A., Chernykh E.R., Strel'cova I., Kon' E.M., Nikolenko A.V., Lebedev M.F., Chernyshkova M.V., Vashchenkov V.V., Rud' A.A. Results of a multicenter prospective controlled study of the efficacy of recombinant human interleukin-2 (Roncoleukin) in the complex intensive therapy of severe sepsis. *Intensivnaya terapiya = Intensive Care*, 2007, no. 3. (In Russ.)] URL: <http://icj.ru/journal/number-3-2007/119-rezultaty-mnogocentrovogo-prospektivnogo-kontroliruemogo-issledovaniya-effektivnosti-preparata-rekombinantnogo-interleykina-2-cheloveka-ronkoleykina-v-kompleksnoy-intensivnoy-terapii-tyazhelogo.html> (04.03.2022)
3. Azkur Ah.K., Akdis M., Azkur D., Sokolowska M., van de Veen W., Brügggen M.-Ch., O'Mahony L., Gao Y., Nadeau K., Akdis C.A. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy*, 2020, vol. 75, no. 7, pp. 1564–1581. doi: 10.1111/all.14364
4. Bluestone J.A., Trotta E., Xu D. The therapeutic potential of regulatory T cells for the treatment of autoimmune disease. *Expert Opin. Ther. Tar.*, 2015, vol. 19, no. 8, pp. 1091–110. doi: 10.1517/14728222.2015.1037282
5. Chahroudi A., Silvestri G. Interleukin-7 in HIV pathogenesis and therapy. *Eur. Cytokine Netw.*, 2010, vol. 21, no. 3, pp. 202–207. doi: 10.1684/ecn.2010.0205
6. Chen L., Qu J., Kalyani F.S., Zhang Q., Fan L., Fang Y., Li Y., Xiang C. Mesenchymal stem cell-based treatments for COVID-19: status and future perspectives for clinical applications. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2022, vol. 79, no. 3: 142. doi: 10.1007/s00018-021-04096-y
7. Conlon K.C., Lugli E., Welles H.C., Rosenberg S.A., Fojo A.T., Morris J.C., Fleisher T.A., Dubois S.P., Perera L.P., Stewart D.M., Goldman C.K., Bryant B.R., Decker J.M., Chen J., Worthy T.A., Figg W.D., Peer C.J., Sneller M.C., Lane H.C., Yovandich J.L., Creekmore S.P., Roederer M., Waldmann T.A. Redistribution hyperproliferation activation of natural killer cells CD8 T cells, and cytokine production during first-in-human clinical trial of recombinant human interleukin-15 in patients with cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2015, vol. 33, no. 1, pp. 74–82. doi:10.1200/JCO.2014.57.3329
8. Diagnosis and treatment protocol for novel coronavirus pneumonia (trial version 7). *Chin. Med. J.*, 2020, vol. 133, pp. 1087–1095. doi: 10.1097/CM9.0000000000000819
9. Docke W.D., Randow F., Syrbe U., Krausch D., Asadullah K., Reinke P., Volk H.D., Kox W. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment. *Nature Medicine*, 1997, vol. 3, no. 6, pp. 678–681. doi: 10.1038/nm0697-678
10. Fathi N., Rezaei N. Lymphopenia in COVID-19: therapeutic opportunities. *Cell. Biol. Int.*, 2020, vol. 44, no. 9, pp. 1792–1797. doi: 10.1002/cbin.11403
11. François B., Jeannet R., Daix T. Francois B., Jeannet R., Daix T., Walton A.H., Shotwell M.S., Unsinger J., Monneret G., Rimmelé T., Blood T., Morre M., Gregoire A., Mayo G.A., Blood J., Durum S.K., Sherwood E.R., Hotchkiss R.S. Interleukin-7 restores lymphocytes in septic shock: the IRIS-7 randomized clinical trial. *JCI Insight.*, 2018, vol. 3, no. 5: e98960. doi: 10.1172/jci.insight.98960
12. Frasca L., Piazza C., Piccolella E. CD4⁺ T cells orchestrate both amplification and deletion of CD8⁺ T cells. *Crit. Rev. Immunol.*, 1998, vol. 18, no. 6, pp. 569–594. doi: 10.1615/CritRevImmunol.v18.i6.50
13. Garvin M.R., Alvarez Ch., Prates E.T., Walker A.M., Amos B.K., Mast A.E., Justice A., Aronow B., Jacobson D.A. Mechanistic model and therapeutic interventions for COVID-19 involving a RAS-mediated bradykinin storm. *eLife*, 2020, vol. 9: e59177. doi: 10.7554/eLife.59177
14. Gendelman O., Amital H., Bragazzi N.L., Watad A., Chodick G. Continuous hydroxychloroquine or colchicine therapy does not prevent infection with SARS-CoV-2: insights from a large healthcare database analysis. *Autoimmun. Rev.*, 2020, vol. 19, no. 7: 102566. doi: 10.1016/j.autrev.2020.1025662020

15. Ghizlane E.A., Manal M., Abderrahim E.K., Abdelilah E., Mohammed M., Rajae A., Amine B.M., Houssam B., Naima A., Brahim H. Lymphopenia in Covid-19: a single center retrospective study of 589 cases. *Ann. Med. Surg. (Lond.)*, 2021, vol. 69: 102816. doi: 10.1016/j.amsu.2021.102816
16. Giles A.J., Hutchinson M.-K.N., Sonnemann H.M., Jung J., Fecci P.E., Ratnam N.M., Zhang W., Song H., Bailey R., Davis D. Dexamethasone-induced immunosuppression: mechanisms and implications for immunotherapy. *J. Immunother. Cancer*, 2018, vol. 6, no. 1, pp. 1–13. doi: 10.1186/s40425-018-0371-5
17. Gladstone D.E., Kim B.S., Mooney K., Karaba A.H., D'Alessio F.R. Regulatory T cells for treating patients with COVID-19 and acute respiratory distress syndrome: two case reports. *Ann. Intern. Med.*, 2020, vol. 173, pp. 852–853. doi: 10.7326/L20-0681
18. Gulati K., Guhathakurta S., Joshi J., Rai N., Ray A. Cytokines and their role in health and disease: a brief overview. *MOJ Immunol.*, 2016, vol. 4, iss. 2: 00121
19. Guo Y., Luan L., Rabacal W., Bohannon J.K., Fensterheim B.A., Hernandez A., Sherwood E.R. IL-15 superagonist-mediated immunotoxicity: role of NK cells and IFN-gamma. *J. Immunology*, 2015, vol. 195, no. 5, pp. 2353–2364. doi: 10.4049/jimmunol.1500300
20. Helal M.A., Shouman S., Abdelwaly A., Elmehraht A.O., Essawy M., Sayed S.M., Saleh A.H., El-Badri N. Molecular basis of the potential interaction of SARS-CoV-2 spike protein to CD147 in COVID-19 associated-lymphopenia. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 2022, vol. 40, no. 3, pp. 1109–1119. doi: 10.1080/07391102.2020.1822208
21. Henderson L.A., Canna S.W., Schuler G.S., Volpi S., Lee P.Y., Kernan K.F., Caricchio R., Mahmud Sh., Hazen M.M., Halyabar O., Hoyt K.J., Han J., Grom A.A., Gattorno M., Ravelli A., De Benedetti F., Behrens E.M., Cron R.Q., Nigrovic P.A. On the alert for cytokine storm: immunopathology in COVID-19. *Arthritis Rheumatol.*, 2020, vol. 72, pp. 1059–1063. doi: 10.1002/art.41285
22. Kiselevskiy M., Shubina I., Chikileva I., Sitdikova S., Samoylenko I., Anisimova N., Kirgizov K., Suleimanova A., Gorbunova T., Varfolomeeva S. Immune pathogenesis of COVID-19 intoxication: storm or silence? *Pharmaceuticals*, 2020, vol. 13, no. 8: 166. doi: 10.3390/ph13080166
23. Kiselevskiy M.V., Vlasenko R., Reshetnikova V., Chikileva I., Shubina I., Osmanov E., Valiev T., Sidorova N., Batmanova N., Stepanyan N., Kirgizov K., Varfolomeeva S. Mesenchymal multipotent cells for hemopoietic stem cell transplantation: pro and contra. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, 2021, vol. 43, no. 3, pp. 90–94. doi: 10.1097/MPH.0000000000002065
24. Laterre P.F., François B., Collienne C., Hantson Ph., Jeannet R., Remy K.E., Hotchkiss R.S. Association of interleukin 7 immunotherapy with lymphocyte counts among patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19). *JAMA Netw Open*, 2020, vol. 3, no. 7: e2016485. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.16485
25. Liu J., Li S., Liu J., Liang B., Wang X., Wang H., Li W., Tong Q., Yi J., Zhao L., Xiong Li., Guo Ch., Tian J., Luo J., Yao J., Pang R., Shen H., Peng Ch., Liu T., Zhang Q., Wu J., Xu Li., Lu S., Wang B., Weng Zh., Han Ch., Zhu H., Zhou R., Zhou H., Chen X., Ye P., Zhu B., Wang L., Zhou W., He Sh., He Y., Jie Sh., Wei P., Zhang J., Lu Y., Wang W., Zhang L., Li L., Zhou F., Wang J., Dittmer Ulf., Lu M., Hu Yu., Yang D., Zheng X. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. *eBioMedicine*, 2020, vol. 55: 102763 doi: 10.1016/j.ebiom.2020.102763
26. Liu X., Shen Y., Wang H., Ge Q., Fei A., Pan S. Prognostic significance of neutrophil to lymphocyte ratio in patients with sepsis: a prospective observational study. *Mediators Inflamm.*, 2016, vol. 2016: 8191254. doi: 10.1155/2016/8191254
27. Lu L., Lan Q., Li Z., Zhou X., Gu J., Li Q., Wang J., Chen M., Liu Y., Shen Y., Brand D.D., Ryffel B., Horwitz D.A., Quismorio F.P., Liu Zh., Li B., Olsen N.J., Zheng S.G. Critical role of all-trans retinoic acid in stabilizing human natural regulatory T cells under inflammatory conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2014, vol. 111, no. 33, pp. E3432–E3440. doi: 10.1073/pnas.1408780111
28. Lu L., Zhou X., Wang J., Zheng S.G., Horwitz D.A. Characterization of protective human CD4CD25 FOXP3 regulatory T cells generated with IL-2, TGF-beta and retinoic acid. *PLoS One*, 2010, vol. 5, no. 12: e15150. doi: 10.1371/journal.pone.0015150
29. Ma M., Badeti S., Chen C.H., Pinter A., Jiang Q., Shi L., Zhou R., Xu H., Li Q., Gause W., Liu D. CAR-NK Cells effectively target the D614 and G614 SARS-CoV-2-infected cells. *bioRxiv*, 2021: 426742. doi: 10.1101/2021.01.14.426742
30. Ma M., Badeti S., Geng K., Liu D. Efficacy of targeting SARS-CoV-2 by CAR-NK cells. *bioRxiv*, 2020, vol. 8, no. 11: 247320. doi: 10.1101/2020.08.11.247320
31. Mehrabadi A.Z., Ranjbar R., Farzanehpour M., Shahriary A., Dorostkar R., Hamidinejad M.A., Ghaleh H.E.G. Therapeutic potential of CAR T cell in malignancies: a scoping review. *Biomed. Pharmacother.*, 2022, vol. 146: 112512. doi: 10.1016/j.biopha.2021.112512
32. Nalos M., Santner-Nanan B., Parnell G., Tang B., McLean A.S., Nanan R. Immune effects of interferon gamma in persistent staphylococcal sepsis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*, 2012, vol. 185, no. 1, pp. 110–112 doi:10.1164/ajrcem.185.1.110
33. Qin C., Zhou L., Hu Z., Zhang S., Yang S., Tao Y., Xie C., Ma K., Shang K., Wang W., Tian D.S. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clin. Infect. Dis.*, 2020, vol. 71, no. 15, pp. 762–768. doi: 10.1093/cid/ciaa248
34. Rommasi F., Nasiri M.J., Mirsaedi M. Immunomodulatory agents for COVID-19 treatment: possible mechanism of action and immunopathology features. *Mol. Cell. Biochem.*, 2022, vol. 477, no. 3, pp. 711–726. doi: 10.1007/s11010-021-04325-9
35. Rommasi A., Nasiri M.J., Mirsaedi M. Immunomodulatory agents for COVID-19 treatment: possible mechanism of action and immunopathology features. *Mol. Cell. Biochem.*, 2022, vol. 11, pp. 1–16. doi: 10.1007/s11010-021-04325-9
36. Saha A., Sharma A.R., Bhattacharya M., Sharma G., Lee S.S., Chakraborty C. Tocilizumab: a therapeutic option for the treatment of cytokine storm syndrome in COVID-19. *Arch. Med. Res.*, 2020, vol. 51, no. 6, pp. 595–597. doi: 10.1016/j.arcmed.2020.05.009
37. Sakaguchi S., Miyara M., Costantino C.M., Hafler D.A. FOXP3⁺ regulatory T cells in the human immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, 2010, vol. 10, no. 7, pp. 490–500. doi:10.1038/nri2785
38. Shah V.K., Fimal P., Alam A., Ganguly D., Chattopadhyay S. Overview of immune response during SARS-CoV-2 infection: lessons from the past. *Front. Immunol.*, 2020, vol. 7, no. 11: 1949. doi: 10.3389/fimmu.2020.01949
39. Smolen J., Han C., Bala M., Maini R.N., Kalden J.R., van der Heijde D., Breedveld F.C., Furst D.E., Lipsky P.E. Evidence of radiographic benefit of treatment with infliximab plus methotrexate in rheumatoid arthritis patients who had no clinical improvement: a detailed subanalysis of data from the anti-tumor necrosis factor trial in rheumatoid arthritis with concomitant therapy study. *Arthritis Rheum.*, 2005, vol. 52, no. 4, pp. 1020–1030. doi: 10.1002/art.20982
40. Sohail A., Yu Z., Arif R., Nutini A., Nofal T.A. Piecewise differentiation of the fractional order CAR-T cells-SARS-2 virus model. *Results Phys*, 2022, vol. 33: 10504. doi: 10.1016/j.rinp.2021.105046

41. Tan L., Wang Q., Zhang D., Ding J., Huang Q., Tang Y.Q., Wang Q. Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. *Signal Transduct. Target. Ther.*, 2020, vol. 5, no. 1: 33. doi: 10.1038/s41392-020-0148-4
42. Theoharides T., Conti P. Dexamethasone for COVID-19? Not so fast. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*, 2020, vol. 34, no. 3, pp. 1241–1243. doi: 10.23812/20-EDITORIAL_1-5
43. Vanni G., Materazzo M., Dauri M., Farinaccio A., Buonomo C., Portarena I., Pellicciaro M., Legramante J.M., Rizza S., Chiaromonte C., Bellia A., Grande M., Potenza S., Sbordone F.P., Perrone M.A., Grimaldi F., Chiochi M., Buonomo O.C. Lymphocytes, interleukin 6 and D-dimer cannot predict clinical outcome in coronavirus cancer patients: LyNCI.20 Study. *Anticancer Res.*, 2021, vol. 41, no. 1, pp. 307–316. doi: 10.21873/anticancerres.1
44. Wang L., Chen J., Zhao J., Li F., Lu Sh., Liu P., Liu X., Huang Q., Wang H., Xu Q., Liu X., Yu Sh., Liu L., Lu H. The predictive role of lymphocyte subsets and laboratory measurements in COVID-19 disease: a retrospective study. *Ther. Adv. Respir. Dis.*, 2021, vol. 15: 17534666211049739. doi: 10.1177/17534666211049739
45. Wang Y., Zheng J., Islam Md S., Yang Y., Hu Y., Chen X. The role of CD4⁺FoxP3⁺ regulatory T cells in the immunopathogenesis of COVID-19: implications for treatment. *Int. J. Biol. Sci.*, 2021, vol. 17, no. 6, pp. 1507–1520. doi: 10.7150/ijbs.59534
46. Wen W., Su W., Tang H., Le W., Zhang X., Zheng Y., Liu X., Xie L., Li J., Ye J., Dong L., Cui X., Miao Y., Wang D., Dong J., Xiao C., Chen W., Wang H. Immune cell profiling of COVID-19 patients in the recovery stage by single-cell sequencing. *Cell. Discov.*, 2020, vol. 6: 31. doi: 10.1038/s41421-020-0168-9
47. Xu X., Gao X. Immunological responses against SARS-coronavirus infection in humans. *Cell. Mol. Immunol.*, 2004, vol. 1, no. 2, pp. 119–122.
48. Yang X., Yu Y., Xu J., Shu H., Xia J., Liu H., Wu Y., Zhang L., Yu Z., Fang M., Yu T., Wang Y., Pan Sh., Zou X., Yuan Sh., Shang Y. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet*, 2020, vol. 8, no. 5, pp. 475–481. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5
49. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Zh., Xiang J., Wang Y., Song B., Gu X., Guan L., Wei Y., Li H., Wu X., Xu J., Tu Sh., Zhang Y., Chen H., Cao B. Clinical course and risk factors for mortality of adult in patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*, 2020, vol. 395, pp. 1054–1062. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3
50. Zhou X., Kong N., Wang J., Fan H., Zou H., Horwitz D., Brand D., Liu Zh., Zheng S.G. Cutting edge: all-trans retinoic acid sustains the stability and function of natural regulatory T cells in an inflammatory milieu. *J. Immunol.*, 2010, vol. 185, no. 5, pp. 2675–2679. doi: 10.4049/jimmunol.1000598

Авторы:

Киселевский М.В., д.м.н., профессор, зав. лабораторией клеточного иммунитета НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия; профессор Научно-образовательного центра биомедицинской инженерии Национального исследовательского технологического университета «МИСИС», Москва, Россия;

Трещалина Е.М., д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточного иммунитета НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;

Михайлова И.Н., д.м.н., ведущий научный сотрудник отделения биотерапии НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;

Мартirosян Д.В., студент 6 курса лечебного факультета ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия;

Манина И.В., к.м.н., главный врач ООО «Институт аллергологии и клинической иммунологии», Москва, Россия;

Решетникова В.В., к.т.н., научный сотрудник лаборатории клеточного иммунитета НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;

Козлов И.Г., д.м.н., профессор кафедры организации и управления в сфере обращения лекарственных средств ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия; зав. лабораторией экспериментальной и клинической фармакологии ФГБУ НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дм. Рогачева, Москва, Россия.

Authors:

Kiselevskiy M.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Cell Immunity, Research Institute of Experimental Diagnostics and Therapy of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russian Federation; Professor, Biomedical Engineering Research and Education Center National University of Science and Technology "MISIS", Moscow, Russian Federation;

Treshalina E.M., PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Researcher, Laboratory of Cell Immunity, Research Institute of Experimental Diagnostics and Therapy of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russian Federation;

Mikhailova I.N., PhD, MD (Medicine), Leading Researcher, Department of Biotherapy, N.N. Trapeznikov Research Institute of Clinical Oncology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russian Federation;

Martirosyan D.V., Medical Student, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation;

Manina I.V., PhD (Medicine), Chief Physician, Institute of Allergology and Clinical Immunology, Moscow, Russian Federation;

Reshetnikova V.V., PhD (Engineering Science), Researcher, Laboratory of Cell Immunity, Research Institute of Experimental Diagnostics and Therapy of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russian Federation;

Kozlov I.G., PhD, MD (Medicine), Professor of Department of Organization and Management in the Sphere of Medicines Circulation, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation; Chief of the Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 30.03.2022
Отправлена на доработку 03.05.2022
Принята к печати 15.05.2022

Received 30.03.2022
Revision received 03.05.2022
Accepted 15.05.2022

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И АНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА ИЗВЛЕКАЕМЫХ МОЧЕВИНОЙ ПОВЕРХНОСТНЫХ СТРУКТУР *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* O:1B

А.В. Крюкова, Е.Ю. Марков, В.Б. Николаев, Ю.О. Попова, В.Т. Климов,
С.В. Игумнова, Н.М. Андреевская, А.В. Уланская, Т.Ю. Загоскина,
М.В. Чеснокова

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск, Россия

Резюме. К важным методам диагностики псевдотуберкулеза относятся иммуносерологические исследования, в частности, направленные на выявление антигенов возбудителя. Практический интерес представляют основные иммунодоминантные и видоспецифические антигены, расположенные в поверхностных структурах бактериальной клетки. В связи с этим целью работы явилось выделение и характеристика биологически активных поверхностных структур псевдотуберкулезного микроба. В работе проведен лизис живых клеток *Y. pseudotuberculosis* 3704 (O:1b) путем обработки их 9 М раствором мочевины с целью извлечения антигенов, локализованных в поверхностных структурах микроорганизма. Полученные субклеточные фракции — наружные мембраны (НМ), мочевиновый экстракт (МЭ) и изолированный из него белковолиполисахаридный комплекс (БЛПК) — охарактеризованы по физико-химическим параметрам. Содержание белка в препаратах составило от 42 до 53%. Полипептидный спектр препарата НМ псевдотуберкулезного микроба представлен 14 мажорными полипептидами с молекулярными массами от 13,9 до 131,5 kDa, спектр МЭ — 16 полипептидами с молекулярными массами от 13,5 до 101,6 kDa, спектр препарата БЛПК — 9 полипептидами с молекулярными массами от 20,7 до 66,6 kDa. В изолированных субклеточных фракциях (НМ и МЭ) с помощью теста радиальной энзимодиффузии и субстратного электрофореза выявлены протеолитически активные белки и полипептиды. В препарате НМ таковыми явились 4 полипептида с молекулярными массами от 28,0 до 118,0 kDa, в препарате МЭ — 7 полипептидов с молекулярными массами от 29,2 до 97,7 kDa. Полученные субклеточные фракции способны проявлять иммуногенную активность при введении экспериментальным животным и антигенную активность при взаимодействии со специфическими антителами в реакции иммунодиффузии в геле (РИД) и антителами, мечеными наночастицами коллоидного серебра в дот-иммуноанализе (ДИА). Препараты НМ и БЛПК в ДИА с иммуноглобулинами, выделенными из экспериментальных антисывороток и меченные наночастицами коллоидного серебра, обнаруживались в концентрации $\geq 0,12$ мкг/мл (по сухому весу), клетки штамма *Y. pseudotuberculosis* 3704 — в концентрации $\geq 3,9 \times 10^6$ м.к./мл, что аналогично результатам ДИА с иммуноглобулинами, выделенными из коммерческой псевдотуберкулезной антисыворотки (Санкт-Петербург) и мечеными наночастицами коллоидного серебра. Таким образом, изолированные при использовании мо-

Адрес для переписки:

Крюкова Анна Витальевна
664007, Россия, г. Иркутск, ул. Трилисера, 78,
Иркутский научно-исследовательский противочумный
институт Сибири и Дальнего Востока.
Тел.: 8 (3952) 22-01-35. Факс: 8 (3952) 22-01-40.
E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Contacts:

Anna V. Kryukova
664007, Russian Federation, Irkutsk, Trilisser str., 78,
Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East.
Phone: +7 (3952) 22-01-35. Fax: +7 (3952) 22-01-40.
E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Для цитирования:

Крюкова А.В., Марков Е.Ю., Николаев В.Б., Попова Ю.О., Климов В.Т.,
Игумнова С.В., Андреевская Н.М., Уланская А.В., Загоскина Т.Ю.,
Чеснокова М.В. Физико-химические и антигенные свойства
извлекаемых мочевиной поверхностных структур *Yersinia*
pseudotuberculosis O:1B // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4.
С. 659–667. doi: 10.15789/2220-7619-PAA-1602

Citation:

Kryukova A.V., Markov E.Yu., Nikolaev V.B., Popova Yu.O., Klimov V.T.,
Igumnova S.V., Andreevskaya N.M., Ulanskaya A.V., Zagoskina T.Yu.,
Chesnokova M.V. Physicochemical and antigenic properties of the urea-
extracted surface structures of *Yersinia pseudotuberculosis* O:1B // Russian
Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12,
no. 4, pp. 659–667. doi: 10.15789/2220-7619-PAA-1602

чевины в качестве лизирующего и обеззараживающего агента субклеточные фракции псевдотуберкулезного микроба сохраняют свои антигенные и иммуногенные свойства, ферментативную активность, что указывает на перспективность их использования для совершенствования ранней диагностики псевдотуберкулеза.

Ключевые слова: *Yersinia pseudotuberculosis*, диагностика, антигены, антитела, гипериммунизация, мочевины, псевдотуберкулез.

PHYSICO-CHEMICAL AND ANTIGENIC PROPERTIES OF THE UREA-EXTRACTED SURFACE STRUCTURES OF *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* O:1B

Kryukova A.V., Markov E.Yu., Nikolaev V.B., Popova Yu.O., Klimov V.T., Igunnova S.V., Andreevskaya N.M., Ulanskaya A.V., Zagoskina T.Yu., Chesnokova M.V.

Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. Immuno-serological diagnostic tools particularly identifying pathogen antigens are the most important methods of pseudotuberculosis studies. The main immunodominant and species-specific antigens located in the surface structures of the bacterial cell are of practical interest. Thereby the aim of the work was to isolate and characterize biologically active surface structures of the pseudotuberculosis microbe. Here, the living cells of *Y. pseudotuberculosis* 3704 (O:1b) were lysed by using 9 M urea solution to extract antigens localized in the microbial surface structures. The subcellular fractions obtained such as outer membranes (OM), urea extract (UE) and isolated protein-lipopolysaccharide complex (PLPSC) are characterized by physical and chemical parameters. The protein content in the preparations ranged from 42% to 53%. The polypeptide band of the OM preparation, UE polypeptide and PLPSC for pseudotuberculosis microbe was presented by 14, 16 and 9 major polypeptides with molecular weight ranging from 13.9 kDa to 131.5 kDa, 13.5 kDa to 101.6 kDa, and 20.7 kDa to 66.6 kDa, respectively. Proteolytically active proteins and polypeptides were detected in isolated subcellular fractions (OM and UE) by using the radial enzyme diffusion test and substrate-gel electrophoresis found to be presented by 4 and 7 polypeptides with molecular weight ranging from 28.0 kDa to 118.0 kDa and 29.2 kDa to 97.7 kDa in the OM and UE preparation, respectively. The subcellular fractions obtained are capable to exhibit immunogenic activity after inoculation to experimental animals and antigenic activity while interacting with specific antibodies in the radial immunodiffusion (RID) assay and antibodies labeled with colloidal silver nanoparticles in dot immunoassay (DIA). OM and PLPSC preparations in DIA with immunoglobulins isolated from experimental antisera and labeled with colloidal silver nanoparticles were detected at a concentration of $\geq 0.12 \mu\text{g/ml}$ (dry weight), cells of strain *Y. pseudotuberculosis* 3704 at a concentration of $\geq 3, 9 \times 10^6$ m.c./ml, which is similar to the results of DIA with immunoglobulins isolated from commercial pseudotuberculosis antiserum (St. Petersburg) and labeled with nanoparticles of colloidal silver. Thus, the subcellular fractions of pseudotuberculosis microbe isolated by using urea as a lysing and decontaminating agent retain their antigenic and immunogenic properties and enzymatic activity suggesting about their potential benefits for use to improve early diagnostics of pseudotuberculosis.

Key words: *Yersinia pseudotuberculosis*, diagnostics, antigens, antibodies, hyperimmunization, urea, pseudotuberculosis.

Введение

Y. pseudotuberculosis — энтеропатоген, имеет глобальное распространение на всех континентах (кроме Антарктиды) и является причиной псевдотуберкулезной инфекции с фекально-оральным механизмом передачи, преимущественно через пищевые продукты. Популяция возбудителя гетерогенна по O-антигену, в настоящее время известен 21 серологический вариант (O:1a, O:1b, O:1c, O:2a, O:2b, O:2c, O:3, O:4a, O:4b, O:5a, O:5b, O:6, O:7, O:8, O:9, O:10, O:11, O:12, O:13, O:14, O:15), однако наибольшее значение в патологии человека имеет серовариант *Y. pseudotuberculosis* O:1b. В Сибири и на Дальнем Востоке он доминирует в 90,7% случаях [2].

Псевдотуберкулез характеризуется внезапным проявлением, полиморфизмом клинических форм и, как следствие, трудностью достоверной ранней диагностики [9], что обу-

славливает необходимость совершенствования клинической и лабораторной диагностики заболевания [8]. Наиболее перспективными для ранней диагностики псевдотуберкулеза являются методы, направленные на выявление специфических антигенов, оптимизация которых остается актуальной до настоящего времени. Поскольку основные иммунодоминантные, включая видоспецифические, антигены локализованы в поверхностных структурах микробной клетки [3], выделение и использование их для конструирования иммунобиологических препаратов может представлять практический интерес, в том числе в изучении роли субклеточных фракций и их отдельных компонентов в иммуно- и патогенезе псевдотуберкулеза. Кроме того, учитывая эффективность вакцинации против чумы аттенуированным штаммом *Y. pseudotuberculosis* [11], поверхностные структуры и антигены менее патогенного, но родствен-

ного чумному псевдотуберкулезного микроба, могут быть использованы для конструирования химических противочумных вакцин.

Актуальным остается и поиск альтернативных методов обеззараживания микробной массы и разрушения бактериальных клеток для получения стерильных субклеточных фракций, сохраняющих антигенную активность и отвечающих требованиям биологической безопасности, поскольку традиционные методы обеззараживания возбудителей особо опасных инфекций (кипячение, воздействие ацетоном, формалином, фенолом, этанолом, метанолом) могут приводить к необратимым изменениям их нативных свойств. Перспективной может оказаться обработка живых клеток концентрированным раствором мочевины, обладающей бактерицидным действием. Так, ранее нами был получен специфически стерильный высокоиммуногенный препарат наружных мембран холерного вибриона Эль Тор за счет одномоментного лизиса и обеззараживания раствором мочевины живых микробных клеток возбудителя холеры [3, 4, 5].

Цель работы — выделение и характеристика биологически активных поверхностных структур псевдотуберкулезного микроба с использованием бактерицидного действия мочевины, позволяющего одновременно обеззараживать и лизировать бактериальные клетки возбудителя.

Материалы и методы

Вся работа проводилась в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» [9]. Штамм *Y. pseudotuberculosis* 3704 (O:1b) (Музей живых культур ФКУЗ НИПЧИ Сибири и ДВ, Иркутск, Россия) выращивали при 28°C в течение 48 ч на агаре Хоттингера (рН 7,2), смывали забуференным (рН 7,2) физиологическим раствором (ЗФР) и получали взвесь концентрацией 40 млрд микробных клеток в 1,0 мл. В микробную взвесь добавляли при постоянном перемешивании 9,0 М раствор мочевины до конечной концентрации 4,5 М и оставляли при температуре 20–25°C. Через сутки ставили бактериологический контроль стерильности лизата, который до окончания проведения процедуры хранили в холодильнике при температуре 4°C. Дальнейшую работу проводили после отрицательного бактериологического контроля специфической стерильности. Полученный лизат подвергали последовательному центрифугированию при 10 000g в течение 30 мин при 4°C для удаления не разрушенных микробных клеток и при 40 000g в течение 60 мин при 4°C для

осаждения фракции НМ и получения препарата МЭ. Полученный осадок промывали 4,5 М раствором мочевины скоростным центрифугированием (как указано выше). Далее осадок отмывали дистиллированной водой с последующим осаждением скоростным центрифугированием. Конечный осадок ресуспендировали в минимальном объеме дистиллированной воды и лиофильно высушивали. Оставшийся после центрифугирования лизата клеток супернатант — препарат МЭ — диализовали в течение трех суток против проточной и дистиллированной воды, освобождали от нерастворимых веществ центрифугированием и лиофильно высушивали.

Выделение и очистку БЛПК из препарата МЭ проводили методом двухфазного разделения с использованием детергента Тритона X-114 (Serva, Германия) и отбором водной и детергентной фаз [6].

Содержание белка определяли по методу О.Н. Lowry с соавт. [20] с применением бычьего сывороточного альбумина (Sigma-Aldrich, США) в качестве стандарта.

Липополисахарид (ЛПС) из клеток псевдотуберкулезного микроба изолировали водно-фенольной экстракцией по методу O. Westphal с соавт. [19] с получением водной и фенольной фракций ЛПС. Наличие ЛПС в препаратах определяли колориметрическим методом с использованием карбоцианинового красителя «Stains all» (ICN Biomedicals Inc, США) [21] в нашей модификации [7].

Электрофоретический анализ проводили в блоках полиакриламидного геля в присутствии додецилсульфата натрия по методу U.K. Laemmli и M. Favre [14] с последующей окраской на белки Кумасси ярко-синим R-250 (Bio-Rad, США) [12] и на углеводы ионами серебра (Химреактивснаб, Россия) [17]. В качестве маркера молекулярных масс использовали смеси белков (Thermo Scientific, США) с диапазоном молекулярных масс от 14,4 до 116,0 kDa и от 20 до 120 kDa. Молекулярную массу полипептидов в препаратах оценивали с помощью гель-документирующей системы GelDoc™XR+ (Bio-Rad, США), программой ImageLab™.

Протеазную активность определяли в тесте радиальной энзимодиффузии (РЭД) в 1% агарозе (Helicon, Россия) и в субстратном диске электрофорезе [18] с использованием в качестве субстрата желатина (Serva, Германия) в концентрации 0,1%.

Животными-продуцентами экспериментальной антисыворотки являлись кролики породы «шиншилла» (лаборатория подопытных животных ФКУЗ НИПЧИ Сибири и ДВ, Иркутск, Россия) весом 2,5–3,0 кг обоего пола, не имеющие клинических отклонений от нормы. Иммуногеном служили препараты НМ

и БЛПК. Используемый препарат НМ подвергался предварительной трипсинизации для удаления примеси растворимых белков. Навеску НМ суспендировали в 0,025 М Трис-НСI буфере рН 7,2 в присутствии 0,5 мг/мл трипсина (Serva, Германия), инкубировали при 30°C в течение 30 мин с последующим центрифугированием при 40 000g, отмыванием в дистиллированной воде (1:50), повторным центрифугированием. Полученный осадок лиофилизировали.

При иммунизации животных применялось две схемы. Кроликов-продуцентов разделили на четыре группы. Животным первой и третьей групп перед иммунизацией препаратом НМ и препаратом БЛПК, соответственно, вводили полный адьювант Фрейнда (ПАФ) по 0,5 мл в подушечки задних лап. Через 5–7 дней кроликам проводили инъекцию НМ по 1,0 мг сухого вещества (по белку 0,55 мг) и БЛПК по 1,0 мг сухого вещества (по белку 0,45 мг) в каждый подколенный лимфатический узел в 0,4 мл ЗФР с 1,2 мл ПАФ. Через 3–5 дней иммунизировали в передние лапы в той же дозе, но без добавления ПАФ. Через 15 дней осуществляли второй цикл иммунизации, который предусматривал трехкратное внутривенное введение комплекса антиген–антитело (АГ–АТ). С этой целью у животных обеих групп забирали кровь для получения 3,0 мл сыворотки: по 1,0 мл разливали в стерильные пробирки и растворяли в каждой по 1,0 мг сухого антигенного препарата. Полученный комплекс АГ–АТ вводили внутривенно каждому кролику, от которого была получена сыворотка, с интервалом между инъекциями в 5 дней. Одновременно каждому животному делали внутримышечно инъекцию антигена в вышеуказанных дозах в объеме 0,5 мл ЗФР. Животным второй и четвертой групп инъекции препаратов НМ и БЛПК осуществляли подкожно двукратно в дозе из расчета по 1,0 мг иммуногена в 1,0 мл ЗФР с 1,0 мл ПАФ в четыре точки спины вдоль позвоночника с интервалом в 3 дня. Через 7 дней после последнего введения антигенов у всех животных проводили забор крови, определяли активность и специфичность сыворотки с помощью иммуносерологических методов, используя в качестве антигенов выделенные препараты НМ, БЛПК, штамм *Y. pseudotuberculosis* 3704 и тест-штаммы гетерологичных микроорганизмов (*Y. enterocolitica* 628, *Salmonella enterica typhi* 21, *Shigella flexneri* 1964) (музей живых культур ФКУЗ НИПЧИ Сибири и ДВ, Иркутск, Россия).

Наличие антигенов в препаратах определяли в РИД в 1% агарозном геле с последующей окраской белков Кумасси ярко-синим [15] и в ДИА, используя специфические антитела экспериментальных кроличьих антисывороток, меченные наночастицами коллоидного серебра [1],

а также аналогичный конъюгат на основе антител из коммерческой диагностической антисыворотки для постановки РНГА производства ФГУП СПб НИИВС, Россия (в качестве контроля). Выделение антител (IgG) из антисывороток осуществляли комбинированным методом с использованием каприловой кислоты и сульфата аммония [13]. ДИА ставили традиционным способом, предполагающим адсорбцию исследуемого препарата на нитроцеллюлозной мембране с величиной пор 0,3 мкм (Synpor, Чехия) с последующей его детекцией антителами, мечеными коллоидным серебром [1].

Результаты и обсуждение

Физико-химические свойства полученных субклеточных фракций. Из бактериальной массы клеток *Y. pseudotuberculosis* 3704 в результате обработки их 9 М раствором мочевины получены субклеточные фракции (НМ и МЭ) псевдотуберкулезного микроба. Путем обработки МЭ детергентом Тритон X-114 (Serva, Германия) получен препарат БЛПК.

Содержание белка в препаратах НМ, МЭ и БЛПК составило в среднем 53, 50 и 42% соответственно.

При проведении электрофоретического анализа в препаратах НМ и МЭ псевдотуберкулезного микроба определен полипептидный состав (рис. 1).

В полипептидном спектре препарата НМ установлено наличие 14 мажорных полипептидов с молекулярными массами от 13,9 до 131,5 kDa. В препарате МЭ выявлено 16 мажорных полипептидов с молекулярными массами от 13,5 до 101,6 kDa. Полипептиды с массами 24,4, 29,7, 39,8, 43,3 kDa оказались представленными в обоих препаратах, вероятно, в результате того, что при воздействии хаотропного агента на клеточную стенку происходит частичный выход мембранных компонентов в мочевиновый экстракт, в том числе белков и ЛПС.

При окраске на углеводы ионами серебра препарата БЛПК *Y. pseudotuberculosis* 3704 выявлено 9 полос с молекулярными массами от 20,7 до 66,6 kDa (рис. 2). Кроме того, обнаружен быстро мигрирующий компонент с молекулярной массой ниже 20 kDa.

Метахроматическая активность. Выявлено, что при горячей водно-фенольной экстракции клеток псевдотуберкулезного микроба липополисахаридный антиген распределяется как в водную, так и в фенольную фазы, а также обнаруживается в препаратах НМ, МЭ и БЛПК, что подтверждается метахроматическим эффектом: при взаимодействии исследуемых фракций с карбоцианиновым красителем «Stains all» происходит сдвиг максимума поглощения кра-

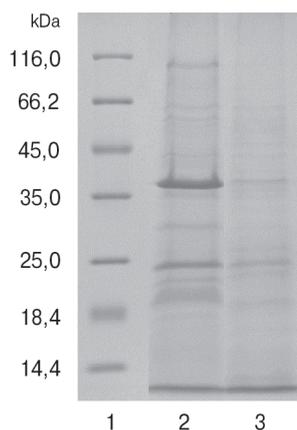


Рисунок 1. Электрофоретическое разделение в 12% полиакриламидном геле препаратов, полученных мочевиной экстракцией из *Y. pseudotuberculosis* 3704

Figure 1. Electrophoretic separation of preparations obtained by urea extraction from *Y. pseudotuberculosis* 3704 in 12% polyacrylamide gel

Примечание. 1 — маркер молекулярных масс, 2 — препарат наружных мембран, 3 — препарат мочевинового экстракта. Окраска Кумасси ярко-синим R-250.

Note. 1 — molecular weight marker, 2 — outer membrane preparation, 3 — urea extract preparation. Stained with Coomassie brilliant blue R-250.

сителя в коротковолновую область в препарате НМ (λ_{\max} 574 нм \rightarrow λ_{\max} 472 нм), МЭ, фенольной фракции ЛПС (λ_{\max} 574 нм \rightarrow λ_{\max} 466 нм) и водной фракции ЛПС и БЛПК (λ_{\max} 574 нм \rightarrow λ_{\max} 467 нм), что характерно для ЛПС грамотрицательных бактерий.

Ферментативная активность. При обработке возбудителя псевдотуберкулеза раствором мочевины в препаратах субклеточных фракций определяется протеолитическая активность (рис. 3), что свидетельствует о минимальном денатурирующем воздействии мочевины на нативные свойства получаемых фракций микробной клетки.

Препарат МЭ в РЭД тесте уступает по активности препарату НМ благодаря активности мембраносвязанных протеаз последних, обладающих повышенной стабильностью за счет своего микроокружения, по сравнению с растворимыми формами протеаз в МЭ (рис. 3; 5–8).

Субстратным электрофорезом в препаратах НМ и МЭ выявлены протеолитически активные полипептиды и обнаружено их различие в спектре субклеточных фракций (рис. 4).

В препарате НМ протеазной активностью обладают полипептиды с молекулярными массами 28,0, 48,4, 61,5 kDa и в области 72,5–118,0 kDa, тогда как в препарате МЭ данной активностью обладают полипептиды с молекулярными массами 29,2, 36,0, 74,7, 79,0, 82,8, 89,4, 97,7 kDa.

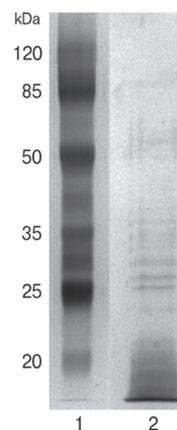


Рисунок 2. Электрофоретическое разделение в 12% полиакриламидном геле препарата белковолипополисахаридного комплекса, полученного из мочевинового экстракта *Y. pseudotuberculosis* 3704

Figure 2. Electrophoretic separation of a protein-lipopolysaccharide complex preparation obtained from urea extract *Y. pseudotuberculosis* 3704 in 12% polyacrylamide gel

Примечание. 1 — маркер молекулярных масс, 2 — препарат белковолипополисахаридного комплекса. Окраска ионами серебра.

Note. 1 — molecular weight marker, 2 — protein-lipopolysaccharide complex preparation. Stained with silver ions



Рисунок 3. Тест радиальной энзимодиффузии полученных препаратов из *Y. pseudotuberculosis* 3704 в 1% агарозном геле с использованием в качестве субстрата желатина

Figure 3. Radial enzyme diffusion test of preparations obtained from *Y. pseudotuberculosis* 3704 in 1% agarose gel using gelatin as a substrate

Примечание. 1, 2, 3, 4 — препарат наружных мембран в концентрации 8, 6, 4, 2 мг/мл, соответственно; 5, 6, 7, 8 — препарат мочевинового экстракта в концентрации 2, 4, 6, 8 мг/мл соответственно; (K+) — положительный контроль (трипсин), (K-) — отрицательный контроль (контроль растворителя).

Note. 1, 2, 3, 4 — outer membrane preparation at concentration of 8 mg/ml, 6 mg/ml, 4 mg/ml, 2 mg/ml, respectively; 5, 6, 7, 8 — preparation of urea extract at concentration of 2 mg/ml, 4 mg/ml, 6 mg/ml, 8 mg/ml, respectively; (K+) — positive control (trypsin solution), (K-) — negative control (solvent control).

Иммуногенная и антигенная активности. Анализ исследуемых препаратов в РИД выявил в регистрируемых количествах только один компонент, идентифицированный как ЛПС, играющий основную роль в индукции специфического гуморального иммунитета у макроорганизмов. При взаимодействии с цельной коммерческой поливалентной антисывороткой в РИД наблюдается полное слияние преципитата между препаратами ЛПС водно-фенольной экстракции и препаратами НМ и МЭ, что указывает на их антигенную идентичность (рис. 5).

Сыворотки, полученные путем иммунизации животных-продуцентов препаратами НМ и БЛПК, по специфической активности не отличались между собой.

Полученные экспериментальные антисыворотки в разведении 1:10 в РИД не реагировали с гетерологичными тест-штаммами (1×10^9 м.к./мл) и проявляли серологическую активность только в отношении гомологичного штамма *Y. pseudotuberculosis* 3704 (рис. 6), а также с изолированными из него препаратами НМ и БЛПК (1 мг/мл).

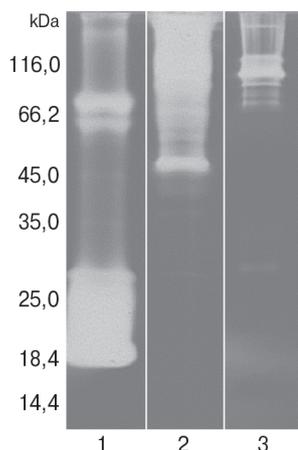


Рисунок 4. Субстратный электрофорез препаратов субклеточных фракций из *Y. pseudotuberculosis* 3704 в 12% полиакриламидном геле с использованием в качестве субстрата раствора желатина

Figure 4. Substrate-gel electrophoresis of subcellular fraction preparations from *Y. pseudotuberculosis* 3704 in 12% polyacrylamide gel using a gelatin solution as a substrate

Примечание. 1 — положительный контроль (трипсин), 2 — препарат наружных мембран, 3 — препарат мочевинового экстракта. Слева указано положение маркера молекулярных масс. Окраска Кумасси ярко-синим R-250.

Note. 1 — positive control (trypsin solution), 2 — outer membrane preparation, 3 — preparation of urea extract. The position of the molecular weight marker is indicated on the left. Stained with Coomassie brilliant blue R-250.

Препараты НМ и БЛПК в ДИА при использовании антител, изолированных из полученных экспериментальных антисывороток, меченных наночастицами коллоидного серебра, обнаруживались в концентрации $\geq 0,12$ мкг/мл (по сухому весу) в объеме исследуемого образца, наносимого на мембрану — 1,5 мкл, штамм *Y. pseudotuberculosis* 3704 — в концентрации $\geq 3,9 \times 10^6$ м.к./мл (рис. 7) в объеме исследуемого образца, наносимого на мембрану — 1,5 мкл.

Аналогичные результаты зарегистрированы при исследовании указанных антигенных комплексов в ДИА с антителами из коммерческой диагностической антисыворотки, меченными наночастицами коллоидного серебра. Тест-штаммы гетерологичных микроорганизмов в ДИА перекрестно реагировали в высоких концентрациях с антителами экспериментальных антисывороток ($\geq 7,8 \times 10^6$ м.к./мл).

В ДИА с антителами из коммерческой антисыворотки гетерологичные тест-штаммы не выявлялись ввиду того, что в технологическую схему ее получения входит этап адсорбции антител антигенами близкородственных в антигенном отношении микроорганизмов, что минимизирует неспецифическое взаимодействие антигенов с антителами.

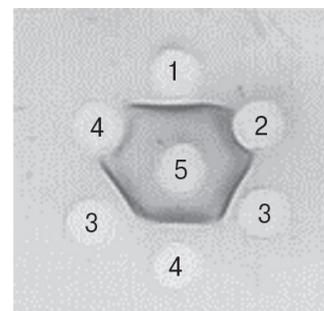


Рисунок 5. Реакция иммунодиффузии антигенных препаратов, полученных из *Y. pseudotuberculosis* 3704 в 1% агарозном геле с коммерческой псевдотуберкулезной антисывороткой

Figure 5. Immunodiffusion reaction of antigenic preparations obtained from *Y. pseudotuberculosis* 3704 in 1% agarose gel with commercial pseudotuberculosis antiserum

Примечание. 1 — липополисахарид из водной фракции, 2 — препарат мочевинового экстракта, 3 — липополисахарид из фенольной фракции, 4 — препарат наружных мембран, 5 — коммерческая поливалентная псевдотуберкулезная антисыворотка (СПб). Окраска Кумасси ярко-синим R-250.

Note. 1 — lipopolysaccharide from the aqueous fraction, 2 — preparation of urea extract, 3 — lipopolysaccharide from the phenolic fraction, 4 — outer membrane preparation, 5 — commercial polyvalent pseudotuberculosis antiserum (St. Petersburg). Stained with Coomassie brilliant blue R-250.

Заключение

Как известно, антигенную специфичность псевдотуберкулезного микроба определяет соматический О-антиген, который содержится в поверхностных структурах бактериальной клетки. При этом, говоря об антигенном спектре псевдотуберкулезного микроба, нельзя не отметить наличие структурного сходства отдельных поверхностных компонентов микробной клетки возбудителя с аналогичными макромолекулами некоторых других представителей семейств *Yersiniaceae* и *Enterobacteriaceae*. Применение мочевины в качестве лизирующего агента для выделения поверхностных структур бактериальной клетки позволяет сохранить антигенные, иммуногенные свойства и специфичность выделяемых антигенов.

Использованная техника гипериммунизации животных-продуцентов субклеточными фракциями *Y. pseudotuberculosis* для получения высоко-

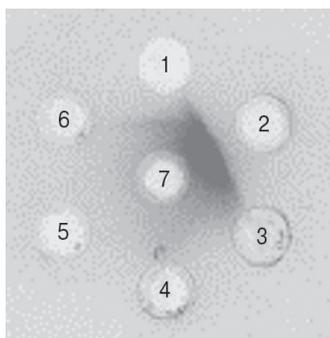


Рисунок 6. Реакция иммунодиффузии антигенных препаратов *Y. pseudotuberculosis* 3704 и микробных взвесей в 1% агарозном геле с экспериментальной кроличьей антисывороткой, полученной против препарата белковолипополисахаридного комплекса

Figure 6. Immunodiffusion reaction of antigenic preparations of *Y. pseudotuberculosis* 3704 and microbial suspensions in 1% agarose gel with experimental rabbit antiserum obtained against the preparation of a protein-lipopolysaccharide complex

Примечание. 1 — препарат наружных мембран, 2 — препарат белковолипополисахаридного комплекса, 3 — микробная взвесь *Y. pseudotuberculosis* 3704, 4 — микробная взвесь *Y. enterocolitica* 628, 5 — микробная взвесь *S. typhi* 21, 6 — микробная взвесь *S. flexneri* 1964, 7 — экспериментальная псевдотуберкулезная кроличья антисыворотка.

Note. 1 — outer membrane preparation, 2 — protein-lipopolysaccharide complex preparation, 3 — microbial suspension of *Y. pseudotuberculosis* 3704, 4 — microbial suspension of *Y. enterocolitica* 628, 5 — microbial suspension of *S. typhi* 21, 6 — microbial suspension *S. flexneri* 1964, 7 — experimental *Y. pseudotuberculosis* rabbit antiserum.

активных псевдотуберкулезных антисывороток в совокупности с более высокой чувствительностью ДИА по сравнению с РИД объясняют наличие перекрестного реагирования с гетерологичными микроорганизмами в ДИА. В связи этим, для эффективного использования в диагностических целях полученных псевдотуберкулезных антисывороток и минимизации риска получения ложноположительных результатов, необходимо дальнейшее продолжение работы по оптимизации способа получения высокоспецифичных АТ. Одним из направлений повышения специфичности экспериментальных псевдотуберкулезных антисывороток является их адсорбция близкородственными в антигенном отношении гетерологичными микроорганизмами.

Таким образом, методика обеззараживания путем лизиса микробных клеток концентрированным раствором мочевины позволяет получить стерильные субклеточные фракции псевдотуберкулезного микроба, сохраняющие свои иммуногенные и антигенные свойства, а также ферментативную активность, и представляет практический интерес в плане конструирования иммунобиологических препаратов для совершенствования ранней диагностики псевдотуберкулеза.

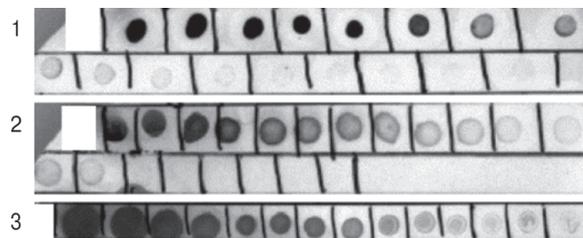


Рисунок 7. Дот-иммуноанализ препаратов и микробной взвеси *Y. pseudotuberculosis* 3704 с изолированными из экспериментальной антисыворотки антителами, полученными против препарата белковолипополисахаридного комплекса и мечеными наночастицами коллоидного серебра

Figure 7. Dot immunoassay of preparations and microbial suspension of *Y. pseudotuberculosis* 3704 by using antibodies isolated from experimental antiserum against the preparation of protein-lipopolysaccharide complex and labeled with colloidal silver nanoparticles

Примечание. 1 — микробная взвесь *Y. pseudotuberculosis* 3704, 2 — препарат наружных мембран, 3 — препарат белковолипополисахаридного комплекса.

Note. 1 — microbial suspension of *Y. pseudotuberculosis* 3704, 2 — outer membrane preparation, 3 — protein-lipopolysaccharide complex preparation.

Список литературы/References

1. Загоскина Т.Ю., Чеснокова М.В., Климов В.Т., Попова Ю.О., Марков Е.Ю., Старикова О.А. Конструирование тест-системы с наночастицами коллоидного серебра для обнаружения возбудителей псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза в дот-иммуноанализе // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2017. № 1. С. 55–61. [Zagoskina T.Yu., Chesnokova M.V., Klimov V.T., Popova Yu.O., Markov E.Yu., Starikova O.A. Construction of a test-system with nanoparticles of colloid silver for detection of pseudotuberculosis and intestinal yersiniosis for causative agents in dot-immunoassay. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2017, no. 1, pp. 55–61. (In Russ.)] doi: 10.36233/0372-9311-2017-1-55-61
2. Каримова Т.В., Климов В.Т., Чеснокова М.В. Молекулярно-биологическая характеристика *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica*, выделенных в Сибири и на Дальнем Востоке // Acta Biomedica Scientifica. 2016. Т. 1, № 3 (1). С. 60–64. [Karimova T.V., Klimov V.T., Chesnokova M.V. Biomolecular characteristics of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica* isolated in Siberia and in the Far East. *Acta Biomedica Scientifica = Acta Biomedica Scientifica*. 2016, vol. 1, no. 3 (1), pp. 60–64. (In Russ.)] doi: 10.12737/21612
3. Корнева А.В., Николаев В.Б., Половинкина В.С., Марков Е.Ю., Козлов С.Н., Мазепа А.В., Дубровина В.И., Загоскина Т.Ю., Урбанович Л.Я., Иванова Т.А., Балахонов С.В. Получение, характеристика и вакцинный потенциал поверхностных структур бактериальных возбудителей особо опасных инфекций // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2019. № 37. С. 91–92. [Korneva A.V., Nikolaev V.B., Polovinkina V.S., Markov E.Yu., Kozlov S.N., Mazepa A.V., Dubrovina V.I., Zagoskina T.Yu., Urbanovich L.Ya., Ivanova T.A., Balakhonov S.V. Purification, characteristics and vaccine potential of the surface structures of bacterial agents of especially dangerous infections. *Dal'nevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii = The Far Eastern Journal of Infectious Pathology*. 2019, no. 37, pp. 91–92. (In Russ.)]
4. Марков Е.Ю., Урбанович Л.Я., Голубинский Е.П., Каретникова Э.С., Иванова Т.А., Николаев В.Б., Завезенов Н.П., Субычева Е.Н. Получение высокоиммуногенного препарата наружных мембран *Vibrio cholerae* eltor // Журнал инфекционной патологии (Иркутск). 1998. Т. 5, № 4. С. 42–48. [Markov E.Yu., Urbanovich L.Ya., Golubinsky E.P., Karetnikova E.S., Ivanova T.A., Nikolaev V.B., Zavezenov N.P., Subycheva E. N. Obtaining highly immunogenic preparation of the outer membranes of *Vibrio cholerae* eltor. *Zhurnal infektsionnoy patologii = Journal of Infectious Pathology (Irkutsk)*, 1998, vol. 5, no. 4, pp. 42–48. (In Russ.)]
5. Марков Е.Ю., Урбанович Л.Я., Голубинский Е.П., Чернов А.Б., Каретникова Э.С., Иванова Т.А., Пакулев Н.А. Наружные мембраны холерного вибриона как потенциальный компонент химической вакцины // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1995. № 2. Приложение. С. 86–89. [Markov E.Yu., Urbanovich L.Ya., Golubinsky E.P., Chernov A.B., Karetnikova E. S., Ivanova T.A., Pakulev N. A. Outer membranes of the *Vibrio cholerae* as a potential component of a chemical vaccine. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1995, no. 2, suppl., pp. 86–89. (In Russ.)]
6. Патент № 2051969 С1 Российская Федерация, МПК6 С 12 Р 19/04. Способ получения бактериальных липополисахаридов; заявлено 1992.07.31; опубликовано 1996.01.10 / Марков Е.Ю., Николаев В.Б. / Патентообладатель: Иркут. н-и. противочум. ин-т Сибири и ДВ. 3 с. [Patent No. 2051969 C1 Russian Federation, Int. Cl.6 C 12 P 19/04. Method of bacterial lipopolysaccharide preparing; application 1992.07.31; date of publication 10.01.1996 / Markov E.Ju., Nikolaev V.B. Proprietors: Irkutskij nauchno-issledovatel'skij protivochumnyj institut Sibiri i Dal'nego Vostoka. 3 p.]
7. Патент № 2114436 С1 Российская Федерация, МПК6 G01N 33/52. Способ определения бактериальных липополисахаридов; заявлено 1996.05.06; опубликовано 1998.06.27 / Чернов А.Б., Марков Е.Ю. / Патентообладатель: Иркут. н-и. противочум. ин-т Сибири и ДВ. 5 с. [Patent No. 2051969 C1 Russian Federation, Int. Cl.6 G01N 33/52. Method of assay of bacterial lipopolysaccharides; application 1996.05.06; date of publication 1998.06.27 / Chernov A.B., Markov E.Ju. Proprietors: Irkutskij nauchno-issledovatel'skij protivochumnyj institut Sibiri i Dal'nego Vostoka. 5 p.]
8. Помогаева А.П., Уразова О.И., Ковширина Ю.В., Перевозчикова Т.В., Бармина С.Э. Клинико-иммунологические особенности псевдотуберкулеза у детей // Бюллетень сибирской медицины. 2006. № 4. С. 103–111. [Pomogayeva A.P., Ourazova O.I., Kovshirina Yu.V., Perevozchikova T.V., Barmina S.E. Clinical and immunological peculiarities of pseudotuberculosis at children. *Byulleten' sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*, 2006, no. 4, pp. 103–111. (In Russ.)]
9. Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»; утв. постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28 января 2008 г. № 4. [Sanitary and epidemiological rules SR 1.3.2322-08 “Safety of work with microorganisms of the III–IV pathogenicity (danger) groups and pathogens of parasitological diseases”; approved by the decision of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation approved on January 28, 2008. no. 4. (In Russ.)]
10. Тимченко Н.Ф., Попов А.Ф. Псевдотуберкулез — прошлое и настоящее // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2014. № 4 (9). С. 51–56. [Timchenko N.F., Popov A.F. Pseudotuberculosis — past and present. *Infektsionnyye bolezni: novosti, mneniya, obucheniye = Infection Diseases: News, Opinions, Training*. 2014, no. 4 (9), pp. 51–56. (In Russ.)]
11. Derbise A., Guillas C., Gerke C., Carniel E., Pizarro-Cerda J., Demeure C.E. Subcutaneous vaccination with a live attenuated *Yersinia pseudotuberculosis* plague vaccine. *Vaccine*, 2020, vol. 38, no. 8, p. 1888–1892. doi: 10.1016/j.vaccine.2020.01.014
12. Dong W., Wang F., Zhang J., Zhou Y., Zhang L., Wang T. A simple, time-saving dye staining of proteins in sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel using Coomassie blue. *Protein Gel Detection and Imaging*, 2018, pp. 31–35. doi: 10.1007/978-1-4939-8745-0_5
13. Fishman J.B., Berg E.A. Antibody purification and storage. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2019, vol. 2019, no. 5, pp. 331–344. doi: 10.1101/pdb.top099101
14. Gallagher S.R. One-dimensional SDS gel electrophoresis of proteins. *Curr. Protoc. Cell Biol.*, 2007, vol. 37, no. 1, pp. 6.1.1–6.1.38. doi: 10.1002/0471143030.cb0601s37
15. Hornbeck P. Double-immunodiffusion assay for detecting specific antibodies (Ouchterlony). *Curr. Protoc. Immunol.*, 2017, vol. 116, pp. 2.3.1–2.3.4. doi: 10.1002/cpim.18

16. Hu Y.F., Zhao D., Yu X.L., Hu Y.L., Li R.C., Ge M., Xu T.Q., Liu X.B., Liao H.Y. Identification of bacterial surface antigens by screening peptide phage libraries using whole bacteria cell-purified antisera. *Front. Microbiol.*, 2017, vol. 8: 82. doi: 10.3389/fmicb.2017.00082
17. Li H., Benghezal M. Crude preparation of lipopolysaccharide from *Helicobacter pylori* for silver staining and Western blot. *Bio Protoc.*, 2017, vol. 7, no. 20: e2585. doi: 10.1094/MPMI-08-13-0248-R
18. Tajhya R.B., Patel R.S., Beeton C. Detection of matrix metalloproteinases by zymography. *Methods Mol. Biol.*, 2017, vol. 1579, pp. 231–244. doi: 10.1007/978-1-4939-6863-3_12
19. Wang X., Zhang C., Shi F., Hu X. Purification and characterization of lipopolysaccharides. *Subcell. Biochem.*, 2010, vol. 53, pp. 27–51. doi: 10.1007/978-90-481-9078-2_2
20. Waterborg J.H. The lowry method for protein quantitation. In: Walker J.M. (ed.) *The Protein Protocols Handbook*. Springer Protocols Handbooks. Third Edition. Totowa, NJ: Humana Press, 2009, pp. 7–10. doi: 10.1007/978-1-59745-198-7_2
21. Zubova S.V., Prokhorenko I.R. Use of colorimetric method for evaluation of LPS of different structure. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2006, vol. 141, no. 6, pp. 765–767. doi: 10.1007/s10517-006-0274-1

Авторы:

Крюкова А.В., младший научный сотрудник биохимического отдела ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск, Россия;

Марков Е.Ю., д.б.н., старший научный сотрудник, зав. биохимическим отделом ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск, Россия;

Николаев В.Б., к.м.н., старший научный сотрудник биохимического отдела ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск, Россия;

Попова Ю.О., лаборант биохимического отдела ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск, Россия;

Климов В.Т., к.м.н., старший научный сотрудник эпидемиологического отдела ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск, Россия;

Игумнова С.В., врач эпидемиологического отдела ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск, Россия;

Андреевская Н.М., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории диагностических сывороток ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск, Россия;

Уланская А.В., ветеринарный врач лаборатории диагностических сывороток ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск, Россия;

Загоскина Т.Ю., д.м.н., с.н.с, зав. отделом подготовки и усовершенствования специалистов ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск, Россия;

Чеснокова М.В., д.м.н., профессор, зав. отделом научного и учебно-методического обеспечения ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск, Россия.

Authors:

Kryukova A.V., Junior Researcher of Biochemical Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation;

Markov E.Yu., PhD, MD (Biology), Senior Researcher, Head of Biochemical Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation;

Nikolaev V.B., PhD (Medicine), Senior Researcher of Biochemical Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation;

Popova Yu.O., Assistant of Biochemical Department of Biochemical Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation;

Klimov V.T., PhD (Medicine), Senior Researcher, Department of Epidemiology, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation;

Igumnova S.V., Physician, Department of Epidemiology, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation;

Andreevskaya N.M., PhD (Biology), Laboratory of Diagnostic Sera, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation;

Ulanskaya A.V., Veterinarian, Laboratory of Diagnostic Sera, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation;

Zagoskina T.Yu., PhD, MD (Medicine), Head of Department of Professional and Advanced Training, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation;

Chesnokova M.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of Information Analytical Sector, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 23.09.2020
Отправлена на доработку 05.11.2021
Принята к печати 27.01.2022

Received 23.09.2020
Revision received 05.11.2021
Accepted 27.01.2022

ВЛИЯНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА КАГОЦЕЛ НА УРОВНИ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ MMP-8 И MMP-9 И ИХ ТКАНЕВЫХ ИНГИБИТОРОВ TIMP-1 И TIMP-2 В ИНДУЦИРОВАННОЙ МОКРОТЕ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ВИРУСНО-БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ

А.Ф. Попов^{1,4}, Е.В. Маркелова¹, И.А. Комарова¹, А.В. Костюшко¹, М.Ю. Щелканов^{2,3,4}

¹ Тихоокеанский государственный медицинский университет, г. Владивосток, Россия

² НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия

³ ФНЦ биологического разнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, г. Владивосток, Россия

⁴ Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, Россия.

Резюме. Проведен анализ влияния противовирусного препарата Кагоцел на уровни металлопротеиназ MMP-8 и MMP-9 и их тканевых ингибиторов TIMP-1 и TIMP-2 в индуцированной мокроте при лечении внебольничной вирусно-бактериальной пневмонии. *Материалы и методы.* В наблюдательную исследовательскую работу были включены 60 взрослых пациентов с подтвержденным диагнозом внебольничной пневмонии вирусно-бактериальной этиологии. Все пациенты случайным образом были распределены на две группы: в I группу (группа сравнения) вошли 30 пациентов, получающие монотерапию Цефтриаксоном; во II группу (основная) — 30 человек, которым в качестве этиотропного лечения были назначены Цефтриаксон и противовирусный препарат Кагоцел. Обе группы были сопоставимы по полу, возрасту и срокам поступления в стационар. *Результаты.* При госпитализации у пациентов обеих групп регистрировалось повышение уровней MMP-8, MMP-9, TIMP-1 и TIMP-2 в индуцированной мокроте по сравнению с референсными значениями. К 7 суткам стационарного лечения регистрировались различные изменения показателей. Уровень MMP-8 продолжал быть достоверно выше референсных значений в обеих группах, причем, у пациентов II группы наблюдалось его снижение по сравнению с исходными значениями, а у пациентов I группы, напротив, зафиксировано существенное увеличение. Уровень MMP-9 увеличивался у пациентов I группы, а у пациентов II группы — напротив — уменьшался. Уровень TIMP-1 снижался у пациентов I группы ниже контрольного значения, а у пациентов II — достигал референсных значений. Уровень TIMP-2 снижался в обеих группах и достигал уровня контрольных значений. *Заключение.* Включение в стандартную антибактериальную схему терапии внеболь-

Адрес для переписки:

Попов Александр Федорович
690002, Россия, г. Владивосток, пр. Острякова, 2,
Тихоокеанский государственный медицинский университет.
Тел.: 8 (914) 704-56-20. E-mail: doctor.popov@mail.ru

Contacts:

Alexander F. Popov
690002, Russian Federation, Vladivostok, Ostryakova str., 2,
Pacific State Medical University.
Phone: +7 (914) 704-56-20. E-mail: doctor.popov@mail.ru

Для цитирования:

Попов А.Ф., Маркелова Е.В., Комарова И.А., Костюшко А.В., Щелканов М.Ю. Влияние противовирусного препарата Кагоцел на уровни матриксных металлопротеиназ MMP-8 и MMP-9 и их тканевых ингибиторов TIMP-1 и TIMP-2 в индуцированной мокроте при комбинированном лечении внебольничной вирусно-бактериальной пневмонии // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4. С. 668–676.
doi: 10.15789/2220-7619-AEO-1673

© Попов А.Ф. и соавт., 2022

Citation:

Popov A.F., Markelova E.V., Komarova I.A., Kostushko A.V., Shchelkanov M.Yu. An effect of the antiviral drug Kagocel on the levels of matrix metalloproteinases MMP-8 and MMP-9 and their tissue inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 in induced sputum during combined treatment of community-acquired viral-bacterial pneumonia // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 668–676. doi: 10.15789/2220-7619-AEO-1673

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-AEO-1673>

ничной вирусно-бактериальной пневмонии противовирусного препарата Кагоцел снижает уровень MMP-9 и уменьшает выраженность дисбаланса в системе MMP и TIMP на 7 сутки терапии, что приводит к более быстрому клиническому выздоровлению пациента.

Ключевые слова: острое респираторное заболевание, острые респираторные вирусные инфекции, грипп, внебольничная пневмония, Кагоцел, цитокины, матриксные металлопротеиназы, тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ.

AN EFFECT OF THE ANTIVIRAL DRUG KAGOCEL ON THE LEVELS OF MATRIX METALLOPROTEINASES MMP-8 AND MMP-9 AND THEIR TISSUE INHIBITORS TIMP-1 AND TIMP-2 IN INDUCED SPUTUM DURING COMBINED TREATMENT OF COMMUNITY-ACQUIRED VIRAL-BACTERIAL PNEUMONIA

Popov A.F.^{a,d}, Markelova E.V.^a, Komarova I.A.^a, Kostiusenko A.V.^a, Shchelkanov M.Yu.^{b,c,d}

^a Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

^b G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russian Federation

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

^d Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. An effect of the antiviral drug Kagocel on the levels of metalloproteinases MMP-8 and MMP-9 and their tissue inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 in induced sputum during treatment of community-acquired pneumonia of viral-bacterial etiology were analyzed. 60 adult patients with verified community-acquired pneumonia of viral-bacterial etiology were included in the follow-up monitoring. *Materials and methods.* All patients were randomly stratified into 2 groups: group 1 (comparison group) consisted of 30 patients receiving Ceftriaxone monotherapy; group 2 (main group) — 30 subjects who were prescribed Ceftriaxone and the antiviral drug Kagocel as etiotropic treatment. Both groups were comparable in gender, age and time of admission to the hospital. *Results.* During hospitalization, patients in both groups had elevated levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 in induced sputum compared to the reference values. By 7 days of inpatient treatment, the level of MMP-8 was still significantly higher than the reference values in both groups, being in patients from group 2 it decreased compared to baseline values, whereas in patients from group 1, on the contrary, it was markedly elevated. The activity of MMP-9 during hospitalization was also high in patients from both groups compared with its level in healthy subjects. By day 7 of therapy, changes in various parameters were recorded. The level of MMP-9 in patients from group 1 increased, whereas in group 2 — on the contrary — decreased. The level of TIMP-1 decreased in patients of the 1st group below the control value, and in patients of the 2nd group — reached the reference values. The level of TIMP-2 decreased in both groups and reached that of in control group. *Conclusion.* Antiviral drug Kagocel being included in the standard antibacterial regimen of community-acquired viral-bacterial pneumonia reduces the level of MMP-9 and intensity in imbalance between MMP and TIMP parameters by 7 days of therapy, which leads to accelerated clinical recovery.

Key words: acute respiratory disease, acute respiratory viral infections, influenza, community-acquired pneumonia, Kagocel, cytokines, matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of matrix metalloproteinases.

Введение

Пневмония — одно из самых распространенных осложнений ОРВИ и гриппа, характеризующаяся очаговым поражением респираторных отделов легких с обязательным наличием внутриальвеолярной экссудации и представляющая серьезную проблему здравоохранения из-за ее частого развития как осложнения на фоне вирусных инфекций, трудностей диагностики, лечения и высокой летальности [1, 5, 29].

В 2019 г. заболеваемость внебольничными пневмониями (ВП) в РФ составила 518,9 на 100 тыс. населения при среднемноголетней заболеваемости 401,7 (2014–2018 гг.), в числе которых было зарегистрировано 5484 случая летального исхода, или 3,7 на 100 тыс. населения [8, 13].

Перечень потенциальных возбудителей ВП включает более 100 микроорганизмов (бактерии,

вирусы, грибы, простейшие). Однако большинство случаев заболевания ассоциируется с относительно небольшим кругом патогенов, к которым относят *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, энтеробактерии, *Legionella pneumophila* и вирусы, поражающие респираторный тракт: вирусы гриппа, коронавирусы, аденовирусы, риновирусы, парамиксовирусы, респираторно-синцитиальный вирус, метапневмовирусы и боксавирусы [10, 11, 12, 22, 26, 32]. У 10–30% пациентов с ВП выявляется смешанная или коинфекция, которая может быть вызвана ассоциацией различных бактериальных возбудителей либо их сочетанием с респираторными вирусами [11, 19, 23, 32, 33]. И именно ВП, вызванная ассоциацией возбудителей, имеет тенденцию к более тяжелому течению и худшему прогнозу.

В настоящее время в диагностике бронхолегочной патологии все большей популярностью пользуется исследование матриксных металлопротеиназ (ММП — matrix metalloproteinase) [17]. В развитии легочной патологии наибольшее значение имеют металлоколлагеназы (ММП-1, ММП-8, ММП-13), металложелатиназы (ММП-2, ММП-9), стромелизин (ММП-3) и макрофагальная эластаза (ММП-12) [23].

На сегодняшний день известно, что данные ферменты принимают участие во многих физиологических и патологических процессах в организме, таких как деградация ткани легкого в острой и хронической стадии ВП, артритах, злокачественном росте, сердечно-сосудистых заболеваниях. ММП-8 и ММП-9 являются маркерами системного воспаления и индуцибельно вырабатываются клетками врожденного иммунитета, экспрессируются в поврежденных артериях и приводят к воспалению дыхательных путей [7].

Эндогенными регуляторами активности ММП являются тканевые ингибиторы металлопротеиназ (ТИМП — tissue inhibitors of matrix metalloproteinase), которых к настоящему времени описано 4 типа: ТИМП-1, ТИМП-2, ТИМП-3, ТИМП-4. Данная группа белков участвует в воспалении в зоне паренхиматозной деструкции и в протеолитическом процессе легочной ткани [18]. ТИМП регулируют как ферментативную активность ММП, так и их активацию *in vivo*. В условиях нормального протекания физиологических процессов поддерживается определенное равновесие между активностью ММП и их ингибиторов. Нарушение такого равновесия оказывает серьезное воздействие на внеклеточный матрикс и влияет на различные функции клеток, включая адгезию, миграцию, дифференциацию [6, 7].

Для лечения ВП вирусно-бактериальной этиологии рекомендованы антибактериальные препараты [2, 17, 28]. Кроме того, по данным различных авторов и клиническим рекомендациям последних лет, в период ОРВИ и гриппа — наряду с основной терапией — необходимо добавлять противовирусную терапию как этиотропного, так и опосредованного действия [14, 15, 16].

Положительное влияние добавления Кагоцела к стандартной антибактериальной терапии ВП на клиническую симптоматику заболевания, ускорение выздоровления и уровни про- и противовоспалительных цитокинов было описано ранее [9, 10]. Целью данной работы явилось изучение влияния противовирусного препарата Кагоцел на уровни матриксных металлопротеиназ ММП-8 и ММП-9 и их тканевых ингибиторов ТИМП-1 и ТИМП-2 в индуцированной мокроте при его добавлении к стандартной антибактериальной терапии ВП по сравнению с моноте-

рапией только антибактериальным препаратом. Для проведения сравнительного анализа были использованы референсные значения контрольной группы, сопоставимой по возрасту и полу с пациентами исследуемых групп.

Материалы и методы

В наблюдательную исследовательскую работу были включены 60 пациентов с подтвержденным диагнозом ВП вирусно-бактериальной этиологии. Все пациенты случайным образом были распределены на 2 группы: в I группу (группа сравнения) вошли 30 пациентов, получающие монотерапию Цефтриаксоном; во II группу (основная) — 30 человек, которым в качестве этиотропного лечения были назначены Цефтриаксон и противовирусный препарат Кагоцел. Обе группы были сопоставимы по полу, возрасту и срокам поступления в стационар. Средний возраст пациентов составил $36,5 \pm 1,5$ года. В исследование не вошли пациенты, получавшие до госпитализации терапию противовирусными препаратами для лечения гриппа и ОРВИ, имеющие тяжелые сопутствующие заболевания, положительные результаты тестов на ВИЧ-инфекцию, гепатиты В и/или С, сифилис, беременные и женщины в период лактации. Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом (выписка из Решения № 5 от 18.12.2017). Исследование проводилось на базе инфекционного отделения Краевой клинической больницы № 2 г. Владивостока в период с 01.01.2018 по 31.12.2018.

Во время госпитализации проводились стандартные исследования. Физикальное обследование больных включало осмотр, пальпацию, перкуссию и аускультацию ежедневно. Изменения в бронхолегочной системе определяли рентгенографией при поступлении в стационар и на 7–10 день терапии.

Диагноз ВП подтверждался рентгенографией органов грудной клетки, а также этиологической расшифровкой возбудителей с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР), реакции торможения гемагглютинации (РТГА), твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), бактериологического исследования слизи с задней стенки глотки и носоглоточного смыва, взятого при поступлении пациента в стационар.

Оценивали данные общеклинического анализа крови, бактериологического исследования мокроты и активности ММП-8 и ММП-9 и их тканевых ингибиторов ТИМП-1 и ТИМП-2 в индуцированной мокроте методом твердофазного ИФА (R&D Diagnostic, США) в момент поступления и на 7-е сутки терапии. Известно, что индуцированная мокрота является проверенным неинвазивным методом для оценки вос-

паления/повреждения дыхательных путей при внебольничной пневмонии [2] и используется в рутинной клинической практике.

Мокроту получали посредством индукции ее отхождения ингаляцией 3%-, 4%- и 5%-ного стерильного гипертонического солевого раствора в течение 5–30 мин с помощью ультразвукового небулайзера по методу I. Pin и P.G. Gibson в модификации Т.А. Роров и соавт. [30]. Отфильтрованную мокроту центрифугировали при 1200 об./мин × 10 мин, затем полученный супернатант исследовали на содержание MMP-8, MMP-9 и TIMP 1, TIMP-2 [25].

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft, США). Количественные параметры при нормальном распределении данных оценивали, применяя среднее арифметическое и стандартную ошибку средней величины ($M \pm m$); для оценки статистической значимости различий нормально распределенных выборок применялся критерий Стьюдента; при ненормальном распределении рассчитывали медиану, верхнюю и нижнюю квартили; статистическую достоверность различий оценивали по уровню критерия Манна–Уитни–Уилкоксона; уровень достоверности альтернативной гипотезы соответствовал $p < 0,05$.

Результаты

ВП вирусно-бактериальной этиологии у всех пациентов была подтверждена с помощью бактериологического и молекулярно-генетичес-

кого методов. Методом ПЦР вирус гриппа А (H1N1) был подтвержден у 30,0 и 23,4% пациентов I и II групп соответственно; вирус гриппа А (H3N2) — 36,6 и 33,2%; вирус гриппа В — 13,4 и 23,4%; бактериальные инфекции — 76,5 и 83,4% (*S. pneumoniae* — 30,0 и 30,0%, *S. pyogenes* — 20,0 и 20,0%, *S. aureus* — 10,0 и 10,0%, *C. pneumoniae* — 3,3 и 10,0%, *M. pneumoniae* — 6,6 и 10,0%, *H. influenza* — 6,6 и 3,3%).

Мы оценили содержание MMP-8, MMP-9 и TIMP 1, TIMP-2 в индуцированной мокроте в 1 и 7 сутки госпитализации (табл. 1). В 1-е сутки поступления в стационар у пациентов обеих групп в индуцированной мокроте регистрировалось достоверное повышение активности MMP-8 в I и II группах, соответственно, в сравнении с этим показателем у здоровых лиц. К 7-м суткам терапии уровень MMP-8 оставался достоверно выше референсных значений в обеих группах, причем, у пациентов II группы наблюдалось его снижение по сравнению с исходными значениями, а у пациентов I группы, напротив, зафиксировано существенное увеличение (рис. 1).

Активность MMP-9 при госпитализации также была высокой у пациентов обеих групп в сравнении с уровнем этих ферментов у здоровых людей. К 7-м суткам терапии уровень MMP-9 у пациентов I группы увеличивался, а у пациентов II группы снижался (рис. 2).

Исследование уровня TIMP-1 в индуцированной мокроте пациентов обеих групп при госпитализации показало его повышенное содержание по сравнению с референсными значениями. На 7-е сутки терапии данный по-

Таблица 1. Динамика содержания металлопротеиназ MMP-8, MMP-9 и их тканевых ингибиторов TIMP-1, TIMP-2 в индуцированной мокроте у пациентов с внебольничной вирусно-бактериальной пневмонией

Table 1. Dynamics in level of metalloproteinases MMP-8, MMP-9 and related tissue inhibitors TIMP-1, TIMP-2 in induced sputum from patients with community-acquired viral-bacterial pneumonia

№ No.	Показатель Index Me (Q_{25} ; Q_{75})	Контрольная группа Control group n = 30	Пациенты с внебольничной пневмонией Patients with community-acquired pneumonia			
			I группа/Group 1		II группа/Group 2	
			При поступлении On admission	На 7 день терапии On day 7 of therapy	При поступлении On admission	На 7 день терапии On day 7 of therapy
1	MMP-8	65,96 (39,41; 106,75)	140,20*** (102,60; 167,80)	158,42*** (120,42; 186,70) $P_{1-2} < 0,05$	135,66*** (111,79; 161,27)	129,14*** (106,95; 156,35)
2	MMP-9	1,37 (1,14; 1,98)	2,24 (1,68; 2,54)	2,88 (1,94; 3,45) $P_{1-2} < 0,05$	2,31*** (1,89; 2,48)	1,90* (1,66; 2,30) $P_{1-2} < 0,05$
3	TIMP-1	3,07 (2,9; 3,25)	3,20 (3,0; 3,48)	2,19* (2,00; 2,86) $P_{1-2} < 0,05$	3,38 (3,08; 3,52)	3,04 (2,67; 3,25) $P_{1-2} < 0,05$
4	TIMP-2	5,5 (3,4; 7,67)	6,20* (3,58; 10,00)	5,00 (3,40; 7,56) $P_{1-2} < 0,05$	6,15** (3,88; 10,25)	5,69* (3,20; 9,63)

Примечание. * $p < 0,05$ между исследуемыми группами и контролем; ** $p < 0,001$ между I и II группами; *** $p < 0,05$ между I и II группами.
Note. * $p < 0,05$ between the study groups and control; ** $p < 0,001$ between groups 1 and 2; *** $p < 0,05$ between groups 1 and 2.

казатель снижался у пациентов I группы ниже контрольного значения, а у пациентов II группы — достигал референсных (рис. 3).

Уровень TIMP-2 у пациентов обеих групп при поступлении также был выше референсных величин. На 7-е сутки терапии данный показатель снижался в обеих группах и достигал уровня контрольных значений (рис. 4).

Обсуждение

Выраженность клинических симптомов заболевания определяется степенью активности иммунных реакций, в процессе которых реализуется эффекторный цитолитический потенциал к инфицированным вирусом клеткам при помощи активных медиаторов микробцидного действия [4]. В настоящее время продолжаются поиски маркеров и прогностических тестов для определения выраженности воспалительного процесса и развития осложнений при пневмонии [27]. Исследования уровня металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в индуцированной мокроте, их роли в развитии воспалительных заболеваний легких при пневмонии, на сегодняшний день, немногочисленны, но с каждым годом расширяются [3, 4, 21, 24].

Известно, что синтез MMP усиливается при гипоксическом, инфекционном и других типах повреждения тканей [4].

Хотя основная функция MMP заключается в удалении внеклеточного матрикса во время резорбции ткани и прогрессирования различных заболеваний, MMP также взаимодействуют с множеством цитокинов, участвуя в патогенезе пневмонии [20, 31]. Эти ферменты необходимы клеткам для миграции в очаг воспаления, для антибактериальной защиты, также они участвуют в ремоделировании межклеточного вещества [27].

MMP-8 известна как нейтрофильная коллагеназа и коллагеназа-II, которая содержится в специфических гранулах полиморфно-ядерных лейкоцитов в виде неактивного профермента. Различные агенты, такие как IL-1β и IL-8, TNFα и колониестимулирующий фактор гранулоцитов-моноцитов, стимулируют высвобождение из нейтрофилов MMP-8.

Коллагеназа-II — ключевой фермент, начинающий разрушение экстрацеллюлярного матрикса, особенно при воспалительных процессах. Кроме нейтрофилов, MMP-8 синтезируется эпителиоцитами, фибробластами десны, моноцитами, макрофагами, плазмоцитами.

Другой металлопротеиназой, играющей важную роль при развитии воспаления, является MMP-9 — это желатиназа B (коллагеназа IV типа, или коллагеназа миелоцитарных клеток). Основной функцией MMP-9 является разрушение белков внеклеточного матрикса. Физиологически MMP-9, совместно с другими MMP, играет важную роль в процессе ремо-

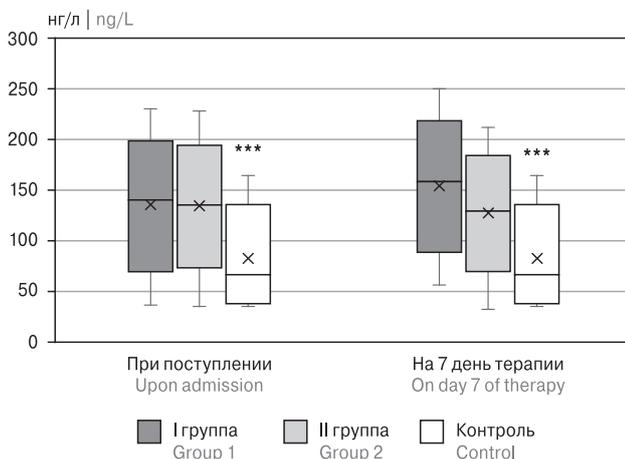


Рисунок 1. Динамика уровня MMP-8 в индуцированной мокроте у пациентов с вирусно-бактериальной пневмонией

Figure 1. Dynamics of MMP-8 level in induced sputum in patients with viral-bacterial pneumonia

Примечание. * $p < 0,05$ между исследуемыми группами и контролем; ** $p < 0,001$ между I и II группами; *** $p < 0,05$ между I и II группами.

Note. * $p < 0.05$ between the study groups and control; ** $p < 0.001$ between groups 1 and 2; *** $p < 0.05$ between groups 1 and 2.

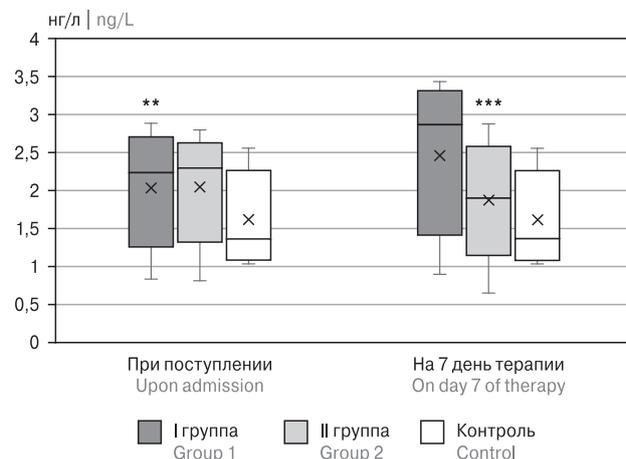


Рисунок 2. Динамика уровня MMP-9 в индуцированной мокроте у пациентов с вирусно-бактериальной пневмонией

Figure 2. Dynamics of the MMP-9 level in induced sputum from patients with viral-bacterial pneumonia

Примечание. * $p < 0,05$ между исследуемыми группами и контролем; ** $p < 0,001$ между I и II группами; *** $p < 0,05$ между I и II группами.

Note. * $p < 0.05$ between the study groups and control; ** $p < 0.001$ between groups 1 and 2; *** $p < 0.05$ between groups 1 and 2.

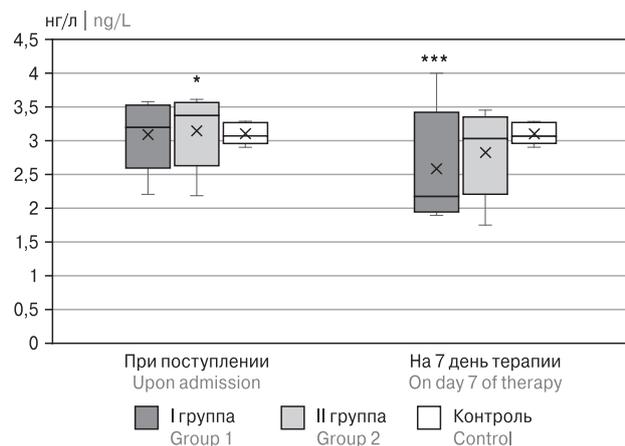


Рисунок 3. Динамика уровня TIMP-1 в индуцированной мокроте у пациентов с вирусно-бактериальной пневмонией

Figure 3. Dynamics of TIMP-1 level in induced sputum from patients with viral-bacterial pneumonia

Примечание. * $p < 0,05$ между исследуемыми группами и контролем; ** $p < 0,001$ между I и II группами; *** $p < 0,05$ между I и II группами.

Note. * $p < 0.05$ between the study groups and control; ** $p < 0.001$ between groups 1 and 2; *** $p < 0.05$ between groups 1 and 2.

делирования ткани. Повышенная экспрессия данного фермента наблюдается при ишемической болезни сердца, эмфиземе легких, пневмонии и других заболеваниях [21].

В патогенезе пневмонии MMP-9 очень важна для формирования иммунного ответа. Генерируясь различными клетками, включая кератиноциты, моноциты, тканевые макрофаги, полиморфно-ядерные лейкоциты, во время воспаления MMP-9 активирует специфические белки и способствует миграции нейтрофилов в альвеолярный компартмент для поддержания иммунного ответа, способствует генерации активных форм кислорода и повышению бактериального фагоцитоза. Однако ее гиперпродукция приводит к воспалению и повреждению тканей в патогенезе пневмонии [27].

Под влиянием MMP тканевые макрофаги и моноциты, перемещающиеся из кровеносного русла в интерстиций в соответствии с градиентом концентрации хемоаттрактанта азу-

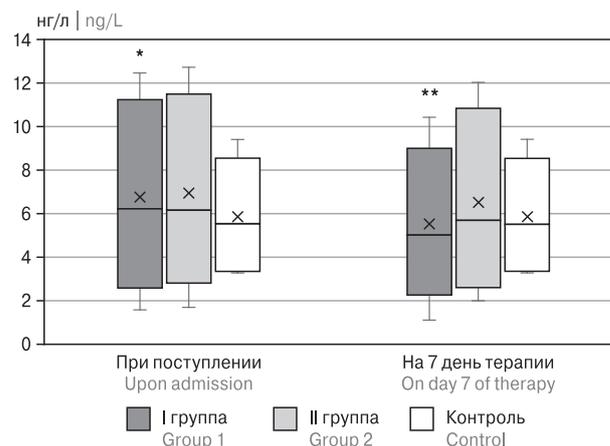


Рисунок 4. Динамика уровня TIMP-2 в индуцированной мокроте у пациентов с вирусно-бактериальной пневмонией

Figure 4. Dynamics of TIMP-2 level in induced sputum in patients with viral-bacterial pneumonia

Примечание. * $p < 0,05$ между исследуемыми группами и контролем; ** $p < 0,001$ между I и II группами; *** $p < 0,05$ между I и II группами.

Note. * $p < 0.05$ between the study groups and control; ** $p < 0.001$ between groups 1 and 2; *** $p < 0.05$ between groups 1 and 2.

роцидина, начинают секретировать мощный провоспалительный цитокин $TNF\alpha$, что привлекает дополнительные пулы нейтрофилов в зону воспаления и стимулирует их. Под действием $TNF\alpha$ макрофагов нейтрофилы выделяют эластазу. В свою очередь, эластаза и свободные радикалы кислорода стимулируют MMP, а они активируют находящийся в латентном состоянии трансформирующий фактор роста β ($TGF-\beta$), который относится к наиболее мощным хемоаттрактантам для нейтрофилов, что способствует формированию порочного круга с хронизацией и исходом в фиброз.

В проведенном исследовании было продемонстрировано, что сочетанное использование антибактериального препарата Цефтриаксон и иммуномодулятора Кагоцел в лечении ВБП приводило к снижению повышенных уровней MMP. Причем более выраженное влияние Кагоцел оказывал на уровень MMP-9. Ранее экспериментально было установлено подобное

Таблица 2. Коэффициенты соотношения уровней MMP-8 и MMP-9 к их тканевым ингибиторам TIMP-1 и TIMP-2 у пациентов с вирусно-бактериальной пневмонией в динамике при поступлении и на 7 сутки терапии

Table 2. A dynamic changes in ratio between levels of MMP-8 and MMP-9 as well as relevant tissue inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 in patients with viral-bacterial pneumonia in dynamics upon admission and on day 7 of therapy

	I группа/Group 1	II группа/Group 2	Контроль/Control
При поступлении/On admission	15,15 (12,63; 20,30)*	14,48 (11,45; 20,52)*	7,86 (5,40; 8,20)
7 сутки терапии/Day 7 of therapy	22,43 (18,65; 26,80)*	15,01 (10,0; 16,78)*,**	

Примечание. * $p < 0,001$ между исследуемыми группами и контролем; ** $p < 0,05$ между I и II группами.

Note. * $p < 0.001$ between the study groups and control; ** $p < 0.05$ between groups 1 and 2.

ингибирующее влияние на ММР-9 при вирусной инфекции препарата Доксциклин [28].

Несмотря на то, что на 7-е сутки терапии ММР-9 во II группе еще оставался выше показателей контроля, расцениваем это как необходимую адаптивную реакцию для продолжения стимуляции секреции TNF α и других цитокинов фагоцитирующими клетками в очаге легочного воспаления.

В группе без назначения Кагоцела ММР-8 и ММР-9 продолжали нарастать, приводя к еще большему повреждению легочной ткани, а также к возможному быстрому истощению функционального резерва клеток иммунной системы. При этом, несмотря на увеличивающийся к 7-м суткам терапии уровень ММР в I группе, происходило достоверное снижение уровней TIMP-1 и TIMP-2.

В организме активность ММР контролируется TIMP, которые часто продуцируются одновременно и рядом с самими ММР. Механизм действия всех TIMP сходен: они прочно связываются с металлопротеиназами и необратимо инактивируют их. Соотношение TIMP-1 и ММР в таком комплексе составляет 1:1. Известно, что к коллагеназам ММР-8 специфичны и TIMP-1 и TIMP-2, к желатиназам и коллагеназам ММР-9 — TIMP-2. Нарушение баланса между синтезом и деградацией компонентов межклеточного матрикса является одной из основных причин выраженной структурной деградации тканевого матрикса, значимо тормозит пролиферативные процессы в тканях и служит причиной неблагоприятных исходов воспаления. В связи с этим мы оценили соотношение ММР к TIMP при развитии вирусно-бактериального воспаления в легких (табл. 2). Показано, что и при поступлении на стационарное лечение, и к 7-м суткам терапии в обеих группах больных соотношение ММР к TIMP было выше, чем в группе здоровых лиц ($p < 0,05$). Однако на 7-е

сутки терапии в группе пациентов, получавших только Цефтриаксон, данное соотношение увеличивалось ($p < 0,05$), тогда как в группе пациентов с комбинированным лечением (Цефтриаксон и Кагоцел) мы не зафиксировали нарастания индекса. Считаем, что данное наблюдение является хорошим прогностическим признаком, свидетельствующим о контролируемом повреждении межклеточного матрикса ткани легкого при вирусно-бактериальном воспалении, что сказалось на более быстром выздоровлении пациентов с подключением иммуномодулятора в лечение.

Выводы

При внебольничной вирусно-бактериальной пневмонии происходит значительное увеличение матриксных металлопротеиназ (ММР-8 и ММР-9) в мокроте, что способствует поддержанию активности нейтрофильного воспаления.

Продукция тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ (TIMP-1 и TIMP-2) в мокроте, как в дебюте заболевания, так и на 7-е сутки терапии, не увеличивается адекватно нарастанию уровня металлопротеиназ, приводя к выраженной структурной деградации тканевого матрикса легочной ткани, что потенциально опасно развитием фиброза легких.

Включение в стандартную антибактериальную схему терапии противовирусного препарата Кагоцел снижает уровень ММР-9 и уменьшает выраженность дисбаланса в системе ММР и TIMP на 7-е сутки терапии, что приводит к более быстрому клиническому выздоровлению пациента.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы/References

1. Авдеев С.Н., Белобородов В.Б., Белоцерковский Б.З., Грицан А.И., Дехнич А.В., Зайцев А.А., Киров М.Ю., Козлов Р.С., Кузьков В.В., Проценко Д.Н., Рачина С.А., Синопальников А.И., Яковлев С.В., Ярошецкий А.И. Тяжелая внебольничная пневмония у взрослых. Клинические рекомендации Федерации анестезиологов и реаниматологов России // *Анестезиология и реаниматология*. 2022. № 1. С. 6–35. [Avdeev S.N., Beloborodov V.B., Belotserkovskiy B.Z., Gritsan A.I., Dekhnych A.V., Zaytsev A.A., Kirov M.Yu., Kozlov R.S., Kuzkov V.V., Protsenko D.N., Rachina S.A., Sinopalnikov A.I., Yakovlev S.V., Yaroshetskiy A.I. Severe community-acquired pneumonia in adults. Clinical recommendations from Russian Federation of Anaesthesiologists and Reanimatologists. *Anesteziologija i reanimatologija = Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology*, 2022, no. 1, pp. 6–35. (In Russ.)] doi: 10.17116/anaesthesiology20220116
2. Галимова Л.Ф., Пикуза О.И., Закирова А.М., Сулейманова З.Я. Особенности цитокинового профиля при внебольничной пневмонии у детей, вызванной атипичными возбудителями // *Репродуктивное здоровье детей и подростков*. 2017. № 2–3. С. 54–62. [Galimova L.F., Pikuza O.I., Zakirova A.M., Suleymanova Z.Ya. Features of the cytokine profile in community-acquired pneumonia in children caused by atypical pathogens. *Reproduktivnoe zdorov'e detej i podrostkov = Pediatric and Adolescent Reproductive Health*, 2017, no 2–3, pp. 54–62. (In Russ.)]
3. Зайцев А.А. Внебольничная пневмония: диагностика, антимикробная терапия и вакцинопрофилактика // *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2017. № 6. С. 62–71. [Zaytsev A.A. Community-acquired pneumonia: diagnosis, antimicrobial therapy and vaccine prevention. *Infekcionnye bolezni: novosti, mnenija, obuchenie = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2017, no. 6, pp. 62–71. doi: 10.24411/2305-3496-2017-00006 (In Russ.)]

4. Корецкая Н.А., Вавилова Т.П., Ткачев Г.А. Исследование количества проММП1, ТИМП1 и цистатина С в бронхоальвеолярном секрете пациентов с неспецифическими заболеваниями легких // Клиническая лабораторная диагностика. 2012. № 3. С. 10–13. [Koretskaya N.A., Vavilova T.P., Tkachev G.A. Study of the amount of proMMP1, TIMP1 and cystatin C in the bronchoalveolar secretion of patients with nonspecific lung diseases. *Klinicheskaja laboratornaja diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2012, no. 3, pp. 10–13. (In Russ.)]
5. Лоскутов О.А., Дружина А.Н., Колесников В.Г. Противовирусная и антибактериальная терапия в лечении внебольничных пневмоний // Медицина неотложных состояний. 2016. № 3. С. 28–34. [Loskutov O.A., Druzhina A.N., Kolesnikov V.G. Antiviral and antibacterial therapy in the treatment of community-acquired pneumonia. *Medicina neotlozhnyh sostojanij = Emergency Medicine*, 2016, no. 3, pp. 28–34. (In Russ.)]
6. Мироманова Н.А., Мироманов А.М. Изменения в системе «матриксные металлопротеазы — ингибитор матриксных металлопротеаз» при гриппе у детей // Фундаментальные исследования. 2014. № 10–2. С. 328–332. [Miromanova N.A., Miromanov A.M. Changes in the system “matrix metal proteases — inhibitor of matrix metal proteases” in children with influenza. *Fundamental'nye issledovanija = Fundamental Research*, 2014, no. 10–2, pp. 328–332. (In Russ.)]
7. Михеев А.В., Баскевич М.А. Роль матриксных металлопротеиназ в развитии заболеваний легких // Наука молодых. 2015. № 1. С. 106–115. [Mikheev A.V., Baskevich M.A. The role of matrix metalloproteinases in the development of lung diseases. *Nauka molodyh = Eruditio Juvenium*, 2015, no. 1, pp. 106–115. (In Russ.)]
8. 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. [On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2019: State report. *Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Welfare*, 2020. 299 p. (In Russ.)]
9. Попов А.Ф., Маркелова Е.В., Комарова И.А., Костюшко А.В., Симакова А.И., Щелканов М.Ю. Влияние Кагоцела на уровень ИЛ-10 и ФНО- α при комбинированном лечении внебольничной вирусно-бактериальной пневмонии // Медицинский алфавит. 2020. № 2 (21). С. 63–68. [Popov A.F., Markelova E.V., Komarova I.A., Kostyushko A.V., Simakova A.I., Shchelkanov M.Yu. Influence of Kagocel on the level of IL-10 and TNF- α in the combined treatment of community-acquired viral-bacterial pneumonia. *Medicinskij alfavit = Medical Alphabet*, 2020, no. 2 (21), pp. 63–68. (In Russ.)] doi: 10.33667/2078-5631-2019-2-27(402)-14-18
10. Попов А.Ф., Симакова А.И., Комарова И.А. Эффективность применения противовирусного препарата Кагоцел® в комплексном лечении вирусно-бактериальных пневмоний в условиях стационара // Медицинский алфавит. 2019. № 2(27). С. 14–18. [Popov A.F., Simakova A.I., Komarova I.A. The effectiveness of the use of the antiviral drug Kagocel® in the complex treatment of viral-bacterial pneumonia in a hospital setting. *Medicinskij alfavit = Medical Alphabet*, 2019, no. 2 (27), pp. 14–18. (In Russ.)] doi: 10.33667/2078-5631-2019-2-27(402)-14-18
11. Рачина С.А., Бобылев А.А. Атипичные возбудители внебольничной пневмонии: от эпидемиологии к особенностям диагностики и лечения // Практическая пульмонология. 2016. № 2. С. 20–28. [Rachina S.A., Bobylev A.A. Atypical pathogens of community-acquired pneumonia: epidemiology, diagnosis and treatment. *Prakticheskaja pul'monologija = Practical Pulmonology*, 2016, no. 2, pp. 20–28. (In Russ.)]
12. Рачина С.А., Захаренков И.А., Яцышина С.Б., Бобылев А.А., Хрулева Ю.В. Антибактериальная терапия тяжелой внебольничной пневмонии у взрослых — нужны ли новые препараты? // Антибиотики и химиотерапия. 2019. Т. 64, № 3–4. С. 38–47. [Rachina S.A., Zakharenkov I.A., Yatsyshina S.B., Bobylev A.A., Khruleva Y.V. Antibacterial therapy of severe community-acquired pneumonia in adults — is there a need for new drugs? *Antibiotiki i himioterapija = Antibiotics and Chemotherapy*, 2019, no. 64 (3–4), pp. 38–47. (In Russ.)]
13. Рачина С.А., Синопальников А.И. Клинические рекомендации по внебольничной пневмонии у взрослых: что нас ждет в 2019 г. // Практическая пульмонология. 2018. № 3. С. 8–12. [Rachina S.A., Sinopalnikov A.I. Clinical practice guidelines for community-acquired pneumonia in adults: what awaits us in 2019. *Prakticheskaja pul'monologija = Practical Pulmonology*, 2018, no. 3, pp. 8–12. (In Russ.)]
14. Сергеева И.В. Применение препарата Кагоцел в комплексной терапии гриппа // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 5. [Sergeeva I.V. The use of the drug Kagocel in the complex therapy of influenza. *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija = Modern Problems of Science and Education*, 2016, no. 5. (In Russ.)]
15. Сологуб Т.В. Грипп в современных условиях: противовирусная терапия прямого действия // Медицинский Совет. 2015. № 4. [Sologub T.V. Influenza in modern conditions: direct antiviral therapy. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, 2015, no. 4. (In Russ.)]
16. Сологуб Т.В., Цветков В.В. Кагоцел в терапии гриппа и острых респираторных вирусных инфекций: анализ и систематизация данных по результатам доклинических и клинических исследований // Терапевтический архив. 2017. № 8. С. 113–119. [Sologub T.V., Tsvetkov V.V. Kagocel in the treatment of influenza and acute respiratory viral infections: analysis and systematization of data based on the results of preclinical and clinical studies. *Terapevicheskij arhiv = Therapeutic Archive*, 2017, no. 8, pp. 113–119. (In Russ.)] doi: 10.17116/terarkh2017898113-119
17. Турна А.А., Тогузов Р.Ф., Турусина Т.А., Никонова Е.В. Матриксные металлопротеиназы в диагностике пневмонии // Клиническая геронтология. 2009. № 6–7. С. 22–25. [Turna A.A., Toguzov R.T., Turusina T.A., Nikonova E.V. Matrix metalloproteinases in the diagnosis of pneumonia. *Klinicheskaja gerontologija = Clinical Gerontology*, 2009, no. 6–7, pp. 22–25. (In Russ.)]
18. Чучалин А.Г. Респираторная медицина: в 3 т. Т. 1: руководство. Под ред. А. Г. Чучалина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. 640 с. [Chuchalin A.G. Respiratory medicine: in 3 vol. Vol. 1: manual. Ed. by A.G. Chuchalin. *Moscow: GEOTAR-Media*, 2017. 640 p. (In Russ.)]
19. Bjarnason A., Westin J., Lindh M., Lindh M., Andersson L.M., Kristinsson K.G., Löve A., Baldursson O., Gottfredsson M. Incidence, etiology, and outcomes of community-acquired pneumonia: a population-based study. *Open Forum Infect. Dis.*, 2018, vol. 5, no. 2: ofy010. doi: 10.1093/ofid/ofy010
20. Chiang T.Y., Tsao S.M., Yeh C.B., Yang S.F. Matrix metalloproteinases in pneumonia. *Clin. Chim. Acta*, 2014, no. 433, pp. 272–277. doi: 10.1016/j.cca.2014.03.031

21. Chiang T.Y., Yu Y.L., Lin C.W., Tsao S.M., Yang S.F., Yeh C.B. The circulating level of MMP-9 and its ratio to TIMP-1 as a predictor of severity in patients with community-acquired pneumonia. *Clin. Chim. Acta*, 2013, vol. 23, no. 424, pp. 261–266. doi: 10.1016/j.cca.2013.06.013
22. Choi S.H., Hong S.B., Ko G.B., Lee Y., Park H.J., Park S.Y., Moon S.M., Cho O.H., Park K.H., Chong Y.P., Kim S.H., Huh J.W., Sung H., Do K.H., Lee S.O., Kim M.N., Jeong J.Y., Lim C.M., Kim Y.S., Woo J.H., Koh Y. Viral infection in patients with severe pneumonia requiring intensive care unit admission. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2012, no. 186, pp. 325–332. doi: 10.1164/rccm.201112-2240OC
23. De Roux A., Ewig S., Garcia E., Marcos M.A., Mensa J., Lode H., Ilumets A.T. Mixed community-acquired pneumonia in hospitalized patients. *Eur. Respir. J.*, 2006, no. 27, pp. 795–800. doi: 10.1183/09031936.06.00058605
24. Hartog C.M., Wermelt J.A., Sommerfeld C.O., Eichler W., Dalhoff K., Braun J. Pulmonary matrix metalloproteinase excess in hospital-acquired pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2003, no. 167(4), pp. 593–598. doi: 10.1164/rccm.200203-258OC
25. Ilumets H., Ryttilä P., Demedts I., Brusselle G.G., Sovijärvi A., Myllärniemi M., Sorsa T., Kinnula V.L. Matrix metalloproteinases -8, -9 and -12 in smokers and patients with stage 0 COPD. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.*, 2007, vol. 2, no. 3, pp. 369–379.
26. Johansson N., Kalin M., Tiveljung-Lindell A., Giske C.G., Hedlund J. Etiology of community-acquired pneumonia: increased microbiological yield with new diagnostic methods. *Clin. Infect. Dis.*, 2010, no. 50, pp. 202–209. doi: 10.1086/648678
27. Li Y.T., Wang Y.C., Lee H.L., Lu M.C., Yang S.F. Elevated plasma matrix metalloproteinase-9 and its correlations with severity of disease in patients with ventilator-associated pneumonia. *Int. J. Med. Sci.*, 2016, vol. 13, no. 8, pp. 638–645. doi: 10.7150/ijms.16187
28. Ng H.H., Narasaraju T., Phoon M.C., Sim M.K., Seet J.E., Chow V.T. Doxycycline treatment attenuates acute lung injury in mice infected with virulent influenza H3N2 virus: involvement of matrix metalloproteinases. *Exp. Mol. Pathol.*, 2012, vol. 92, no. 3, pp. 287–295. doi: 10.1016/j.yexmp.2012.03.003
29. Pavia A.T. What is the role of respiratory viruses in community-acquired pneumonia? What is the best therapy for influenza and other viral causes of community-acquired pneumonia? *Infect. Dis. Clin. N. Am.*, 2013, no. 27, pp. 157–175. doi: 10.1016/j.idc.2012.11.007
30. Popov T.A., Pizzichini M.M., Pizzichini E., Kolendovicz R., Punthakee Z., Dolovich J., Hargreave F.E. Some technical factors influencing the induction of sputum for cell analysis. *Ibid.*, 1995, vol. 8, pp. 559–565.
31. Rendon A., Rendon-Ramirez E.J., Rosas A.G. Relevant cytokines in the management of community-acquired pneumonia. *Curr. Infect. Dis. Rep.*, 2016, vol. 18, no. 3: 10. doi: 10.1007/s11908-016-0516-y
32. Torres A., Blasi F., Peetermans W.E., Viegi G., Welte T. The aetiology and antibiotic management of community-acquired pneumonia in adults in Europe: a literature review. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2014, vol. 33, no. 7, pp. 1065–1079. doi: 10.1007/s10096-014-2067-1
33. Welte T., Torres A., Nathwani D. Clinical and economic burden of community-acquired pneumonia among adults in Europe. *Thorax*, 2012, vol. 67, no. 1, pp. 71–79. doi: 10.1136/thx.2009.129502

Авторы:

Попов А.Ф., д.м.н., профессор кафедры эпидемиологии и военной эпидемиологии ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Владивосток, Россия; профессор Дальневосточного федерального университета, г. Владивосток, Россия;
Маркелова Е.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Владивосток, Россия;
Комарова И.А., ассистент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Владивосток, Россия;
Костюшко А.В., к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Владивосток, Россия;
Щелканов М.Ю., д.б.н., доцент, директор НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия; зав. лабораторией вирусологии Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения РАН, г. Владивосток, Россия; руководитель Международного научно-образовательного Центра биологической безопасности Дальневосточного федерального университета, г. Владивосток, Россия.

Authors:

Popov A.F., PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Epidemiology and Military Epidemiology, Pacific State Medical University, Ministry of Health of Russia, Vladivostok, Russian Federation; Professor of the Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation;
Markelova E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Ministry of Health of Russia, Vladivostok, Russian Federation;
Komarova I.A., Assistant Professor, Department of Infectious Diseases, Pacific State Medical University, Ministry of Health of Russia, Vladivostok, Russian Federation;
Kostiushko A.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Ministry of Health of Russia, Vladivostok, Russian Federation;
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 Virology, Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation; Head of the International Research and Educational Center of Biological Security, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation.

Поступила в редакцию 23.01.2021
 Отправлена на доработку 31.10.2021
 Принята к печати 03.11.2021

Received 23.01.2021
 Revision received 31.10.2021
 Accepted 03.11.2021

ДИАГНОСТИКА СИНДРОМА АКТИВАЦИИ МАКРОФАГОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСХОДНОГО УРОВНЯ IL-6 У ПАЦИЕНТОВ С НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ SARS-CoV-2

С.А. Перепелица^{1,2}

¹ ФГАОУ ВО Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, г. Калининград, Россия

² НИИ общей реаниматологии имени В.А. Неговского ФГБНУ «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии», Москва, Россия

Резюме. *Введение.* Новая коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, остается главной проблемой, на изучение которой направлены все усилия мирового научного сообщества. Накоплен большой клинический материал, позволяющий более эффективно проводить лечение пациентов, но еще существуют не решенные вопросы патогенеза развития и течения заболевания. *Материалы и методы.* В исследование включено 163 пациента, поступивших в инфекционный стационар с установленным диагнозом «Новая коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2». При поступлении всем больным в сыворотке крови определялся уровень IL-6. В зависимости от его величины проведено разделение на три группы: А — 55 пациентов, у которых в сыворотке крови определялась концентрация IL-6 — менее 5,0 пг/мл. Средний возраст в группе составлял 57,3±14,9 лет, индекс массы тела (ИМТ) — 28,2±5,6 кг/м²; В — 52 пациента, у которых уровень IL-6 в сыворотке крови находился в диапазоне 5–49 пг/мл. Средний возраст в группе составлял 60,8±11,8 лет, ИМТ — 29,6±5,5 кг/м²; С — 56 пациентов, у которых уровень IL-6 в сыворотке крови находился в диапазоне 50–300 пг/мл. Средний возраст в группе составлял 62,5±15,6 лет, ИМТ — 28,8±5,6 кг/м². Пациентам при поступлении в сыворотке крови определяли IL-6, IL-8, а С-реактивный белок (СРБ), ферритин, лактатдегидрогеназа (ЛДГ) определяли также на 3, 7 сутки. *Результаты.* Минимальной продукции IL-6, в диапазоне 0,1–5 пг/мл, соответствуют минимальные изменения IL-8, СРБ, а продукция ферритина и ЛДГ находится в интервале физиологических значений. Умеренная цитокинемия — IL-6 находится в диапазоне 5–49 пг/мл — ассоциирована с повышенным ферритином и ЛДГ без тенденции к снижению к окончанию лечения. Значительная цитокинемия — уровень IL-6 находится в диапазоне 50–300 пг/мл — ассоциирована с гиперферритинемией и повышением ЛДГ. Течение новой коронавирусной инфекции у этих пациентов характеризуется повышением ферритина к 3-м суткам лечения, стабильно высоким уровнем ЛДГ, без существенной тенденции к снижению исследуемых маркеров к окончанию лечения. *Заключение.* Риск развития синдрома активации макрофагов отсутствует при уровне IL-6 в сыворотке крови менее 5 пг/мл, ферритин и ЛДГ находятся в диапазоне физиологических значений, ОДН отсутствует или имеются признаки ОДН I степени. Для умеренного синдрома активации макрофагов характерны повышение IL-6 в диапазоне от 5

Адрес для переписки:

Перепелица Светлана Александровна
236041, Россия, г. Калининград, ул. А. Невского, 14,
ФГАОУ ВО Балтийский федеральный университет
имени Иммануила Канта.
Тел.: 8 (4012) 46-15-30.
E-mail: sveta_perepeliza@mail.ru

Contacts:

Svetlana A. Perepelitsa
236041, Russian Federation, Kaliningrad, A. Nevskiy str., 14,
Immanuel Kant Baltic Federal University.
Phone: +7 (4012) 46-15-30.
E-mail: sveta_perepeliza@mail.ru

Для цитирования:

Перепелица С.А. Диагностика синдрома активации макрофагов в зависимости от исходного уровня IL-6 у пациентов с новой коронавирусной инфекцией, вызванной вирусом SARS-CoV-2 // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4. С. 677–687. doi: 10.15789/2220-7619-DOM-1905

Citation:

Perepelitsa S.A. Diagnostics of macrophage activation syndrome, depending on IL-6 initial level in patients with a novel coronavirus infection // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 677–687. doi: 10.15789/2220-7619-DOM-1905

до 49 пг/мл, умеренное повышение ЛДГ и ферритина, наличие признаков ОДН I–II степени. Выраженные признаки диагностируются при уровне IL-6 в сыворотке крови более 50 пг/мл и сопровождаются значительным повышением ЛДГ и ферритина, признаками ОДН II–III степени.

Ключевые слова: коронавирус, интерлейкины, воспалительный ответ, ферритин, пневмония, дыхательная недостаточность, селезенка, микроспления.

DIAGNOSTICS OF MACROPHAGE ACTIVATION SYNDROME, DEPENDING ON IL-6 INITIAL LEVEL IN PATIENTS WITH A NOVEL CORONAVIRUS INFECTION

Perepelitsa S.A.^{a,b}

^a Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

^b V.A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, Moscow, Russian Federation

Abstract. Introduction. The novel coronavirus infection caused by the SARS-CoV-2 remains the main problem, which is being studied by all the efforts of the global scientific community. Large clinical recourse has been accumulated that allows to conduct more effective treatment of patients, but there are still unresolved issues on the pathogenesis for development and course of the disease. **Materials and methods.** The study included 163 patients admitted to the infectious diseases hospital diagnosed with “Novel coronavirus infection caused by the SARS-CoV-2”. Upon admission, all patient serum samples were quantified for IL-6 level that allowed to stratify patients into three groups: A — 55 patients with IL-6 below 5.0 pg/ml. The mean age in the group was 57.3±14.9 years, body mass index (BMI) was 28.2±5.6 kg/m²; C — 52 patients whose serum IL-6 level was in the range of 5–49 pg/ml. The average age in the group was 60.8±11.8 years, BMI — 29.6±5.5 kg/m²; C — 56 patients in whom the level of IL-6 in the blood serum ranged within 50–300 pg/ml. The average age in the group was 62.5±15.6 years, BMI — 28.8±5.6 kg/m². Patients at admission were analysed for serum level of IL-6, IL-8, and C-reactive protein (CRP), ferritin, lactate dehydrogenase (LDH) were also determined on day 3 and 7. **Results.** The minimum production of IL-6 within the range of 0.1–5 pg/ml, corresponds to the minimum changes in IL-8, CRP, and ferritin as well as LDH that was within the range of physiological values. Moderate cytokinemia, IL-6 is within the range of 5–49 pg/ml was associated with elevated ferritin and LDH not tending to decline by the end of treatment. Significant cytokinemia, the level of IL-6 within the range of 50–300 pg/ml was associated with hyperferritinemia and increased LDH. The course of COVID-19 in such patients is characterized by increased ferritin by day 3 of treatment, consistently high level of LDH, without a significant trend towards a decline in the studied markers by the end of treatment. **Conclusion.** The risk of developing macrophage activation syndrome is not observed of the serum IL-6 level was below 5 pg/ml, whereas ferritin and LDH were within the range of physiological values, with no/degree I ARF. Moderate macrophage activation syndrome is characterized by increased serum IL-6 level within the range 5–49 pg/ml, a moderate increase in LDH and ferritin, as well as signs of ARF I–II degree. Severe signs are diagnosed in case of serum IL-6 level exceeded 50 pg/ml, along with significant increase in LDH and ferritin, as well as signs of II–III degree ARF.

Key words: coronavirus, interleukins, inflammatory response, ferritin, pneumonia, respiratory failure, spleen, microsplenitis.

Введение

Новая коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, остается главной проблемой, на изучение которой направлены все усилия мирового научного сообщества. Накоплен большой клинический материал, позволяющий более эффективно проводить лечение пациентов, но еще существуют нерешенные вопросы патогенеза развития и течения заболевания. В настоящее время идет активный поиск прогностических критериев, изучая которые можно будет выделять группы пациентов, которым угрожает тяжелое течение заболевания или летальный исход [5, 30, 34].

Известно, что при тяжелой форме COVID-19 возникает иммунный дистресс, приводящий к неконтролируемой организмом избыточной продукции некоторых цитокинов и медиаторов воспаления. В частности, установлено,

что повышение интерлейкина-6 (IL-6) и фактора некроза опухоли-α (TNFα) характерно для пациентов с тяжелым течением заболевания и смертностью [17, 18, 46]. По сравнению со среднетяжелым течением, в тяжелых случаях у пациентов чаще наблюдаются одышка, высокие уровни IL-2R, IL-6, IL-10 и TNFα, а также лактатдегидрогеназы (ЛДГ), С-реактивного белка (СРБ), ферритина и D-димера [3, 9].

С-реактивный белок известен как универсальный маркер воспаления, имеющий наибольшее значение при бактериальной инфекции и пневмониях [12, 24]. Последние исследования показали его роль в патогенезе новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2. В работе G. Wang и соавт. установлена прямая положительная корреляционная связь между уровнем СРБ и поражением легких на ранней стадии болезни: чем он выше, тем больше повреждение легких и тяже-

лее течение заболевания. Концентрация СРБ 26,9 мг/мл в сыворотке крови может считаться потенциальным предиктором прогрессирования заболевания [40].

Гиперцитокинемия, повышенный уровень ферритина, D-димера, С-реактивного белка являются диагностическими критериями синдрома активации макрофагов, который характерен для тяжелого течения COVID-19 [21, 28, 50]. В работе S.T. Onur и соавт. показано, что ферритин, являющийся индикатором системного воспаления, может быть предиктором тяжести заболевания и смертности, так как средний уровень ферритина в сыворотке крови значительно ($p < 0,01$) выше в группе умерших пациентов, по сравнению контролем (233,3 нг/мл против 451,25 нг/мл) [30].

Еще одним биомаркером, значительно изменяющимся при COVID-19, является фермент ЛДГ, который находится в виде изоферментов в кардиомиоцитах, эритроцитах и почках, пневмоцитах, поперечнополосатой мускулатуре, ретикулоэндотелиальной системе, поджелудочной железе, печени. Прямое вирусное повреждение клеток, начавшееся воспаление, гиперцитокинемия вызывают высвобождение ЛДГ [27]. В легочной ткани ЛДГ присутствует в виде изофермента-3, и, вследствие повреждения пневмоцитов у пациентов с тяжелой интерстициальной пневмонией, вызванной вирусом COVID-19, повышается продукция фермента на уровне тканей и в крови [49]. Считается, что ЛДГ в совокупности с повышенными уровнями интерлейкинов, СРБ, ферритина может быть прогностическим критерием степени тяжести заболевания. Также тяжесть заболевания может быть предсказана с помощью таких лабораторных критериев, как лимфопения, нейтрофилия, гипоальбуминемия, а также повышение СРБ [23, 32], D-димера, IL-6, ферритина [22, 32, 50].

Основной патофизиологический механизм COVID-19 заключается в том, что вирус SARS-CoV-2 связывается на клеточной мембране и проникает в клетки-мишени, вызывая местное, системное воспаление и иммунные реакции. Результаты патологоанатомических исследований показали, что патологические изменения возникают не только в легких, но и в селезенке, костном мозге, сердце, сосудах, печени и других органах [4, 45, 48]. Селезенка активно вовлекается в инфекционный процесс при новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, и играет важнейшую роль в патогенезе заболевания. Исследования показали, что при попадании вируса в селезенку, запускается серия иммунных ответов и происходит высвобождение ряда цитокинов. Повреждаются не только иммунные клетки

селезенки, но и лимфатических узлов, и других лимфоидных тканей [14, 15, 44]. Результаты аутопсии показывают, что у пациентов, умерших от COVID-19, объем селезенки значительно уменьшен [44].

Клинический опыт показывает, что COVID-19 очень неоднороден, течение заболевания варьирует от бессимптомных и легких форм до тяжелого состояния, вплоть до летального исхода.

Цель исследования — изучить вероятность развития и диагностические критерии синдрома активации макрофагов в зависимости от исходного уровня IL-6 у пациентов с новой коронавирусной инфекцией, вызванной вирусом SARS-CoV-2.

Материалы и методы

Данное ретроспективное исследование было одобрено Независимым этическим комитетом Центра клинических исследований ФГАОУ ВО «БФУ им. И. Канта» (выписка из Протокола заседания НЭК № 23 от 27.04.2021 г.) и выполнено в ГБУЗ «Инфекционная больница Калининградской области». В исследование включено 163 пациента, поступивших в инфекционный стационар с установленным диагнозом «Новая коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2». Во всех случаях целенаправленное вирусологическое исследование проведено в амбулаторных условиях, в анализируемых образцах биологического материала обнаружен фрагмент РНК, специфичный для коронавируса SARS-CoV-2.

Лечение начиналось в амбулаторных условиях, но без клинического эффекта, что послужило поводом для госпитализации в инфекционный стационар. При поступлении всем больным определялся уровень IL-6, в зависимости от его величины проведено разделение на три группы:

- А — 55 пациентов, у которых в сыворотке крови определялась концентрация IL-6 менее 5 пг/мл. Средний возраст в группе составлял $57,3 \pm 14,9$ лет, масса тела — $80,6 \pm 17$ кг, рост — $168,9 \pm 8,9$ см, индекс массы тела (ИМТ) — $28,2 \pm 5,6$ кг/м². Длительность заболевания на момент поступления в стационар составляла $7,2 \pm 3,7$ суток.
- В — 52 пациента, у которых уровень IL-6 в сыворотке крови находился в диапазоне 5–49 пг/мл. Средний возраст в группе составлял $60,8 \pm 11,8$ лет, масса тела — $83,3 \pm 18,7$ кг, рост — $167,5 \pm 9,7$ см, ИМТ — $29,6 \pm 5,5$ кг/м². Длительность заболевания на момент поступления в стационар составляла $7,5 \pm 3,4$ суток.
- С — 56 пациентов, у которых уровень IL-6 в сыворотке крови находился в диапазоне 50–

300 пг/мл. Средний возраст в группе составлял $62,5 \pm 15,6$ лет, масса тела — $84,1 \pm 20,0$ кг, рост — $170,4 \pm 11,1$ см, ИМТ — $28,8 \pm 5,6$ кг/м². Длительность заболевания на момент поступления в стационар составляла $7,7 \pm 4,1$ суток.

По антропометрическим характеристикам, длительности заболевания на момент поступления статистически значимых отличий между группами не выявлено ($p > 0,05$).

Лечение больных в стационаре осуществлялось в соответствии с временными методическими рекомендациями «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Министерства здравоохранения Российской Федерации, действующими на момент госпитализации.

В работе использовались следующие методы:

1. Определение уровня ИЛ-6 в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа. Использовался набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации ИЛ-6 в сыворотке крови и моче «Интерлейкин-6-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Россия). Исследование проведено в первые сутки поступления пациентов в стационар.

2. Определение концентрации ИЛ-8 в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа. Использовался набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации ИЛ-8 в сыворотке крови и моче «Интерлейкин-8-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Россия). Исследование проведено в первые сутки поступления пациентов в стационар.

3. Определение концентрации СРБ в сыворотке крови с помощью набора реактивов производства BioSystems S.A. (Испания) на анализаторе ВА 400 той же фирмы.

4. Определение концентрации ферритина в сыворотке крови с помощью набора реактивов производства BioSystems S.A. (Испания) на анализаторе ВА 400 той же фирмы.

5. Определение концентрации ЛДГ в сыворотке крови с помощью набора реактивов производства BioSystems S.A. (Испания) на анализаторе ВА 400 той же фирмы.

6. Исследование СРБ, ферритина и ЛДГ проводилось в 1-е, 3-и, 7-е сутки лечения в стационаре, что соответствовало 1, 2 и 3 точкам исследования.

7. Ультразвуковое исследование проводилось на аппарате Aixplorer (SuperSonic Imagine, Франция) конвексным датчиком с частотой датчика 1–6 МГц. Во время исследования измерялись линейные селезенки (длина, ширина и толщина) в двух взаимно-перпендикулярных плоскостях. На основании морфометрических данных произведены расчеты массы селезенки и коэффициентов по методике О.В. Возгомент и соавт. Расчет массы селезенки (M_c) проведен

по формуле: $M_c = 0,34 \times L2h$, где L — длина селезенки, h — толщина селезенки (в см). Расчет коэффициента массы селезенки (КМС) проведен по формуле: $1000m/\text{масса тела}$ (в граммах), где m — масса селезенки [1].

8. Статистический анализ проводили с использованием пакета программ «Statistica 10.0» (StatSoft Inc., США). Применялись методы параметрической и непараметрической статистики. Проверка выборок на нормальность распределения проводилась с помощью критерия Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллефорса. Для выборок, согласованных с нормальным распределением, использовали среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (SD). Для количественных признаков, не подчиняющихся нормальному закону распределения, определяли медиану (Me) и межквартильный размах ($Q1; Q3$). Различия между двумя числовыми выборками, имеющие признаки негауссовского распределения, определялись при помощи критерия Манна–Уитни, а для сравнения связанных выборок использовали критерий Вилкоксона. Для попарного сравнения зависимых выборок, не подчиняющихся нормальному закону распределения, применялся непараметрический критерий Вилкоксона. Качественные показатели анализировались путем вычисления доли наблюдений (в процентах). Сравнение групп по качественному признаку проводилось с помощью критерия χ^2 или точного критерия Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты

При поступлении в стационар исследованы концентрации двух основных интерлейкинов, участвующих в инициации цитокинового шторма. Концентрация ИЛ-6 статически значимо отличалась между группами (рис. 1). Если у пациентов группы А регистрировалось следовое содержание ИЛ-6, медиана составляла $0,9 [0,1; 2,5]$ пг/мл, то в группе В уровень цитокина статистически значимо повышен ($p = 0,0000$) до $11,5 [8,6; 20,4]$ пг/мл. Статистически значимая цитокинемия характерна для больных группы С, по сравнению с группами А и В ($p = 0,0000$), в ней медиана достигла $300 [121,3; 300]$ пг/мл.

Результаты исследования ИЛ-8 в группах представлены на рис. 2. У пациентов группы А определялась минимальная концентрация исследуемого цитокина, его медиана составляла $3,6 [1,7; 8,4]$ пг/мл, в группах В и С зарегистрировано повышение ИЛ-8 соответственно до $10 [2,8; 9,5]$ пг/мл и $11,1 [5,4; 15,9]$ пг/мл. Выявленные отличия являются статистически значимыми ($p < 0,05$).

При поступлении в стационар и в процессе лечения у пациентов всех групп в сыворотке крови исследованы уровни СРБ (рис. 3), ферритина и ЛДГ (рис. 4) как основных маркеров активности воспалительного процесса в легких, ассоциированного с риском развития ОРДС, и степени тяжести заболевания [25]. Результаты исследования показали, что при поступлении у пациентов группы А уровень СРБ составлял 13,3 [5,3; 55,8] мг/л, ферритина — 215,2 [135; 461,3] мкг/л и ЛДГ — 455,5 [382; 531] Ед/л. В группе В, по сравнению с группой А, уровень всех исследуемых показателей был повышен: медиана СРБ составляла 23,8 [11; 63,7] мг/л, ферритина — 309,1 [143,4; 765] мкг/л и ЛДГ — 534,0 [441; 720] Ед/л. Самые высокие показатели определялись в группе С: СРБ — 42,0 [10,7; 96,2] мг/л, ферритин — 475,4 [239,8; 674] мкг/л и ЛДГ — 561,2 [451,2; 800,7] Ед/л. Статистически значимые отличия по всем исследуемым маркерам установлены между группами А и С (соответственно $p = 0,005$, $p = 0,003$, $p = 0,034$), а также уровень ЛДГ был статистически значимо выше в группе В по сравнению с группой А ($p = 0,034$).

Через 3 суток от начала лечения в группе А уровень СРБ, по сравнению с 1-ми сутками, статистически значимо снизился 2,3 раза — до 5,8 [2,1; 13,5] мг/л ($p = 0,005$), но не достиг нормальных значений; уровни ферритина и ЛДГ оставались стабильными, их содержание в сыворотке крови составляло соответственно 216,3 [141,1; 512,3] мкг/л и 449,5 [364,5; 558] Ед/л. В группе В уровень СРБ снизился в 3 раза, по сравнению с 1-ми сутками, и составлял 7,8 [2,2; 16,2] мг/л ($p = 0,0002$), но также не достиг нормальных значений; уровень ферритина начал снижаться и снизился до 286,1 [136,7; 496,9] мкг/л, но статистически значимых отличий не установлено ($p = 0,542$), ЛДГ статистически значимо уменьшился до 505,5 [431; 644] Ед/л ($p = 0,025$). В группе С, по сравнению с 1-ми сутками, статистически значимо снизился только СРБ, медиана составила 10,7 [3,2; 33,9] мг/л ($p = 0,0000$), а уровни ферритина и ЛДГ увеличились, их содержание в сыворотке крови составляло соответственно 525,1 [218,8; 928,7] мкг/л и 575,1 [446; 718,8] Ед/л. При проведении межгруппового анализа установлено, что содержание СРБ и ферритина статистически значимо выше в группе С по сравнению с группой А ($p = 0,004$, $p = 0,026$), а уровень ЛДГ статистически значимо выше в группах В и С по сравнению с группой А ($p = 0,01$, $p = 0,001$ соответственно).

На 7 сутки лечения в группе А, по сравнению с 1-ми сутками, содержание СРБ в сыворотке крови статистически значимо снизилось и составляло 1,4 [0,5; 8,9] мг/л ($p = 0,0000$), уровни ферритина и ЛДГ оставались стабильными, в пределах физиологических значений [26]. В группе В

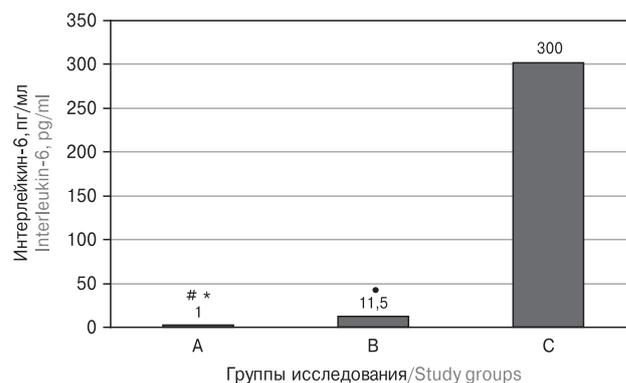


Рисунок 1. Исследование IL-6 при поступлении в стационар

Figure 1. Investigation of serum IL-6 level at admission to the hospital

Примечание. * $p < 0,05$ — статистически значимые отличия между группами А, В и С; # $p < 0,05$ — статистически значимые отличия между группами А и В; * $p < 0,05$ — статистически значимые отличия между группами В и С.

Note. * $p < 0.05$ — statistically significant differences between groups A, B and C; # $p < 0.05$ — statistically significant differences between groups A and B; * $p < 0.05$ — statistically significant differences between groups B and C.

уровень СРБ снизился в 11,9 раза по сравнению с 1-ми сутками ($p = 0,0000$), в 3,9 раза по сравнению с 3-ми сутками ($p = 0,0007$) и составил 2,0 [0,8; 6] мг/л; содержание ферритина статистически значимо повысилось, по сравнению с 3-ми сутками, до 302,0 [116,4; 539] мкг/л ($p = 0,008$); уровень ЛДГ статистически значимо снизился до 469,0 [420; 544] Ед/л ($p = 0,05$). В группе С произошло статистически значимое снижение СРБ по сравнению с 1-ми сутками ($p = 0,0000$): суммарно он снизился в 12,7 раза, его величина

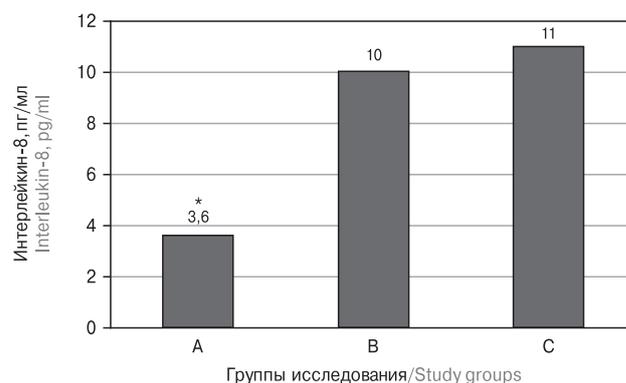


Рисунок 2. Исследование IL-8 при поступлении в стационар

Figure 2. Investigation of serum IL-8 level at admission to the hospital

Примечание. * $p < 0,05$ — статистически значимые отличия между группами.

Note. * $p < 0.05$ — statistically significant differences between groups.

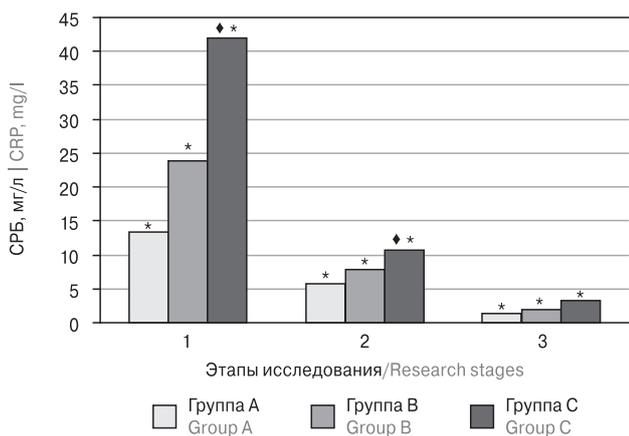


Рисунок 3. Результаты исследования СРБ в процессе лечения

Figure 3. Investigation of serum CRP level during course of treatment

Примечание. * $p < 0,05$ -статистически значимые отличия в группе на этапах лечения; ♦ $p < 0,05$ -статистически значимые отличия между группами А и С.

Note. * $p < 0.05$ — statistically significant differences in the group at the stages of treatment; ♦ $p < 0.05$ — statistically significant difference between groups A and C.

составила 3,3 [0,9; 7,4] мг/л, но уровень ферритина практически не изменился, а содержание ЛДГ продолжало увеличиваться, их количество в сыворотке крови составляло соответственно 518,9 [241; 773,4] мкг/л и 599,4 [470; 801,7] Ед/л. Межгрупповой анализ показал, что к 7 суткам лечения в группе С, по сравнению с группой А, уровни ферритина и ЛДГ были статистически значимо выше (соответственно $p = 0,029$, $p = 0,003$).

Ультразвуковое исследование селезенки и расчет коэффициента массы селезенки показали отсутствие статистически значимых отличий между группами по этому показателю ($p > 0,05$), средние значения в группах составляли: А — $1,7 \pm 0,8$, В — $1,6 \pm 0,6$ и С — $1,5 \pm 0,5$. Однако при детальном анализе полученных результатов установлено, что во всех группах есть пациенты с микроспленией, так как у них КМС был менее 1,5. В группе А она диагностирована у 50,9% больных, в группе В — у 51,9%, в С — у 46,4%. Ультразвуковых признаков спленомегалии не выявлено.

Анализ течения заболевания показал (табл.), что только в группах А и В зарегистрированы единичные случаи легкого, по типу ОРВИ, течения новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2. В основном во всех группах у пациентов диагностирована средне-тяжелая форма заболевания, осложненная двусторонней интерстициальной пневмонией. В группе А она установлена у 92,7% пациентов, в группе В — у 80,8%, в группе С — у 71,4%, т. е. в группе А, по сравнению с группами В и С, она встречалась статистически значимо чаще ($p = 0,031$; $p = 0,001$). Тяжелая форма новой коронавирусной инфекции, осложненная двусторонней интерстициальной пневмонией статистически значимо чаще регистрировалась в группе С (28,6%) по сравнению с группами А (3,6%) и В (15,4%) (соответственно $p = 0,0002$; $p = 0,04$).

Основным проявлением болезни является острая дыхательная недостаточность (ОДН) различной степени. Течение заболевания у большинства пациентов всех групп характеризовалось развитием ОДН I степени. В группах А

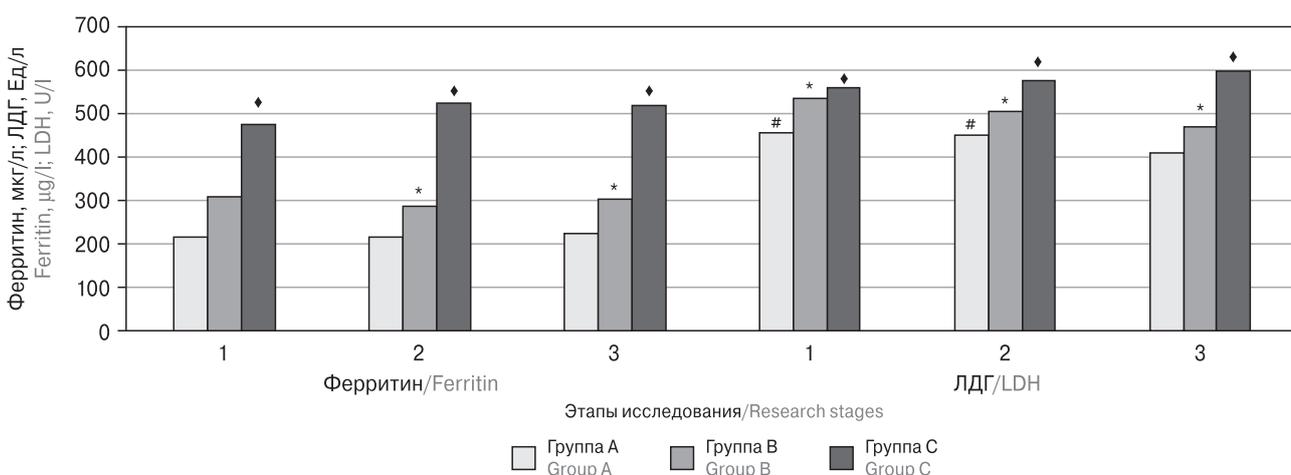


Рисунок 4. Результаты исследования ферритина и ЛДГ в процессе лечения

Figure 4. Investigation of serum ferritin and LDH level during course of treatment

Примечание. * $p < 0,05$ — статистически значимые отличия в группе на этапах лечения; ♦ $p < 0,05$ — статистически значимые отличия между группами А и С; # $p < 0,05$ — статистически значимые отличия между группами А и В.

Note. * $p < 0.05$ — statistically significant differences in the group at the stages of treatment; ♦ $p < 0.05$ — statistically significant difference between groups A and C; # $p < 0.05$ — statistically significant differences between groups A and B.

Таблица. Градация степени тяжести дыхательной недостаточности, течения заболевания и исходы
 Table. Severity grading scale for respiratory failure, course of the disease and outcomes

Параметр Parameter	Группа А, n = 55 Group A, n = 55	Группа В, n = 52 Group B, n = 52	Группа С, n = 56 Group C, n = 56	Р _{а-в}	Р _{а-с}	Р _{в-с}
ОДН I степени Acute respiratory failure I degree	28 (50,9%)#	25 (48,1%)♦	36 (62,3%)	0,387	0,0000	0,0000
ОДН II степени Acute respiratory failure II degree	0♦#	8 (15,4%)	12 (21,4%)	0,001	0,0002	0,209
ОДН III степени Acute respiratory failure III degree	1 (1,8%)	1 (1,9%)	4 (7,1%)	0,5	0,269	0,273
ОДН всего Acute respiratory failure	29 (52,7%)#	34 (65,4%)♦	52 (92,9%)	0,104	0,0000	0,0014
COVID-19, легкое течение по типу ОРВИ COVID-19, mild SARS	2 (3,6%)	2 (3,8%)	0 (0%)	0,5	0,065	0,065
COVID-19, среднетяжелая форма, двусторонняя интерстициальная пневмония COVID-19, moderate form, bilateral interstitial pneumonia	51 (92,7%)♦#	42 (80,8%)	40 (71,4%)	0,031	0,001	0,113
COVID-19, тяжелая форма, двусторонняя интерстициальная пневмония COVID-19, severe form, bilateral interstitial pneumonia	2 (3,6%)*	8 (15,4%)♦	16 (28,6%)	0,025	0,0002	0,04
Выписаны домой Discharged home	48 (87,3%)	39 (75%)	44 (78,6%)	0,056	0,131	0,31
Переведены в другие стационары Transferred to other hospitals	6 (10,9%)*#	13 (25%)	11 (19,6%)	0,029	0,001	0,267
Летальный исход Fatal outcome	1,0 (1,8%)	0	1,0 (1,8%)	0,153	0,5	0,153

Примечание. * $p < 0,05$ — статистически значимые отличия между группами А, В и С; * $p < 0,05$ — статистически значимые отличия между группами А и С; ♦ $p < 0,05$ — статистически значимые отличия между группами В и С.

Note. * $p < 0.05$ — statistically significant differences between groups A, B and C; * $p < 0.05$ — statistically significant differences between groups A and C; ♦ $p < 0.05$ — statistically significant difference between groups B and C.

и В регистрировалась у 50,9 и 48,1% больных, в группе С — у 62,3%. Выявлены статистически значимые отличия между группами ($p = 0,0000$). Течение пневмонии сопровождалось нарастанием дыхательных расстройств и развитием ОДН II степени только у пациентов групп В и С (соответственно 15,4 и 21,4%). В группах А и В было по одному пациенту с ОДН III степени, в С — 4 случая. Таким образом, суммарно ОДН различной степени статистически значимо чаще регистрировалась в группе С — 92,9% наблюдений, по сравнению с группами А — 52,7% ($p = 0,0000$) и В — 65,4% пациентов ($p = 0,001$).

В результате проводимого лечения состояние большинства пациентов улучшалось, уменьшились или купировались симптомы ОДН и интоксикации, нормализовалась температура тела, что позволило осуществить выписку домой. Часть пациентов нуждалась в дальнейшем проведении лечения в условиях других стационаров. В группе А переведены 10,9%, в группе В — 25% и в группе С — 19,8% больных. Между группами А и В, А и С выявлены статистически значимые отличия по исследуе-

мому показателю (соответственно $p = 0,029$ и $p = 0,001$). Летальный исход зарегистрирован по одному случаю только в группах А и С.

Обсуждение

Новая коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, имеет несколько форм — от легкой до средней или тяжелой. Течение заболевания плохо предсказуемо, оно может изменяться или прогрессировать в любой стадии. Существует гетерогенность врожденных иммунных ответов макроорганизма на вирус SARS-CoV-2, что и обуславливает вариативность течения болезни [10, 26]. В нашем исследовании установлены варианты воспалительного ответа и диагностики синдрома активации макрофагов в зависимости от исходного уровня IL-6. Во многих публикациях подчеркивается, что в инициации цитокинового шторма и развитии ОРДС главная роль принадлежит IL-6. Считается, что его высокий уровень в сыворотке крови ассоциирован со степенью тяжести заболевания, высокой ве-

роятностью повреждения легких и неблагоприятным исходом [16, 18, 26, 36, 42]. Все пациенты, включенные в исследование, в остром периоде болезни в амбулаторных условиях получали лечение, которое оказалось малоэффективным. Но при поступлении в стационар уровень ИЛ-6 в сыворотке крови был различным: от его минимальной концентрации до значительной цитокинемии.

В клинической практике для оценки выраженности воспалительного ответа при различных инфекционных заболеваниях наиболее часто используется определение СРБ в сыворотке крови [31, 35]. Появилось большое количество научных публикаций, в которых показано, что уровень СРБ коррелирует с тяжестью течения новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, и распространенностью воспалительной инфильтрации в легких [40, 41]. Но в работах Y. Lubell и соавт., D. Coster и соавт. установлено, что уровень СРБ значительно выше при бактериальной, чем при вирусной инфекции [12, 24]. Как показало проведенное исследование, при поступлении в стационар у пациентов всех групп повышен уровень СРБ, но степень его увеличения различная и зависит от выраженности цитокинемии, обусловленной повышением, в первую очередь, ИЛ-6, а также ИЛ-8. Синтез СРБ в печени регулируется такими цитокинами, как ИЛ-6, ИЛ-1 β , ИЛ-17, которые высвобождаются при прямом повреждении эндотелиальных клеток [13, 19], т. е. чем значительнее повреждение, тем выше цитокинемия, скорость секреции СРБ и его содержание в сыворотке крови пациента [39]. Независимо от исходного уровня ИЛ-6 и ИЛ-8, начало лечения является фактором, способствующим снижению продукции СРБ, при этом он, из всех изучаемых в исследовании маркеров воспаления, имеет максимальную чувствительность. Уже 3-м суткам исследуемый маркер воспаления статистически значимо снижался во всех группах, а его нормализация произошла к 7 суткам проводимого лечения, независимо степени тяжести заболевания и выраженности ОДН. На основании полученных результатов можно сказать, что СРБ нельзя считать специфическим маркером степени тяжести новой коронавирусной инфекции, он лишь отражает общую воспалительную реакцию, которая включает в себя раннюю фазу защиты макроорганизма на любое расстройство гомеостаза [28, 43].

Другими маркерами воспаления являются ферритин и ЛДГ, характеризующие степень выраженности синдрома активации макрофагов. Повышение уровня ферритина во время инфекции является важным защитным механизмом, который ограничивает образование свободных радикалов и опосредует иммуно-

модуляцию. Регуляция синтеза ферритина зависит от продукции цитокинов на транскрипционном и трансляционном уровнях [20, 33] в моноцитах [8], макрофагах [11] и других клетках, которые выделяют ферритин в присутствии ИЛ-1 β и TNF α . Гиперферритинемия ассоциирована с активацией клеток ретикуло-эндотелиальной системы и развитием полиорганной недостаточности [6, 38]. При тяжелом течении инфекционных заболеваний происходит повреждение тканей, опосредованное цитокинами, и высвобождение ЛДГ, от уровня которого зависит и степень тяжести заболевания [2, 17, 27]. В исследовании исходные уровни и динамика в процессе лечения ферритина и ЛДГ зависят от исходных показателей ИЛ-6 и ИЛ-8. В группе А, в которой определялись следовые концентрации исследуемых интерлейкинов, показатели ферритина и ЛДГ стабильные и находятся в диапазоне нормальных величин в течение всего времени лечения. В группе В умеренная цитокинемия (ИЛ-6 находится в диапазоне 5–49 пг/мл) ассоциирована с повышенным содержанием ферритина и ЛДГ без тенденции к снижению к окончанию лечения. Значительная цитокинемия (уровень ИЛ-6 находится в диапазоне 50–300 пг/мл), ассоциирована с гиперферритинемией и повышением ЛДГ. Течение новой коронавирусной инфекции у этих пациентов характеризуется повышением уровня ферритина к 3-м суткам лечения, стабильно высоким уровнем ЛДГ, без существенной тенденции к снижению исследуемых маркеров воспаления к окончанию лечения.

При новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, наблюдается атрофия вторичных лимфоидных органов — лимфатических узлов и селезенки, что ассоциировано с угнетением иммунной системы пациента и подтверждается результатами патологоанатомических исследований [37]. В нескольких работах сообщается о некрозах лимфатических узлов, значительной дегенерации клеток селезенки, очаговом геморрагическом некрозе, пролиферации макрофагов и повышенном апоптозе макрофагов в селезенке. Иммуногистохимическое исследование показало, что в лимфатических узлах и селезенке снижено количество CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток [45, 47]. Выявленная с помощью ультразвукового исследования микроспленения подтверждает результаты исследований, в которых показана степень вовлеченности селезенки в патологический процесс при новой коронавирусной инфекции. Сочетание микроспленения (уменьшение КМС менее 1,5) и гиперферритинемии более 500 мкг/л можно рассматривать как прогностический маркер воспалительной реакции.

Выраженность синдрома активации макрофагов ассоциирована с частотой развития ОДН. В группе без признаков синдрома активации макрофагов частота развития дыхательных расстройств составляет 52,7%, преимущественно за счет ОДН I степени, при умеренных признаках синдрома активации макрофагов частота развития ОДН увеличивается до 65,4% за счет I и II степени, при выраженных признаках дыхательные расстройства регистрируются в 92,9% случаев — в этой группе диагностирована ОДН I, II и III степени.

Клиническое улучшение, разрешение ОДН у пациентов с исходной гиперцитокинемией наступает быстрее, чем снижение уровня ферритина и ЛДГ. Выявленные изменения сохраняются более длительное время, их дополнительная оценка выходит за рамки проведенного исследования.

Заключение

Риск развития синдрома активации макрофагов отсутствует при уровне IL-6 в сыворотке крови менее 5 пг/мл, показатели ферритина и ЛДГ находятся в диапазоне физиологических значений, ОДН отсутствует или имеются признаки I степени. Для умеренного синдрома характерны повышение IL-6 в диапазоне от 5 до 49 пг/мл, умеренное повышение уровня ЛДГ и ферритина, признаки ОДН I–II степени. Выраженные признаки диагностируются при уровне IL-6 в сыворотке крови более 50 пг/мл, значительным повышением содержания ЛДГ и ферритина, признаками ОДН II–III степени. Клинически значимой является микроспленения, которая может стать дополнительным диагностическим критерием синдрома активации макрофагов.

Список литературы/References

1. Возгомент О.В., Пыков М.И., Зайцева Н.В. Новые подходы к ультразвуковой оценке размеров селезенки у детей // Ультразвуковая и функциональная диагностика. 2013. № 6. С. 56–62. [Vozgoment O.V., Pykov M.I., Zaitseva N.V. Ultrasound assessment of spleen size in children. New approaches. *Ul'trazvukovaya i funktsional'naya diagnostika = Ultrasound and Functional Diagnostics*, 2013, no. 6, pp. 56–62. (In Russ.)]
2. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Временные методические рекомендации. Версия 14 (27.12.2021). 233 с. [Prevention, diagnosis and treatment of novel coronavirus infection (COVID-19). Interim Guidelines. Version 14 (27.12.2021). 233 p. (In Russ.)]
3. Asghar M.S., Haider Kazmi S.J., Khan N.A., Akram M., Hassan M., Rasheed U., Ahmed Khan S. Poor prognostic biochemical markers predicting fatalities caused by COVID-19: a retrospective observational study from a developing country. *Cureus.*, 2020, vol. 12, no. 8: e9575. doi: 10.7759/cureus.9575
4. Batur A., Kılınçer A., Ateş F., Demir N.A., Ergün R. Evaluation of systemic involvement of Coronavirus disease 2019 through spleen; size and texture analysis. *Turk. J. Med. Sci.*, 2021, vol. 51, no. 3, pp. 972–980. doi: 10.3906/sag-2009-270
5. Bohn M.K., Lippi G., Horvath A., Sethi S., Koch D., Ferrari M., Wang C-B., Mancini N., Steele S., Adeli K. Molecular, serological, and biochemical diagnosis and monitoring of COVID-19: IFCC taskforce evaluation of the latest evidence. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2020, vol. 58, no. 7, pp. 1037–1052. doi: 10.1515/cclm-2020-0722
6. Carcillo J.A., Sward K., Halstead E.S., Telford R., Jimenez-Bacardi A., Shakoory B., Simon D., Hall M. A systemic inflammation mortality risk assessment contingency table for severe sepsis. *Pediatr. Crit. Care Med.*, 2016, vol. 18, no. 2, pp. 143–150. doi: 10.1097/PCC.0000000000001029.
7. Caricchio R., Gallucci M., Dass C., Zhang X., Gallucci S., Fleece D., Bromberg M., Criner G.J. Preliminary predictive criteria for COVID-19 cytokine storm. *Ann. Rheum. Dis.*, 2021, vol. 80, no. 1, pp. 88–95. doi: 10.1136/annrheumdis-2020-218323
8. Cazzola M., Bergamaschi G., Tonon L., Arbustini E., Grasso M., Vercesi E., Barosi G., Bianchi P.E., Cairo G., Arosio P. Hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome: relationship between phenotypes and specific mutations in the iron-responsive element of ferritin light-chain mRNA. *Blood*, 1997, no. 90, p. 814.
9. Chen G., Wu D., Guo W., Cao Y., Huang D., Wang H., Wang T., Zhang X., Chen H., Yu H., Zhang X., Zhang M., Wu S., Song J., Chen T., Han M., Li S., Luo X., Zhao J., Ning Q. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J. Clin. Invest.*, 2020, vol. 130, no. 5, pp. 2620–2629. doi: 10.1172/JCI137244
10. Chen Y., Klein S.L., Garibaldi B.T., Li H., Wu C., Osevala N.M., Li T., Margolick J.B., Pawelec G., Leng S.X. Aging in COVID-19: Vulnerability, immunity and intervention. *Ageing Res. Rev.*, 2021, no. 65: 101205. doi: 10.1016/j.arr.2020.101205
11. Cohen L.A., Gutierrez L., Weiss A., Leichtmann-Bardoogo Y., De-liang Zhang, Crooks D.R., Sougrat R., Morgenstern A., Galy B., Hentze M.W., Lazaro F.J., Rouault T.A., Meyron-Holtz E.G. Serum ferritin is derived primarily from macrophages through a nonclassical secretory pathway. *Blood*, 2010, vol. 116, no. 9, pp. 1574–1584. doi: 10.1182/blood-2009-11-253815
12. Coster D., Wasserman A., Fisher E., Rogowski O., Zeltser D., Shapira I., Bernstein D., Meilik A., Raykhshtat E., Halpern P., Berliner S., Tsarfaty S.S., Shamir R. Using the kinetics of C-reactive protein response to improve the differential diagnosis between acute bacterial and viral infections. *Infection*, 2020, no. 48, pp. 241–248. doi: 10.1007/s15010-019-01383-6.
13. Eklund C.M. Proinflammatory cytokines in CRP baseline regulation. *Adv. Clin. Chem.*, 2009, no. 48, pp. 111–136. doi: 10.1016/s0065-2423(09)48005-3
14. Gu J., Gong E., Zhang B., Zheng J., Gao Z., Zhong Y., Zou W., Zhan J., Wang S., Xie Z., Zhuang H., Wu B., Zhong H., Shao H., Fang W., Gao D., Pei F., Li X., He Z., Xu D., Shi X., Anderson V.M., Leong A.S.-Y. Multiple organ infection and the pathogenesis of SARS. *J. Exp. Med.*, 2005, vol. 202, no. 3, pp. 415–424. doi: 10.1084/jem.20050828
15. Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y., Liang W.H., Ou C.Q., He J.X., Liu L., Shan H., Lei C.L., Hui D.S.C., Du B., Li L.J., Zeng G., Yuen K.Y., Chen R.C., Tang C.L., Wang T., Chen P.Y., Xiang J., Li S.Y., Wang J.L., Liang Z.J., Peng Y.X., Wei L., Liu Y., Hu Y.H.,

- Peng P., Wang J.M., Liu J.Y., Chen Z., Li G., Zheng Z.J., Qiu S.Q., Luo J., Ye C.J., Zhu S.Y., Zhong N.S. Clinical characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.*, 2020, vol. 382, no. 18, pp. 1708–1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032
16. Gubernatorova E.O., Gorshkova E.A., Polinova A.I., Drutskaya M.S. IL-6: relevance for immunopathology of SARS-CoV-2. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2020, no. 53, pp. 13–24. doi: 10.1016/j.cytogfr.2020.05.009
 17. Henry B.M., de Oliveira M.H., Benoit S., Plebani M., Lippi G. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2020, vol. 58 no. 7, pp. 1021–1028. doi: 10.1515/cclm-2020-0369
 18. Honore P.M., Gutierrez B. L., Kugener L., Redant S., Attou R., Gallerani A., De Bels D. Inhibiting IL-6 in COVID-19: we are not sure. *Crit. Care*, 2020, vol. 24, no. 1: 463. doi: 10.1186/s13054-020-03177-x
 19. Kang S., Tanaka T., Narazaki M., Kishimoto T. Targeting interleukin-6 signaling in clinic. *Immunity*, 2019, vol. 50, no. 4, pp. 1007–1023. doi: 10.1016/j.immuni.2019.03.026
 20. Kernan K.F., Carcillo J.A. Hyperferritinemia and inflammation. *Int. Immunol.*, 2017, vol. 29, no. 9, pp 401–409. doi: 10.1093/intimm/dxx031
 21. Li X., Xu S., Yu M., Wang K., Tao Y., Zhou Y., Shi J., Zhou M., Wu B., Yang Z., Zhang C., Yue J., Zhang Z., Renz H., Liu X., Xie J., Xie M., Zhao J. Risk factors for severity and mortality in adult COVID-19 inpatients in Wuhan. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2020, vol. 146, no. 1, pp. 110–118. doi: 10.1016/j.jaci.2020.04.006
 22. Lippi G., Plebani M. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2020, vol. 58, no. 7, pp. 1131–1134. doi: 10.1515/cclm-2020-0198
 23. Liu Y., Yang Y., Zhang C., Huang F., Wang F., Yuan J., Wang Z., Li J., Li J., Feng C., Zhang Z., Wang L., Peng L., Chen L., Qin Y., Zhao D., Tan S., Yin L., Xu J., Zhou C., Jiang C., Liu L. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. *Sci. China Life Sci.*, 2020, vol. 63, no. 3, pp. 364–374. doi: 10.1007/s11427-020-1643-8
 24. Lubell Y., Blacksell S.D., Dunachie S., Tanganuchitcharnchai A., Althaus T., Watthanaworawit W., Paris D.H., Mayxay M., Peto T.J., Dondorp A.M., White N.J., Day N.P.J., Nosten F., Newton P.N., Turner P. Performance of C-reactive protein and procalcitonin to distinguish viral from bacterial and malarial causes of fever in Southeast Asia. *BMC Infect. Dis.*, 2015, no. 15: 511. doi: 10.1186/s12879-015-1272-6
 25. Machhi J., Herskovitz J., Senan A.M., Dutta D., Nath B., Oleynikov M.D., Blomberg W.R., Meigs D.D., Hasan M., Patel M., Kline P., Chang R.C., Chang L., Gendelman H.E., Kevadiya B.D. The natural history, pathobiology, and clinical manifestations of SARS-CoV-2 infections. *J. Neuroimmune Pharmacol.*, 2020, vol. 15, no. 3, pp. 359–386. doi: 10.1007/s11481-020-09944-5
 26. Maeda T., Obata R., Rizk D.D., Kuno T. The Association of interleukin-6 value, interleukin inhibitors and outcomes of patients with COVID-19 in New York City. *J. Med. Virol.*, 2021, vol. 93, no. 1, pp. 463–471. doi: 10.1002/jmv.26365
 27. Martinez-Outschoorn U.E., Prisco M., Ertel A. Ketones and lactate increase cancer cell “stemness,” driving recurrence, metastasis and poor clinical outcome in breast cancer: achieving personalized medicine via metabolo-genomics. *Cell. Cycle*, 2011, vol. 10, no. 8, pp. 1271–1286. doi: 10.4161/cc.10.8.15330.
 28. McFadyen J., Kiefer J., Loseff-Silver J., Braig D., Potempa L.A., Eisenhardt S.U., Peter K. Dissociation of C-reactive protein localizes and amplifies inflammation: Evidence for a direct biological role of CRP and its conformational changes. *Front. Immunol.*, 2018, no. 9: 1351. doi: 10.3389/fimmu.2018.01351
 29. Mehta P., McAuley D.F., Brown M., Sanchez E., Tattersall R.S., Manson J.J. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet*, 2020, vol. 395, no. 10229, pp. 1033–1034. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30628-0
 30. Onur S.T., Altın S., Sokucu S.N., Fikri B.İ., Barça T., Bolat E., Toptaş M. Could ferritin level be an indicator of COVID-19 disease mortality? *J. Med. Virol.*, 2021, vol. 93, no. 3, pp. 1672–1677. doi: 10.1002/jmv.26543
 31. Rajab I.M., Hart P.C., Potempa L.A. How C-reactive protein structural isoforms with distinctive bioactivities affect disease progression. *Front. Immunol.*, 2020, no. 11: 2126. doi: 10.3389/fimmu.2020.02126
 32. Ramasamy S., Subbian S. Critical determinants of cytokine storm and type I interferon response in COVID-19 pathogenesis. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2021, vol. 34, no. 3: e00299-20. doi: 10.1128/CMR.00299-20
 33. Recalcati S., Invernizzi P., Arosio P., Cairo G. New functions for an iron storage protein: the role of ferritin in immunity and autoimmunity. *J. Autoimmun.*, 2008, vol. 30, no. 1–2, pp. 84–89. doi: 10.1016/j.jaut.2007.11.003
 34. Sette A., Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell*, 2021, vol. 184, no. 4, pp. 861–880. doi: 10.1016/j.cell.2021.01.007
 35. Shrive A.K., Cheetham G.M.T., Holden D., Myles D.A.A., Turnell W.G., Volanakis J.E., Pepys M.B., Bloomer A.C., Greenough T.J. Three-dimensional structure of human C-reactive protein. *Nat. Struct. Biol.*, 1996, vol. 3, no. 4, pp. 346–354. doi: 10.1038/nsb0496-346
 36. Solis-Garcia Del Pozo J., Galindo M.F., Nava E., Jordan J. A systematic review on the efficacy and safety of IL-6 modulatory drugs in the treatment of COVID-19 patients. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 2020, vol. 24, no. 13, pp. 7475–7484. doi: 10.26355/eurrev_202007_21916
 37. Soy M., Keser G., Atagündüz P., Tabak F., Atagündüz I., Kayhan S. Cytokine storm in COVID-19: pathogenesis and overview of anti-inflammatory agents used in treatment. *Clin. Rheumatol.*, 2020, vol. 39, no. 7, pp. 2085–2094. doi: 10.1007/s10067-020-05190-5
 38. Tonial C.T., Garcia P.C.R., Schweitzer L.C., Costa C.A.D., Bruno F., Fiori H.H., Einloft P.R., Garcia R.B., Piva J.P. Cardiac dysfunction at echocardiogram and ferritin as early markers of severity in pediatric sepsis. *J. Pediatr. (Rio J.)*, 2017, vol. 93, no. 3, pp. 301–307. doi: 10.1016/j.jpeds.2016.08.006
 39. Vigushin D.M., Pepys M.B., Hawkins P.N. Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease. *J. Clin. Invest.*, 1993, vol. 91, no. 4, pp. 1351–1357. doi: 10.1172/JCI116336
 40. Wang G., Wu C., Zhang Q., Wu F., Yu B., Lv J., Li Y., Li T., Zhang S., Wu C., Wu G., Zhong Y. C reactive protein level may predict the risk of COVID-19 aggravation. *Open Forum Infect. Dis.*, 2020, vol. 7, no. 5: ofaa153. doi: 10.1093/ofid/ofaa153
 41. Wang L. C-reactive protein levels in the early stage of COVID-19. *Med. Maladies Infect.*, 2020, vol. 50, no. 4, pp. 332–334. doi: 10.1016/j.medmal.2020.03.007

42. Weatherhead J.E., Clark E.H., Vogel T.P., Atmar R.L., Kulkarni P.A. Inflammatory syndromes associated with SARS-CoV-2 infection: dysregulation of the immune response across the age spectrum. *J. Clin. Invest.*, 2020, vol. 130, no. 12, pp. 6194–6197. doi: 10.1172/JCI145301.
43. Wu Y., Potempa L.A., Kebir D.E., Filep J.G. C-reactive protein and inflammation: conformational changes affect function. *Biol. Chem.*, 2015, vol. 396, no. 11, pp. 1181–1197. doi: 10.1515/hsz-2015-0149
44. Xu X., Chang X.N., Pan H.X., Su H., Huang B., Yang M., Luo D.J., Weng M.X., Ma L., Nie X. Pathological changes of the spleen in ten patients with coronavirus disease 2019(COVID-19) by postmortem needle autopsy. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.*, 2020, vol. 49, no. 6, pp. 576–582. doi: 10.3760/cma.j.cn112151-20200401-00278
45. Xu Z., Shi L., Wang Y., Zhang J., Huang L., Zhang C., Liu S., Zhao P., Liu H., Zhu L., Tai Y., Bai C., Gao T., Song J., Xia P., Dong J., Zhao J., Wang F.-S. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir. Med.*, 2020, vol. 8, no. 4, pp. 420–422. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X
46. Yang X., Yu Y., Xu J., Shu H., Xia J., Liu H., Wu Y., Zhang L., Yu Z., Fang M., Yu T., Wang Y., Pan S., Zou X., Yuan S., Shang Y. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir. Med.*, 2020, vol. 8, no. 5, pp. 475–481. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5
47. Yao X., Li T., He Z., Ping Y., Liu H., Yu S., Mou H., Wang L., Zhang H., Fu W., Luo T., Liu F., Guo Q.N., Chen C., Xiao H.L., Guo H.T., Lin S., Xiang D.F., Shi Y., Pan G.Q., Li Q.R., Huang X., Cui Y., Liu X.Z., Tang W., Pan P.F., Huang X.Q., Ding Y.Q., Bian X.W. A pathological report of three COVID-19 cases. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.*, 2020, vol. 49, no. 5, pp. 411–417. doi: 10.3760/cma.j.cn112151-20200312-00193
48. Yi K., Rong Y., Wang C., Huang L., Wang F. COVID-19: advance in laboratory diagnostic strategy and technology. *Mol. Cell Biochem.*, 2021, vol. 476, no. 3, pp. 1421–1438. doi: 10.1007/s11010-020-04004-1
49. Zhang T., Chen H., Liang S., Chen D., Zheng C., Zeng C., Zhang H., Liu Z. A non-invasive laboratory panel as a diagnostic and prognostic biomarker for thrombotic microangiopathy: development and application in a Chinese cohort study. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 11: e111992. doi: 10.1371/journal.pone.0111992
50. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z., Xiang J., Wang Y., Song B., Gu X., Guan L., Wei Y., Li H., Wu X., Xu J., Tu S., Zhang Y., Chen H., Cao B. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*, 2020, vol. 395, no. 10229, pp. 1054–1062. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3

Автор:

Перепелица С.А., д.м.н., доцент, профессор кафедры хирургических дисциплин ФГАОУ ВО Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, г. Калининград, Россия; ведущий научный сотрудник лаборатории патологии клетки при критических состояниях НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНЦЦ РР, Москва, Россия.

Author:

Perepelitsa S.A., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor of the Department of Surgery, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation; Leading Researcher, Laboratory of Cell Pathology in Critical Conditions, V.A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 18.03.2022
Принята к печати 15.05.2022

Received 18.03.2022
Accepted 15.05.2022

ФОРМИРОВАНИЕ ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОГО И ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К SARS-CoV-2 У МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ ПЕРИНАТАЛЬНОГО ЦЕНТРА

Г.Н. Чистякова, Г.Б. Мальгина, А.В. Устюжанин, И.И. Ремизова

ФГБУ Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества Минздрава России,
г. Екатеринбург, Россия

Резюме. В условиях глобального распространения новой коронавирусной инфекции особую значимость приобретают исследования, направленные на изучение формирования противоинфекционного и поствакцинального иммунитета, что является необходимым для предотвращения и снижения заболеваемости и смертности от SARS-CoV-2. Цель: оценить противоинфекционный иммунитет к SARS-CoV-2 при различных формах заболевания и развитие поствакцинальных гуморальных реакций у медицинских работников перинатального центра. *Материалы и методы.* Проведено исследование сыворотки крови на определение специфических антител IgM и IgG классов к SARS-CoV-2 у 119 медицинских работников, перенесших COVID-19 и разделенных на группы в зависимости от тяжести течения заболевания (легкое, умеренное и бессимптомное), а также у 62 сотрудников, прошедших вакцинацию и разделенных на группы в зависимости от возраста. Полуколичественное определение антител осуществляли методом ИФА с использованием тест-систем «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» и «SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ». Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программ «Microsoft Excel 2010» и Statistica 6. Количественные признаки представляли в виде медианы (ME), нижнего и верхнего квартилей (LQ1–UQ3); качественные — в виде абсолютного значения и относительного числа (%). Различия между группами устанавливали при помощи критерия χ^2 (качественные) и Манна–Уитни (Mann–Whitney U-test) — количественные. *Результаты.* Результаты исследования показали, что у большинства сотрудников со среднетяжелой формой SARS-CoV-2 регистрируется более высокий уровень IgG (КП — коэффициент позитивности более 9,0 у.е.) спустя 9 месяцев после заболевания, чем у тех, кто переболел в легкой или бессимптомной форме (83,3% против 25,8% и 13,3%, $p < 0,017$). Длительность циркуляции IgG после перенесенного заболевания не зависит от степени тяжести и возраста. Эффективность первичной вакцинации «Спутник V» и ревакцинации «Спутник Лайт» и «КовиВак» составляет 100% после введения второго компонента. Наименьший уровень антител после первой вакцинации регистрируется у лиц старше 60 лет (1,48 (1,12–3,25) против КП = 8,48 (5,78–10,11) и 9,27 (5,84–10,31) у.е., $p < 0,017$) в сравнении с молодым и средним возрастом. Скорость элиминация IgG к SARS-CoV-2 через 6, 9 и более месяцев после проведения вакцинации зависит от их начальной пиковой концентрации. У первично привитых вакциной «КовиВак» IgG через 2 месяца после вакцинации не определяются. Протективный эффект «Спутник V», «Спутник Лайт», «КовиВак» от повторного заражения новой коронавирусной инфекцией в среднем составляет 71,2%. *Заключение.* Таким образом, полученные

Адрес для переписки:

Ремизова Ирина Ивановна
620089, Россия, г. Екатеринбург, ул. Репина, 1,
ФГБУ Уральский научно-исследовательский институт охраны
материнства и младенчества Минздрава России.
Тел.: 8 (343) 371-28-30 (служебн.), 8 982 627-95-36 (моб.).
E-mail: Remizovall@yandex.ru

Contacts:

Irina I. Remizova
620089, Russian Federation, Ekaterinburg, Repina str., 1,
Ural Research Institute for the Protection of Maternity and Infancy.
Phone: +7 (343) 371-28-30 (office), +7 982 627-95-36 (mobile).
E-mail: Remizovall@yandex.ru

Для цитирования:

Чистякова Г.Н., Мальгина Г.Б., Устюжанин А.В., Ремизова И.И.
Формирование противоинфекционного и поствакцинального
гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 у медицинских работников
перинатального центра // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4.
С. 688–700. doi: 10.15789/2220-7619-FOA-1856

Citation:

Chistyakova G.N., Malgina G.B., Ustyuzhanin A.V., Remizova I.I. Formation
of anti-infectious and post-vaccination anti-SARS-CoV-2 humoral immunity
in medical workers of the perinatal center // Russian Journal of Infection
and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 688–700.
doi: 10.15789/2220-7619-FOA-1856

результаты по оценке противои инфекционного и поствакцинального иммунитета к SARS-CoV-2 подчеркивают необходимость проведения дальнейших исследований на большей когорте пациентов, в особенности у лиц с бессимптомным течением инфекции и пожилых людей.

Ключевые слова: COVID-19, противои инфекционный гуморальный иммунитет, поствакцинальный гуморальный иммунитет, медицинские работники, IgG, IgM, SARS-CoV-2.

FORMATION OF ANTI-INFECTIOUS AND POST-VACCINATION ANTI-SARS-CoV-2 HUMORAL IMMUNITY IN MEDICAL WORKERS OF THE PERINATAL CENTER

Chistyakova G.N., Malgina G.B., Ustyuzhanin A.V., Remizova I.I.

Ural Research Institute for the Protection of Maternity and Infancy, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. In the context of the global spread of the new coronavirus infection, studies aimed at investigating formation of anti-infectious and post-vaccination immunity are of special importance, which is necessary to prevent and reduce morbidity and mortality due to SARS-CoV-2 infection. Purpose: to assess anti-infectious immunity against SARS-CoV-2 in various forms of the disease and development of post-vaccination humoral reactions in medical workers of the perinatal center. *Materials and methods.* A study of blood serum was carried out to assess SARS-CoV-2-specific IgM and IgG antibodies in 119 medical workers recovered after COVID-19, divided into groups based on the disease severity (mild, moderate and asymptomatic), as well as in 62 vaccinated employees, divided into groups according to age. Semi-quantitative measurement of virus-specific antibodies was carried out by ELISA with test systems “SARS-CoV-2-IgG-ELISA-BEST” and “SARS-CoV-2-IgM-ELISA-BEST”. Statistical processing of the research results was carried out using Microsoft Excel 2010 and Statistica 6. Quantitative characteristics were presented as median (ME), lower and upper quartiles (LQ1-UQ3); qualitative parameters — as absolute value and relative number (%). Difference between groups was analyzed by using the χ^2 test (qualitative) and the Mann–Whitney U-test (quantitative). *Results.* The results of the study showed that the majority of employees with a moderate-severe form of SARS-CoV-2 had a high level of IgG (PR — a positivity rate of more than 9.0 arbitrary units) 9 months after the disease compared to those who suffered from mild or asymptomatic (83.3% versus 25.8% and 13.3%, $p < 0.017$) infection. The duration of IgG circulation after former illness had no relation to its severity and patient age. The effectiveness of the primary vaccination “Sputnik V” and revaccination with “Sputnik Light” and “KoviVac” was 100% after inoculating the vaccine second component. The lowest level of antibodies after the first vaccination is recorded in persons over 60 years old (1.48 (1.12–3.25 versus PR = 8.48 (5.78–10.11) and 9.27 (5.84–10.31) arbitrary units, $p < 0.017$)), in comparison with young and middle-age subjects. The speed SARS-CoV-2 elimination of IgG at 6, 9 or more months after vaccination depends on relevant initial peak antibody concentration. Subjects who were initially vaccinated with the KoviVac vaccine, IgG was not detected 2 months after vaccination. The protective effect of “Sputnik V”, “Sputnik Light”, “KoviVac” after re-infection with SARS-CoV-2 averages 71.2%. *Conclusion.* Thus, the results obtained on assessing anti-infectious and post-vaccination immunity against SARS-CoV-2 emphasize the need for further studies on a larger patient cohort, especially in those with asymptomatic infection as well as the elderly subjects.

Key words: COVID-19, anti-infectious humoral immunity, post-vaccination humoral immunity, medical professionals, IgG, IgM, SARS-CoV-2.

Медицинские работники относятся к группе высокого риска по инфицированию COVID-19, поскольку это связано с их профессиональной деятельностью. Длительное нахождение в местах концентрации инфицированных больных, хронический стресс, даже при условии использования средств индивидуальной защиты, приводит к увеличению заболеваемости медицинских работников новой коронавирусной инфекцией [8].

По данным метаанализа, проведенным A.K. Sahu и соавт. (2020), общая доля медработников с положительным результатом РНК SARS-CoV-2 среди всех пациентов с COVID-19 составила 10,1% (95% ДИ: 5,3–14,9) [34]. В отдельно взятых медицинских учреждениях она варьировала от 2,7% [20] и 5,62% (Иран) [33] до 12,1% (Испания) [31].

В то же время инapparантная форма течения инфекционного процесса не позволяет достоверно оценить реальное распространение инфек-

ции, в связи с не обращением больных в медицинские учреждения и проведения ПЦР анализа на коронавирусную инфекцию. Следовательно, серологические исследования (определение уровня антител к SARS-CoV-2), имеют решающее значение для более эффективной организации реагирования медицинских учреждений на пандемию COVID-19, а также дают возможность изучить естественную инфекцию у бессимптомных/малосимптомных субъектов и оценить передачу инфекции в сообществе.

По данным зарубежных исследователей серопревалентность IgG к SARS-CoV-2 после первой волны пандемии у медработников региона Ломбардия (Италия) составила 12,2% [30]; среди медицинских работников швейцарского центра третичной медицинской помощи — 10,0% [27]; персонала медицинского центра в Нидерландах — 21,1% [15]; наибольшее количество положительных результатов

регистрировалось в больнице общего профиля в Конго — 41,2% [28].

В исследованиях отечественных авторов сообщается, что относительное число сероположительных медицинских работников среди различных медицинских организаций отмечалось на уровне 16,4% [1] или 22,1% [10]. Однако в отдельно взятых стационарах, перепрофилированных для оказания медицинской помощи больным новой коронавирусной инфекцией серопревалентность достигала 45,9% (г. Казань) и 73,1% (г. Омск) [5, 12].

Следовательно, при оценке серопревалентности необходимо также учитывать лиц с инapparантной формой инфекции. По данным различных авторов число серопозитивных лиц с бессимптомным течением варьирует в пределах от 77,7 до 94,4% [11, 28].

Иммунная система человека противодействует и устраняет инвазивные чужеродные патогены с помощью врожденного и адаптивного иммунитета. При инфицировании SARS-CoV-2 специфический гуморальный иммунитет, который в основном характеризуется продукцией специфических антител В-лимфоцитами, может играть решающую роль в эффективном удалении высокотрансмиссивного коронавируса [21].

Имеющиеся в литературе данные о специфическом гуморальном ответе к SARS-CoV-2, а также результаты исследований на модели с животными, позволяют предположить, что выздоровление от COVID-19 может временно обеспечивать иммунитет против повторного заражения. Тем не менее иммунный ответ на COVID-19 еще до конца не изучен, и точные данные о постинфекционном иммунитете отсутствуют [2].

Нерешенными остаются вопросы о степени напряженности и продолжительности иммунитета, оцененные по продукции IgG антител к SARS-CoV-2. Одни авторы указывают, что чувствительность серологии IgG к спайковому S-белку через 14 дней после определения РНК SARS-CoV-2 составляет 80%, а через 20 дней — 100% [20]. Другими авторами установлено, что у лиц с положительным тестом на ПЦР, специфический гуморальный ответ на SARS-CoV-2 развивается через 2–4 недели после инфицирования только в 44,8%, а через 8–12 недель достигает 77,8% [26].

Значительный интерес представляют работы по оценке гуморального иммунитета у лиц с различными формами заболевания COVID-19. S.F. Malfetheriner и соавт. (2020) указывают на отсутствие статистически значимых корреляционных связей между умеренными и легкими симптомами COVID-19 и выработкой антител [25]. В исследовании Т.В. Платоновой и соавт. (2021), напротив, сообщается о наличии корреляций между уровнем серопротекции и тяжестью перенесенного заболевания [9].

Спорными остаются вопросы об эффективности иммунных ответов к COVID-19 после вакцинации, о возможности повторного заражения у лиц, перенесших инфекцию, или вакцинированных [3, 7, 16, 19, 22, 32, 36]. Важным также является выявление потенциальных различий в эффективности вакцинации между возрастными группами и для разных видов вакцин.

Таким образом, в условиях глобального распространения новой коронавирусной инфекции особую значимость приобретают исследования, направленные на изучение формирования противоинфекционного и поствакцинального иммунитета, что является необходимым для предотвращения и снижения заболеваемости и смертности от SARS-CoV-2, популяционной восприимчивости, моделирования передачи заболевания, серологических методов лечения (плазмой реконвалесцентом) и вакцинирования.

Цель исследования: оценить противоинфекционный иммунитет к SARS-CoV-2 при различных формах заболевания и развитие поствакцинальных гуморальных реакций у медицинских работников перинатального центра.

Материалы и методы

В период с мая 2020 г. по ноябрь 2021 г. проведено когортное, проспективное продольное обследование 324 сотрудников ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России, работающих в акушерско-гинекологических и детских отделениях, COVID-госпитале. Исследование было одобрено этическим комитетом института (протокол заседания Ученого Совета № 9 от 09.06.2020 г.) и выполнено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации. Все сотрудники, включенные в исследование, подписали информированное согласие.

На первом этапе исследования было определено число сотрудников с положительным результатом на IgM и IgG к SARS-CoV-2.

Далее оценивали развитие противоинфекционного иммунитета у лиц, перенесших новую коронавирусную инфекцию.

С этой целью в исследование были включены 119 сотрудников, позитивных по обнаружению специфических антител к SARS-CoV-2, из них: 88 человек, перенесших новую коронавирусную инфекцию (с клиническими проявлениями и положительным тестом на РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР) и 31 человек с бессимптомным течением инфекции (с положительным тестом на IgM, IgG к SARS-CoV-2) и отсутствием данных по наличию симптомов, сходных с COVID-19 в анамнезе. Эти лица были выявлены при исследовании сыворотки крови перед проведением вакцинации.

Определение специфических антител к SARS-CoV-2 у переболевших новой коронавирусной инфекцией проводилось через 1–3, 4–6 и 7–9 и более 9 месяцев от начала заболевания или от первичного выявления IgM и IgG.

На втором этапе проводили оценку поствакцинального иммунитета к SARS-CoV-2, а также оценивали динамику изменений уровня антител в течение 6 месяцев после вакцинации. Все сотрудники, прошедшие первичную вакцинацию, были серонегативны по антителам к SARS-CoV-2.

Первичную вакцинацию прошли 62 сотрудника, из них 57 человек были привиты вакциной «Спутник V» и 5 сотрудников — «КовиВак». Спустя 6 месяцев ревакцинацию с использованием вакцины «Спутник Лайт» получили 7 человек и «КовиВак» — 15 сотрудников. Из 57 вакцинированных вакциной «Спутник V» женщины составляли 87,72, а мужчины — 12,28%.

Определение специфических антител к SARS-CoV-2 проводилось пятикратно: до вакцинации, перед введением первого компонента вакцины, через 3 недели после введения второго компонента и в динамике 1–3 и 4–6 месяцев.

На момент обследования все сотрудники, подлежащие вакцинации, отрицали клинические проявления ОРВИ за месяц перед сдачей анализа.

Критерии включения: для первого этапа — положительный результат на IgM и IgG к SARS-CoV-2; для второго этапа (первичная вакцинация) — отрицательный тест на антитела к SARS-CoV-2, отсутствие клинических проявлений ОРВИ за месяц перед сдачей анализа, обострений хронических заболеваний.

Критерии исключения: для первого этапа — отрицательный результат на IgM и IgG к SARS-CoV-2; для второго этапа (первичная вакцинация) — положительный тест на антитела к SARS-CoV-2, клинические проявления ОРВИ за месяц перед сдачей анализа, обострения хронических заболеваний.

Исследования выполняли с использованием тест-систем «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» и «SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Россия).

В наборе реагентов «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» используется рекомбинантный полно-размерный тримеризованный Spike. Молекула состоит из двух субъединиц — S1, содержащей RBD-домен, и S2. Набор реагентов выявляет иммуноглобулины класса G ко всем антигенным детерминантам белка, включая RBD. Поэтому данный набор подходит как для оценки серопревалентности сотрудников института, так и для поствакцинального иммунного ответа, полученного иммунизацией вакцинным препаратом на основе RBD-домена Spike (Гам-КОВИД-Вак, торговая марка «Спутник V»).

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 выявлении специфических антител с помощью конъюгатов, содержащих антигены вируса — N-белок нуклеокапсида («SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ», АО «Вектор-Бест», Россия).

В соответствии с рекомендациями производителя тест-систем проводили полуколичественную оценку антител к SARS-CoV-2 с использованием коэффициента позитивности (КП): при значении КП > 1,1 результат оценивали как положительный, КП < 0,8 указывал на отрицательный результат и КП = 0,8–1,1 — на пограничный.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программ «Microsoft Excel 2010» и Statistica 6. Количественные признаки представляли в виде медианы (ME), нижнего и верхнего квартилей (LQ1–UQ3); качественные — в виде абсолютного значения и относительного числа (%). Различия между группами устанавливали при помощи критерия χ^2 (качественные) и Манна–Уитни (Mann–Whitney U-test) (количественные). Уровень значимости межгрупповых различий принимали равным, менее 0,017.

Результаты

Проведенные исследования показали, что частота обнаружения специфических IgM и IgG к SARS-CoV-2 составляла 36,73% (119 из 324), из них: антитела класса IgM и IgG обнаружены у 118 человек и у одного человека — только IgM (1 из 324).

Согласно данным анамнеза, лица с обнаруженной РНК SARS-CoV-2 и/или имеющие только специфические антитела, были разделены на группы в зависимости от тяжести течения инфекции:

- 1-я группа — среднетяжелое течение ($n = 15$), клинические признаки: лихорадка > 38,5°C, поражение легких по данным компьютерной томографии 25–50% (КТ2), умеренная пневмония;
- 2-я группа — легкое течение ($n = 73$): нормальная температура или лихорадка 37–38,5°C, признаки острой респираторной вирусной инфекции (ОРВИ), поражение легких по данным компьютерной томографии менее 25% (КТ1), легкая форма пневмонии [6];
- в 3-ю группу были включены сотрудники, перенесшие инфекцию бессимптомно ($n = 31$), не имеющие клинических признаков заболевания.

Лица, перенесшие интерстициальную пневмонию (умеренная форма), имели более старший возраст — 52 (46–56) года против 45 (28–52) лет и 44 (26–47) года во 2-й и 3-й группах ($p_{1-2, 1-3} < 0,017$).

По гендерному признаку группы были сопоставимы, с преобладанием лиц женского пола, что составляло 80, 77,1 и 91,8%.

При анализе частоты выявления и количества специфических антител относительно тяжести течения заболевания было установлено, что антитела класса IgM к SARS-CoV-2 практически в 2 раза чаще отмечались при среднетя-

желом течении инфекции в сравнении с легкой и инаппарантной формой новой коронавирусной инфекции. Коэффициент позитивности IgM в этой группе сотрудников также был достоверно выше ($p < 0,017$) (табл. 1).

Антитела класса IgM к SARS-CoV-2, выявленные при первичном обследовании у сотрудников с бессимптомным течением инфекции и высокими титрами антител, к 4–6 месяцам статистически значимо снижались, с полной элиминацией к 7 месяцам. При этом у сотрудников с низким КП $< 3,0$ IgM к SARS-CoV-2 через 2–3 месяца достигали пограничных значений или не определялись. Аналогичная картина наблюдалась при легком и среднетяжелом течении инфекции.

При исследовании специфических IgG значимых различий в частоте выявления и количестве антител (по коэффициенту позитивности) при первичном обследовании не обнаружено, что вероятно связано с тем, что пик концентрации данного иммуноглобулина наблюдается спустя 1–2 месяца после перенесенного заболевания.

Далее нами была проведена более детальная оценка продукции специфических антител. Нами проанализировано изменение уровня IgG к SARS-CoV-2 в динамике периода обследования относительно значений коэффициента позитивности, где КП = 1–4 у.е. принимали за низкое количество специфических антител, КП = 5–8 — за умеренное и 9 и более у.е. — за высокое. Исследование проводили 12 сотрудникам из 1-й группы, 31 и 15 — из 2-й и 3-й групп соответственно.

При первичном обследовании сотрудников, бессимптомно перенесших инфекцию ($n = 31$) или переболевших с клиническими проявлениями (ОРВИ — 73, пневмония — 15), коэффициент позитивности в пределах 1–4 у.е. имели 0, 5,5 и 19,4% медработников в 1-й, 2-й и 3-й группах

соответственно; КП = 5–8 у.е. — 6,7, 10,9 и 16,1% медработников. Частота выявления лиц с высоким содержанием IgG к SARS-CoV-2 (КП $> 9,0$) составляла: при среднетяжелой форме коронавирусной инфекции — 93,3%, легкой — 83,6% и при бессимптомном течении инфекции — 64,5% ($p > 0,05$ во всех случаях).

Наименьшее количество IgG к SARS-CoV-2 (КП = 1–4) через 4–6 месяцев регистрировалось у большинства лиц с бессимптомным течением инфекции (табл. 2). В 2,4 раза реже низкий уровень антител отмечался у сотрудников с клиническими проявлениями ОРВИ относительно инаппарантной формы инфекции. У лиц с умеренной пневмонией IgG к SARS-CoV-2 с низким КП не выявлены. Необходимо отметить, что у сотрудников с клиническими проявлениями инфекции (1-я и 2-я группы) статистически значимо чаще регистрировался высокий уровень антител, чем у лиц, перенесших инфекцию бессимптомно.

Через 7–9 месяцев от первичного исследования количество специфических антител у сотрудников с легким и бессимптомным течением практически не изменялось. У лиц со среднетяжелым течением инфекции гуморальный иммунный ответ спустя 9 месяцев после инфицирования проявлялся в большей степени, чем у тех, кто переболел в бессимптомной форме или с признаками ОРВИ, а высокий уровень IgG к SARS-CoV-2 сохранялся на протяжении всего периода обследования.

На втором этапе проводили оценку поствакцинального иммунитета к SARS-CoV-2.

Первичную вакцинацию прошли 62 сотрудника, из них: 57 человек привиты вакциной «Спутник V» и 5 сотрудников — «КовиВак». Спустя 6 месяцев ревакцинацию с использованием «Спутник Лайт» получили 7 человек и «КовиВак» — 15 сотрудников.

Таблица 1. Частота выявления IgM и IgG к SARS-CoV-2 в зависимости от тяжести течения заболевания
Table 1. Frequency of detecting SARS-CoV-2-specific IgM and IgG related to disease severity

Степень тяжести COVID-19 Severity of COVID-19	IgM к SARS-CoV-2/IgM to SARS-CoV-2			IgG к SARS-CoV-2/IgG to SARS-CoV-2		
	абс./abs.	%	КП IgM/PC IgM	абс./abs.	%	КП IgG/PC IgG
Среднетяжелое течение заболевания (1-я группа, n = 15) Moderate course of the disease (1 st group, n = 15)	15	100* **	7,81* ** (5,8–9,92)	15	100	10,45 (10,07–11,2)
Легкое течение заболевания (2-я группа, n = 73) Mild course of the disease (2 nd group, n = 73)	33	45,21	3,0 (1,9–5,1)	72	98,6	10,35 (8,36–12,0)
Бессимптомное течение заболевания (3-я группа, n = 31) Asymptomatic course of the disease (3 rd group, n = 31)	16	51,61	3,55 (2,14–7,98)	31	100	9,73 (4,06–11,05)

Примечание. КП — коэффициент позитивности; * $p < 0,017$ — уровень статистически значимых различий с 3-й группой; ** $p < 0,017$ — уровень статистически значимых различий между 1-й и 2-й группами.

Note. CP — coefficient of positivity; * $p < 0.017$ — the level of significant differences with the group 3; ** $p < 0.017$ — the level of significant difference between the group 1 and group 2.

Перед проведением первой вакцинации (V1) результаты на антитела IgM и IgG класса к SARS-CoV-2 у всех сотрудников были отрицательны.

После введения первого компонента вакцины «Спутник V» на 21 день у большинства сотрудников определены IgG к SARS-CoV-2, у одного человека зарегистрирован пограничный результат (табл. 3).

Необходимо отметить, что результат исследования IgG, проведенный 10 сотрудникам через 7 и 14 дней после введения первого компонента вакцины, был отрицательным.

Ранний срок определения IgG антител составил 17 дней после введения первого компонента вакцины, в среднем — 18,5 (18,0–20,5). Наличие антител обнаружено у 98,2% обследованных.

В 84% наблюдений IgM к SARS-CoV-2 не определялись, и в 16% случаев регистрировался положительный или пограничный результат.

После проведения второй вакцинации (V2) «Спутник V» у всех сотрудников выявлены IgG к SARS-CoV-2. Коэффициент позитивности, отражающий наличие специфических антител, после введения второго компонента был достоверно выше.

Положительный или пограничный результат на IgM сохранялся у 4 человек, что возможно свидетельствует о повышенном иммунном реагировании.

У 9 (18%) сотрудников, имевших низкое количество IgG-антител перед V2 (КП = 3,07 (1,63–4,06) у.е.), после введения второго компонента

вакцины отмечалось увеличение уровня IgG в среднем в 3 раза (КП = 9,15 (8,54–10,31) у.е., $p < 0,001$).

При оценке поствакцинального иммунитета, индуцированного «КовиВАК», у 5 первично привитых сотрудников спустя 2 месяца после вакцинации IgG к SARS-CoV-2 не определялись. Тем не менее результаты ревакцинации при использовании этой вакцины показали, что у 15 человек, перенесших новую коронавирусную инфекцию или привитых вакциной «Спутник V», уровень IgG увеличивался. При этом у сотрудников с низким количеством антител наблюдалось повышение их уровня в 4,3 раза (с 2,63 (1,87–7,78) до 11,12 (8,03–12,63) у.е., а с умеренным — в 1,7 раз (с 4,5 (6,25–9,06) до 12,99 (8,9–13,66) у.е.), следовательно, эта вакцина обладает хорошим бустерным эффектом.

Значимые результаты были получены после проведения ревакцинации вакциной «Спутник Лайт». Специфические IgG регистрировались у всех обследованных сотрудников, и их количество, по сравнению с базовым уровнем (до ревакцинации), увеличилось в 1,6 раза — с 6,53 (4,15–7,81) до 10,42 (9,93–12,04) у.е. ($p < 0,05$).

Проведенные нами исследования показали, что из 84 вакцинированных сотрудников, 24 (28,57%) перенесли новую коронавирусную инфекцию, заболевание протекало в легкой форме, не требующей госпитализации. Необходимо отметить, что наибольшее количество из числа заболевших приходилось на осень 2021 г. (62,5% против

Таблица 2. Частота выявления IgG к SARS-CoV-2 в динамике периода наблюдения в зависимости от тяжести течения заболевания

Table 2. The frequency of detected SARS-CoV-2-specific IgG antibody across the observation period, based on the severity of disease course

Коэффициент позитивности, у.е. Positivity coefficient, arbitrary units	Среднетяжелое течение заболевания (1-я группа, n = 12) Moderate course of the disease (1 st group, n = 12)		Легкое течение заболевания (2-я группа, n = 31) Mild course of the disease (2 nd group, n = 31)		Бессимптомное течение заболевания (3-я группа, n = 15) Asymptomatic course of the disease (3 rd group, n = 15)	
	абс./abs.	%	абс./abs.	%	абс./abs.	%
4–6 месяцев/4–6 months						
1–4	0	0*	6	19,4	7	46,7
5–8	2	16,7	9	29,0	3	20
> 9	10	83,3*	16	51,6*	5	33,3
7–9 месяцев/7–9 months						
1–4	1	8,3	6	19,4	8	53,3
5–8	1	8,3**	13	41,9	4	26,7
> 9	10	83,3***	12	38,7	3	20
Более 9 месяцев/More than 9 months						
1–4	2	16,7*	14	45,2	10	66,7
5–8	0	0	9	29,03	3	20
> 9	10	83,3***	8	25,8	2	13,3

Примечание. * $p < 0,017$ с 3-й группой; ** $p < 0,017$ между 1-й и 2-й группами.

Note. * $p < 0,017$ with group 3; ** $p < 0,017$ between groups 1 and 2.

Таблица 3. Содержание специфических антител к SARS-CoV-2 у вакцинированных вакциной «Спутник V» медработников

Table 3. The level of SARS-CoV-2-specific antibodies in medical workers vaccinated by "Sputnik V"

Показатели Parameters	Первая вакцинация First vaccination n = 57		Вторая вакцинация Second vaccination n = 57	
	абс. abs.	%	абс. abs.	%
IgG положительный IgG positive	56	98,2	57	100
КП/PC	8,59 (5,45–10,22)		9,29 (9,58–10,58)*	
IgG пограничный IgG borderline	1	2,0	0	0
КП/PC	1,01		0	
IgG отрицательный IgG negative	0	0	0	0
IgM положительный IgM positive	6	10,52	3	5,26
КП/PC	2,08 (1,4–2,8)		1,74 (1,62–1,97)	
IgM пограничный IgM borderline	2	3,51	1	1,75
КП/PC	0,98		0,97	
IgM отрицательный IgM negative	49	85,96	53	92,98

Примечание. КП — коэффициент позитивности, * $p < 0,001$ между первой и второй вакцинацией.

Note. PC — coefficient of positivity, * $p < 0,001$ between the first and second vaccinations.

29,2% летом и 8,3% зимой), что возможно связано с распространением в России штамма Delta.

При оценке эффективности от повторного заражения, в зависимости от типа вакцин, статистически значимых различий не выявлено: из 57 человек, привитых «Спутник V», заболели 16 сотрудников (28%), «КовиВак» — 6 из 20 (30%) и «Спутник Лайт» — 2 из 7 (28,5%).

Для установления степени выраженности и длительности поствакцинального иммунитета относительно возраста обследуемых, нами проанализирована интенсивность выработки IgM и IgG антител у 40 сотрудников, привитых вакциной «Спутник V», в динамике периода наблюдения.

В соответствии с классификацией ВОЗ сотрудники были подразделены на три группы: 1-я группа — молодой возраст (18–44 года), 19 человек; 2-я группа — средний (44–60 лет), 10 человек и 3-я группа — пожилой (60–75 лет), 11 человек. Средний возраст в группах составил 33 (28–37) года, 48 (46–54) лет и 61 (61–68) год соответственно.

У лиц молодого возраста пограничный результат IgM к SARS-CoV-2 регистрировался у одного

сотрудника, который 6 месяцев назад переболел коронавирусной инфекцией и имел перед первой вакцинацией аналогичный результат, у второго сотрудника обнаружены IgM с низким КП = 1,19. У лиц среднего возраста положительный результат на IgM к SARS-CoV-2 обнаружен у 5 человек (36,4%) и у одного (18,2%) — пограничный, у лиц пожилого возраста IgM не определялись.

Содержание IgG к SARS-CoV-2 после введения первого компонента вакцины в 1-й и 2-й группах не отличалось и составляло КП = 8,48 (5,78–10,11) и 9,27 (5,84–10,31) у.е. Наименьшее количество IgG после первой вакцинации регистрировалось у лиц пожилого возраста, составляя в среднем 1,48 (1,12–3,25) у.е. Высокий коэффициент позитивности более 9 у.е. несколько чаще регистрировался у лиц среднего возраста — 60% против 42,1% у сотрудников молодого возраста и 0% — у пожилых ($p > 0,05$).

После введения второго компонента вакцины «Спутник V» количество IgG антител у лиц разного возраста не отличалось (КП = 10,34 (10,0–10,27), 9,32 (6,02–10,44) и 9,82 (2,61–10,52) у.е., $p > 0,05$). Высокий уровень антител во всех возрастных группах сохранялся в течение первых трех месяцев после прививки.

Через 4–6 месяцев после вакцинации практически у половины сотрудников молодого (57,9%) и среднего возраста (50%) количество IgG снизилось в 2 раза с 10,39 (9,73–10,75) и 9,71 (9,3–10,65) до 5,41 (3,59–9,83) и 3,72 (3,72–10,31) у.е.

У лиц пожилого возраста исследование на антитела выполнены только четырем сотрудникам, у двух из которых на протяжении 6 месяцев определялся высокий уровень IgG (КП = 9,48), и у двух человек через 5–6 месяцев концентрация антител снизилась в 3,2 раза (с 10,51 до 3,3 у.е.).

Обсуждение

Актуальной проблемой в условиях глобального распространения новой коронавирусной инфекции является изучение формирования противoinфекционного и поствакцинального иммунитета к SARS-CoV-2, его продолжительности, защиты от повторного заражения, что будет способствовать формированию популяционного иммунитета и оценке индивидуальной невосприимчивости переболевших к SARS-CoV-2 в последующем.

В настоящем исследовании нами продемонстрировано, что серопревалентность IgG к SARS-CoV-2 у медицинских работников «Уральского научно-исследовательского института материнства и младенчества» в период второй волны пандемии, до проведения вакцинации, составляла 36,73%, что сопоставимо с результатами, полученными D. Mukwege и соавт. (2021) и И.Д. Решетниковой и соавт. (2021) [12, 28].

Из общего количества серопозитивных сотрудников были выделены лица со среднетяже-

лым — 12,61%, легким — 61,34% и бессимптомным — 26,05% течением инфекции.

Проведенные исследования показали, что при первичном исследовании, на 3–4 неделе от начала заболевания, у всех обследованных лиц наблюдались высокие уровни IgG к SARS-CoV-2 (КП > 9,0 у.е.), статистически значимых различий между группами не выявлено ($p > 0,05$ во всех случаях). Однако у сотрудников, перенесших интерстициальную пневмонию (КТ-2), отмечалась повышенная реактивностью гуморального иммунитета, о чем свидетельствовал высокий уровень IgM к SARS-CoV-2 и частота его выявления в сыворотке крови. Это может быть обусловлено как тяжестью перенесенного заболевания, так и более старшим возрастом в сравнении с сотрудниками с легким и бессимптомным течением инфекции.

В литературе имеются данные, что люди пожилого возраста имеют более высокую распространенность сопутствующих заболеваний, которые связаны с повышенным риском тяжелого течения COVID-19. Также эта категория лиц более склонна к нарушению врожденного или клеточного адаптивного иммунного ответа, что делает их особенно уязвимыми для гриппа, SARS-CoV-2 и других коронавирусов [14].

Продолжительность выработки специфических IgM антител не зависела от тяжести перенесенного заболевания, а коррелировала с их количеством. У сотрудников с низким уровнем IgM полная элиминация антител регистрировалась через 2–3 месяца, с высоким — через 6–7 месяцев.

Что касается продукции IgG, то согласно данным литературы, продолжительность ответа к спайковому белку (связанному с нейтрализующей активностью) варьируется от 36 дней до 10 месяцев. Результаты исследования S.F. Lumley и соавт. (2021) продемонстрировали, что у 94% медицинских работников уровни IgG-антител к S-белку оставались выше положительного порога через 180 дней [24]. J. Wei и соавт. (2021) оценили период полужизни антиспайк-IgG в 184 дня, что указывает на устойчивый ответ антител против инфекции, при этом у 20-летних этот период составлял 380–590 дней, у 40-летних — 410–649 дней, у 60-летних — 441–703 дня, у 80-летних — 471–755 дней [37]. В работе С.С. Алексанина и соавт. (2021), сообщается, что у более чем половины переболевших количество специфических IgG в течение 10 месяцев не изменялось или повышалось, а в 91,25% случаев антитела не снижались до пороговых и отрицательных значений [2]. Аналогичные результаты были получены в нашем исследовании, где только в двух случаях у лиц с умеренной формой COVID-19 через 11 месяцев IgG к SARS-CoV-2 снизились до пороговых значений.

Что касается динамики снижения концентрации IgG, то согласно данным отечествен-

ных и зарубежных авторов, у лиц, перенесших SARS-CoV-2 бессимптомно, уровни сывороточных антител к спайковому белку (S) SARS-CoV-2 не определяются [9] или быстро снижаются в течение 1–3 месяцев после инфицирования [29].

В отличие от исследования Т.А. Платоновой и соавт. (2021), настоящее исследование показало, что все сотрудники, перенесшие инфекцию бессимптомно, имели антитела к SARS-CoV-2. Доля сотрудников с высоким уровнем IgG к SARS-CoV-2 (КП > 9,0 у.е.), перенесших инфекцию бессимптомно, к 4–6 месяцу снизилась практически в 2 раза, с 64,5 до 33,3% ($p > 0,05$), далее снижение происходило более медленно: 7–9 месяцев — 20% и спустя 9 и более месяцев — 13,3% (в сравнении с первичным исследованием $p < 0,05$ в обоих случаях), что несколько отличается от исследований D.S. Nag и соавт. (2020), и, возможно, связано с коротким сроком наблюдения (до 3-х месяцев).

При первичном исследовании доля лиц, перенесших легкую форму (ОРВИ) коронавирусной инфекции с высоким КП, составляла 83,3%, в 4–6 месяцев — 51,6%, в 7–9 месяцев — 38,7% и в 9 и более месяцев — 25,8%. Уровень IgG к SARS-CoV-2 у этой категории медработников статистически значимо снижался к 4–6 месяцам ($p = 0,002$), к 7–9 месяцам разница с первичным обследованием составляла 2,2 раза ($p < 0,001$). Полученные нами данные согласуются с результатами зарубежных авторов. Так, S. Marot и соавт. (2021) продемонстрировали, что у медработников с легкой формой коронавирусной инфекции уровень IgG к S-белку в течение 3-х месяцев не изменялся [26]. E. Löfström и соавт. (2021) указывают на достоверное снижение уровня антиспайкового белка от 1 до 3 и 6 месяцев [23]. Другими авторами установлено значительное снижение IgG через 6 месяцев и сохранение вирусспецифического защитного иммунитета в течение 1 года [17].

Необходимо отметить, что в отличие от медицинских работников, перенесших легкую и инapparантную форму COVID-19, при умеренно-тяжелом течении инфекции высокий уровень IgG антител к SARS-CoV-2 сохранялся на протяжении всего периода обследования более чем в 80% случаев. Аналогичные данные были получены отечественными и зарубежными авторами, которые сообщают о наличии взаимосвязи между степенью тяжести заболевания и уровнем IgG антител к SARS-CoV-2. И.Д. Решетниковой и соавт. (2021) установлено, что «... у сотрудников, которые перенесли COVID-19 в форме интерстициальной пневмонии, в 100% случаев были выявлены IgG. Медиана коэффициента позитивности была в 2–2,5 раза выше, чем у переболевших COVID-19 в форме острой респираторной инфекции, и в 3–5 раз выше, чем у бессимптомных носителей вируса. После пневмонии IgG у большинства участников исследования сохра-

нялись в течение 8 месяцев, их элиминация имела место только в одном случае — у женщины 51 года через 4,5 месяца после заболевания» [12]. Е.М.Ф. Amjadi и соавт. (2021) также продемонстрировали, что антитела к SARS-CoV-2 были самыми высокими у пациентов с тяжелым заболеванием [13]. Е. Löfström и соавт. (2021) в своем исследовании сообщают о наличии корреляционных связей между уровнем антител всех трех изотипов IgA, IgM, IgG к RBD SARS-CoV-2 и тяжестью заболевания [23].

На втором этапе нами проведена оценка продукции поствакцинальных антител в динамике периода наблюдения: после введения первого и второго компонента вакцины «Спутник V» в течение 9 месяцев и ревакцинации двумя видами вакцин («Спутник Лайт» и «КовиВак»), спустя 1–2 месяца после прививки. Вакцинация проводилась с декабря 2020 г. по август 2021 г.

Согласно данным журнала «Lancet» предварительные результаты об эффективности и безопасности вакцины «Gam-COVID-Vac» продемонстрировали индуцированный сильный гуморальный и клеточный иммунный ответ у участников клинических испытаний на 21 день после введения первой дозы вакцины, ее эффективность составила 91,6% (95% ДИ 85,6–95,2) [9]. В работе Т.В. Амвросьевой и соавт. (2021) доля серопозитивных, привитых вакциной «Спутник V», составила 91,19% [4].

Согласно проведенным нами исследованиям было установлено, что у всех лиц, привитых вакциной «Спутник V», после введения первого и второго компонента в 98,2 и 100% случаев, соответственно, регистрировалась продукция IgG к SARS-CoV-2. Медиана коэффициента позитивности в 7,7 и 8,44 раза превышала их пороговый уровень. У лиц, ранее переболевших или имеющих низкий титр антител, уровень IgG увеличился в среднем в 3 раза после первой вакцинации, что аналогично результатам исследований, сообщаемым зарубежными источниками. Как сообщается в работе R. Rose и соавт. (2021), после первой вакцинации AZD1222 распространенность IgG, направленных против анти-S IgG, антитримерных S IgG и анти-RBD IgG к SARS-CoV-2, составляла 55,3, 76,3 и 94,7% соответственно. После введения второй дозы частота ответа IgG достигла 100% во всех группах. [32]. При обследовании вакцинированных вакциной «Спутник V» Л.А. Алхутовой и соавт. (2021) продемонстрировано, что на 21 день после введения первого компонента IgG к SARS-CoV-2 отмечались у 88,24% обследованных [3]. В отличие от результатов, полученных нами, количество антител, оцениваемых по КП, составляла 2,23 и 4,45 у.е. у мужчин и женщин. Разница в результатах исследования может быть обусловлена тем, что в нашей группе первично вакцинированных доминировали женщины (87,72%).

Необходимо отметить, что в отличие от данных, полученных А. Tretyn и соавт. (2021), ранний срок обнаружения IgG к SARS-CoV-2 составил после 17 дней введения первого компонента вакцины [36].

В настоящее время одной из наиболее популярных в России, остается инактивированная цельновиральная вакцина «КовиВак», рекомендованная людям с аллергией, хроническими заболеваниями, так как в меньшей степени вызывает побочные эффекты. По задумке разработчиков антитела после вакцинации должны вырабатываться на все части вируса, включая шиповидный S-белок. Однако, у лиц, первично привитых этой вакциной, IgG к SARS-CoV-2 не были обнаружены. С одной стороны это возможно связано с более медленным развитием гуморального иммунитета и низким количеством антител, с другой — с невозможностью определения тест-системой производства «Вектор-Бест» некоторых участков S-белка и низкой чувствительностью тест-системы.

В исследовании О.М. Драпкиной и соавт. (2021) продемонстрировано, что после введения первого компонента вакцины «КовиВак», концентрация IgG к S-белку определялась ниже порогового уровня и составляла 7 BAU/мл (отрицательный результат < 10,0 BAU/мл), после введения второго компонента — 21 BAU/мл [7].

Тем не менее использование вакцины «КовиВак» в качестве бустера показало хороший результат. В 100% случаев у лиц, перенесших новую коронавирусную инфекцию или привитых вакциной «Спутник V», определялось наличие IgG к SARS-CoV-2 с увеличением титра антител относительно первоначального уровня. Ревакцинация привитых «Спутник Лайт» также индуцировала гуморальный ответ в 100% случаев.

В октябре 2020 г. в Индии был обнаружен новый вариант коронавируса, получивший название «дельта» и обозначение B.1.617, который облегчает проникновение в организм вируса SARS-CoV-2 и, таким образом, способствует заражению как людей, уже перенесших коронавирусную инфекцию, так и тех, кто был вакцинирован.

18 июня 2021 г. ВОЗ заявила, что «Дельта» становится доминирующим вариантом болезни во всем мире.

В литературе имеются данные, что зарубежные вакцины против COVID-19 Oxford-AstraZeneca и Pfizer-BioNTech были эффективны в снижении риска заражения SARS-CoV-2 и госпитализации COVID-19 у людей с Delta VOC, однако это влияние на инфекцию, по-видимому, было менее эффективным в сравнении с вариантом Alpha VOC [35].

В обзорной статье Castro Dorico X и соавт. (2021) сообщается, что эффективность вакцин Pfizer/BioNTech от симптоматического заболе-

вания, по отчетам Израиля, составляет 46–74% после первой дозы и 87–95% после второй дозы, по отчетам Великобритании — 70 и 85% через неделю после второй дозы. В отчете, опубликованном правительством Великобритании, первая доза была в 78 и 75% случаев эффективна для предотвращения госпитализаций после заражения альфа- или дельта-вирусом, а две дозы обеспечивали защиту 92 и 94% соответственно [16].

В отношении исследования эффективности вакцин против повторного заражения нами были получены следующие результаты. У лиц, вакцинированных «Спутник V», количество заболевших COVID-19 составило 28% (16), из них 3 (5,26%) человека в январе-феврале 2021 г. (после введения первой дозы вакцины), 5 (31,25%) — в июне-августе и 8 (50%) — сентябре-ноябре (после полной вакцинации), что возможно связано с распространением в России штамма Delta. Практически все сотрудники проходили лечение амбулаторно, за исключением одной госпитализированной в середине октября 2021 г.

В целом эффективность от повторного заражения «Спутник V» составила 72%, «КовиВак» — 70% и «Спутник Лайт» — 71,55%.

Необходимо отметить ограничение данного исследования по вакцинам «КовиВак» и «Спутник Лайт», вследствие недостаточного большого размера выборки.

В настоящее время, все больше внимания уделяется вопросу о продолжительности и интенсивности иммунитета после вакцинации, степени его защиты от повторного заражения COVID-19 у лиц, относящихся к различным возрастным категориям.

В нашем исследовании продемонстрировано, что после введения первого компонента вакцины IgM к SARS-CoV-2 у лиц пожилого возраста (60–75 лет) не определялся, но обнаруживался в незначительном количестве случаев (10,53%) у молодых сотрудников (18–44 года) и у каждого третьего человека в возрасте от 44 до 60 лет. При этом уровень IgM по коэффициенту позитивности не превышал 3,0 у.е. и через 4–6 месяцев после второй вакцинации выявлялся в низком титре только у двух человек среднего возраста.

В работе корейских исследователей также показано, что после второй дозы мРНК-вакцины Pfizer/BioNTech BNT162b2 у работников корейской больницы общего профиля в течение 1 месяца регистрировались IgM с полной элиминацией через 8–12 недель [18]. Однако быстрое снижение IgM и стойкий IgG-ответ, показанные в обоих исследованиях, подходят для общепринятой концепции общего процесса, имевшего место после вакцинации

В исследованиях, посвященных изучению динамики поствакцинального иммунитета к SARS-CoV-2 у лиц различных возрастных категорий, сообщается о сниженной продукции IgG антител у лиц старше 65 лет и более значимой у 80-лет-

них [36]. В отличие от данных А. Tretyn и соавт. (2021) наименьшее количество IgG регистрировалось в нашем исследовании у лиц старше 60 лет после первой вакцинации. Самые высокие титры — у лиц молодого и среднего возраста, что сопоставимо с исследованием этого автора. Однако через 3 недели после второй вакцинации высокий уровень IgG к SARS-CoV-2 определялся у всех обследованных сотрудников вне зависимости от возраста и сохранялся на протяжении 3-х месяцев [36]. Аналогичные данные были получены в работе Т.В. Амвросьевой и соавт. (2021), где указано отсутствие в снижении доли серопозитивных лиц спустя 90 дней от начала иммунизации [4].

В работе Алхутовой и соавт. (2021) также сообщается, что наибольшие значения индекса позитивности были обнаружены в группе женщин 41–50 лет. Его значение составило $16,55 \pm 0,27$ у.е. [3]. Снижение коэффициента позитивности в настоящем исследовании (в среднем в 2 раза) регистрировалось через 4–6 месяцев после введения второго компонента вакцины «Спутник V» в каждой группе только у половины вакцинированных, независимо от возраста.

Таким образом, полученные результаты по оценке противоинфекционного и поствакцинального иммунитета к SARS-CoV-2 подчеркивают необходимость проведения дальнейших исследований на большей когорте пациентов с большим вовлечением лиц с бессимптомным течением инфекции и людей пожилого возраста.

Выводы

1. У лиц с клиническими проявлениями и бессимптомном течением инфекции значимых различий в частоте выявления и концентрации IgG к SARS-CoV-2 через 1–3 месяца от начала заболевания не обнаружено. IgM к SARS-CoV-2 у сотрудников, перенесших среднетяжелую форму, выявляются в 2 раза чаще.

2. Среднетяжелая форма новой коронавирусной инфекции чаще регистрируется у сотрудников пожилого возраста. Интенсивность гуморального ответа, определенная по продукции IgG спустя 9 месяцев после инфицирования, проявляется в большей степени (высокий КП) у перенесших среднетяжелое заболевание, чем у тех, кто переболел в легкой или бессимптомной форме.

3. Длительность циркуляции специфических антител после перенесенного заболевания не зависит от степени тяжести и возраста.

4. Эффективность первичной вакцинации «Спутник V» и ревакцинации «Спутник Лайт» и «КовиВак» составляет 100% после введения второго компонента. Наименьший уровень антител после первой вакцинации регистрируется у лиц старше 60 лет.

5. Через 6 месяцев после проведения вакцинации препаратом «Спутник V» у половины сотрудников количество IgG к SARS-CoV-2 снижается в среднем в 2,7 раза, что требует проведения ревакцинации. Скорость элиминация специфических антител зависит от их пиковой концентрации после вакцинации. У первично

привитых вакциной «КовиВак» антитела класса IgG к SARS-CoV-2 через 2 месяца после вакцинации не определяются.

6. Протективный (защитный) эффект вакцин «Спутник V», «Спутник Лайт», «КовиВак» от повторного заражения новой коронавирусной инфекции в среднем составляет 71,2%.

Список литературы/References

1. Агафонова Е.В., Куликов С.Н., Решетникова И.Д., Тюрин Ю.А., Гилязутдинова Г.Ф., Лопушов Д.В., Шайхразиева Н.Д., Исаева Г.Ш., Зиатдинов В.Б. Результаты исследования серопревалентности к SARS-CoV-2 у медицинских работников: возрастные и профессиональные аспекты // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2021. Т. 20, № 2. С. 49–57. [Agafonova E.V., Kulikov S.N., Reshetnikova I.D., Tyurin Yu.A., Gilyazutdinova G.F., Lopushov D.V., Shaykhrazieva N.D., Isaeva G.S., Ziatdinov V.B. Seroprevalence study results to SARS-CoV-2 in healthcare workers: age and professional aspects. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2021, vol. 20, no. 2, pp. 49–57. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2021-20-2-49-57
2. Алексанин С.С., Алхутова Н.А., Ковязина Н.А., Рыбников В.Ю. Динамика уровня антител класса G к SARS-CoV-2 после перенесенной новой коронавирусной инфекции COVID-19 // Медицинский алфавит. 2021. Т. 1, № 30. С. 7–11. [Aleksanin S.S., Alkhutova N.A., Kovyazina N.A., Rybnikov V.Yu. Dynamics of level of class G antibodies to SARS-CoV-2 after new coronavirus infection COVID-19. *Meditsinskii alfavit = Medical Alphabet*, 2021, vol. 1, no. 30, pp. 7–11. (In Russ.)] doi: 10.33667/2078-5631-2021-30-7-11
3. Алхутова Н.А., Ковязина Н.А., Бардышева Н.А., Калинина Н.М., Алексанин С.С. Определение антител класса G к SARS-CoV-2 после применения вакцины «Гам-КОВИД-Вак» или «Спутник V» НИЦЭМ имени Н.Ф. Гамалеи // Медицинский алфавит. 2021. № 13. С. 36–40. [Alkhutova N.A., Kovyazina N.A., Bardysheva N.A., Kalinin N.M., Alexanin S.S. Determination of class G antibodies to SARS-CoV-2 after application of 'GamCOVID-Vac' or 'Sputnik V' vaccine of National Research Centre for Epidemiology and Microbiology n.a. honorary academician N.F. Gamaleya. *Meditsinskii alfavit = Medical Alphabet*, 2021, no. 13, pp. 36–40. (In Russ.)] doi: 10.33667/2078-5631-2021-13-36-40
4. Амвросьева Т.В., Бельская И.В., Богущ З.Ф., Поклонская Н.В., Колтунова Ю.Б., Казинец О.Н. Характеристики и особенности формирования гуморального иммунитета после иммунизации вакцинами «Спутник V» и Vero Cell // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук. 2021. Т. 18, № 4. С. 456–465. [Amvrosieva T.V., Belskaya I.V., Bohush Z.F., Paklonskaya N.V., Kaltunova Yu.B., Kazinets O.N. Characteristics and features of the formation of humoral immunity after immunization with Sputnik V and Vero Cell vaccines. *Izvestiya Natsional'noi akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Medical series*, 2021, vol. 18, no. 4, pp. 456–465. (In Russ.)] doi: 10.29235/1814-6023-2021-18-4-456-465
5. Блох А.И., Панюшкина И.И., Пахтусова П.О., Сергеева И.В., Левахина Л.И., Бурашникова И.П., Анпилова Н.Г., Пеньевская Н.А., Пасечник О.А., Рудаков Н.В. Оценка уровня сероконверсии к SARS-CoV-2 у персонала медико-санитарной части // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2021. Т. 20, № 5. С. 32–38. [Blok A.I., Panyushkina I.I., Pakhtusova P.O., Sergeeva I.V., Levahina L.I., Burashnikova I.P., Anpilova N.G., Penyevskaya N.A., Pasechnik O.A., Rudakov N.V. Assessment of Seroconversion to SARS-CoV-2 in Health Care Unit Personnel. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2021, vol. 20, no. 5, pp. 32–38. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2021-20-5-32-38
6. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 13 (14.10.2021). [Interim guidelines. Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19). Version 13 (10/14/2021). (In Russ.)] URL: <https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/058/211/original/BMP-13.pdf>
7. Драпкина О.М., Бернс С.А., Горшков А.Ю., Шишкова В.Н., Рыжакова Л.Н., Литинская О.А., Иванова А.А., Веретенникова А.В., Башняк В.С., Татаревич Е.Ю. Отдаленная динамика уровня специфических IgG-антител к S-белку коронавируса SARS-CoV-2 у вакцинированных лиц // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2021. Т. 20, № 8. С. 23–28. [Drapkina O.M., Burns S.A., Gorshkov A.Yu., Shishkova V.N., Ryzhakova L.N., Litinskaya O.A., Ivanova A.A., Veretennikova A.V., Bashnyak V.S., Tatarevich E.Yu. Long-term dynamics of the levels of anti-SARS-CoV-2 S-protein IgG antibodies in vaccinated individuals. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika = Cardiovascular Therapy and Prevention*, 2021, vol. 20, no. 8, pp. 23–28. (In Russ.)] doi: 10.15829/1728-8800-2021-3124
8. Кузьменко С.А., Ликстанов М.И., Ошлыкова А.М., Казакова О.С., Горяинова Т.Н., Мозес В.Г., Елгина С.И., Рудаева Е.В. Эпидемиологические особенности заболеваемости и течения новой коронавирусной инфекции COVID-19 у медицинских работников (на основе анализа данных пациентов, пролеченных в репрофилированном инфекционном госпитале) // Медицина в Кузбассе. 2020. № 4. С. 21–24. [Kuzmenko S.A., Likstanov M.I., Oshlykova A.M., Kazakova O.S., Goryainova T.N., Mozes V.G., Elgina S.I., Rudaeva E.V. Epidemiological features of the incidence and course of the new coronavirus infection COVID-19 in medical workers (based on the analysis of data from patients treated in a re-profiled infectious diseases hospital). *Meditsina v Kuzbasse = Medicine in Kuzbass*, 2020, no. 4, pp. 21–24. (In Russ.)] doi: 10.24411/2687-0053-2020-100359
9. Платонова Т.А., Голубкова А.А., Карбовнича Е.А., Смирнова С.С. Особенности формирования гуморального иммунитета у лиц с различными клиническими проявлениями COVID-19. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2021. Т. 20, № 1. С. 20–25. [Platonova T.A., Golubkova A.A., Karbovnichaya E.A., Smirnova S.S. Features of the formation of humoral immunity in individuals with various clinical manifestations of COVID-19. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2021, vol. 20, no. 1, pp. 20–25. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2021-20-1-20-25

10. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Андреева Е.Е., Комбарова С.Ю., Алешкин А.В., Кобзаева Ю.В., Игнатова И.Н., Осадчая М.Н., Назаренко Е.В., Антипова Л.Н., Новикова Л.И., Бочкарева С.С., Басов А.А., Затевалов А.М., Лиханская Е.И., Мизаева Т.Э., Воробьев А.М., Галицкий А.А., Митрохин С.Д., Шкода А.С. Серопревалентность к вирусу SARS-CoV-2 среди медицинских работников г. Москвы в апреле-декабре 2020 года // *Инфекционные болезни*. 2021. Т. 19, № 1. С. 5–13. [Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Andreeva E.E., Kombarova S.Yu., Aleshkin A.V., Kobzaeva Yu.V., Ignatova I.N., Osadchaya M.N., Nazarenko E.V., Antipova L.N., Novikova L.I., Bochkareva S.S., Basov A.A., Zatevalov A.M., Likhanskaya E.I., Mizaeva T.E., Vorobyov A.M., Galitsky A.A., Mitrokhin S.D., Skoda A.S. Seroprevalence to anti-SARS-CoV-2 antibodies among healthcare professionals in Moscow in April-December 2020. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases*, 2021, vol. 19, no. 1, pp. 5–13. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2021-20-1-20-25
11. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Смионов 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., Килячина А.С., Юровских А.И., Котова А.А., Тотолян А.А. Особенности серопревалентности к SARS-CoV-2 населения Среднего и Южного Урала в начальный период пандемии COVID-19 // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2021. Т. 20, № 3. С. 8–18. [Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Melnikova 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 in the early period of the COVID-19 pandemic. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2021, vol. 20, no. 3, pp. 8–18. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2021-20-3-8-18
12. Решетникова И.Д., Тюрин Ю.А., Агафонова Е.В., Куликов С.Н., Гилязудинова 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, № 8. С. 934–942. [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. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 934–942. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-SOT-1587
13. Amjadi M.F., O'Connell S.E., Armbrust T., Mergaert A.M., Narpala S.R., Halfmann P.J., Bashar S.J., Glover C.R., Heffron A.S., Taylor A., Flach B., O'Connor D.H., Kawaoka Y., McDermott A.B., Sethi A.K., Shelef M.A. Specific COVID-19 symptoms correlate with high antibody levels against SARS-CoV-2. *Immunohorizons*, 2021, vol. 5, no. 6, pp. 466–476. doi: 10.4049/immunohorizons.2100022
14. Bartleson J.M., Radenkovic D., Covarrubias A.J., Furman D., Winer D.A., Verdin E. SARS-CoV-2, COVID-19 and the aging immune system. *Nature Aging*, 2021, vol. 1, pp. 769–782. doi: 10.1038/s43587-021-00114-7
15. Bouwman M., van Osch F., Crijns F., Trienekens T., Mehagnoul-Schipper J., van den Bergh J.P., de Vries J. SARS-CoV-2 seroprevalence in healthcare workers of a teaching hospital in a highly endemic region in the Netherlands after the first wave: a cross-sectional study. *BMJ*, 2021, vol. 11, no. 10: e051573. doi: 10.1136/bmjopen-2021-051573
16. Castro Dopico X., Ols S., Loré K., Karlsson Hedestam G.B. Immunity to SARS-CoV-2 induced by infection or vaccination. *J. Intern. Med.*, 2022, vol. 291, no. 1, pp. 32–50. doi: 10.1111/joim.13372
17. Feng C., Shi J., Fan Q., Wang Y., Huang H., Chen F., Tang G., Li Y., Li P., Li J., Cui J., Guo L., Chen S., Jiang M., Feng L., Chen L., Lei C., Ke C., Deng X., Hu F., Tang X., Li F. Protective humoral and cellular immune responses to SARS-CoV-2 persist up to 1 year after recovery. *Nat. Commun.*, 2021, vol. 12, no. 1: 4984. doi: 10.1038/s41467-021-25312-0
18. Kim H.J., Yun H.J., Kim J., Kym S., Choi Q. Antibody response to second dose of the BNT162b2 mRNA vaccine in the first 12 weeks in South Korea: a prospective longitudinal study. *Vaccine*, 2022, vol. 40, iss. 3, pp. 437–443. doi: 10.1016/j.vaccine.2021.12.012
19. Kirkcaldy R.D., King B.A., Brooks J.T. COVID-19 and post-infectious immunity: limited evidence, many unresolved questions. *JAMA*, 2020, vol. 323, no. 22, pp. 2245–2246. doi: 10.1001/jama.2020.7869
20. Lahner E., Dilaghi E., Prestigiacomo C., Alessio G., Marcellini L., Simmaco M., Santino I., Orsi G.B., Anibaldi P., Marcolongo A., Annibale B., Napoli C. Prevalence of SARS-CoV-2 infection in health workers (HWs) and diagnostic test performance: the experience of a teaching hospital in Central Italy. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2020, vol. 17, no. 12: 4417. doi: 10.3390/ijerph17124417
21. Lin Y., Zhao Z., Zheng J., Liu J., Huang A. Realization of humoral immunity against SARS-CoV-2 infections. *Fundamental Research*, 2021, vol. 1, iss. 2, pp. 186–188. doi: 10.1016/j.fmre.2021.01.008
22. Logunov D.Y., Dolzhikova I.V., Shcheblyakov D.V., Tukhvatulin A.I., Zubkova O.V., Dzharullaeva A.S., Kovyrshina A.V., Lubenets N.L., Grousova D.M., Erokhova A.S., Botikov A.G., Izhaeva F.M., Popova O., Ozharovskaya T.A., Esmagambetov I.B., Favorskaya I.A., Zrelkin D.I., Voronina D.V., Shcherbinin D.N., Semikhin A.S., Simakova Y.V., Tokarskaya E.A., Egorova D.A., Shmarov M.M., Nikitenko N.A., Gushchin V.A., Smolyarchuk E.A., Zyryanov S.K., Borisevich S.V., Naroditsky B.S., Gintsburg A.L.; Gam-COVID-Vac Vaccine Trial Group. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous primeboost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet*, 2021, vol. 397, no. 10275, pp. 671–681. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00234-8
23. Löfström E., Eringfält A., Kötz A., Wickbom F., Tham J., Lingman M., Nygren J.M., Undén J. Dynamics of IgG-avidity and antibody levels after COVID-19. *J. Clin. Virol.*, 2021, no. 144: 104986. doi: 10.1016/j.jcv.2021.104986
24. Lumley S.F., Wei J., O'Donnell D., Stoesser N.E., Matthews P.C., Howarth A., Hatch S.B., Marsden B.D., Cox S., James T., Peck L.J., Ritter T.G., de Toledo Z., Cornell R.J., Jones E.Y., Stuart D.I., Screation G., Ebner D., Hoosdally S., Crook D.W., Conlon C.P., Pouwels K.B., Walker A.S., Peto T.E.A., Walker T.M., Jeffery K., Eyre D.W. The duration, dynamics, and determinants of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) antibody responses in individual healthcare workers. *Clin. Infect. Dis.*, 2021, vol. 73, no. 3, pp. e699–e709. doi: 10.1093/cid/ciab004
25. Malfertheiner S.F., Brandstetter S., Roth S., Harner S., Buntrock-Döpke H., Toncheva A.A., Borchers N., Gruber R., Ambrosch A., Kabesch M., Häusler S. Immune response to SARS-CoV-2 in health care workers following a COVID-19 outbreak: a prospective longitudinal study. *J. Clin. Virol.*, 2020, vol. 130: 104575. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104575

26. Marot S., Malet I., Leducq V., Zafilaza K., Sterlin D., Planas D., Gothland A., Jary A., Dorgham K., Bruel T., Burrel S., Boutolleau D., Schwartz O., Gorochoy G., Calvez V., Marcelin A.G. Rapid decline of neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 among infected healthcare workers. *Nat. Commun.*, 2021, vol. 12: 844. doi: 10.1038/s41467-021-21111-9
27. Meylan S., Dafni U., Lamoth F., Tsourti Z., Lobritz M.A., Regina J., Bressin P., Senn L., Grandbastien B., Andre C., Fenwick C., D'Acromont V., Croxatto A., Guilleret I., Greub G., Manuel O., Calandra T., Pantaleo G., Lazor-Blanchet C. SARS-CoV-2 seroprevalence in healthcare workers of a Swiss tertiary care centre at the end of the first wave: a cross-sectional study. *BMJ Open*, 2021, vol. 11, no. 7: e049232. doi: 10.1136/bmjopen-2021-049232
28. Mukwege D., Byabene A.K., Akonkwa E.M., Dahma H., Dauby N., Cikwanine Buhendwa J.P., Le Coadou A., Montesinos I., Bruyneel M., Cadière G.B., Vandenberg O., Van Laethem Y. High SARS-CoV-2 seroprevalence in healthcare workers in Bukavu, Eastern Democratic Republic of Congo. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2021, vol. 104, no. 4, pp. 1526–1530. doi: 10.4269/ajtmh.20-1526
29. Nag D.S., Chaudhry R., Mishra M., Rai S., Gupta M. A prospective study on rapidly declining SARS-CoV-2 IgG antibodies within one to three months of testing IgG positive: can it lead to potential reinfections? *Cureus*, 2020, vol. 12, no. 12: e11845. doi: 10.7759/cureus.11845
30. Poletti P., Tirani M., Sereda D., Guzzetta G., Trentini F., Marziano V., Toso C., Piatti A., Piccarreta R., Melegaro A., Andreassi A., Gramegna M., Ajelli M., Merler S. Seroprevalence and risk factors associated with SARS-CoV-2 infection among healthcare workers during the early COVID-19 pandemic in Italy. *JAMA*, 2021, vol. 4, no. 7: e2115699. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.1569
31. Rodriguez de Limia Ramirez K., Ruiz-Robledillo N., Duro-Torrijos J.L., Garcia-Roman V., Albaladejo-Blasquez N., Ferrer-Cascales R. Prevalence of SARS-CoV-2 infection among healthcare workers in two health departments of the Valencian Community in Spain. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2021, vol. 19, no. 1: 66. doi: 10.3390/ijerph19010066
32. Rose R., Neumann F., Grobe O., Lorentz T., Fickenscher H., Krumbholz A. Humoral immune response after different SARS-CoV-2 vaccination regimens. *BMC Med.*, 2022, vol. 20, no. 31. doi: 10.1186/s12916-021-02231-x
33. Sabetian G., Moghadami M., Hashemizadeh Fard Haghighi L., Shahriarirad R., Fallahi M.J., Asmari N., Moeini Y.S. COVID-19 infection among healthcare workers: a cross-sectional study in southwest Iran. *Viral J.*, 2021, vol. 18, no. 1: 58. doi: 10.1186/s12985-021-01532-0
34. Sahu A.K., Amrithanand V.T., Mathew R., Aggarwal P., Nayer J., Bhoi S. COVID-19 in health care workers — a systematic review and meta-analysis. *Am. J. Emerg. Med.*, 2020, vol. 38, no. 9, pp. 1727–1731. doi: 10.1016/j.ajem.2020.05.113
35. Sheikh A., McMenamin J., Taylor B., Robertson S., Public Health Scotland and EAVE II staff. SARS-CoV-2 Delta VOC in Scotland: demographics, hospitalization risk and vaccine effectiveness. *Lancet*, 2021, vol. 397, no. 10293, pp. 2461–2462. doi: 10.1016/S0140-6736(21)01358-1
36. Tretyn A., Szczepanek J., Skorupa M., Jarkiewicz-Tretyn J., Sandomierz D., Dejewska J., Ciecchanowska K., Jarkiewicz-Tretyn A., Koper W., Pałgan K. Differences in the concentration of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies post-COVID-19 recovery or post-vaccination. *Cells*, 2021, vol. 10, no. 8: 1952. doi: 10.3390/cells10081952
37. Wei J., Matthews P.C., Stoesser N., Maddox T., Lorenzi L., Studley R., Bell J.I., Newton J.N., Farrar J., Diamond I., Rourke E., Howarth A., Marsden B.D., Hoosdally S., Jones E.Y., Stuart D.I., Crook D.W., Peto T.E.A., Pouwels K.B., Walker A.S., Eyre D.W.; COVID-19 Infection Survey team. Anti-spike antibody response to natural SARS-CoV-2 infection in the general population. *Nat. Commun.*, 2021, vol. 12, no. 1: 6250. doi: 10.1038/s41467-021-26479-2

Авторы:

Чистякова Г.Н., д.м.н., профессор, руководитель отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества Минздрава России, г. Екатеринбург, Россия;

Мальгина Г.Б., д.м.н., доцент, директор ФГБУ Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества Минздрава России, г. Екатеринбург, Россия;

Устюжанин А.В., к.м.н., старший научный сотрудник отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества Минздрава России, г. Екатеринбург, Россия;

Ремизова И.И., к.б.н., старший научный сотрудник отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества Минздрава России, г. Екатеринбург, Россия.

Authors:

Chistyakova G.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Immunology, Microbiology, Pathomorphology and Cytodiagnosics, Urals Scientific Research Institute for Maternal and Child Care of Ministry of Healthcare, Yekaterinburg, Russian Federation;

Malgina G.B., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Director of the Urals Scientific Research Institute for Maternal and Child Care of Ministry of Healthcare, Yekaterinburg, Russian Federation;

Ustyuzhanin A.V., PhD (Medicine), Senior Researcher, Department of Immunology, Microbiology, Pathomorphology and Cytodiagnosics, Urals Scientific Research Institute for Maternal and Child Care of Ministry of Healthcare, Yekaterinburg, Russian Federation;

Remizova I.I., PhD (Biology), Senior Researcher, Department of Immunology, Microbiology, Pathomorphology and Cytodiagnosics, Urals Scientific Research Institute for Maternal and Child Care of Ministry of Healthcare, Yekaterinburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 28.12.2021
Отправлена на доработку 14.01.2022
Принята к печати 16.02.2022

Received 28.12.2021
Revision received 14.01.2022
Accepted 16.02.2022

ВНУТРИЛАБОРАТОРНАЯ ВАЛИДАЦИЯ «ТИГРАТЕСТ® SARS-CoV-2» — ТЕСТА НА ВЫСВОБОЖДЕНИЕ ИНТЕРФЕРОНА ГАММА *IN VITRO* ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ В КРОВИ Т-ЛИМФОЦИТОВ, СПЕЦИФИЧЕСКИ ОТВЕЧАЮЩИХ НА АНТИГЕНЫ ВИРУСА SARS-CoV-2

И.В. Лягоскин, П.Е. Каргополова, Д.А. Обьедков, И.Ю. Егорова, Р.Р. Шукуров

АО «ГЕНЕРИУМ», пгт. Вольгинский, Петушинский район, Владимирская область, Россия

Резюме. SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), он же 2019-nCoV (2019-Novel Coronavirus) — вид коронавируса, из рода бетакоронавирусов (*Betacoronavirus*), обнаруженный в конце 2019 г. у больных с пневмонией в Китае. «Коронавирусная инфекция COVID-19» (Corona Virus Disease 2019 — «COVID-19»), вызванная коронавирусом 2019 (COVID-19), распространилась по миру очень быстрыми темпами и унесла уже более 5,2 млн жизней. Ограниченный успех в разработке новых лекарственных средств, а также использование существующих лекарственных препаратов для лечения COVID-19 привел к тому, что долгое время основными мерами профилактики были тестирование и изоляция заболевших, но в настоящий момент ситуацию в лучшую сторону меняет вакцинация. Проведение мониторинга формирования гуморального и Т-клеточного популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 в условиях пандемии COVID-19 является необходимым элементом эпидемиологического надзора. Для оценки гуморального иммунитета широко применяют методы на основе ИФА, а для оценки клеточного иммунитета используют различные тест-системы, в том числе и на основе ELISPOT (Enzyme-Linked ImmunoSpot). Анализ ELISPOT — это высокочувствительный и специфичный метод определения количества отдельных Т-клеток, секретирующих цитокин, после стимуляции определенным антигеном. «ТиграТест® SARS-CoV-2» — тест на высвобождение интерферона гамма *in vitro* для определения в крови Т-лимфоцитов, специфически отвечающих на антигены вируса SARS-CoV-2, — производства АО «ГЕНЕРИУМ», изготовлен на платформе ELISPOT. В настоящем исследовании описывается процедура лабораторной валидации тест-системы с определением следующих показателей: специфичность пары антител, влияние интерферирующих веществ, чувствительность и специфичность, прецизионность, стабильность образцов крови до извлечения из нее целевых клеток. Разработанная тест-система показала высокую диагностическую чувствительность и специфичность. Специфичность «ТиграТест® SARS-CoV-2» составила 100%, чувствительность для иммунизированных вакциной «Гам-КОВИД-Вак» (Спутник V) — 91,67%,

Адрес для переписки:

Лягоскин Иван Владимирович
601125, Россия, Владимирская область, Петушинский район,
пгт. Вольгинский, ул. Владимирская, 14, АО «ГЕНЕРИУМ».
Тел.: 8 (495) 988-47-94.
E-mail: lyagoskin@ibcgenerium.ru

Contacts:

Ivan V. Lyagoskin
601125, Russian Federation, Vladimir Region, Petushinsky district,
poselok Volginsky, Vladimirskaaya str., 14, JSC "GENERIUM".
Phone: +7 (495) 988-47-94.
E-mail: lyagoskin@ibcgenerium.ru

Для цитирования:

Лягоскин И.В., Каргополова П.Е., Обьедков Д.А., Егорова И.Ю., Шукуров Р.Р. Внутривлабораторная валидация «ТиграТест® SARS-CoV-2» — теста на высвобождение интерферона гамма *in vitro* для определения в крови Т-лимфоцитов, специфически отвечающих на антигены вируса SARS-CoV-2 // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4. С. 701–712. doi: 10.15789/2220-7619-ILV-1855

Citation:

Lyagoskin I.V., Kargopolova P.E., Obiedkov D.A., Egorova I.Yu., Shukurov R.R. Intra-laboratory validated "TigraTest® SARS-CoV-2" — test assessing release of interferon gamma *in vitro* to identify peripheral blood T-lymphocytes specifically responding against SARS-CoV-2 virus antigens // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 701–712. doi: 10.15789/2220-7619-ILV-1855

а чувствительность при оценке переболевших добровольцев — 95,45%. При этом вариабельность результатов как внутри-, так и межсерийного сравнения теста, не превышала 25%, а хранение крови в условиях (18–25)°C в течение 24 часов после отбора крови от пациента и извлечения из нее целевых клеток не оказывало влияние на результаты теста.

Ключевые слова: валидация, «TigraTest® SARS-CoV-2», COVID-19, T-клеточный иммунитет, ELISPOT, диагностическая чувствительность, специфичность, вариабельность.

INTRA-LABORATORY VALIDATED “TIGRATEST® SARS-CoV-2” — TEST ASSESSING RELEASE OF INTERFERON GAMMA *IN VITRO* TO IDENTIFY PERIPHERAL BLOOD T-LYMPHOCYTES SPECIFICALLY RESPONDING AGAINST SARS-CoV-2 VIRUS ANTIGENS

Lyagoskin I.V., Kargopolova P.E., Obyedkov D.A., Egorova I.Yu., Shukurov R.R.

JSC “GENERIUM”, Volginsky, Petushinsky District, Vladimir Region, Russian Federation

Abstract. SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), also known as 2019-nCoV (2019–Novel Coronavirus) is a strain of coronavirus from the genus Betacoronavirus, discovered in China at the end of 2019 in patients with pneumonia. “Coronavirus infection COVID-19” (CORona VIRus Disease 2019) caused by coronavirus 2019 (COVID-19) has spread around the world at a very fast pace, with death toll exceeding more than 5.2 million people worldwide. Limited success in developing new drugs as well as use of existing drugs for the treatment of COVID-19 resulted in situation when the main prevention measures for a long time were based on testing and isolation of sick subjects, which started to reverse due to vaccination. Monitoring the formation of humoral and T-cell population immunity against the SARS-CoV-2 virus during the COVID-19 pandemic is a necessary element for epidemiological surveillance. ELISA-based methods are widely used to assess humoral immunity, and various test systems including ELISPOT (Enzyme-Linked ImmunoSpot) are used to analyze cellular immunity. The ELISPOT assay is a highly sensitive and specific method for quantifying individual cytokine-secreting T cells after being stimulated with a specific antigen. “TigraTest® SARS-CoV-2” Test assessing release of interferon gamma *in vitro* to detect peripheral blood T-lymphocytes that specifically respond to the SARS-CoV-2 virus antigens manufactured by GENERIUM JSC, is created on the ELISPOT platform. This study describes the procedure for laboratory validation of this test system to analyze the following parameters: specificity of antibody pair, effect of interfering substances, sensitivity and specificity, precision, stability of blood samples till isolation of target cells. The developed test system showed high diagnostic sensitivity and specificity. The specificity of TigraTest® SARS-CoV-2 was 100%, the sensitivity for subjects immunized with the Gam-COVID-Vac vaccine (Sputnik V) was 91.67%, and the sensitivity in convalescent COVID-19 patients was 95.45%. At the same time, the data variability both during within and between series comparison did not exceed 25%, whereas 24-hour storage of peripheral blood samples at (18–25)°C after blood collection followed by isolation of target cells did not affect the test results.

Key words: validation, “TigraTest® SARS-CoV-2”, COVID-19, T-cell immunity, ELISPOT, diagnostic sensitivity, specificity, variability.

Введение

SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), он же 2019-nCoV (2019–Novel Coronavirus) — вид коронавируса из рода бетакоронавирусов (*Betacoronavirus*), обнаруженный в конце 2019 г. у больных с пневмонией в Китае.

11 февраля 2020 г. Всемирная организация здравоохранения присвоила официальное название для болезни, которую вызывает SARS-CoV-2 — «Коронавирусная инфекция COVID-19» (CORona VIRus Disease 2019 — «COVID-19») [13]. Заболевание, вызванное SARS-CoV-2 (COVID-19) распространилось по миру очень быстрыми темпами и унесло уже более 5,2 млн жизней [данные <https://origin-coronavirus.jhu.edu/map.html> на 06.12.2021].

Считается, что инкубационный период COVID-19 составляет до 14 дней, в течение которых возможна передача инфекции. SARS-CoV-2 контагиозен и имеет более высокую степень передачи (R_0 , 1,4–5,5), чем SARS-CoV (R_0 , 2–5)

и MERS-CoV (R_0 , < 1), хотя уровень смертности для него ниже — 3,4% по сравнению с 10% для SARS-CoV и 34% для MERS-CoV [17]. При этом большинство не проявляющих симптомов носителей не имеют достаточного уровня нейтрализующих антител [8]. Пандемия COVID-19 ознаменовалась жесткими карантинными мерами — вплоть до закрытия государственных границ. Но наиболее действенным методом для ограничения распространения инфекции, как и для большинства других инфекционных болезней, является вакцинация.

Определение наличия T-клеточного иммунного ответа к вирусу SARS-CoV-2 актуально для определения общего количества людей, перенесших данное заболевание, в том числе без ярко выраженных симптомов, а также для оценки эффективности вакцинации. При этом среди методов оценки T-клеточного иммунного ответа наиболее перспективным является ELISPOT-тест на секрецию интерферона гамма [1, 2].

Анализ ELISPOT — это метод определения количества отдельных Т-клеток, секретирующих цитокин, после стимуляции определенным антигеном или пептидом, проявляющихся в виде пятен на нитроцеллюлозной мембране [3, 12, 15]. Как правило, количество пятен увеличивается пропорционально силе иммунного ответа. Важным преимуществом метода ELISPOT является прямое измерение уровня иммунного ответа, опосредованного клетками Th1.

В ELISPOT пятна образуются с помощью колориметрической реакции, в которой растворимый субстрат расщепляется, оставляя нерастворимый осадок на месте реакции. Это пятно представляет собой след исходной клетки, продуцирующей цитокин. Количество пятен является прямым измерением частоты цитокин-продуцирующих Т-клеток. Конечная точка анализа (spot — точка, пятно) представляет собой результат серии комплекса явлений, которые можно разбить на три этапа: а) условия культивирования клеток, приводящие к продукции IFN γ ; б) ферментно-опосредованная система обнаружения захвата антителами; в) подсчет клеток [15].

В настоящем исследовании описывается процедура лабораторной валидации тест-системы «ТиграТест® SARS-CoV-2» — теста на высвобождение интерферона гамма *in vitro* для определения в крови Т-лимфоцитов, специфически отвечающих на антигены вируса SARS-CoV-2 — с определением следующих показателей: специфичность пары антител, влияние интерферирующих веществ, чувствительность и специфичность, прецизионность, стабильность образцов крови до извлечения из нее целевых клеток.

Материалы и методы

Добровольцы. Образцы крови. Все добровольцы, участвующие в исследовании, заполняли опросный лист с указанием основных характеристик, симптомов заболевания, наличия или отсутствия подтвержденной лабораторными методами инфекции, вызванной SARS-CoV-2, наличия или отсутствия подтвержденного диагноза пневмонии компьютерной томографией или дату иммунизации и использованный вакцинный препарат. Условно здоровые доноры также указывали наличие или отсутствие близких, или продолжительных контактов с больными COVID-19. Образцы крови отбирали венепункцией в условиях процедурного кабинета АО «ГЕНЕРИУМ» в период с апреля по июль 2021 г. в пгт. Вольгинский Владимирской области (Россия). От каждого донора было получено добровольное информированное согласие на отбор образцов крови

и включение результатов их анализа в данное исследование. Проведение исследования было одобрено локальным независимым этическим комитетом при АО «Генериум» (протокол № 01 от 11.11.2020). Всего были взяты образцы крови у 98 добровольцев: у 42 интактных (не болевших и не контактировавших с инфицированными COVID-19), у 12 иммунизированных «Гам-Ковид-Вак» и у 44 переболевших COVID-19). Доноров распределяли по группам. Отбор крови у иммунизированных вакциной «Гам-Ковид-Вак» (Спутник V) происходил в интервале 3–6 нед. после двукратной вакцинации. У переболевших COVID-19 кровь отбирали в интервале от 1 до 10 мес. после исчезновения симптомов заболевания или наличия отрицательного теста ПЦР.

Выделение мононуклеарных клеток периферической крови и приготовление рабочих суспензий. Мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) выделяли методом центрифугирования в градиенте плотности фиколла (ρ 1,077 г/см³) (НПП «ПанЭко», Россия) не позднее чем через 1 ч после забора крови. При исследовании стабильности образцов крови выделение МКПК проводили через 12, 24, 48 и 72 ч после забора крови. Подсчет клеток проводили с использованием счетчика клеток — NucleoCounter® System (Chemometec, Дания).

Для приготовления рабочей суспензии МКПК кл/мл использовали следующие формулы:

$$k = \frac{C, \text{ кл/мл}}{3,5 \times 10^6} \quad (1)$$

$$Z = \frac{500}{k} \quad (2)$$

$$V = 500 - Z \quad (3)$$

где: k — коэффициент разведения исходной суспензии МКПК; C , кл/мл — концентрация МКПК в исходной суспензии; $3,5 \times 10^6$ — целевая концентрация МКПК в рабочей суспензии, млн; Z — объем исходной суспензии МКПК, которую необходимо отобрать из пробирки, мкл; V — объем среды AIM-V® + AlbuMAX®, мкл.

В каждую лунку планшета вносили от $3,0 \times 10^5$ до $4,0 \times 10^5$ МКПК (оптимальное количество — $3,5 \times 10^5$) в среде AIMV® + AlbuMAX® (GIBCO™, Invitrogen, США) в объеме 100 мкл.

Для анализа ELISPOT использовали только свежевыделенные МКПК.

Антигены. В качестве антигенов для стимуляции специфических Т-клеток в «ТиграТест® SARS-CoV-2» использовали пептиды, соответствующие основным белковым антигенам коронавируса SARS-CoV-2: S-белок (шип) (Панель антигена 1 — ПА1), нуклеокапсидный

белок (N), мембранный белок (M) и 2 вспомогательных белка — ORF3a и ORF7a (Панель антигена 2 — ПА2).

IFN γ ELISPOT. МКПК каждого добровольца инкубировали в течение 16–24 ч с пептидными антигенами (концентрация каждого пептида в пуле составляла 2 мкг/мл) обеих панелей антигенов. Индивидуальный тест для каждого донора состоял из 4 лунок: отрицательный контроль, без стимуляции МКПК; стимуляция пептидами S-белка (ПА1); стимуляция пептидами белков N, M, ORF3a и ORF7a (ПА2); положительный контроль (стимуляция всех жизнеспособных и функционально активных Т-клеток с помощью антитела к CD3, клон ОКТ-3).

После инкубации и отмывки пятна проявляли с помощью антитела к IFN γ , конъюгированного со щелочной фосфатазой (производство АО «ГЕНЕРИУМ», клон 1G9 (Конъюгат)) и хромогенного субстрата BCIP/NBT (5-бromo-4-хлоро-3-индолил-фосфат/нитросиний тетразолия хлорид, Sigma-Aldrich, США).

Подсчет пятен производили как визуально под стереомикроскопом, так и с помощью специализированного ELISPOT-ридера AID Classic ELR08 (AID GmbH, Германия). Величину Т-клеточного ответа выражали как количество подсчитанных пятен в лунках с ПА1 или ПА2 за вычетом количества пятен в отрицательном контроле (без стимуляции антигенами).

Критерием пригодности теста были результаты положительного (К+) и отрицательного (К-) контролей. В положительном контроле должно было быть не менее 100 пятен, в отрицательном контроле — не более 14 пятен. Наличие более 14 пятен могло свидетельствовать об остром воспалительном процессе или

о случайном загрязнении образца клеток эндотоксинами. В таком случае донору предлагали повторно сдать кровь через 1–2 недели. У категории переболевших должны выявляться четко различимые локальные пятна в лунках с ПА1 и ПА2 или в лунке с ПА2. У категории вакцинированных должны выявляться четко различимые локальные пятна в лунках с ПА1. Коэффициент вариации (RSD%) не должен превышать 25% [6].

Использованные в исследовании серии теста представлены в табл. 1.

Оценка специфичности антител по отношению к про- и противовоспалительным цитокинам. Для оценки специфичности антител, сорбированных на мембране, иммобилизованной в лунках планшета, и выявляющих интерферон-гамма (IFN γ), использовали следующие антигены: IL-2 (Thermo Fisher Scientific Inc., кат. PNC0023), IL-6 (206-IL-010, R&D Systems, США), IFN-1 β (Лекарственный препарат Инфибета® (IFN-1 β) (АО «ГЕНЕРИУМ», серия ВАО4120), TNF α (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, кат. ргФНО-альфа).

Лиофилизат каждого из антигенов растворяли в необходимом количестве среды AIM V® + AlbuMAX® до достижения концентрации 10 мкг/мл и хорошо перемешивали. Приготовленные рабочие растворы антигенов по 100 мкл в трех повторностях вносили в лунки планшета и проводили испытание согласно инструкции по применению теста. Постановка теста не предусматривала внесение в лунки МКПК.

Оценка влияния интерферирующих веществ. Изучение влияния интерферирующих веществ проводили с использованием образцов крови от 8 доноров, вакцинированных «Гам-КОВИД-Вак» или переболевших COVID-19.

Шесть пробирок крови по 8–9 мл от каждого добровольца разделяли на две группы: образцы крови 4 доноров в каждой группе использовали для изучения влияния дексаметазона (раствор для инъекций 4 мг/мл, серия А65691, KRKA, Словения) и интерферона-бета-1b (лиофилизат для приготовления раствора для подкожного введения Инфибета® (Infibeta®), АО «ГЕНЕРИУМ») на специфичность теста.

В первые три пробирки доноров первой группы добавляли раствор дексаметазона из расчета 0,0033 мг/мл, в другие три пробирки — фосфатно-буферный раствор (pH 7,2) в объеме, соответствующем объемной дозе дексаметазона.

В первые три пробирки доноров второй группы добавляли раствор интерферона-бета-1b из расчета 0,04 мкг/мл, в другие три пробирки — фосфатно-буферный раствор в объеме, соответствующем объемной дозе интерферона-бета-1b.

Образцы тщательно перемешивали и инкубировали в течение 1 ч при комнатной темпера-

Таблица 1. Экспериментальные серии «ТиграТест® SARS-CoV-2» (АО «ГЕНЕРИУМ», Россия)

Table 1. Experimental batches of “TigraTest® SARS-CoV-2” (JSC “GENERIUM”, Russia)

Серия теста Kit batches	120	220/320	111-20
Планшет Plate	EXAH00120	EXAH00220	111-20
ОКТ-3 ОКТ-3	EXAC00120	EXAC00320	XAC00220
Конъюгат Conjugate	EXAF00120	EXAF00320	XAF00220
Субстрат Substrate	EXAA00120	EXAA00320	XAA00220
ПА1 Antigen panel No. 1	XAK00220	XAK00220	XAK00220
ПА2 Antigen panel No. 2	XAM00220	XAM00220	XAM00220

туре. Далее проводили выделение МКПК, подсчет клеток и приготовление рабочих суспензий согласно инструкции к тесту. Если RSD между результатами теста с использованием МКПК без добавления и МКПК с добавлением интерферента не превышал 25%, то считали, что интерферент не оказывает влияние на специфичность теста.

Оценка чувствительности и специфичности. Анализ результатов тестирования образцов МКПК, полученных от добровольцев с достоверно установленным статусом, проводили, определяя показатели, приведенные в разделе «Статистический анализ». Диагностическая специфичность теста была оценена на МКПК от 42 интактных (не болевших и не контактировавших с инфицированными COVID-19). Диагностическая чувствительность теста в отношении иммунизированных «Гам-КОВИД-Вак» лиц была оценена на МКПК от 12 добровольцев, прошедших вакцинацию. Диагностическая чувствительность теста в отношении переболевших COVID-19 лиц была оценена на МКПК от 44 добровольцев с верифицированным лабораторными методами (ПЦР, ИФА) диагнозом.

Оценка стабильности образцов крови. Для испытания использовали образцы, полученные от добровольцев, иммунизированных вакциной «Гам-КОВИД-Вак» (Спутник V). Кровь отбирали в пробирки для забора крови (BD Vacutainer®, США), где в качестве антикоагулянта использовался натрий гепарин. Образцы крови до выделения МКПК хранили при температуре от 18 до 25°C в течение 72 ч. Выделение МКПК и анализ высвобождения IFN γ проводили сразу после отбора крови (не позднее 1 ч), а затем через 12, 24, 48 и 72 ч.

Оценка прецизионности. Прецизионность характеризовали коэффициентом вариации. Оценивали следующие параметры:

1. **Вариабельность внутри одного планшета в течение одного аналитического цикла (АЦ).** Изучение параметра проводили с использованием МКПК, выделенных из крови добровольца, переболевшего с верифицированным диагнозом COVID-19, подтвержденным ПЦР и наличием специфических антител к антигенам SARS-CoV-2. Клетки вносили в лунки планшета в хаотичном порядке, следуя правилу тетраплет для одной повторности (К-, ПА1, ПА2, К+). Учет результатов проводили при соблюдении критериев пригодности теста, а также вычисления коэффициента вариации для лунок с ПА1 и ПА2 внутри одного планшета в течении одного аналитического цикла в одном и том же образце.

2. **Вариабельность между операторами внутри одного лота (партии) теста.** Изучение параметра

проводили с использованием МКПК, выделенных из крови добровольцев, переболевших COVID-19, подтвержденным ПЦР или наличием специфических антител, и добровольцев, иммунизированных вакциной «Гам-КОВИД-Вак» (Спутник V). Всего в исследовании использовали МКПК от 8 доноров. Оценку проводили с применением одной серии теста «ТиграТест® SARS-CoV-2» и участием двух операторов. Учет результатов проводили при соблюдении критериев пригодности теста, а также вычисления коэффициента вариации для лунок с ПА1 и ПА2 в одних и тех же образцах внутри одного аналитического цикла между операторами.

3. **Вариабельность между лотами (партиями) теста.** При оценке параметра использовали 8 доноров, со статусом и критериями оценки описанных в пункте 2. Исследование проводилось в одной лаборатории с использованием трех серий теста «ТиграТест® SARS-CoV-2» (№ 120, № 220/320 и № 111-20/220) и участием одного оператора. Учет результатов проводили при соблюдении критериев пригодности теста, а также вычисления коэффициента вариации для лунок с ПА1 и ПА2 в одних и тех же образцах между лотами (партиями) теста для переболевших и вакцинированных добровольцев.

Статистический анализ. Статистическая обработка результатов выполнялась при помощи пакета MS Excel 2019. Рассчитывались среднее арифметическое, стандартное (среднеквадратичное) отклонение, коэффициент вариации (относительное стандартное отклонение), диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность [14].

Результаты

Оценка специфичности по отношению к про- и противовоспалительным цитокинам

При оценке Т-клеточного ответа важным показателем является способность тест-системы выявлять специфичные клетки, отвечающие секрецией IFN γ на стимуляцию МКПК антигенами SARS-CoV-2. Подобранная пара антител к IFN γ должна избирательно и с высокой чувствительностью выявлять именно искомым цитокин. Экспериментально доказано, что антитела, иммобилизованные на мембранах в лунках культурального планшета «ТиграТест® SARS-CoV-2», взаимодействуют только с IFN γ и не имеют перекрестной реакции с другими цитокинами (IL-2, IL-6, IFN-1 β , TNF α), продуцируемые Т-клетками (графические данные представлены на рис. 1, вклейка, с. I).

Оценка влияния интерферирующих веществ

В данном исследовании оценивалось влияние потенциально интерферирующих веществ

на специфичность «ТиграТест® SARS-CoV-2». К интерферирующим веществам относятся как эндогенные, так и экзогенные вещества, которые в норме или при различных патологиях могут присутствовать в крови пациента и, следовательно, повлиять на результаты исследования [4]. Потенциальное влияние интерферирующих веществ на результаты «ТиграТест® SARS-CoV-2» должно сводиться к минимуму ввиду процесса отмывки фракции МКПК при подготовке клеток перед внесением в лунки. Однако, чтобы исключить вероятность влияния интерферента, были проведены исследования с применением Дексаметазона и интерферона-бета-1b. При этом оба препарата вносились в образцы заведомо с избытком, с концентрацией, которая в организме человека не встречается.

Отобранные пробы МКПК, как с добавлением потенциального интерферента, так и без него, подвергались анализу с целью прямого сравнения конкретных проб. Результаты исследований представлены в табл. 2.

Содержание дексаметазона в количестве 0,0033 мг/мл в клинических образцах не влияло на эффективность теста. Коэффициенты вариации результатов проведенных испытаний в лунках с ПА1 и ПА2, содержащих МКПК, выделенные из образцов крови с внесенным дексаметазоном, и пятен в лунках с ПА1 и ПА2, содержащих МКПК, выделенные из образцов крови без дексаметазона, не превысили 25%. Содержание интерферона бета-1b в количестве 0,04 мкг/мл в клинических образцах оказывало влияние на эффективность теста в зависимости от донора. Коэффициенты вариации результатов проведенных испытаний в лунках с ПА1 и ПА2, содержащих МКПК, выделенные из образцов крови с внесенным интерфероном бета-1b, и пятен в лунках с ПА1 или ПА2, содержащих МКПК, выделенные из образцов крови без интерферона бета-1b для трех из четырех доноров, превысили 25%.

Оценка чувствительности и специфичности

Проведенные исследования показали, что в лунках с негативным контролем (К-) у пациентов любой из испытуемых категорий, количество пятен не превышало 14, в среднем наблюдалось 3 пятна. В лунках с позитивным контролем (К+) количество пятен всегда превышало 100.

На панели МКПК от условно здоровых лиц ($n = 42$) специфичность «ТиграТест® SARS-CoV-2» составила 100%, не было выявлено ни одного ложноположительного результата.

У добровольцев, иммунизированных вакциной «Гам-КОВИД-Вак» в 91,67% случаев подтверждался статус, среднее количество

пятен ($n = 12$) в лунке с ПА1 составило 50, а с ПА2 — 8 пятен.

У добровольцев, переболевших COVID-19, подтвержденным ПЦР или наличием специфических антител, в 95,45% случаев также подтверждался статус. У шести добровольцев пятна (12 пятен, за вычетом пятен в отрицательном контроле) регистрировались только в лунке с ПА2. Количество пятен в лунке с ПА1 не превышало 10 (за вычетом пятен в отрицательном контроле).

В одном случае у добровольца с верифицированным диагнозом COVID-19, регистрировалось количество пятен, превышающее 12 (за вычетом пятен в отрицательном контроле), только в лунке с ПА1.

В другом случае у добровольца с верифицированным диагнозом COVID-19 регистрировалось количество пятен менее 10 (за вычетом пятен в отрицательном контроле) только в лунке с ПА1, а в лунке с ПА2 — 12 пятен, и результат оценивался как сомнительный.

В сорока двух случаях у добровольцев с верифицированным диагнозом COVID-19 регистрировалось количество пятен более 12 (за вычетом пятен в отрицательном контроле) в лунках с обеими панелями антигенов. Для этой категории добровольцев среднее количество пятен в лунке с ПА1 составило 39, а в лунке с ПА2 — 72 пятна.

Стабильность биологических образцов

Важным показателем любой тест-системы является получение достоверных результатов при оценке образцов, подвергшихся влиянию внешних условий, особенно это касается температуры хранения. Анализ данных показал, что образцы крови стабильны в течение 24 ч при комнатной температуре 18–25°C. При этом с течением времени наблюдается увеличение количества неспецифической секреции IFN γ в контрольной лунке (К-) в виде диффузных, с не очерченными границами пятен. Если в интервале 0–24 ч наблюдается варьирование количества пятен в лунках в пределах $\pm 10\%$, то уже спустя 48 ч количество четко очерченных пятен в лунках с ПА1 и ПА2 снижается на 90%, а через 72 ч в соответствующих лунках пятна не обнаруживаются. Графические результаты представлены на рис. 2 (вклейка, с. II).

Прецизионность

Вариабельность внутри одного планшета в течение одного аналитического цикла (АЦ). Коэффициент вариации результатов измерения количества пятен внутри одного планшета в течение одного аналитического цикла в одном и том же образце с использованием «ТиграТест® SARS-CoV-2» в лунках с ПА1 и ПА2 не превышал 25%.

Таблица 2. Результаты постановок венозной (периферической) крови от категорий доноров, вакцинированных против новой коронавирусной инфекции вакцинным препаратом «Гам-КОВИД-Вак» и переболевших COVID-19, с добавлением дексаметазона и интерферона бета-1b для оценки влияния интерферирующих веществ

Table 2. Results of venous (peripheral) blood production based on volunteer categories immunized with vaccine preparation "Gam-COVID-Vak" against a new coronavirus infection and COVID-19 convalescent subjects with and without the addition of dexamethasone and interferon beta-1b to assess the effect of interfering substances

№ п/п No.	Шифр образца Sample code	Реагент/ компонент Reagent/ component	Повторы Runs			Среднее значение Mean	Количество пятен в ПА1 и ПА2 за вычетом К- PA2 minus K-/Control-	Результат Result	%RSD между образцом с ИФ и без добавления ИФ/% RSD between sample with and without interference	
			1	2	3				ПА1/Antigen panel 1	ПА2/Antigen panel 2
1	021-Б без дексаметазона no dexamethasone	K-/Control-	0	0	0	88	Положительный Positive	3	24	
		ПА1/Panel 1	76	113	76					
		ПА2/Panel 2	15	14	9	13				
		K+/Control+	520	533	514					
021-Б с добавлением дексаметазона 0,0033 мг/мл with dexamethasone 0,0033 mg/ml	K-/Control-	1	1	1	92	Положительный Positive				
	ПА1/Panel 1	84	101	95						
	ПА2/Panel 2	9	9	12	9					
	K+/Control+	512	543	534						
016-Б без дексаметазона no dexamethasone	K-/Control-	0	0	0	2	Сомнительный Dubious				
	ПА1/Panel 1	5	2	0						
	ПА2/Panel 2	13	10	9	11					
	K+/Control+	552	531	539						
016-Б с добавлением дексаметазона 0,0033 мг/мл with dexamethasone 0,0033 mg/ml	K-/Control-	0	2	1	2	Сомнительный Dubious				
	ПА1/Panel 1	2	5	3						
	ПА2/Panel 2	14	12	13	12					
	K+/Control+	551	546	545						
017-Б без дексаметазона no dexamethasone	K-/Control-	0	0	0	5	Сомнительный Dubious				
	ПА1/Panel 1	5	2	9						
	ПА2/Panel 2	13	10	9	11					
	K+/Control+	552	531	539						
017-Б с добавлением дексаметазона 0,0033 мг/мл with dexamethasone 0,0033 mg/ml	K-/Control-	0	1	0	4	Отрицательный Negative				
	ПА1/Panel 1	4	5	4						
	ПА2/Panel 2	8	13	10	10					
	K+/Control+	475	548	499						
018-Б без дексаметазона no dexamethasone	K-/Control-	13	13	13	7	Положительный Positive				
	ПА1/Panel 1	21	32	7						
	ПА2/Panel 2	79	48	57	48					
	K+/Control+	501	542	479						
018-Б с добавлением дексаметазона 0,0033 мг/мл with dexamethasone 0,0033 mg/ml	K-/Control-	4	2	13	10	Положительный Positive				
	ПА1/Panel 1	31	7	9						
	ПА2/Panel 2	71	39	42	45					
	K+/Control+	541	571	546						

Окончание таблицы 2. Результаты постановок венозной (периферической) крови от категорий доноров, вакцинированных против новой коронавирусной инфекции вакцинным препаратом «Гам-КОВИД-Вак» и переболевших COVID-19, с добавлением и без добавления дексаметазона и интерферона бета-1b для оценки влияния интерферирующих веществ

Table 2. Results of venous (peripheral) blood production based on volunteer categories immunized with vaccine preparation "Gam-COVID-Vak" against a new coronavirus infection and COVID-19 convalescent subjects with and without the addition of dexamethasone and interferon beta-1b to assess the effect of interfering substances (continued)

№ п/п No.	Шифр образца Sample code	Реагент/ компонент Reagent/ component	Повторы Runs			Среднее значение Mean	Количество пятен в ПА1 и ПА2 за вычетом К- Number of spots in PA1 and PA2 minus K-/Control-	Результат Result	%RSD между образцом с ИФ и без добавления ИФ/% RSD between sample with and without interference	
			1	2	3				ПА1/Antigen panel 1	ПА2/Antigen panel 2
5	019-Б без интерферона бета-1b no interferon-beta-1b	K-/Control-	1	0	0	0	7	Положительный Positive	44	42
		ПА1/Panel 1	4	8	10	7				
		ПА2/Panel 2	64	79	73	72				
		K+/Control+	524	531	539	531				
		K-/Control-	11	1	6	6				
5	019-Б с добавлением интерферона бета-1b 0,04 мкг/мл with interferon-beta-1b 0,04 µg/ml	ПА1/Panel 1	8	8	13	10	39	Положительный Positive		
		ПА2/Panel 2	44	43	47	45				
		K+/Control+	600	600	360	520				
		K-/Control-	12	11	12	12				
		ПА1/Panel 1	16	10	12	13				
6	030-Б без интерферона бета-1b no interferon-beta-1b	ПА2/Panel 2	138	115	111	121	109	Положительный Positive		
		K+/Control+	600	600	600	600				
		K-/Control-	5	4	4	4				
		ПА1/Panel 1	11	16	11	13				
		ПА2/Panel 2	65	57	86	69				
6	030-Б с добавлением интерферона бета-1b 0,04 мкг/мл with interferon-beta-1b 0,04 µg/ml	K+/Control+	600	600	600	600	65	Положительный Positive	111	36
		K-/Control-	2	0	0	1				
		ПА1/Panel 1	21	25	12	19				
		ПА2/Panel 2	8	10	9	9				
		K+/Control+	529	540	536	535				
7	013-Б без интерферона бета-1b no interferon-beta-1b	K-/Control-	1	2	3	2	19	Положительный Positive	1	17
		ПА1/Panel 1	26	20	17	21				
		ПА2/Panel 2	11	14	13	13				
		K+/Control+	552	567	553	557				
		K-/Control-	12	13	12	12				
7	013-Б с добавлением интерферона бета-1b 0,04 мкг/мл with interferon-beta-1b 0,04 µg/ml	ПА1/Panel 1	10	14	16	13	1	Отрицательный Negative	130	77
		ПА2/Panel 2	1	1	1	1				
		K+/Control+	555	511	541	536				
		K-/Control-	7	11	8	9				
		ПА1/Panel 1	30	28	43	34				
8	006-Б без интерферона бета-1b no interferon-beta-1b	ПА2/Panel 2	5	5	6	5	-4	Положительный Positive		
		K+/Control+	600	600	400	533				
		K-/Control-	1	1	1	1				
		ПА1/Panel 1	10	14	16	13				
		ПА2/Panel 2	1	1	1	1				
8	006-Б с добавлением интерферона бета-1b 0,04 мкг/мл with interferon-beta-1b 0,04 µg/ml	K+/Control+	555	511	541	536	-11	Отрицательный Negative	130	77
		K-/Control-	7	11	8	9				
		ПА1/Panel 1	30	28	43	34				
		ПА2/Panel 2	5	5	6	5				
		K+/Control+	600	600	400	533				

Примечание. ИФ — интерферент.
Note. IF — interfering agent.

Вариабельность между операторами внутри одного лота (партии) теста. Результаты оценки вариабельности между операторами представлены в табл. 3.

Коэффициенты вариации между лотами (партиями) теста для переболевших в лунках с ПА1 и ПА2 в одном и том же образце не превышали 25%.

Вариабельность между лотами (партиями) теста. Коэффициенты вариации между лотами (партиями) теста для переболевших и вакцинированных в лунках с ПА1 и ПА2 в одном и том же образце не превышали 25% (табл. 4).

Обсуждение

ELISPOT — это высокочувствительный, относительно простой в исполнении и воспроизводимый метод идентификации и количественного определения даже очень редких антиген-специфических Т-клеток [7, 9, 10], отвечающих за формирование клеточного иммунитета, в том числе и при COVID-19. При этом до настоящего времени все еще остаются нерешенными вопросы относительно длительности Т-клеточного иммунитета и его выраженности после перенесенного COVID-19 или иммунизации вакцинными препаратами.

Таблица 3. Статистическая обработка данных при оценке вариабельности между операторами внутри одного планшета и одного лота (партии) «ТиграТест® SARS-CoV-2» для переболевших COVID-19 и добровольцев, иммунизированных вакциной «Гам-КОВИД-Вак» (Спутник V)

Table 3. Data statistical processing while assessing variability between in-plate single lot (batch) “TigraTest® SARS-CoV-2” data for COVID-19 patients and donors immunized with the “Gam-COVID-Vac” vaccine (Sputnik V)

Доброволец Volunteer	Лунка Well	Оператор Operator		Среднее Mean	Стандартное отклонение (S) Standard deviation	Коэффициент вариации (RSD%) Coefficient of variation
		№ 1	№ 2			
1	ПА1 Antigen panel 1	36	26	31	7,1	23
	ПА2 Antigen panel 2	34	25	29,5	6,4	22
2	ПА1 Antigen panel 1	10	12	11	1,4	13
	ПА2 Antigen panel 2	37	46	41,5	6,4	15
3	ПА1 Antigen panel 1	10	9	9,5	0,7	7
	ПА2 Antigen panel 2	18	17	17,5	0,7	4
4	ПА1 Antigen panel 1	14	15	14,5	0,7	5
	ПА2 Antigen panel 2	13	14	13,5	0,7	5
5	ПА1 Antigen panel 1	36	44	40	5,7	14
	ПА2 Antigen panel 2	5	4	4,5	0,7	16
6	ПА1 Antigen panel 1	38	30	34	5,7	17
	ПА2 Antigen panel 2	5	0	2,5	3,5	141*
7	ПА1 Antigen panel 1	22	19	20,5	2,1	10
	ПА2 Antigen panel 2	14	15	14,5	0,7	5
8	ПА1 Antigen panel 1	40	36	38	2,8	7
	ПА2 Antigen panel 2	6	7	6,5	0,7	11

Примечание. Добровольцы 1–4 — переболевшие COVID-19; добровольцы 5–8 — вакцинированные; * — показатель исключен при статистической обработке данных.

Note. Donors 1–4 — COVID-19 patients; donors 5–8 — vaccinated; * — parameter excluded from statistical analysis.

На показатели специфичности и чувствительности теста, являющимися важнейшими аналитическими характеристиками методики, отражающими ее возможности в получении объективных и достоверных результатов, существенное влияние может оказывать качество и стабильность биологических образцов.

В литературе встречается достаточно данных, свидетельствующих о стабильности образцов крови при хранении в пробирках с литий-гепарином для проведения биохимических исследований [5], кроме того, показано, что транспортировка образцов крови в течение ночи

не наносит существенного ущерба субпопуляциям Т-клеток, и они сохраняют свой фенотип и пролиферативную способность [11]. Нашими исследованиями также подтверждена стабильность в течение 24 ч при комнатной температуре образцов крови в пробирках, содержащих в качестве антикоагулянта натриевую соль гепарина. Увеличение сроков хранения образцов приводило к снижению чувствительности теста, что выражалось уменьшением количества четко ограниченных пятен и, вероятно, было связано как с лизисом, так и с апоптозом в клеточной популяции [16].

Таблица 4. Статистическая обработка данных при оценке вариабельности между сериями «ТиграТест® SARS-CoV-2» одним оператором для переболевших COVID-19 и добровольцев, иммунизированных вакциной «Гам-КОВИД-Вак» (Спутник V)

Table 4. Data statistical processing while assessing the inter-batch variability for «TigraTest® SARS-CoV-2» by a single operator for COVID-19 patients and donors immunized with the «Gam-COVID-Vac» vaccine (Sputnik V)

Доброволец Volunteer	Лунка Well	Серия «ТиграТест® SARS-CoV-2» Batches of «TigraTest® SARS-CoV-2»			Среднее Mean	Стандартное отклонение (S) Standard deviation	Коэффициент вариации (RSD%) Coefficient of variation
		120	220/320	111-20			
1	ПА1 Antigen panel 1	26	26	28	26,7	1,2	4
	ПА2 Antigen panel 2	25	34	30	29,7	4,5	15
2	ПА1 Antigen panel 1	12	10	8	10,0	2,0	20
	ПА2 Antigen panel 2	46	32	41	39,7	7,1	18
3	ПА1 Antigen panel 1	9	14	12	11,7	2,5	22
	ПА2 Antigen panel 2	17	17	20	18,0	1,7	10
4	ПА1 Antigen panel 1	15	12	12	13,0	1,7	13
	ПА2 Antigen panel 2	14	15	18	15,7	2,1	13
5	ПА1 Antigen panel 1	44	33	39	38,7	5,5	14
	ПА2 Antigen panel 2	4	3	4	3,7	0,6	16
6	ПА1 Antigen panel 1	30	31	24	28,3	3,8	13
	ПА2 Antigen panel 2	0	0	0	0,0	0,0	0
7	ПА1 Antigen panel 1	19	17	18	18,0	1,0	6
	ПА2 Antigen panel 2	15	20	19	18,0	2,6	15
8	ПА1 Antigen panel 1	38	34	31	34,3	3,5	10
	ПА2 Antigen panel 2	7	5	6	6,0	1,0	17

Примечание. Добровольцы 1–4 — переболевшие COVID-19; добровольцы 5–8 — вакцинированные.
Note. Donors 1–4 — COVID-19 patients; donors 5–8 — vaccinated.

При изучении влияния дексаметазона и интерферона-бета установлено, что применение для терапии некоторых инфекционных (гепатиты В и С, папилломатоз) и аутоиммунных (рассеянный склероз) заболеваний интерферонов, может оказывать влияние на последующую активацию Т-клеток при постановке теста. При этом показано, что дексаметазон не обладает свойствами интерферентов и не оказывает влияние на специфичность теста.

Специфичность подобранной пары антител в данном тесте, а также процедура отмывки МКПК, минимизирует учет неспецифического выброса цитокинов Т-лимфоцитами, что позволяет повышать диагностические характеристики «ТиграТест® SARS-CoV-2».

При испытании внутри- и межсерийной прецизионности показано, что результаты удовлетворяли критериям приемлемости — $RSD \leq 25\%$.

Проведенная валидация «ТиграТест® SARS-CoV-2» для выявления Т-клеточного ответа к вирусу SARS-CoV-2 показала соответствие ее параметров принятым критериям приемлемости по чувствительности и специфичности (более 90%), в том числе специфичности по отношению к другим целевым анализам (100%), прецизионности (не более 25%) и влиянию интерферирующих веществ на специфичность теста. Дополнительно установлена стабильность биологических образцов в течение 24 ч после их взятия, позволяющая получать воспроизводимые и достоверные результаты исследований.

Полученные в рамках валидационных испытаний данные свидетельствуют об аналитической надежности сконструированного АО «ГЕНЕРИУМ» теста на основе ELISPOT и позволяют его использовать в целях эпидемиологического надзора за инфекционными болезнями человека путем оценки наличия у различных групп населения иммунитета, как по-стинфекционного, так и приобретенного, после

проведения мероприятий по специфической профилактике коронавирусной инфекции, вызываемой SARS-CoV-2, а также для оценки формирования Т-клеточного иммунитета при проведении прививочных кампаний в отношении вакцинных препаратов, для которых опубликованы данные о способности формирования Т-клеточного ответа.

В исследованиях были использованы только свежевыделенные МКПК, однако существуют достаточное количество исследований, свидетельствующих о возможности криоконсервации клеток [1, 2, 7, 10, 17]. Так, М. Matijevic и соавт. советуют при разморозке клеток промывать их средой, содержащей ДНКазы (например, Benzonase®), которые позволяют минимизировать неспецифическую активацию размороженных клеток.

Дальнейшие исследования направлены на оптимизацию условий криоконсервирования клеток, позволяющих сохранять функциональные свойства клеток, проведение клинических испытаний на большем количестве пациентов, установлении длительности сохранения выраженного Т-клеточного иммунитета после перенесенного заболевания и иммунизации, а также оценку применимости «ТиграТест® SARS-CoV-2» для мониторинга эффективности специфических профилактических мероприятий, осуществляемых вакцинными препаратами, содержащими в качестве антигенов не только спайк (S)-белок SARS-CoV-2.

Благодарности

Коллектив авторов выражает благодарность научному сотруднику отдела молекулярной биологии и биохимии департамента генно-инженерных биологических препаратов Зариновой Д.Т., а также директору департамента управления проектами, к.х.н. Сауткиной Е.Н.

Список литературы/References

1. Потеряев Д.А., Аббасова С.Г., Игнатьева П.Е., Стрижакова О.М., Колесник С.В., Хамитов Р.А. Оценка Т-клеточного иммунитета к SARS-CoV-2 у переболевших и вакцинированных против COVID-19 лиц с помощью ELISPOT набора ТиграТест® SARS-CoV-2 // *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2021. Т. 21, № 3. С. 178–192. [Poteryaev D.A., Abbasova S.G., Ignatyeva P.E., Strizhakova O.M., Kolesnik S.V., Khamitov R.A. Assessment of T-cell immunity to SARS-CoV-2 in COVID-19 convalescents and vaccinated subjects, using TigratTest® SARS-CoV-2 ELISPOT kit. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*, 2021, vol. 21, no. 3, pp. 178–192. (In Russ.)] doi: 10.30895/2221-996X-2021-21-3-178-192
2. Потеряев Д.А., Хамитов Р.А., Ефимов Г.А., Шустер А.М. Перспективы использования технологической платформы ELISPOT в системе противоэпидемических мероприятий против новой коронавирусной инфекции COVID-19 // *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2020. Т. 20, № 3. С. 146–158. [Poteryaev D.A., Khamitov R.A., Efimov G.A., Shuster A.M. Prospects for using the ELISPOT technological platform as part of anti-epidemic measures against the new coronavirus infection COVID-19. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*, 2020, vol. 20, no. 3, pp. 146–158. (In Russ.)] doi: 10.30895/2221-996X-2020-20-3-146-158
3. Asai T., Storkus W.J., Whiteside T.L. Evaluation of the modified ELISPOT assay for gamma interferon production in cancer patients receiving antitumor vaccines. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2000, vol. 7, no. 2, pp. 145–154. doi: 10.1128/CDLI.7.2.145-154.2000
4. Dimeski G. Interference testing. *Clin. Biochem. Rev.*, 2008, vol. 29, suppl. 1, pp. S43–S48.

5. Henriksen L.O., Faber N.R., Moller M.F., Nexø E., Hansen A.B. Stability of 35 biochemical and immunological routine tests after 10 hours storage and transport of human whole blood at 21°C. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2014, vol. 74, no. 7, pp. 603–610. doi: 10.3109/00365513.2014.928940
6. Islam R., Vance J., Poirier M., Zimmer J., Khadang A., Williams D., Zemo J., Lester T., Fjording M., Hays A., Hughes N., Garofolo F., Sheldon C., Guilbaud R., Satterwhite C., Colletti K., Groeber E., Renfrew H., Yu M., Lin J., Fang X., Wissel M., Beadnell T., Lin J., Shah S., Garofolo W., Savoie N., Hayes R., Pirro J., Kane C., Luna M., Xu A., Cape S., O'Dell M., Wheller R., Ritzen H., Farley E., Kierstead L., Mylott W., Tabler E., Yuan M., Karnik S., Voelker T., DuBey I., Williard C., Dong K., Shi J., Yamashita J. Recommendations on ELISpot assay validation by the GCC. *Bioanalysis*, 2022, vol. 14, no. 4, pp. 187–193. doi: 10.4155/bio-2022-0010
7. Janetzki S., Cox J.H., Oden N., Ferrari G. Standardization and validation issues of the ELISPOT assay. *Methods Mol. Biol.*, 2005, vol. 302, pp. 51–86. doi: 10.1385/1-59259-903-6:051
8. Ko J.H., Joo E.J., Park S.J., Baek J.Y., Kim W.D., Jee J., Kim C.J., Jeong C., Kim Y.J., Shon H.J., Kang E.S., Choi Y.K., Peck K.R. Neutralizing antibody production in asymptomatic and mild COVID-19 patients, in comparison with pneumonic COVID-19 patients. *J. Clin. Med.*, 2020, vol. 9, no. 7: 2268. doi: 10.3390/jcm9072268
9. Lalvani A., Pareek M. Interferon gamma release assays: principles and practice. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, 2010, vol. 28, no. 4, pp. 245–252. doi: 10.1016/j.eimc.2009.05.012
10. Matijevic M., Urban R.G. Use of interferon-gamma ELISPOT in monitoring immune responses in humans. *Methods Mol. Biol.*, 2005, vol. 302, pp. 237–252. doi: 10.1385/1-59259-903-6:237
11. Posevitz-Fejfar A., Posevitz V., Gross C.C., Bhatia U., Kurth F., Schütte V., Bar-Or A., Meuth S.G., Wiendl H. Effects of blood transportation on human peripheral mononuclear cell yield, phenotype and function: implications for immune cell biobanking. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 12: e115920. doi: 10.1371/journal.pone.0115920
12. Power C.A., Grand C.L., Ismail N., Peters N.C., Yurkowski D.P., Bretscher P.A. A valid ELISPOT assay for enumeration of ex vivo, antigen-specific, IFN-gamma-producing T cells. *J. Immunol. Methods*, 1999, vol. 227, no. 1–2, pp. 99–107. doi: 10.1016/S0022-1759(99)00074-5
13. Rahman I.U., Ali N., Ijaz F., Afzal A., Abd Allah E.F. COVID-19 — important considerations for developing and using a vaccine. *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2021, vol. 17, no. 2, pp. 414–415. doi: 10.1080/21645515.2020.1781507
14. Ranganathan P., Aggarwal R. Common pitfalls in statistical analysis: understanding the properties of diagnostic tests — Part 1. *Perspect. Clin. Res.*, 2018, vol. 9, no. 1, pp. 40–43. doi: 10.4103/picr.PICR_170_17
15. Smith J.G., Liu X., Kaufhold R.M., Clair J., Caulfield M.J. Development and validation of a gamma interferon ELISPOT assay for quantitation of cellular immune responses to varicella-zoster virus. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2001, vol. 8, no. 5, pp. 871–879. doi: 10.1128/CDLI.8.5.871-879.2001
16. Wong K.H., Sandlin R.D., Carey T.R., Miller K.L., Shank A.T., Oklu R., Maheswaran S., Haber D.A., Irimia D., Stott S.L., Toner M. The role of physical stabilization in whole blood preservation. *Sci. Rep.*, 2016, vol. 6: 21023. doi: 10.1038/srep21023
17. Zayed R.A., Omran D., Zayed A.A. COVID-19 clinical and laboratory diagnosis overview. *J. Egypt. Public Health Assoc.*, 2021, vol. 96, no. 1: 25. doi: 10.1186/s42506-021-00087-w

Авторы:

Лягоскин И.В., к.б.н., руководитель отдела аналитических методов департамента фармацевтического анализа АО «ГЕНЕРИУМ», Владимирская область, Петушинский район, пгт. Вольгинский, Россия;

Каргополова П.Е., химик-аналитик лаборатории биологических методов отдела аналитических методов департамента фармацевтического анализа АО «ГЕНЕРИУМ», Владимирская область, Петушинский район, пгт. Вольгинский, Россия;

Объедков Д.А., научный сотрудник лаборатории биологических методов отдела аналитических методов департамента фармацевтического анализа АО «ГЕНЕРИУМ», Владимирская область, Петушинский район, пгт. Вольгинский, Россия;

Егорова И.Ю., д.в.н., доцент, руководитель группы диагностических тест-систем отдела молекулярной диагностики департамента фармацевтического анализа АО «ГЕНЕРИУМ», Владимирская область, Петушинский район, пгт. Вольгинский, Россия;

Шукуров Р.Р., к.б.н., директор департамента фармацевтического анализа АО «ГЕНЕРИУМ», Владимирская область, Петушинский район, пгт. Вольгинский, Россия.

Authors:

Lyagoskin I.V., PhD (Biology), Head of the Analytical Methods Division, Department of the Pharmaceutical Analysis, JSC "GENERIUM", Vladimir Region, Petushinsky district, poselok Volginsky, Russian Federation;

Kargopolova P.E., Analytical Chemist, Laboratory of Biological Methods, Analytical Methods Division, Department of the Pharmaceutical Analysis, JSC "GENERIUM", Vladimir Region, Petushinsky district, poselok Volginsky, Russian Federation;

Obyedkov D.A., Researcher, Laboratory of Biological Methods, Analytical Methods Division, Department of the Pharmaceutical Analysis, JSC "GENERIUM", Vladimir Region, Petushinsky district, poselok Volginsky, Russian Federation;

Egorova I.Yu., PhD, MD (Veterinary), Associate Professor, Head of the Group of Diagnostic Test-Systems, Division of Molecular Diagnostics, Department of the Pharmaceutical Analysis, JSC "GENERIUM", Vladimir Region, Petushinsky district, poselok Volginsky, Russian Federation;

Shukurov R.R., PhD (Biology), Director of the Department of the Pharmaceutical Analysis, JSC "GENERIUM", Vladimir Region, Petushinsky district, poselok Volginsky, Russian Federation.

БАКТЕРИАЛЬНАЯ МИКРОФЛОРА РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА, ВЫЯВЛЕННАЯ У БОЛЬНЫХ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ В ПЕРИОД ПРОДОЛЖАЮЩЕГОСЯ РАСПРОСТРАНЕНИЯ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В г. ХАБАРОВСКЕ (ДЕКАБРЬ 2020 — МАРТ 2021 г.)

О.Е. Троценко¹, А.П. Бондаренко¹, В.А. Шмыленко¹, Е.А. Базыкина¹,
Н.Ю. Пшеничная², Т.А. Зайцева³, Н.К. Ткачева⁴, О.Н. Огиенко¹

¹ ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Российская Федерация

² ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация

³ Управление Роспотребнадзора по Хабаровскому краю, г. Хабаровск, Российская Федерация

⁴ ЛПУ № 2, г. Хабаровск, Российская Федерация;

Резюме. Цель исследования — определить бактериальную микрофлору респираторного тракта больных внебольничной пневмонией (ВП) при их первичном и повторном обследовании, выявить локальные факторы, влияющие на показатели микрофлоры у наблюдаемого контингента. Объект наблюдения — 241 больной ВП из двух лечебных учреждений г. Хабаровска, различающихся по статусу и возрастному составу пациентов. Исследованы респираторные мазки. В ЛПУ № 1, в котором сосредоточены пациенты старше 61 года — 82,0% (74,3–88,6) с более тяжелым течением болезни, в том числе пациенты РАО, показатели выявления грамотрицательных энтеробактерий — 30,8% (22,6–39,7) и неферментирующих грамотрицательных бактерий — 14,5% (8,6–21,7) были выше по сравнению с ЛПУ № 2 — 19,8% (13,4–27,0) и 6,1% (2,7–10,8) соответственно группам возбудителей. Ведущий возбудитель в обоих ЛПУ — *Klebsiella pneumoniae* — 13,6% (7,8–20,6) и 10,7% (6,0–16,5). Следует отметить регистрацию *Acinetobacter baumannii* complex — 6,4% (2,6–11,7) и 3,1% (0,8–6,7). Характерна высокая доля участия лекарственноустойчивых вариантов — 66,7% (41,8–87,4) и 57,1% (32,2–80,2) для *K. pneumoniae*, в ЛПУ № 1 и ЛПУ № 2 соответственно, и для *A. baumannii* complex — в ЛПУ № 1 их вклад составил 85,7% (52,7–99,97), в ЛПУ № 2 все изоляты имели лекарственную устойчивость. В обоих ЛПУ у больных отмечены высокие показатели выявления грибов рода *Candida* — 54,5% (45,2–63,7) и 58,0% (49,5–66,3) соответственно, и минимальные уровни классических возбудителей: *S. pneumoniae* — 5,4% (2,0–10,4) и 5,3% (2,1–9,8) и *H. influenzae* — 3,6% (0,9–7,9) и 3,8% (1,2–7,7) соответственно. Через 7–10 дней при повторном обследовании 122 больных отмечено разнонаправленное из-

Адрес для переписки:

Троценко Ольга Евгеньевна
680000, Россия, г. Хабаровск, ул. Шевченко, 2,
ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии
и микробиологии Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (421) 232-52-28. E-mail: trotsenko_oe@hniiem.ru

Contacts:

Olga E. Trotsenko
680000, Russian Federation, Khabarovsk, Shevchenko str., 2,
Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology
of the Rosпотребнадзор.
Phone: +7 (421) 232-52-28. E-mail: trotsenko_oe@hniiem.ru

Для цитирования:

Троценко О.Е., Бондаренко А.П., Шмыленко В.А., Базыкина Е.А.,
Пшеничная Н.Ю., Зайцева Т.А., Ткачева Н.К., Огиенко О.Н.
Бактериальная микрофлора респираторного тракта,
выявленная у больных внебольничной пневмонией в период
продолжающегося распространения новой коронавирусной
инфекции в г. Хабаровске (декабрь 2020 — март 2021 г.) //
Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4. С. 713–725.
doi: 10.15789/2220-7619-COR-1839

Citation:

Trotsenko O.E., Bondarenko A.P., Shmylenko V.A., Bazykina E.A., Pshenichnaya N.Yu.,
Zaitseva T.A., Tkacheva N.K., Ogienko O.N. Characteristics of respiratory tract
bacterial microflora detected in patients suffering from community-acquired
pneumonia during continuing spread of the new coronavirus infection in Khabarovsk
city (december 2020 — march 2021) // Russian Journal of Infection and Immunity =
Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 713–725. doi: 10.15789/2220-7619-
COR-1839

менение микрофлоры, независимое от статуса ЛПУ, и проявляющееся как по линии утраты лекарственноустойчивых вариантов, так и в приобретении их или одновременном присутствии разных вариантов одного возбудителя. Полученные результаты свидетельствуют о сложности и множественности механизмов формирования популяции микроорганизмов в динамике инфекционного процесса у больного. Выявлены локальные факторы, влияющие на показатели микрофлоры больных в двух лечебных учреждениях.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, больные, бактериальная микрофлора, первичное обследование, повторное обследование, влияние локальных факторов.

CHARACTERISTICS OF RESPIRATORY TRACT BACTERIAL MICROFLORA DETECTED IN PATIENTS SUFFERING FROM COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA DURING CONTINUING SPREAD OF THE NEW CORONAVIRUS INFECTION IN Khabarovsk CITY (DECEMBER 2020 – MARCH 2021)

Trotsenko O.E.^a, Bondarenko A.P.^a, Shmylenko V.A.^a, Bazykina E.A.^a, Pshenichnaya N.Yu.^b, Zaitseva T.A.^c, Tkacheva N.K.^d, Ogienko O.N.^a

^a Khabarovsk Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Surveillance on Consumers Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor), Khabarovsk, Russian Federation

^b Central Scientific Research Institute of Epidemiology of the Federal Service for Surveillance on Consumers Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor), Moscow, Russian Federation

^c The Khabarovsk Krai Rospotrebnadzor Regional Office, Khabarovsk, Russian Federation

^d Medical-Prophylactic Institution No. 2, Khabarovsk, Russian Federation

Abstract. Objective of the research — to specify respiratory tract bacterial microflora in patients suffering from community-acquired pneumonia (CAP) during initial and repeat examination. To determine local factors affecting microflora in the cohort examined. *Materials and methods.* Surveillance subject — 241 patients with CAP differed by their status and age who stayed in two healthcare facilities of the Khabarovsk city. Examination of respiratory smears was performed. *Results.* Indices of Gram-negative enterobacteria (30.8% [22.6–39.7%]) and Gram-negative nonfermentable bacteria (14.5% [8.6–21.7%]), isolated from patients hospitalized in healthcare institution No. 1 and mostly comprised of the elderly (aged over 61 years — 82.0%; 74.3–88.6%) with more severe disease state including patients at the ICU, were higher compared to data obtained from healthcare institution No. 2 (19.8% (13.4–27.0); 6.1% (2.7–10.8) respectively). Prevalent pathogen was *Klebsiella pneumoniae* — 13.6% (7.8–20.6) and 10.7% (6.0–16.5). Identification of *Acinetobacter baumannii* complex — 6.4% (2.6–11.7) and 3.1% (0.8–6.7) — should be also noted. A high percentage of drug-resistant bacterial variants was observed and for *Klebsiella pneumoniae* totaled 66.7% (41.8–87.4) and 57.1% (32.2–80.2) at the healthcare institutions No. 1 and No. 2, respectively. *A. baumannii* complex drug resistant variants were found in 85.7% (52.7–99.97) at healthcare institution No. 1. All isolates of *A. baumannii* complex at the healthcare institution No. 2 were drug resistant. High prevalence of *Candida* spp. was revealed in both healthcare institutions reaching 54.5% (45.2–63.7) and 58.0% (49.5–66.3), respectively, with minimal detection rate of classic pathogens such as *S. pneumoniae* — 5.4% (2.0–10.4) and 5.3% (2.1–9.8) and *H. influenzae* — 3.6% (0.9–7.9) and 3.8% (1.2–7.7), respectively. Repeat examination of 122 patients conducted 7–10 days later showed diverse changes in microflora spectrum regardless of the healthcare institution that was manifested as loss or emergence of drug-resistant variants as well as simultaneous presence of different variants of the same pathogen. *Conclusion.* The results obtained evidence about complexity and variety of mechanisms underlying microorganism community formation during the course of infectious process in patients. Local factors influencing microflora characteristics of patients at the two healthcare institutions were revealed.

Key words: community-acquired pneumonia, patients, bacterial microflora, initial examination, repeat examination, influence of local factors

Введение

На фоне эпидемии COVID-19 особенно остро встал вопрос непрерывного микробиологического мониторинга при внебольничных пневмониях (ВП) и обеспечения биологической безопасности больничной среды, связанный с глобальным распространением мультирезистентных бактерий [7].

Инфекционные осложнения, вызванные грамотрицательными бактериями, являются серьезной проблемой для современной медицины, так как оказывают влияние на прогноз и исходы

заболеваний, особенно в отделениях интенсивной терапии [5]. Наиболее серьезную опасность для пациентов ВП представляют штаммы неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОб) — *Acinetobacter baumannii* complex, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, а также энтеробактерии *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *E. coli*, способные формировать штаммы, устойчивые к β-лактамам антибиотикам — цефалоспорином III–IV поколений — за счет продукции β-лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) и других механизмов, и к карбапенемам [1].

Распространение среди энтеробактерий продуцентов БЛРС привело к тому, что применявшиеся для лечения тяжелых госпитальных инфекций цефалоспорины III–IV поколений стали неэффективными. Место базовых препаратов заняли карбапенемы. Следующим этапом приспособительных преобразований у грамотрицательных возбудителей с целью выживания в неблагоприятной среде стала выработка лекарственной устойчивости к карбапенемам (имипенему, меропенему, эртапенему), которая была сформирована за счет продукции у патогенов ферментов карбапенемаз (чаще всего металло- β -лактамаз (МБЛ) NDM и сериновых карбапенемаз OXA-48), а также за счет других механизмов (эффлюкс, инактивация, хромосомные мутации, снижение проницаемости клеточных мембран для АМП и др.) [5].

По данным исследований, проведенных в г. Ростов-на-Дону, с ростом циркуляции в стационарах города штаммов *K. pneumoniae*, устойчивых к карбапенемам (имипенему, меропенему, эртапенему) — 57,8, 55,0 и 60,0% соответственно, в том числе карбапенемазопродуцирующих вариантов (27,8%), снизилась частота выделения продуцентов БЛРС до 35,0%. Выявлено только 2,2% изолятов с сочетанной продукцией карбапенемаз и БЛРС. В остальных случаях продуценты карбапенемаз проявляли резистентность к цефалоспорином III–IV поколений без продукции БЛРС. Для *E. coli* по-прежнему на этом этапе сохраняется высокая частота продукции БЛРС (78,2%) и низкая частота выявления продуцентов карбапенемаз (2,3%). Для *A. baumannii* частота выявления резистентности к имипенему и меропенему составляла 87,1 и 85,1%, которая в 100% случаев обусловлена продукцией различных классов карбапенемаз (OXA-24/40, OXA-23, NDM). Для штаммов *P. aeruginosa* резистентность к карбапенемам (имипенему, меропенему) была выявлена у 61,9 и 58,7% изолятов, из них у 54,4% штаммов резистентность была связана с МБЛ (WIM и сериновыми карбапенемазами GES-5), в 45,0% случаев резистентность была обусловлена другими механизмами [5].

Определение генетических детерминант у штаммов, проявляющих устойчивость к карбапенемам, позволяет выявлять генетические линии, свойственные госпитальным штаммам, прогнозировать развитие эпидемиологической ситуации, а также определять закономерности формирования и распространения лекарственно-устойчивых штаммов, корректировать тактику противодействия [2, 5, 10].

Опубликованы данные о том, что широко распространившиеся карбапенем-резистентные грамотрицательные бактерии обладают ассоциированной устойчивостью к большинству не β -лактамных антибактериальных препара-

тов (АМП) [9, 12]. Сцепление генов карбапенемаз с другими детерминантами резистентности во многих случаях сопровождается развитием экстремальной антибиотикорезистентности (XDR — extensively drug-resistance). При такой ситуации приемлемую антимикробную активность сохраняют полимиксины (колистин, полимиксин В). На фоне растущего приема полимиксинов отмечено появление штаммов с полной устойчивостью к АМП (PDR — pandrug resistance) [1, 10].

В научной литературе представлены результаты исследований о циркуляции карбапенем-устойчивых штаммов грамотрицательных бактерий в больничной среде и риске развития инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). Как показали наблюдения, выполненные в стационарах Санкт-Петербурга, частота колонизации пациентов грамотрицательными бактериями с устойчивостью к карбапенемам была различной для двух наблюдаемых стационаров. Что может указывать на наличие локальных факторов, влияющих на заболеваемость внутрибольничными инфекциями. Анализ данных позволил прийти к заключению, что существенный рост частоты выделения карбапенем-резистентных бактерий был ассоциирован с перепрофилированием лечебных стационаров для приема пациентов с новой коронавирусной инфекцией, что позволяет рассматривать такие учреждения в качестве стационаров с высоким риском внутрибольничного инфицирования [2].

Все чаще регистрируются случаи выявления штаммов грамотрицательных бактерий, с панрезистентностью (PDR) и экстремальной резистентностью (XDR) у впервые госпитализированных больных в ранние сроки бактериологического обследования [3].

Полирезистентные бактерии получили возможность выхода и широкого распространения за пределы стационаров, вызывая тяжелые внебольничные инфекции [5, 8].

В этой связи возникает необходимость постоянного микробиологического сопровождения больного, которое позволит определить адекватную тактику этиотропной терапии [6].

Микроорганизмы в лечебно-профилактических учреждениях могут стать «госпитальными» штаммами и вызывать внутрибольничные инфекции. Множество факторов вносит свой вклад в распространение антибиотикоустойчивых бактерий. Важное условие — селективное давление, возникающее из-за широкого использования антимикробных препаратов. Дальнейшее формирование госпитальных штаммов — сложный биологический процесс, проходящий в макроорганизме и сопровождающийся приобретением факторов вирулентности у патогенов путем горизонтального переноса генетической информации [4].

Появились публикации о причастности малоизученных, но потенциально опасных условно-патогенных бактерий, таких как *Pantoea agglomerans*, *Chryseobacterium indologenes*, *Elizabethkingia meningoseptica*, *Raoultella* spp., для которых свойственны колонизация медицинского оборудования, преимущественно в отделениях интенсивной терапии, при этом формируются лекарственно-устойчивые варианты этих патогенных биологических агентов (ПБА). Проникновение ПБА в дыхательные, мочевыводящие пути, кровотока приводит к возникновению клинически выраженных тяжелых заболеваний у лиц с нарушением иммунного статуса. Точная идентификация таких ПБА очень важна, так как их выявление является индикаторным признаком наличия ИСМП и потенциальной опасности больничной среды [11, 13, 14]. Поиск данных возбудителей необходим для оценки риска возникновения внутрибольничных инфекций и возможен в условиях использования современных бактериологических анализаторов [6]. Условия формирования лекарственно-устойчивых возбудителей ВП требуют дальнейшего изучения [7].

Цели исследования:

- выявить частоту регистрации лекарственно-устойчивых вариантов среди грамотрицательных и грамположительных возбудителей;
- представить характеристику изменений микрофлоры клинических проб материала от пациентов ВП при первичном и повторном обследовании;
- установить локальные факторы, влияющие на этиологическую структуру внебольничных пневмоний.

Материалы и методы

Всего наблюдением охвачен 241 больной ВП основной группы наблюдения, в которой исследовались респираторные мазки. Все больные были госпитализированы в 2 лечебных учреждения г. Хабаровска в декабре 2020 — марте 2021 г. Из числа пациентов основной группы 110 больных ВП были направлены для лечения в ЛПУ № 1 и 131 больной был госпитализирован в ЛПУ № 2.

ЛПУ № 1 — многопрофильное лечебное учреждение, рассчитанное на 630 коек; имеет в своем составе реанимационное отделение (РАО) на 39 мест; с апреля 2020 г. полностью перепрофилировано под инфекционный госпиталь. Среди наблюдаемых 110 больных 25 человек — пациенты РАО.

ЛПУ № 2 — многопрофильная больница, имеет в своем составе 22 отделения на 720 коек; с сентября 2020 г. в ней развернуты 450 коек для инфекционных больных ВП; имеет в своем составе РАО (23 койки), однако среди наблюдаемых нами больных не было пациентов РАО.

Материалом для исследования служили назофарингеальные мазки больных, отобранные в первые дни госпитализации. Отбор мазков был вынужденной мерой, разрешенной нормативными документами, так как на ранних этапах болезни не удавалось получать качественные образцы мокроты.

В соответствии с дизайном исследования первичный забор материала предполагал получение образцов для изучения от вновь поступивших больных и всех контактных по палате пациентов. Через 7–10 дней после госпитализации осуществляли повторный забор материала у тех же больных и контактных с ними лиц с целью мониторинга бактериальной флоры. Общее число повторно обследованных больных двух лечебных учреждений составило 122 человека.

Материал для исследования доставлялся в течение двух часов с момента забора проб. В лаборатории ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора осуществлялось бактериологическое исследование клинических проб от больных ВП, в лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае» — вирусологическое.

Вирусологическое исследование, направленное на выявление коронавируса SARS-CoV-2, проведено методом ПЦР с тест-системой «Вектор ПЦРrv-2019-«CoV-RG» (производства ФБУН «ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора).

Бактериологическая диагностика была направлена на выявление в клиническом материале «классических» возбудителей ВП (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*), а также ПБА из групп грамположительных микроорганизмов, грамотрицательных энтеробактерий, неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОб) и грибов. Выделение возбудителей осуществляли классическим бактериологическим методом в соответствии с нормативными документами (МР 4.2.014-16 «Лабораторная диагностика внебольничной пневмонии пневмококковой этиологии», МУ 4.2.3115-13 «Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний»). Идентификацию возбудителей и определение чувствительности к антимикробным препаратам проводили на баканализаторе Vitek 2 Compact 30.

Для выявления прихотливых микроорганизмов (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*) дополнительно к бактериологическому методу был использован метод ПЦР-диагностики в реальном времени с тест-системами производства «Вектор»: «РеалБест ДНК *Streptococcus pneumoniae* (комплект 2)» и «РеалБест *Haemophilus influenzae* (комплект 2)».

Как следует из табл. 1, возрастной состав пациентов, госпитализированных в 2 больничных учреждения, был различным.

В ЛПУ № 1 преобладающая возрастная группа — лица, старше 71 года — 52,7% (43,4–61,9). Лица возрастной группы 61–70 лет представлены примерно одинаково в обоих учреждениях — 29,1% (21,0–37,9) и 27,5% (20,2–35,4) соответственно ($\chi^2=0,1$; $p > 0,05$). Пациенты возрастной группы «до 60 лет» составляют лишь 18,2% (11,6–25,9) от всех больных в ЛПУ № 1 против 42% (33,7–50,5) в ЛПУ № 2, т. е. представлены в 2,5 раза реже ($\chi^2=15,8$; $p < 0,001$).

В ЛПУ № 2 преобладающей возрастной группой был диапазон «до 60 лет» — 42% (33,7–50,5). Возрастные группы 61–70 лет и 71 и старше были приблизительно равны — 27,5% (20,2–35,4) и 30,5% (22,9–38,6) соответственно.

По признаку выявления вируса SARS-CoV-2 (табл. 2) два больничных учреждения вполне сопоставимы: доля пациентов «CoV-» групп составила большинство в ЛПУ № 1 и ЛПУ № 2 — 63,6% (54,4–72,3) и 60,3% (51,8–68,5) соответственно ($\chi^2=0,3$; $p > 0,05$).

Эти различия были учтены при сравнительном анализе показателей микрофлоры пациентов двух разных лечебных учреждений.

Рассчитывался удельный вес (М), а также доверительный интервал (95% ДИ) полученных данных. Анализ результатов проводился с использованием непараметрических методов статистической обработки (критерий хи-квадрат, в том числе с поправкой Йейтса, и точный критерий Фишера). В случае получения уровня значимости отличий менее 0,05 разница между изучаемыми показателями считалась достоверной. Статистическая обработка осуществлялась с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты

Бактериологическое обследование проведено для 110 больных ВП из ЛПУ № 1, основной контингент больных — 82% (74,3–88,6), относился к возрастной группе «старше 61 года».

Таблица 1. Возрастной состав пациентов двух лечебных учреждений, находящихся под наблюдением (г. Хабаровск, декабрь 2020 г. — март 2021 г.)

Table 1. Age groups of patients examined at the two healthcare facilities (Khabarovsk, December 2020 — March 2021)

Возрастные диапазоны Age range	Больничные учреждения Healthcare institutions				Уровень значимости отличий, p Significance value, p
	ЛПУ № 1 Healthcare facility No. 1		ЛПУ № 2 Healthcare facility No. 2		
	абс. abs.	%	абс. abs.	%	
До 60 лет Under 60 years old	20	18,2 (11,6–26,0)	55	42,0 (33,7–50,5)	$\chi^2 = 15,8$; $p < 0,001$
61–70 лет 61–70 years old	32	29,1 (21,0–37,9)	36	27,5 (20,2–35,4)	$\chi^2 = 0,1$; $p > 0,05$
Старше 71 Over 71 years of age	58	52,7 (43,4–61,9]	40	30,5 (22,9–38,6)	$\chi^2 = 12,2$; $p < 0,001$
Всего лиц Total	110	100	131	100	–

Примечание. В скобках указан 95% доверительный интервал.
Note. 95% confidence interval is shown in brackets.

Таблица 2. Характеристика наблюдаемого контингента больных двух лечебных учреждений по признаку выявления SARS-CoV-2 (г. Хабаровск, декабрь 2020 — март 2021 г.)

Table 2. Characteristics of patients examined at the two healthcare facilities based on detected SARS-CoV-2 (Khabarovsk, December 2020 — March 2021)

Лечебные учреждения Healthcare facilities	Результат определения РНК SARS-CoV-2 Results of RNA SARS-CoV-2 PCR-test				Всего лиц Total	
	CoV–		CoV+		абс. abs.	%
	абс. abs.	%	абс. abs.	%		
ЛПУ № 1 Healthcare facility No. 1	70	63,6 (54,4–72,3)	40	36,4 (27,7–45,6)	110	100
ЛПУ № 2 Healthcare facility No. 2	79	60,3 (51,8–68,5)	52	39,7 (31,5–48,2)	131	100

Примечание. В скобках указан 95% доверительный интервал.
Note. 95% confidence interval is shown in brackets.

Как следует из табл. 3, бактериальная флора у больных ВП ЛПУ № 1 выявлена в 77,3% (69,0–84,6) проб. «Классические» возбудители были представлены *S. pneumoniae* — 5,4% (2,0–10,4) и *H. influenzae* — 3,6% (0,9–7,9), которые были выявлены только методом ПЦР.

Возбудители, относящиеся к грамположительной флоре, были выявлены у 28,2% (20,2–36,9) больных и представлены 4 группами микроорганизмов: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Enterococcus* spp. Доля лекарственно-устойчивых вариантов среди них составила 21,0% (13,9–29,1). Преобладающий патоген — *S. aureus* — 11,8% (6,5–18,5), в том числе его лекарственно-устойчивый вариант MRSA — 5,5% (2,0–10,5). Значительную долю грамположительных возбудителей составили лекарственно-устойчивые варианты *S. epidermidis* MRSE — 9,1% (4,5–15,1) и *S. haemolyticus* MR — 6,4% (2,6–11,7).

Грамотрицательные энтеробактерии были выявлены в 30,8% (22,6–39,7) случаев и представлены 9 группами микроорганизмов. Больше половины из них — 17,2% (10,8–24,8) — лекарственно-устойчивые варианты. Преобладающий патоген — *Klebsiella pneumoniae* — 13,6% (7,8–20,6) случаев, в том числе в 9,1% (4,5–15,2) эпизодов заболевания обусловлены БЛРС и карбапенем-резистентными вариантами (carb R).

Другие 8 групп энтеробактерий выделены в 17,2% (10,8–24,8) случаев заболеваний. Антибиотикорезистентные варианты выявлены среди 5 из 8 родов энтеробактерий, определяя 8,1% (3,9–14,1) случаев заболеваний. Среди оставшихся микроорганизмов трех родовых групп *Raoultella*, *Citrobacter*, *Pantoeae* лекарственно-устойчивые варианты не установлены.

НГОБ выявлены у 16 из 110 больных — 14,5% (8,6–21,7). В 12 из 16 случаев выделены лекарственно-устойчивые варианты, обеспечивая 10,9% (5,8–17,4) случаев заболеваний. Ведущий патоген — бактерии группы *Acinetobacter baumannii* complex, которые определяют 6,4% (2,6–11,7) случаев заболеваний, при этом в 5,5% (2,0–10,5) случаев выявляются карбапенем-резистентные штаммы. В числе возбудителей, помимо хорошо изученных этиологических агентов ВП (*P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*), в 2 случаях идентифицирован *Chryseobacter indologenes*, также лекарственно-устойчивый вариант.

В табл. 4 представлена видовая структура грибов рода *Candida* и уровни их выявления у 110 больных ВП в ЛПУ № 1.

Грибы выявлены у 62 из 110 больных — 56,3% (47,0–65,4), в том числе грибы рода *Candida* — у 60 человек — 54,5% (45,2–63,7) и плесневые грибы — у 2 человек — 1,8% (0,2–5,1).

Грибы рода *Candida* представлены, в основном, видом *C. albicans*, определяя 36,3% (27,6–

45,5) случаев инфицирования. Вид *C. glabrata* выявлен у 11 больных, обеспечивая 10,0% (5,1–16,3) инфицирования у 110 больных. *C. krusei* выявлен у 9 из 110 больных с показателем выявляемости 8,2% (3,8–14,0) случаев. Большая часть штаммов *C. glabrata* и *C. krusei* проявляют устойчивость (полную или промежуточную) к основному антимикотическому препарату флюконазолу.

Из 110 больных ВП, госпитализированных в ЛПУ № 1 и обследованных в первые дни пребывания в стационаре, 42 больных обследованы повторно через 7–10 дней после первого испытания. Как видно из табл. 5, у части больных (у 6 человек) — 14,3% (5,5–26,3) случаев — микрофлора осталась без изменений. У 20 человек — 47,6% (32,8–62,6) случаев — микрофлора, выделенная при первом обследовании, частично или полностью утрачена, вероятно, вследствие проводимой терапии.

У 26 человек — 62% (47,0–75,9) случаев — при повторном испытании выявлена дополнительно большая группа патогенов, в том числе:

1. Грамположительная флора (резистентные стафилококки: MRSA, MRSE, *S. haemolyticus* MR) — у 12 из 26 человек — 46,2% (27,8–65,2) случаев.

2. Грибы рода *Candida* (*albicans*, *glabrata*, *krusei* и плесневые грибы) — у 9 из 26 человек — 43,6% (25,5–62,7) случаев.

3. Грамотрицательные энтеробактерии (*Klebsiella pneumoniae*, *Raoultella ornithinolytica* — антибиотикочувствительные варианты, *Serratia marcescens* БЛРС+) — у 6 из 26 человек — 23,1% (9,3–40,9).

4. Неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОБ) — у 5 из 26 больных — 19,2% (6,7–36,2) случаев; в том числе у 3 человек из 26 — 11,5% (2,3–26,3) — выявлены карбапенем-резистентные варианты *P. aeruginosa* и *A. baumannii*.

В период выполнения данного раздела исследования выявлены различные варианты изменений назофарингеальной микрофлоры больных ВП при повторных испытаниях:

- присутствие в одном испытании лекарственно-устойчивых форм ПБА и отсутствие этих видов бактерий во втором исследовании;
- присутствие в первом испытании лекарственно-устойчивых форм ПБА и замена его на этот же вид ПБА без лекарственно-устойчивых маркеров;
- отсутствие в первом исследовании лекарственно-устойчивых форм ПБА и появление резистентных форм во втором испытании;
- выявление уже в первом исследовании в одной и той же пробе клинического материала одновременно двух различных вариантов ПБА (*K. pneumoniae* БЛРС+ carb R), различающихся по количеству и наименованию лекарственно-устойчивых детерминант

Таблица 3. Выявляемость и состав возбудителей, выделенных при бактериологическом исследовании назофарингеальных мазков больных ВП, госпитализированных в ЛПУ № 1 (n = 110) и ЛПУ № 2 (n = 131) в декабре 2020 г. – марте 2021 г.

Table 3. Detection frequency and pattern of pathogens identified in bacteriological examination of nasopharyngeal smears from patients with community-acquired pneumonia admitted to healthcare facility No. 1 (n = 110) and healthcare facility No. 2 (n = 131) during December 2020 – March 2021

Наименование возбудителей Pathogens	ЛПУ № 1 (n = 110) Healthcare facility No. 1 (n = 110)		ЛПУ № 2 (n = 131) Healthcare facility No. 2 (n = 131)	
	Число изолятов абс.; % Number of isolates; %	В т.ч. резистентные к АМП, абс.; % including ABD-resistant spp.; %	Число изолятов абс.; % Number of isolates; %	В т.ч. резистентные к АМП, абс.; % including ABD-resistant spp.; %
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6 5,4 (2,0–10,4)	–	7 5,3 (2,1–9,8)	–
<i>Haemophilus influenzae</i>	4 3,6 (0,9–7,9)	–	5 3,8 (1,2–7,7)	–
Грамположительная флора/Gram-positive microflora				
<i>S. aureus</i>	13 11,8 (6,5–18,5)	6 5,5 (2,0–10,5)	5 3,8 (1,2–7,7)	1 0,8 (0,004–3,0)
<i>S. epidermidis</i>	10 9,1 (4,5–15,1)	10 9,1 (4,5–15,1)	15 11,5 (6,6–17,5)	15 11,5 (6,6–17,5)
<i>S. haemolyticus</i>	7 6,4 (2,6–11,7)	7 6,4 (2,6–11,7)	14 10,7 (6,0–16,5)	14 10,7 (6,0–16,5)
<i>Enterococcus spp.</i>	1 0,9 (0,0002–3,5)	–	5 3,8 (1,2–7,7)	–
Всего грамположительных бактерий Total Gram-positive bacteria	31 28,2 (20,2–36,9)	23 21,0 (13,9–29,1)	39 29,8 (22,3–37,9)	30 22,9 (16,1–30,5)
Грамотрицательные энтеробактерии/Gram-negative enterobacteria				
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15 13,6 (7,8–20,6)	10 9,1 (4,5–15,2)	14 10,7 (6,0–16,5)	8 6,1 (2,7–10,8)
<i>Escherichia coli</i>	5 4,6 (1,5–9,3)	3 2,7 (0,5–6,5)	2 1,5 (0,1–4,3)	–
<i>Enterobacter spp.</i>	2 1,8 (0,2–5,1)	2 1,8 (0,2–5,1)	8 6,1 (2,7–10,8)	3 2,3 (0,4–5,5)
<i>Proteus mirabilis</i>	3 2,7 (0,5–6,5)	1 0,9 (0,0002–3,5)	–	–
<i>Morganella morganii</i>	2 1,8 (0,2–5,1)	1 0,9 (0,0002–3,5)	2 1,5 (0,1–4,3)	2 1,5 (0,1–4,3)
<i>Serratia spp.</i>	2 1,8 (0,2–5,1)	2 1,8 (0,2–5,1)	–	–
<i>Raoultella spp.</i>	1 0,9 (0,0002–3,5)	–	–	–
<i>Citrobacter spp.</i>	3 2,7 (0,5–6,5)	–	–	–
<i>Pantoeae spp.</i>	1 0,9 (0,0002–3,5)	–	–	–
Всего грамотрицательных энтеробактерий Total Gram-negative enterobacteria	34 30,8 (22,6–39,7)	19 17,2 (10,8–24,8)	26 19,8 (13,4–27,0)	13 9,9 (5,4–15,6)
Неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГФБ)/Non-fermenting Gram-negative bacteria (NFGNB)				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4 3,6 (0,9–7,9)	3 2,7 (0,5–6,5)	2 1,5 (0,1–4,3)	1 0,8 (0,004–3,0)
<i>Acinetobacter baumannii</i> complex	7 6,4 (2,6–11,7)	6 5,5 (2,0–10,5)	4 3,1 (0,8–6,7)	4 3,1 (0,8–6,7)

Окончание таблицы 3. Выявляемость и состав возбудителей, выделенных при бактериологическом исследовании назофарингеальных мазков больных ВП, госпитализированных в ЛПУ № 1 (n = 110) и ЛПУ № 2 (n = 131) в декабре 2020 г. — марте 2021 г.

Table 3. Detection frequency and pattern of pathogens identified in bacteriological examination of nasopharyngeal smears from patients with community-acquired pneumonia admitted to healthcare facility No. 1 (n = 110) and healthcare facility No. 2 (n = 131) during December 2020 — March 2021 (continued)

Наименование возбудителей Pathogens	ЛПУ № 1 (n = 110) Healthcare facility No. 1 (n = 110)		ЛПУ № 2 (n = 131) Healthcare facility No. 2 (n = 131)	
	Число изолятов абс.; % Number of isolates; %	в т.ч. резистентные к АМП, абс.; % including ABD-resistant spp.; %	Число изолятов абс.; % Number of isolates; %	в т.ч. резистентные к АМП, абс.; % including ABD-resistant spp.; %
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3 2,7 (0,5–6,5)	1 0,9 (0,0002–3,5)	–	–
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	2 1,8 (0,2–5,1)	2 1,8 (0,2–5,1)	2 1,5 (0,1–4,3)	2 1,5 (0,1–4,3)
Всего НГОБ Total NFGNB	16 14,5 (8,6–21,7)	12 10,9 (5,8–17,4)	8 6,1 (2,7–10,8)	7 5,4 (2,2–9,9)
Грибы/Fungi				
<i>Candida</i> spp.	60 54,5 (45,2–63,7)	–	76 58,0 (49,5–66,3)	
Плесневые грибы Mold fungi	2 1,8 (0,2–5,1)		–	
Всего грибов Total fungi	62 56,3 (47,0–65,4)		76 58,0 (49,5–66,3)	
Отрицательный результат (искомые возбудители не обнаружены) Negative test (pathogens of interest not detected)	25 22,7 (15,4–31,0)		30 22,9 (16,1–30,5)	

Примечание. АМП — антимикробные препараты; в скобках указан 95% доверительный интервал.
Note. 95% confidence interval is shown in brackets.

(13R из 15 и 10R из 15) и фенотипическим признакам: один из штаммов проявлял признаки гипермукоидного варианта (стринг-тест положительный). Такая находка является показателем гетерогенности популяции возбудителя, сформировавшейся в организме одного и того же больного [4].

Проведенные наблюдения подтверждают постулат о сложности и множественности механизмов передачи и распространения генов резистентности в популяциях микроорганизмов.

Аналогичное наблюдение в тот же период времени проведено в ЛПУ № 2. Бактериологическое обследование проведено для 131 больного ВП (табл. 3).

Отличие от ЛПУ № 1, доля больных возрастной группы «61 год и старше» составила в ЛПУ № 2 лишь 58%, против 82% той же возрастной группы в ЛПУ № 1 ($\chi^2 = 15,8$; $p < 0,001$). Среди пациентов ЛПУ № 2 значителен удельный вес лиц до 60 лет — 42% против 18,2% в ЛПУ № 1 ($\chi^2 = 15,8$; $p < 0,001$). Материалом для исследования служили также назофарингеальные мазки больных ВП.

Как следует из табл. 3, бактериальная флора выявлена в 77,1% (69,5–83,9%) проб, что практи-

чески соответствует показателю по ЛПУ № 1 — 77,3% (69,0–84,6%; $\chi^2 = 0,01$; $p > 0,05$).

Что касается «классических» возбудителей ВП, то *S. pneumoniae* был обнаружен в 5,3% (2,1–9,8) случаях, *H. influenzae* выявлена у 5 из 131 больного — 3,8% (1,2–7,7), что также соответствует аналогичным показателям ЛПУ № 1 — 5,4% (2,0–10,4) и 3,6% (0,9–7,9%); (pFisher exact $> 0,05$ для обоих патогенов). Данные прихотливые микроорганизмы выявлены только методом ПЦР.

Грамположительная флора была выявлена у 29,8% (22,3–37,9) больных и представлена *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* и *Enterococcus* spp. Этот показатель также практически одинаков с аналогичным исследованием в ЛПУ № 1 — 28,2% (20,2–36,9); ($\chi^2 = 0,07$; $p > 0,05$). При этом в ЛПУ № 2 в сравнении с ЛПУ № 1 реже выявляются *S. aureus* (3,8 и 11,8%; $\chi^2 = 4,4$; $p = 0,04$) и его вариант MRSA (0,8 и 5,5%; pFisher exact = 0,049).

Грамотрицательные энтеробактерии выявлены в 19,8% (13,4–27,0) случаев и представлены 5 группами микроорганизмов и ведущим патогеном *K. pneumoniae* — 10,7% (6,0–16,5), в том числе его лекарственно-устойчивым вариантом, определяющим 6,1% (2,7–10,8) случаев заболеваний. В ЛПУ № 1 грамотрицательные энтеробактерии

Таблица 4. Видовой состав грибов и уровни их выявления у 110 больных ЛПУ № 1 в период наблюдения (декабрь 2020 – март 2021 г.)

Table 4. Fungi spp. composition and level of detection in 110 patients hospitalized to healthcare facility No. 1 during December 2020 – March 2021

Вид грибов р. <i>Candida</i> <i>Candida</i> species	Видовой состав (n = 60) Species composition (n = 60)		Выявляемость у больных (n = 110), % Detection rate in patients examined (n = 110), %
	абс. число изолятов abs. number of isolates	%	
<i>C. albicans</i>	40	66,7 (54,4–78,0)	36,3 (27,6–45,5)
<i>C. glabrata</i>	11	18,3 (9,6–29,0)	10,0 (5,1–16,3)
<i>C. krusei</i>	9	15,0 (7,1–25,0)	8,2 (3,8–14,0)
Всего/Total	60	100	54,5 (45,2–63,7)

Примечание. В скобках указан 95% доверительный интервал.

Note. 95% confidence interval is shown in brackets.

выявлены в большем количестве случаев — 30,8% (22,6–39,7); ($\chi^2 = 3,9$; $p = 0,048$) и представлены 9 группами микроорганизмов. Ведущий патоген, в сравнении с другими выявленными бактериями, — *K. pneumoniae* — 13,6% (7,8–20,6); ($\chi^2 = 4,45$; $p = 0,035$), причем доля лекарственно-устойчивых вариантов, оказалась высокой и определяла 9,1% (4,5–15,2) случаев заболеваний.

НГОБ выявлены лишь у 8 больных — 6,1% случаев (2,7–10,8) и представлены тремя группами бактерий, при этом несколько чаще среди них выявляется *Acinetobacter baumannii* complex — 3,1% (0,8–6,7), однако статистически значимых отличий между удельным весом

НГОБ-патогенов, выявленных в ЛПУ № 2, не зафиксировано (p Fisher exact > 0,05). Доля выявления НГОБ в ЛПУ № 1 была в 2,4 раза чаще — 14,5% (8,6–21,7) случаев; ($\chi^2 = 4,7$; $p = 0,03$), ведущий патоген также *Acinetobacter baumannii* complex — 6,4% (2,6–11,7) случаев, в том числе 5,5% (2,0–10,5) — резистентны к АМП и также, как и в случае ЛПУ № 2, статистически значимых отличий между выявленными НГОБ-патогенами не определено (p Fisher exact > 0,05). Несмотря на отсутствие статистически значимых отличий между удельным весом указанных микроорганизмов, существует закономерность, свидетельствующая о преобладании высоко-

Таблица 5. Результаты повторного бактериологического исследования назофарингеальных мазков от больных пневмонией, проведенного через 7–10 дней после первого обследования (ЛПУ № 1, n = 42)

Table 5. Results of nasopharyngeal smears examined after repeat examination 7–10 days after initial examination (healthcare facility No. 1, n = 42)

Микрофлора осталась без изменений Microflora without changes	Прежняя флора, выделенная при первом обследовании, утрачена полностью или частично Former microflora isolated during first examination was lost fully or partially	Приобретена флора дополнительно Acquired microflora
6 человек 6 people 14,3% (5,5–26,3)	20 человек 20 people 47,6% (32,8–62,6)	26 человек — 62,0% (47,0–75,9) 32 изолята, в том числе: 26 people — 62.0% (47.0–75.9) 32 isolates including: 1. <i>Staphylococcus (aureus, MRSA, MRSE, haemolyticus MR)</i> — 12; 2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> — 1; 3. <i>Raoultella ornitolytica</i> — 1; 4. <i>Serratia marcescens</i> ESBL+ — 1; 5. <i>Enterobacter aerogenes</i> — 1; 6. <i>Citrobacter</i> spp. — 2; 7. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Carb+ — 2; 8. <i>Acinetobacter baumannii</i> Carb+ — 1; 9. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> — 1; 10. <i>Pseudomonas putida</i> — 1; 11. <i>Candida</i> spp. — 9.

Примечание. Часть больных из II-III группы пересекаются, поэтому общее число больных больше, чем 42; MR — метициллин-резистентный штамм; ESBL+ — продуцент β -лактамазы расширенного спектра; Carb+ — карбапенем-устойчивый вариант.

В скобках указан 95% доверительный интервал.

Note. Some patients from group II and group II have same pathogens accounting for total number of patients exceeding 42; MR — methicillin-resistant strains; ESBL+ — extended-spectrum beta lactamases; Carb+ — carbapenem-resistant variants; 95% confidence interval is shown in brackets.

патогенных вариантов *Acinetobacter baumannii* complex, в связи с чем целесообразно увеличить объем выборки для подтверждения зафиксированной закономерности.

Грибы рода *Candida* выявляли почти в равных количествах в двух больничных учреждениях: 58% (49,5–66,3) — ЛПУ № 2 и 54,6% (47,0–65,4) — ЛПУ № 1; ($\chi^2 = 0,07$; $p > 0,05$).

Выявленные статистически значимые различия в составе и доле возбудителей, установленные при обследовании больных из двух учреждений г. Хабаровска, касаются грамотрицательных энтеробактерий и НГОБ, могут быть связаны с разным статусом двух больниц и отличиями в возрастной структуре пациентов.

ЛПУ № 1 работало с начала пандемии, в него госпитализированы больные с более тяжелой степенью выраженности ВП, среди обследованных больных почти $\frac{1}{3}$ часть — пациенты РАО, преобладающий возрастной контингент — лица старше 61 года — 82% (74,3–88,6).

ЛПУ № 2 работало как инфекционный стационар лишь с сентября 2020 г., состав больных — со средней степенью тяжести болезни, среди которых не было пациентов РАО. Аналогичная возрастная группа (старше 61 года) составляет 58% (49,5–66,3).

В то же время отмечают и общие закономерности, выявленные в процессе бактериоло-

гического обследования больных в двух лечебных учреждениях г. Хабаровска.

При анализе результатов повторного бактериологического обследования 80 больных ЛПУ № 2, проведенного через 7–10 дней после первого обследования, установлено следующее: почти у половины из 80 больных микрофлора осталась без изменений или утрачена полностью либо частично (табл. 6); у второй половины обследованного контингента установлены разнонаправленные варианты изменения микрофлоры, при этом большая часть изменений и выявление лекарственно-устойчивых форм бактерий в повторных испытаниях отмечены в конце периода наблюдения за стационаром (февраль–март 2021 г.), когда происходило реформирование отделений.

При снижении уровня заболеваемости ВП и переходе специализированных отделений ЛПУ № 2 на прежний профиль работы инфекционные больничные койки ЛПУ № 2 заполнялись пациентами с ВП из этих отделений (отделение гемодиализа, онкологического, эндокринного, неврологического). При этом больные имели серьезную соматическую патологию с длительным сроком предшествующей госпитализации и лечения.

В составе приобретенной микрофлоры почти половину — 25 из 57 изолятов — 43,9% (31,4–

Таблица 6. Результаты повторного бактериологического исследования назофарингеальных мазков от больных пневмонией, проведенного через 7–10 дней после первого исследования в декабре 2020 — марте 2021 г. (ЛПУ № 2, n = 80)

Table 6. Results of repeat bacterial examination of nasopharyngeal smears obtained from patients with pneumonia 7–10 days after the first examination during December 2020 — March 2021 (healthcare facility No. 2, n = 80)

Микрофлора осталась без изменений Microflora without changes	Прежняя флора, выделенная при первом обследовании, утрачена полностью или частично Former microflora isolated during first examination lost fully or partially	Приобретена флора дополнительно Acquired microflora
<p style="text-align: center;">25 человек 25 people 31,2% (21,6–41,7)</p>	<p style="text-align: center;">15 человек 15 people 18,8% (11,0–28,0)</p>	<p>40 чел. — 50,0% (39,1–60,9) 40 people— 50.0% (39.1–60.9) 57 изолятов, в том числе: 57 isolated including: 1. Staphylococcus (aureus, MRSA, MRSE, haemolyticus MR) — 16; 2. Klebsiella pneumoniae — 1; 3. Klebsiella pneumoniae ESBL+, Carb+ — 4; 4. Enterobacter cloacae — 4; 5. Enterobacter cloacae ESBL + — 1; 6. Pseudomonas aeruginosa Carb+ — 1; 7. Acinetobacter baumannii Carb+ — 3; 8. Enterococcus faecium — 2; 9. Candida spp. — 25: — <i>C. albicans</i> — 21; — <i>C. glabrata</i> — 2; — <i>C. krusei</i> — 1; — <i>C. tropicalis</i> — 1</p>

Примечание. MR — метициллин-резистентный штамм; ESBL+ — продуцент β -лактамазы расширенного спектра; Carb+ — карбапенем-устойчивый вариант; в скобках указан 95% доверительный интервал.

Note. MR — methicillin-resistant strains; ESBL+ — extended-spectrum beta lactamases; Carb+ — carbapenem-resistant variants; 95% confidence interval is shown in brackets.

56,8) — составили грибы, 22,8% (12,9–34,5) вновь выявленной флоры представлены лекарственно-устойчивыми вариантами грамотрицательных энтеробактерий и НГОБ.

Обсуждение

При сравнении показателей выявляемости патогенов в двух лечебных учреждениях следует отметить, что грамположительная флора, грибы, а также традиционные возбудители пневмонии *S. pneumoniae* и *H. influenzae*, с одинаковой частотой выявлялись в обоих лечебных учреждениях.

Существенная разница между учреждениями отмечена в частоте выявления грамотрицательной флоры. Так, в ЛПУ № 1, в котором сосредоточены пациенты старшей возрастной группы (старше 61 года) с более тяжелым течением болезни, в том числе пациенты РАО, в 1,5 раза чаще выявлялись патогены порядка *Enterobacteriales* с большей долей лекарственно-устойчивых форм, по сравнению с аналогичными показателями в ЛПУ № 2.

Неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОБ), являясь второй по этиологической значимости группой патогенов, выявлялись среди пациентов ЛПУ № 1 в 2,4 раза чаще, чем в ЛПУ № 2, и также с большей долей участия полирезистентных форм, чем в ЛПУ № 2.

У небольшой части пациентов лекарственно-резистентные возбудители выявлены уже на ранних сроках пребывания в стационаре.

Использование баканализатора Vitek 2 Compact 30 позволило идентифицировать в микрофлоре пациентов обоих учреждений редко выявляемые для внебольничной среды, но потенциально опасные УПБ (*Chryseobacterium indologenes*, *Raoultella* spp., *Pantoeae agglomerans*), характерные для больничной среды, а также для пациентов со сниженным иммунным статусом.

Общие тенденции, независимо от статуса учреждения, отмечены при повторном исследовании микрофлоры 122 больных двух лечебных учреждений, выполненном через 7–10 дней после первого испытания. Оно показало, что у небольшой части обследованных как в ЛПУ № 1, так и в ЛПУ № 2, микрофлора осталась без изменений. У части больных прежняя флора утрачена полностью или частично. У большей части пациентов ЛПУ № 1 и ЛПУ № 2 приобретена дополнительная бактериальная флора 9–11 наименований, в том числе возбудители с высоким патогенным потенциалом и лекарственной устойчивостью (*Klebsiella pneumoniae* БЛРС+, carb R), *Acinetobacter carb R*, *Pseudomonas aeruginosa carb R*. В большом количестве в повторе определяются лекарственно-устойчивые стафилококки (MRSA, MRSE, *S. haemolyticus*) и грибы рода *Candida*.

В целом, оценивая микрофлору 122 больных, обследованных повторно, необходимо отметить разнонаправленные изменения микрофлоры, не зависящие от статуса ЛПУ, которые отмечаются как по линии утраты лекарственно-устойчивых вариантов, так и в приобретении их, или в одновременном присутствии у одного и того же пациента разных вариантов одного возбудителя. Это свидетельствует о сложности и множественности механизмов формирования популяции микроорганизмов в динамике инфекционного процесса у больного.

Как следует из научных материалов, представленных А.В. Карауловым и др. (2018), множество факторов вносит свой вклад в формирование и распространение антибиотикоустойчивых бактерий. Нормофлора человека является хранилищем и источником плазмид антибиотикорезистентности. Пластичность генофонда микрофлоры человека позволяет в условиях макроорганизма с учетом его иммунологического статуса формировать лекарственно-устойчивые варианты, в том числе варианты с повышенным патогенным потенциалом, в динамике инфекционного процесса у больного. Селективное давление антибиотиков, широко применяемых в лечебной практике, также оказывает влияние на формирование и распространение лекарственно-устойчивых форм [4].

С другой стороны, существует высокий риск заражения пациентов из больничной среды [2, 7, 11].

Молекулярно-биологическое изучение таких изолятов даст дополнительную информацию, необходимую для понимания процессов формирования популяции возбудителей.

Полученные материалы о влиянии локальных факторов на характеристику патогенов, выявляемых из клинических проб стационарных больных внебольничной пневмонией, обосновывают необходимость учитывать эти моменты при оценке динамики развития эпидемического процесса ВП на одной и той же территории в различные временные периоды.

Заключение

Таким образом, анализ результатов исследований свидетельствует о важности и многоплановости научного направления «Формирование лекарственно-устойчивых этиологически значимых вариантов бактериальных возбудителей пневмоний, связанных с оказанием медицинской помощи», в рамках которого были выполнены эти исследования. Они также свидетельствуют о необходимости тесного взаимодействия специалистов разного профиля для клинического, эпидемиологического, микробиологического сопровождения больных и минимизации неблагоприятных исходов в каждом конкретном стационаре.

Список литературы/References

1. Бондаренко А.П., Шмыленко В.А., Троценко О.Е., Зайцева Т.А. Некоторые аспекты развития эпидемического процесса инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (обзор литературы) // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2019. № 36. С. 92–97. [Bondarenko A.P., Shmylenko V.A., Trotsenko O.E., Zaitseva T.A. Some aspects of epidemic process of health care-associated infections (literature review). *Dal'nevostochnyi zhurnal infektsionnoi patologii* = *Far Eastern Journal of Infectious Pathology*, 2019, no. 36, pp. 92–97. (In Russ.)]
2. Гончаров А.Е., Зуева Л.П., Мохов А.С., Колодziejева В.В., Мельцер М.В., Хавлина Т.В., Оришак Е.А. Распространение мультиантибиотикорезистентных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в стационарах для лечения пациентов с COVID-19 // Практические аспекты эпидемиологии и вакцинопрофилактики. 2021. Т. 20, № 2. С. 68–73. [Goncharov A.E., Zueva L.P., Mokhov A.S., Kolodzhieva V.V., Mel'tser M.V., Khavlina T.V., Orishak E.A. Spread of multi-antibiotic-resistant health-care pathogens in hospitals to treat COVID-19 patients. *Prakticheskie aspekty epidemiologii i vaksinoprofilaktiki* = *Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2021, vol. 20, no. 2, pp. 68–73. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2021-20-2-68-73
3. Гороховский В.С., Слободенюк Е.В., Бобровникова М.Ю., Дьяченко С.В. Влияние сотовых телефонов медицинского персонала на распространение проблемных резистентных микроорганизмов // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2020. Т. 22, № 4. С. 302–305 [Gorokhovskii V.S., Slobodenyuk E.V., Bobrovnikova M.Yu., D'yachenko S.V. Impact of healthcare workers' cell phones on the spread of multidrug-resistant microorganisms. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya* = *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2020, vol. 22, no. 4, pp. 302–305. (In Russ.)] doi: 10.36488/cmac.2020.4.302-305
4. Караулов А.В., Афанасьев С.С., Алешкин В.А., Бондаренко Н.Л., Воропаева Е.А., Афанасьев М.С., Несвижский Ю.В., Алешкин А.В., Борисова О.Ю., Овсянникова Е.Г., Рубальский О.В., Пылев А.Л., Бочкарева С.С., Сердюков В.Г., Рубальская Е.Е., Воропаев А.Д., Махмудов Р.С. Механизмы приобретения вирулентности условно-патогенными микроорганизмами и формирования пула нозокомиальных штаммов в микробиоценозах слизистых открытых полостей организма // Астраханский медицинский журнал. 2018. Т. 13, № 2. С. 17–31. [Karaulov A.V., Afanas'ev S.S., Aleshkin V.A., Bondarenko N.L., Voropaeva E.A., Afanas'ev M.S., Nesvizhskii Yu.V., Aleshkin A.V., Borisova O.Yu., Ovsyanikova E.G., Rubal'skii O.V., Pylev A.L., Bochkareva S.S., Serdyukov V.G., Rubal'skaya E.E., Voropaev A.D., Makhmudov R.S. Mechanisms of virulence acquisition of opportunistic microorganisms and nosocomial strains pool formation in mucosal microbiocenoses of open cavities of the body. *Astrakhanskii meditsinskii zhurnal* = *Astrakhan Medical Journal*, 2018, vol. 13, no. 2, pp. 17–31. (In Russ.)] doi: 10.17021/2018.13.2.17.31
5. Куцевалова О.Ю., Козель Ю.Ю., Розенко Д.А., Мартынов Д.В., Коршунова О.В. Анализ антибиотикорезистентности основных грамотрицательных патогенов в стационарах Ростова-на-Дону и области // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2020. Т. 22, № 2. С. 143–148. [Kutsevalova O.Yu., Kozel' Yu.Yu., Rozenko D.A., Martynov D.V., Korshunova O.V. Antimicrobial resistance of gram-negative pathogens isolated from hospitalized patients in Rostov region. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya* = *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2020, vol. 22, no. 2, pp. 143–148. (In Russ.)] doi: 10.36488/cmac.2020.2.143-148
6. Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Аронова Н.В., Анисимова А.С., Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Гудуева Е.Н., Сагакянц М.М., Ковалев Е.В., Носков А.К. Внебольничные пневмонии бактериальной этиологии и спектр чувствительности возбудителей к антибиотикам у коронапозитивных и коронанегативных больных г. Ростова-на-Дону // Антибиотики и химиотерапия. 2021. Т. 66, № 1–2. С. 26–32. [Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Aronova N.V., Anisimova A.S., Vodop'yanov S.O., Vodop'yanov A.S., Gudueva E.N., Sagakyants M.M., Kovalev E.V., Noskov A.K. Community-acquired pneumonia of bacterial etiology and the spectrum of pathogen sensitivity to antibiotics in corona-positive and corona-negative patients in Rostov-on-Don. *Antibiotiki i Khimioterapiya* = *Antibiotics and Chemotherapy*, 2021, vol. 66, no. 1–2, pp. 26–32. (In Russ.)] doi: 10.37489/0235-2990-2021-66-1-2-26-32
7. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Носков А.К., Ковалев Е.В., Карпущенко Г.В., Чемисова О.С., Пичурина Н.Л., Павлович Н.В., Водопьянов С.О., Гудуева Е.Н., Слись С.С., Пшеничная Н.Ю., Литовко А.Р., Асмолова Н.Ю. Этиология внебольничных пневмоний в период эпидемического распространения COVID-19 и оценка риска возникновения пневмоний, связанных с оказанием медицинской помощи // Здоровье населения и среда обитания. 2021. № 7. С. 67–75. [Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Noskov A.K., Kovalev E.V., Karpushchenko G.V., Chemisova O.S., Pichurina N.L., Pavlovich N.V., Vodop'yanov S.O., Gudueva E.N., Slis' S.S., Pshenichnaya N.Yu., Litovko A.R., Asmolova N.Yu. Etiology of community-acquired pneumonia during the epidemic spread of COVID-19 and healthcare-associated pneumonia risk assessment. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya* = *Public Health and Life Environment*, 2021, no. 7, pp. 67–75. (In Russ.)] doi: 10.35627/2219-5238/2021-29-7-67-75
8. Скачкова Т.С., Шипулина О.Ю., Шипулин Г.А., Шеленков А.А., Янушевич Ю.Г., Михайлова Ю.В., Замятин М.Н., Гусаров В.Г., Петрова Н.В., Лашенкова Н.Н., Фомина В.С., Шагин Д.А. Изучение генетического разнообразия штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в многофункциональном медицинском центре г. Москвы, с помощью секвенирования нового поколения // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019. Т. 21, № 1. С. 69–74. [Skachkova T.S., Shipulina O.Yu., Shipulin G.A., Shelenkov A.A., Yanushevich Yu.G., Mikhailova Yu.V., Zamyatin M.N., Gusarov V.G., Petrova N.V., Lashenkova N.N., Fomina V.S., Shagin D.A. Characterization of genetic diversity of the *Klebsiella pneumoniae* strains in a Moscow tertiary care center using next-generation sequencing. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya* = *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2019, vol. 21, no. 1, pp. 69–74. (In Russ.)] doi: 10.36488/cmac.2019.1.69-74
9. Тапальский Д.В., Осипов В.А., Евсеенко Е.О., Савельева А.К., Козловская И.В., Козик А.П. Металло-бета-лактамазы и карбапенемазы экстремально-антибиотикорезистентных *Klebsiella pneumoniae*: распространение в Беларуси // Здравоохранение. 2017. № 3. С. 40–47. [Tapal'skii D.V., Osipov V.A., Evseenko E.O., Savel'eva A.K., Kozlovskaya I.V., Kozik A.P. New deli metallo-beta-lactamase and other carbapenemases among extreme antibiotic-resistant *klebsiella pneumoniae*: occurrence in Belarus. *Zdravookhranenie* = *Healthcare*, 2017, no. 3, pp. 40–47. (In Russ.)]

10. Тапальский Д.В., Петровская Т.А., Козлова А.И., Эйдельштейн М.В. Потенцирование антибактериальной активности колистина в отношении множественно- и экстремально-резистентных клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* антибиотиками разных групп // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2020. Т. 22, № 2. С. 128–136. [Tapal'skii D.V., Petrovskaya T.A., Kozlova A.I., Eidel'shtein M.V. Potentiation of antimicrobial activity of colistin with antibiotics of different groups against multidrug- and extensively drug-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2020, vol. 22, no. 2, pp. 128–136. (In Russ.)]
11. Чезганова Е.А., Ефимова О.С., Созинов С.А., Ефимова А.Р., Сахарова В.М., Кутихин А.Г., Основа М.В., Исмагилов З.Р., Брусина Е.Б. Больничная пыль как потенциальный резервуар госпитальных штаммов // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2019. Т. 19, № 4. С. 82–92. [Chezganova E.A., Efimova O.S., Sozinov S.A., Efimova A.R., Sakharova V.M., Kutikhin A.G., Osnova M.V., Ismagilov Z.R., Brusina E.B. Particulate Matter in a Hospital Environment: as Potential Reservoir for Hospital Strains. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2019, vol. 19, no. 4, pp. 82–92. (In Russ.)]
12. Шек Е.А., Тапальский Д.В., Скленова Е.Ю., Сухорукова М.В., Карпов И.А., Эйдельштейн М.В. Генетическое разнообразие штаммов *Acinetobacter baumannii*, продуцирующих карбапенемазы, в Беларуси: роль «международных клонов высокого риска» в распространении устойчивости к карбапенемам // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2018. № 2. С. 59–64. [Shek E.A., Tapal'skii D.V., Skleenova E.Yu., Sukhorukova M.V., Karpov I.A., Eidel'shtein M.V. Genetic diversity of *Acinetobacter baumannii* strains producing carbapenemases in Belarus: the role of “international high-risk clones” in the spread of resistance to carbapenems. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya = International Journal of Immunopathology, Allergology, Infectology*, 2018, no. 2, pp. 59–64. (In Russ.)] doi: 10.14427/jipai.2018.2.59
13. Izaguirre-Anariba D.E., Sivapalan V. *Chryseobacterium indologenes*, an emerging bacteria: a case report and review of literature. *Cureus*, 2020, vol. 12, no. 1: e6720. doi: 10.7759/cureus.6720
14. Mani S., Nair J. Pantoea Infections in the neonatal intensive care unit. *Cureus*, 2021, vol. 13, no. 2: e13103. doi: 10.7759/cureus.13103

Авторы:

Троценко О.Е., д.м.н., директор ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Россия;
Бондаренко А.П., к.м.н., зав. лабораторией бактериологии ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Россия;
Шмыленко В.А., научный сотрудник лаборатории бактериологии ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Россия;
Базыкина Е.А., научный сотрудник ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Россия;
Пшеничная Н.Ю., д.м.н., профессор, зам. директора по клинико-аналитической работе ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия;
Зайцева Т.А., руководитель Управления Роспотребнадзора по Хабаровскому краю, г. Хабаровск, Россия;
Ткачева Н.К., госпитальный эпидемиолог ЛПУ № 2, г. Хабаровск, Российская Федерация;
Огиенко О.Н., младший научный сотрудник лаборатории бактериологии ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Россия.

Authors:

Trotsenko O.E., PhD, MD (Medicine), Director of Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rosпотребнадзор, Khabarovsk, Russian Federation;
Bondarenko A.P., PhD (Medicine), Head of the Bacteriological Laboratory, Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rosпотребнадзор, Khabarovsk, Russian Federation;
Shmylenko V.A., Researcher, Bacteriological Laboratory, Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rosпотребнадзор, Khabarovsk, Russian Federation;
Bazykina E.A., Researcher, Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rosпотребнадзор, Khabarovsk, Russian Federation;
Pshenichnaya N.Yu., PhD, MD (Medicine), Professor, Deputy Director for Clinical Analytical Studies, Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rosпотребнадзор, Khabarovsk, Russian Federation;
Zaitseva T.A., Head of Khabarovsk Krai Rosпотребнадзор Regional Office, Khabarovsk, Khabarovsk, Russian Federation;
Tkacheva N.K., Hospital Epidemiologist, Medical-Prophylactic Institution No. 2, Khabarovsk, Russian Federation;
Ogienko O.N., Junior Researcher, Bacteriological Laboratory, Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rosпотребнадзор, Khabarovsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 07.12.2021
 Отправлена на доработку 19.02.2022
 Принята к печати 25.04.2022

Received 07.12.2021
 Revision received 19.02.2022
 Accepted 25.04.2022

THE CLINICAL EFFECTIVENESS OF PROBIOTICS AND AUTOPROBIOTICS IN TREATMENT OF *HELICOBACTER PYLORI*-ASSOCIATED DYSPEPSIA

E.I. Ermolenko^{a,b}, A.S. Molostova^{a,g}, N.V. Baryshnikova^{a,c,d}, A.V. Svarval^e, N.S. Gladyshev^{e,f}, V.A. Kashchenko^{f,g}, A.N. Suvorov^{a,f}

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

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

^c Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

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

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

^f St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

^g North-Western District Scientific and Clinical Center named after L.G. Sokolov, Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The aim of our study was to evaluate the clinical performance of a monotherapy by *Enterococcus faecium*-based probiotics and indigenous autoprobiotics against *H. pylori* associated dyspepsia. **Materials and methods.** There were examined 95 patients with dyspepsia. The entire patient cohort underwent clinical evaluation including filling out the questionnaire to assess dyspepsia symptoms before and after treatment, gastric endoscopy as well as gastric multi-focal biopsy (gastric body and gastric antrum) and verification of *H. pylori* infection with the three clinical laboratory methods (biochemical, bacteriological and molecular detection). An antagonistic *in vitro* activity of probiotics against *H. pylori* was detected by drop plate method for probiotic strains *Enterococcus faecium* SF68 and *Bifidobacterium bifidum* (Bifiform), *Enterococcus faecium* L3 (Laminolact), and autoprobiotic strains combined with indigenous *Enterococcus faecium*. To examine an antagonistic activity of probiotics and autoprobiotics in clinical trials, we used a starter culture based on the *Enterococcus faecium* L3 strain and an autoprobiotic based on indigenous *Enterococcus faecium*. The probiotic or autoprobiotic were administered orally to patients with gastritis twice a day at dose of 50 ml (8.0 lgCFU/ml) for 20 days. *H. pylori* eradication was assessed by stool antigen test 1.5–2 months after the end of treatment. **Results.** Initially the *H. pylori* infection was confirmed with 49.4% of patients. The sensitivity of *H. pylori* to the probiotics was detected in 81% of individuals for indigenous Enterococci (the autoprobiotic), 76% — for Laminolact, and in 62% — for Bifiform. 22 patients with previous history of allergic reactions to antibiotics used in routine *H. pylori* eradication regimens were divided in two cohorts. One cohort (10 patients) received the autoprobiotic only, another cohort (12 patients) received only probiotic. Monotherapy with autoprobiotic resulted in 100% *H. pylori* eradication, single-agent therapy with probiotic led to 60% eradication of *H. pylori*. Dyspepsia symptoms were completely resolved in both groups of patients. **Conclusion.** Our research demonstrated the sensitivity of examined *H. pylori* strains to be similar for traditional eradication treatment agents (antibiotics) and the proposed intervention agents (probiotics and autoprobiotics). An autoprobiotic monotherapy

Адрес для переписки:

Сварваль Алена Владимировна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 911 223-14-11.
E-mail: alenasvar@rambler.ru

Contacts:

Alena V. Svarval
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 911 223-14-11.
E-mail: alenasvar@rambler.ru

Для цитирования:

Ермоленко Е.И., Молостова А.С., Барышникова Н.В., Сварваль А.В., Гладышев Н.С., Кашченко В.А., Суворов А.Н. Эффективность пробиотиков и аутопробиотиков в монотерапии диспепсии, ассоциированной с инфекцией *Helicobacter pylori* // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4. С. 726–734. doi: 10.15789/2220-7619-TCE-1927

Citation:

Ermolenko E.I., Molostova A.S., Baryshnikova N.V., Svarval A.V., Gladyshev N.S., Kashchenko V.A., Suvorov A.N. The clinical effectiveness of probiotics and autoprobiotics in treatment of *Helicobacter pylori*-associated dyspepsia // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 726–734. doi: 10.15789/2220-7619-TCE-1927

with indigenous enterococci led to higher levels of *H. pylori* eradication than with *E. faecium* L3-based probiotic agent. Our work demonstrated advantage for application of probiotics in patients with antibiotic allergies or other obstacles for the standard eradication therapy. Nonetheless, further investigation to better understand underlying mechanisms of action, as well as larger observational and randomized studies, are necessary to determine the scope of therapeutic application for probiotics and autoprobiotics to eradicate *H. pylori* infection.

Key words: *Helicobacter pylori*, eradication, probiotics, autoprobiotics, enterococci, *Enterococcus faecium*.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОБИОТИКОВ И АУТОПРОБИОТИКОВ В МОНОТЕРАПИИ ДИСПЕПСИИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ИНФЕКЦИЕЙ *HELICOBACTER PYLORI*

Ермоленко Е.И.^{1,2}, Молостова А.С.^{1,7}, Барышникова Н.В.^{1,3,4}, Сварваль А.В.⁵, Гладышев Н.С.^{5,6}, Кашенко В.А.^{6,7}, Суворов А.Н.^{1,6}

¹ ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

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

³ ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

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

⁶ ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

⁷ ФГБУ Северо-Западный окружной научно-клинический центр имени Л.Г. Соколова, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Цель исследования: оценка эффективности пробиотиков на основе энтерококков и индигенных энтерококков (аутопробиотиков) в монотерапии диспепсии, ассоциированной с *Helicobacter pylori*. **Материалы и методы.** Мы провели обследование 95 пациентов, страдающих диспепсией. Обследование включало в себя опрос для оценки жалоб до и после лечения, фиброгастродуоденоскопию (ФГДС) с взятием биоптатов из тела и антрального отдела желудка для верификации инфекции *H. pylori* (биохимический, бактериологический и молекулярно-генетический метод). Для исследования антагонистической активности капельным методом в системе *in vitro* использовали пробиотики бифиформ (*Enterococcus faecium* SF68 и *Bifidobacterium bifidum*) и ламинолакт (*Enterococcus faecium* L3), аутопробиотик на основе индигенного *Enterococcus faecium*. Для исследования антагонистической активности *in vivo* использовали пробиотическую закваску на основе штамма *Enterococcus faecium* L3 и аутопробиотик на основе индигенного *Enterococcus faecium* (патент РФ № 2546253). Препараты назначали *per os* дважды в день по 50 мл (8,0 lgКОЕ/мл) на 20 дней. Контроль эрадикации проводился с использованием определения антигена микроорганизма в кале через 1,5–2 месяца после окончания лечения. **Результаты.** Инфекция *H. pylori* была выявлена у 49,4% пациентов. Определена чувствительность изолятов микроорганизма к индигенным энтерококкам (аутопробиотику) в 81%, ламинолакту — 76% и бифиформу — 62% случаев. Часть обследованных получала в качестве монотерапии пробиотик или аутопробиотик (пациенты с указанием в анамнезе на аллергические реакции на прием антибиотиков, используемых в схемах стандартной эрадикационной терапии). При использовании аутопробиотика элиминация возбудителя составила 100%, при использовании пробиотика — 60%. Купирование симптомов диспепсии было полным как при приеме пробиотика, так и аутопробиотика. **Заключение.** Чувствительность исследуемых штаммов *H. pylori* к аутопробиотику и пробиотикам сравнима с чувствительностью микроорганизма к часто используемым в схемах эрадикации антибиотикам. Монотерапия аутопробиотиком на основе индигенных энтерококков показала более высокий процент элиминации возбудителя, чем применение закваски на основе штамма *E. faecium* L3. В случае невозможности использования стандартной антихеликобактерной терапии назначение как пробиотиков, так и аутопробиотиков является обоснованным. Однако необходимы дальнейшие исследования для расширения доказательной базы оценки эффективности препаратов на основе энтерококков в эрадикации *H. pylori*.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, эрадикация, пробиотики, аутопробиотики, энтерококки, *Enterococcus faecium*.

Introduction

Since the discovery of the role of *Helicobacter pylori* infection in the development of various diseases, particularly peptic ulcer and chronic gastritis, there has been a continuous search for improved methods of eradication of this microorganism. One potential way to improve anti-*H. pylori* treatment regimens is to include probiotics — medications (live microorgan-

isms) that are used to improve the gut microbiota. An emerging need for new treatment agents for *H. pylori* eradication is growing in importance on the grounds of: 1) a decrease in the effectiveness of standard anti-*H. pylori* therapy due to an increase in *H. pylori* resistance to antibiotics, 2) side effects of proton pump inhibitors and antibacterial drugs, 3) reluctance of patients to take antibiotics [7]. Both international and Russian treatment guidelines allow for the use

of probiotics. Both the fourth and fifth editions of the Maastricht Consensus Report state that some probiotics and prebiotics may be an effective supplement to standard eradication therapy [16, 17]. The clinical guidelines of the Russian Gastroenterological Association on the treatment of *H. pylori* infection in adults state that including probiotics in anti-*H. pylori* therapy improves therapy success and reduces the incidence of adverse events, namely remove the risk of *C. difficile*-associated diarrhea [2]. The VI Moscow Consensus of the Gastroenterological Scientific Society of Russia on the management of patients infected with *H. pylori* also emphasized that anti-*H. pylori* treatment is most effective and safe when supplemented with prebiotics or probiotics [3].

A number of meta-analyses demonstrated that the use of probiotics in addition to standard anti-*H. pylori* therapy improves both the effectiveness of eradication and reduces the frequency of side effects [15, 18, 20, 22, 24].

In addition, reduction of the side effects incidence of standard eradication therapy, some probiotics may have an antagonistic effect on *H. pylori* by inhibiting the growth of the microorganism. The underlying mechanism of described inhibition might be driven by producing antimicrobial products (bacteriocins, lactic acid, hydrogen peroxide and other) or by competing for survival (through colonization resistance) [6]. This prompted studies to evaluate the effectiveness of probiotic monotherapy in the treatment of *H. pylori* infection. This kind of therapy can be recommended for people who have allergic reactions to antibiotics, who are non-compliant to antibiotic therapies, as well as for family members of patients infected with *H. pylori*.

There are many of both Russian and foreign studies confirming the promising positive results of using probiotics monotherapy to eradicate *H. pylori*, with efficacy varying from 6 to 48% [6, 9, 10, 11, 13, 14, 19]. Probiotics are an emerging promising solution not only due to their ability to inhibit the growth of pathogenic microorganisms, but also because they are effective in restoring the composition of the gastrointestinal tract microbiota, as well as have a positive effect on the human immune system, mucus formation, and motility of the gastrointestinal tract [6].

However, the use of probiotics monotherapy, despite their high safety, also has its disadvantages: a relatively low eradication rate and a long course of treatment (1 month or more). The use of probiotic strains may not have a sufficiently significant antagonistic effect on *H. pylori* and a pronounced positive effect on the gastrointestinal microbiota, because they transit through the small intestine and colon. Moreover, it remains unclear how to choose a suitable probiotic for each individual.

Autoprobiotics, strains of normal microbiota isolated from a particular individual and designed to correct human microecology, are an innovative

way to increase the effectiveness of eradication without producing negative effects on the microbiota. Autoprobiotics stay in the colon longer, which allows to reduce the time of treatment. Autoprobiotics prepared from native (indigenous) lactobacilli, bifidobacteria, or enterococci may become the drugs of choice, since immunological tolerance to them is formed from the first years of life, and they do not come into conflict with other the resident microbiota of the human body [21]. There already are studies showing the effectiveness of autoprobiotics based on indigenous strains of *Lactobacillus* spp. in the restoration and stabilization of the content of the main representatives of the normal gut microbiota (*Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. and autoprobiotics based on *E. coli*) in treating dysbiotic disorders caused by the use of antibacterial drugs [1, 8], as well as indigenous strains of *Enterococcus* spp. in the treatment of intestinal pathology and neurological diseases [12].

The aim of our study was to evaluate the clinical performance of a monotherapy by probiotics and autoprobiotic *Enterococcus faecium* for *H. pylori* associated dyspepsia. We also evaluated gastric microbiota characteristics in the absence and in the presence of this microorganism.

Materials and methods

We examined 95 patients suffering from dyspepsia. Prior to commencing the study, all patients signed an informed consent to a comprehensive medical examination. The following groups were not included in the study: people who had received a course of eradication therapy within the previous two years, people who had taken antibiotics, proton pump inhibitors (PPIs), antacids, or bismuth containing drugs within the previous two weeks, as well as people with severe physical illnesses (including oncologic ailments) and/or infectious pathologies, pregnant and breastfeeding women.

The comprehensive examination prior to treatment included: survey to evaluate complaints (epigastric pain and signs of dyspepsia), gastroendoscopy, which included biopsies from gastric antrum and body to confirm *H. pylori* infection, and gastric microbiota analysis. The closing examination following the full treatment included an survey to evaluate complaints and collection of fecal samples to perform immunochromatographic stool tests for the detection of *H. pylori*.

Confirmation of Helicobacter pylori infection. Biochemical, bacteriological, immunological and genetic methods were used to confirm the presence of a pathogenic microorganism in the gastric mucosa. The result was considered positive when the infection was detected by all methods or by any one of the methods. The effectiveness of eradication was evaluated by determining the *H. pylori* antigen in feces.

Rapid urease test. We used the AMA RUT Expert test system to evaluate the urease activity of bacteria in the biopsy specimen and the AMA RUT Reader (AMA, Russia) for detection and record keeping. The AMA RUT Expert indicator is a test-slide with a well containing a reactive element sealed with a film. The slide has special marking on it, ensuring that the test results can be processed automatically.

Bacteriological method. Pure culture of the pathogen was isolated from biopsy specimens of gastric mucosa for each participant individually. Incubation protocol for *H. pylori* isolation microaerophilic conditions at 37°C for 5 days on the surface of a special culture medium (Columbia agar with 10% horse serum and 1% IsoVitalax, bioMerieux, France). The number of viable bacteria (CFU/g) was determined by plating corresponding 10-fold serial dilutions of biopsy specimens. Antimicrobial susceptibility testing performed with the disc-diffusion method, sensitivity to probiotics was determined by the drop plate method and the two-layer agar method. The bacteriological method is the gold standard in the diagnosis of helicobacteriosis, as it does not give false positive results, is specific and informative. Application of bacteriological method allowed our team to confirm that *H. pylori* was present in the sample, as well as to determine its sensitivity to antibiotics, probiotics, and autoprobiotics.

In addition to detecting *H. pylori* infection, we also performed a comparative analysis of gastric microbiota in the presence and in the absence of *H. pylori*. The viable bacteria count (CFU/g) in gastric biopsy specimens was determined by plating corresponding tenfold serial dilutions of suspensions on a number of selective dense culture media in Petri dishes and counting the bacterial colonies after incubation (24 hours) at 37°C. To determine the count of several genera of microorganisms such as *E. coli*, *Enterococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Enterobacter* spp. at the same time, we used the following chromogenic selective media: Pronadisa 1424 (Spain), HiCrome Coliform Agar (India). The lactobacilli count was determined by plating the culture on the Pronadisa 1043 Agar MRS medium (Spain) and culturing in anaerobic jars with gas generating sachets (Thermo Scientific AN0025A (USA)) at 37°C for 48 hours.

Polymerase chain reaction. PCR was used to detect the *cagA* and the *vacA* genes and thereby detect *H. pylori* in the biopsy specimens. This method was chosen because it is highly precise and informative. Moreover, features of the gastric microbiota were determined by molecular genetic study (real-time PCR) using the Colonoflor test system and 16S rRNA metagenomic analysis.

Quantitative polymerase chain reaction. Quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was performed using the kit Colonoflor 16 (“AlphaLab”, Russia) corresponding to the set of marker colonic bacteria on the qPCR unit Mini-Opticon, BioRad.

qPCR data on certain bacterial species were confirmed by classical bacteriology study.

Immune chromatographic test. The effect of probiotics and autoprobiotics used alone against *H. pylori* was evaluated by a non-invasive stool antigen test 1.5–2 months after treatment completion. Antigen determination in feces was carried out using the H&R *H. pylori* Vegal Farmaceutica S.L. test system, Spain.

Probiotic medication used for intervention. We used the probiotic autoprobiotic strains: *Enterococcus faecium* SF68 and *Bifidobacterium bifidum* (Biform, Ferrosan, Denmark) and (*Enterococcus faecium* L3 (Laminolact, “Avena”, Russia) to study antagonistic activity *in vitro*. Antagonistic activity was determined using the drop plate method. The investigated probiotics were diluted in distilled water at a ratio of 1:100 and then added to a dish with agar on which the *H. pylori* strain was plated. Growth was assessed on day 6–7.

We used a starter culture based on the *Enterococcus faecium* L3 strain to study the antagonistic activity *in vivo*. This strain was isolated from fermented milk, deposited in GenBank (No SUB167269, 2 629 318 base pairs, contains 2717 genes) and in the collection of the All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, ND-79, patent in Russia No 2220199. Genes encoding the synthesis of several bacteriocins (including enterocins A, B, Enx α , and Enx β) were found in the genome of this strain. The probiotics were administered for 20 days. The probiotic was administered *per os* twice a day at doses of 50 ml (8.0 lgCFU/ml).

Autoprobiotics making. Autoprobiotics were obtained as described in Russian patent No. 2546253 [5]: at least 1 ml fecal samples were collected from patients who had not taken antibiotics and/or probiotics for at least 10 days prior to collection; clones of indigenous strains of *Enterococcus faecium* were isolated from the samples using a culture medium containing sodium azide and crystal violet dye; then, colonies were selected based on the coloring; pure cultures were obtained by plating three pink-colored colonies with a burgundy center onto three sectors of Petri dishes with the same medium and incubated in a thermostat under aerobic conditions at $t = 37^\circ\text{C}$, and tested by PCR for absence of genes of pathogenicity; then, non-pathogenic clones were selected and cultured in a soy hydrolysate at no less than 10 ml per liter.

The 5% culture medium was prepared by diluting a lactose-free dry protein-vitamin mixture “Super LF” (SLF) in a small amount of distilled water heated to 40° C in a ratio of 1:1 until a homogeneous suspension was obtained. The resulting suspension was filtered through 4 layers of medical gauze and diluted with the remaining amount of distilled water (DW). The ratio of components by weight in the final suspension should be: DW:SLF = 95.5. The resulting suspension was dispensed into 1–2 L plastic bottles and autoclaved at 120° C and 1.2 atm for 15–30 minutes, then cooled to a temperature of 40°C.

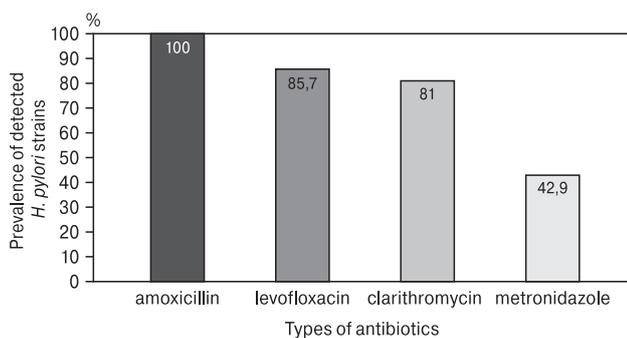


Figure 1. Prevalence of detected of *H. pylori* strains sensitive to antibacterial drugs

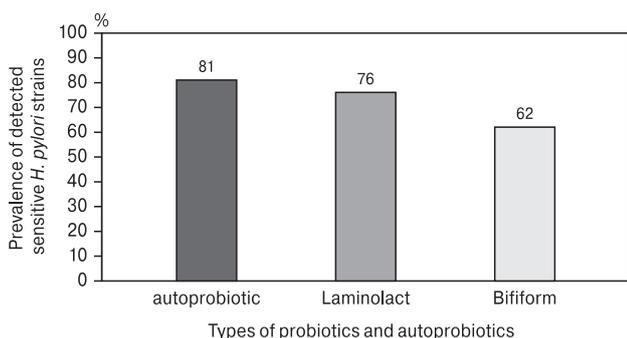


Figure 2. Prevalence of detected *H. pylori* strains sensitive to probiotics and autoprobiotics

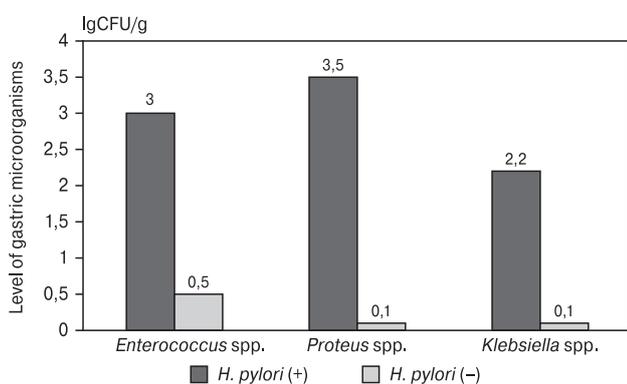


Figure 3. Quantitative level of various opportunistic bacteria in gastric biopsy specimens from patients with positive and negative *H. pylori*-status

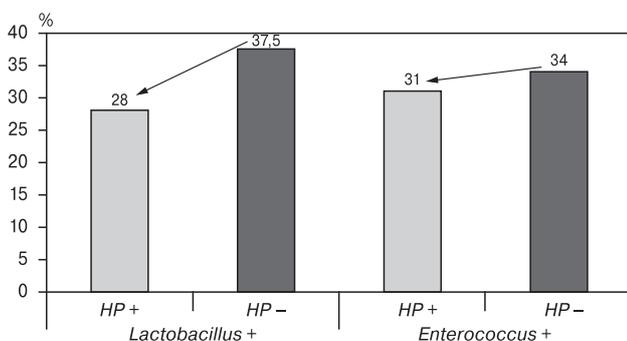


Figure 4. Prevalence of detected gastric *H. pylori* in patients with dyspepsia with isolated lactobacilli and enterococci

Seed doses were prepared by aseptically taking 50 mg of lyophilized starter culture and inoculating it with 2 ml of 5% culture medium cooled to 40°C. They were then cultivated in an aerobical condition for 14–16 hours at 37°C. The grown cell culture was transferred into 300 ml of sterile 5% culture medium cooled to 40°C and incubated in a dry-air thermostat for 14–16 hours at 37°C. The resulting biomass was used as a seeding dose for 1–2 L of culture medium. The starter culture which changed the structure of hydrolysate earlier than others was selected and used to prepare two liters of individual autoprobiotic product containing at least 108 CFU per 1 ml, which was administered to the patient orally at a dose of 50 ml 2 times a day for at least 20 days.

Methods of statistical analysis of study results. Statistical processing of the results was carried out using Statistica 10 for Windows (StatSoft, USA). Nonparametric pairwise multiple-comparison was used to evaluate the effectiveness of diagnostic methods and treatments. A p-value < 0.05 was considered statistically significant.

Results

Using various diagnostic methods, *H. pylori* infection was detected in 47 out of the 95 patients, or in 49.4% of the patients. The bacteriological method produced 21 positive results.

Evaluation of sensitivity of clinical isolates of Helicobacter pylori to antibiotics. We analyzed the sensitivity of the 21 isolated strains of *H. pylori* to the four antibacterial drugs most commonly used in the eradication therapy of *H. pylori*-associated diseases (Fig. 1).

The chart shows that the sensitivity to amoxicillin is the highest and reaches 100%, while sensitivity to metronidazole is half as high, with sensitivity to levofloxacin and clarithromycin falling between these two values. The data obtained are similar to the results of previous studies also conducted in St. Petersburg [4], which indicates a stable level of resistance of the pathogen to the antibacterial agents traditionally used in this region.

Evaluation of isolates of Helicobacter pylori isolates sensitivity to probiotics and autoprobiotics. The bacteriological (cultural) method also allowed to determine the sensitivity to probiotic and indigenous (autoprobiotic) strains of enterococci isolated from the fecal samples of patients prior to eradication therapy. According to the chart (Fig. 2), the highest number of clinical isolates were sensitive to indigenous enterococci (the autoprobiotic).

H. pylori sensitivity to antibiotics and probiotics allows for personalized treatment of *H. pylori*-associated dyspepsia. Such an individualized approach makes it possible to select the most effective means for both adjuvant therapy and monotherapy (if necessary).

Gastric microbiocenosis assessment in the presence or absence of *Helicobacter pylori*. We performed a comparative analysis of the gastric microbiota from 22 patients, 10 with positive *H. pylori*-status and 12 with negative *H. pylori*-status. The gastric microbiota of the patients from these two groups differed significantly (Fig. 3).

The chart demonstrates that bacteria from the genera *Proteus*, *Klebsiella* and *Enterobacter* were found only in samples collected from patients infected with *H. pylori*. We found no statistically significant correlation between the presence of *H. pylori* and *Fusobacterium* spp., *Faecalibacterium prausnitzii* and *Bacteroides fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *Bifidobacterium* spp.

It should be noted that when lactobacilli and enterococci were detected in the gastric samples at a concentration greater than 3 lgCFU/mL, the probability of detecting *H. pylori* was lower (Fig. 4).

Consequently, as demonstrated on Fig. 3 and Fig. 4, we observe an increased presence of opportunistic pathogen belonging to the *Enterobacteriaceae* family combined with concurrent regress in numbers of colonies of enterococci and lactobacilli (non-pathogenic microorganism) in *H. pylori*-positive patients. We suggest that observed imbalance in gastric microbiota can be attributed as an underlying cause for development of symptoms of dyspepsia and following *H. pylori*-associated diseases.

Gut microbiome study by qPCR. The study was performed by comparing the following microorganisms (the quantitative content of representatives of the intestinal microbiota): the total number of bacteria, *Acinetobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Escherichia coli* and enteropathogenic *E. coli*, *Proteus* spp., *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides fragilis* group, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus* spp., *Faecalibacterium prausnitzii*, *Fusobacterium nucleatum* and *Parvimonas micra*.

Changes in the microbiota before and after therapy had no significant differences in patients receiving probiotics and autoprobiotics. When considering the composition of the microbiota before and after therapy of all patients, it was shown that the quantitative content of *Ruminococcus*, *Metanobrevibacterium*, *Roseburia*, *Eubacterium*, *Blautia*, *Enterococcus* increased. The populations of *Prevotella*, *Streptococcus*, *Salmonella*, *Parvimonas* *Fusobacterium*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Bacteroides thetaiotaomicron* on the contrary decreased (Fig. 5).

Assessment of the clinical impact in treatment of *H. pylori* infection. Within the main group of patients, we distinguished a separate cohort of 11 patients who previously had recorded allergic reactions to antibiotics that are used in standard eradication treatment regimens. This cohort was divided into two subgroups: one received probiotic alone (5 patients) and the other received solely autoprobiotic therapy

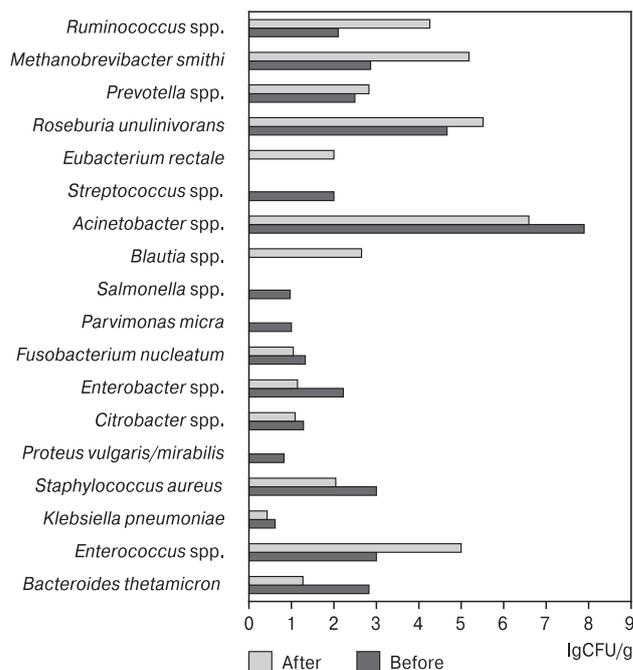


Figure 5. Gut microbiota profile before and after autoprobiotic- and probiotic-therapy of *H. pylori*+ gastritis

(6 patients). The summarized results for clinical efficacy in relieving the symptoms of dyspepsia and the anti-*Helicobacter* activity of these drugs is demonstrated in Tables 1 and 2.

According to questionnaire assessment symptoms of dyspepsia were completely eliminated after treatment with autoprobiotic and probiotic. The use of autoprobiotics based on indigenous enterococci alone is more effective in eradicating *H. pylori* than the use of a starter culture based on the *E. faecium* L3 strain.

Discussion

The prerequisite for this study were problems with the use of antibiotics, such as insufficient efficacy and side effects (diarrhea, nausea, bloating, allergic reactions etc.). In this study, for the first time,

Table 1. Evaluation of the clinical effectiveness for autoprobiotics and probiotics in reversing symptoms in patients with *Helicobacter pylori*-associated dyspepsia

Symptom, frequency in %	Autoprobiotic		Probiotic	
	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment
Eructation	33	0	60	0
Heartburn	50	0	60	0
Epigastric pain	100	0	100	0
Bloating	67	0	80	0
Nausea	17	0	40	0

Table 2. Evaluation of the clinical effectiveness of autoprobiotics and probiotics in *Helicobacter pylori* eradication

Parameters	Autoprobiotic (n = 10)	Probiotic (n = 12)
Effectiveness of anti- <i>Helicobacter</i> action: number of <i>H. pylori</i> -negative samples based on stool antigen test (immunochromatographic method), % (n)	83 (5)	60 (2)

the possibility of using autoprobiotics in monotherapy of *H. pylori*-associated dyspepsia is considered.

The choice of the type of autoprobiotic was associated with the high efficiency of autoprobiotic enterococci in the correction of gut dysbiosis, therapy of irritable bowel syndrome and metabolic syndrome. In addition, this study has already revealed an inverse correlation between the presence of enterococci in stomach biopsies and enterococcus and lactobacilli.

It is not surprising that when correcting the microbiota of the gastrointestinal tract with the help of indigenous enterococci isolated from the patient's feces, the elimination of the pathogen and the disappearance of dyspeptic symptoms were observed. Previously, such effects were described with the introduction of several probiotics, among which some of the most effective were based on *Enterococcus faecium* [21].

In vitro studies have demonstrated a high sensitivity of *H. pylori* to probiotics based on enterococci, including autoprobiotic, comparable to sensitivity to antibiotics. As it was shown earlier, the effect of probiotics is associated with the production of enterocins [6].

The intake of the functional food product containing *E. faecium* L3 and the autoprobiotic starter culture containing *E. faecium* have many positive effects: the disappearance of pain syndrome, heart-

burn, belching, flatulence, apparently due to the normalization of the composition of the gut microbiota and *H. pylori* eradication.

The use of autoprobiotics did not reveal significant differences in the composition of the gut microbiota after administration of probiotic *E. faecium* L3. The advantage of autoprobiotic can be the duration of the effect of autoprobiotics, established earlier [12].

Conclusion

For the investigated *H. pylori* strains the sensitivity is similar to both antibiotics used in standard eradication protocols and probiotics. The sensitivity of *H. pylori* to autoprobiotics based on indigenous enterococci is slightly higher than to probiotics. Treatment regimen with an autoprobiotic based on indigenous enterococci alone showed a higher eradication rate compared to a starter culture based on the *E. faecium* L3 strain. It is reasonable to include both probiotics and autoprobiotics in comprehensive eradication regimens due to dysbiotic changes of gastric microbiota in patients with dyspepsia and persisting *H. pylori* infection. When standard anti-helicobacter therapy cannot be used, autoprobiotics should be used as the preferred treatment. Enterococci-based drugs are the most promising for further research into the anti-*Helicobacter* effect of probiotics and autoprobiotics.

References

1. Боровкова Е.А., Алиева Е.В. Микробиологическое исследование микрофлоры толстого кишечника на дисбактериоз в оценке эффективности аутопробиотикотерапии // Естественные и технические науки. 2020. Т. 8, № 146. С. 24–33. [Borovkova E.A., Alieva E.V. Microbiological examination of the microflora of the large intestine for dysbacteriosis in assessing the effectiveness of autoprobiotic therapy. *Estestvennye i tekhnicheskie nauki = Natural and Technical Sciences*, 2020, vol. 8, no. 146, pp. 24–33. (In Russ.)]
2. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Лапина Т.Л., Шептулин А.А., Трухманов А.С., Баранская Е.К., Абдулхаков Р.А., Алексеева О.П., Алексеенко С.А., Дехнич Н.Н., Козлов Р.С., Кляритская И.Л., Корочанская Н.В., Курилович С.А., Осипенко М.Ф., Симаненков В.И., Ткачев А.В., Хлынов И.Б., Цуканов В.В. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2018. Т. 28, № 1. С. 55–70. [Ivashkin V.T., Mayev I.V., Lapina T.L., Sheptulin A.A., Trukhmanov A.S., Baranskaya Y.K., Abdulkhakov R.A., Alekseyeva O.P., Alekseyenko S.A., Dekhnych N.N., Kozlov R.S., Klyaritskaya I.L., Korochanskaya N.V., Kurilovich S.A., Osipenko M.F., Simanenkova V.I., Tkachev A.V., Khlynov I.B., Tsukanov V.V. Diagnostics and treatment of *Helicobacter pylori* infection in adults: Clinical guidelines of the Russian gastroenterological association. *Rossiiskii zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii = Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*, 2018, vol. 28, no. 1, pp. 55–70. (In Russ.)] doi: 10.22416/1382-4376-2018-28-1-55-70
3. Лазебник Л.Б., Ткаченко Е.И., Абдулганиева Д.И., Абдулхаков Р.А., Абдулхаков С.Р., Авалуева Е.Б., Ардатская М.Д., Ахмедов В.А., Бордин Д.С., Бурков С.Г., Бутов М.А., Голованова Е.В., Голофеевский В.Ю., Гриневич В.Б., Джулай Г.С., Добрица В.П., Еремина Е.Ю., Жигалова Т.Н., Иваников И.О., Исаков В.А., Казюлин А.Н., Калинин А.В., Козлова И.В., Комиссаренко И.А., Корниенко Е.А., Корочанская Н.В., Курилович С.А., Кучерявый Ю.А., Ли Е.Д., Ли И.А., Левченко С.В., Ливзан М.А., Логинов А.Ф., Лоранская И.Д., Маев И.В., Максимов В.А., Миллер Д.А., Минускин О.Н., Низов А.А., Орешко Л.С., Осипенко М.Ф., Пальцев А.И., Пасечников В.Д., Радченко В.Г., Рустамов М.Н., Саблин О.А., Сагынбаева В.Э., Сайфутдинов Р.Г., Самсонов А.А., Сарсенбаева А.С., Селиверстов П.В., Симаненков В.И., Ситкин С.И., Старостин Б.Д., Суворов А.Н., Тарасова Л.В., Ткачев А.В., Успенский Ю.П., Хлынова О.В., Хомерики Н.М.,

- Хомерики С.Г., Цуканов В.В., Чернин В.В., Чернышев А.Л., Шархун О.О., Щербаков П.Л., Яковенко Э.П. VI Национальные рекомендации по диагностике и лечению кислотозависимых и ассоциированных с *Helicobacter pylori* заболеваний (VI Московские соглашения) // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2017. № 2. С. 3–21. [Lazebnik L.B., Tkachenko E.I., Abdulganiyeva D.I., Abdulkhakov R.A., Abdulkhakov S.R., Avaluyeva E.B., Ardatskaya M.D., Akhmedov V.A., Bordin D.S., Burkov S.G., Butov M.A., Golovanova E.V., Golofeyevskiy V.Yu., Grinevich V.B., Dzhulay G.S., Dobritsa V.P., Eremina E.Yu., Zhigalova T.N., Ivanikov I.O., Isakov V.A., Kazyulin A.N., Kalinin A.V., Kozlova I.V., Komissarenko I.A., Kornienko E.A., Korochanskaya N.V., Kurilovich S.A., Kucheryavyy Yu.A., Li E.D., Li I.A., Levchenko S.V., Livzan M.A., Loginov A.F., Loranskaya I.D., Mayev I.V., Maksimov V.A., Miller D.A., Minushkin O.N., Nizov A.A., Oreshko L.S., Osipenko M.F., Pal'tsev A.I., Pasechnikov V.D., Radchenko V.G., Rustamov M.N., Sablin O.A., Sagynbayeva V.E., Sayfutdinov R.G., Samsonov A.A., Sarsenbayeva A.S., Seliverstov P.V., Simanenkov V.I., Sitkin S.I., Starostin B.D., Suvorov A.N., Tarasova L.V., Tkachev A.V., Uspenskiy Yu.P., Khlynova O.V., Khomeriki N.M., Khomeriki S.G., Tsukanov V.V., Chernin V.V., Chernyshev A.L., Sharkhun O.O., Scherbakov P.L., Yakovenko E.P. VI National guidelines for the diagnosis and treatment of acid-related and *Helicobacter pylori*-associated diseases (VI Moscow agreement). *Ekspertimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya = Experimental and Clinical Gastroenterology*, 2017, no. 2, pp. 3–21. (In Russ.)]
4. Симаненков В.И., Захарова Н.В., Жебрун А.Б., Сварваль А.В., Савилова И.В., Ферман Р.С. Резистентность *Helicobacter pylori* к антимикробным препаратам по результатам бактериологического тестирования // Лечащий врач. 2015. № 4: 91. [Simanenkov V.I., Zakharova N.V., Zhebrun A.B., Svarval' A.V., Savilova I.V., Ferman R.S. Resistance of *Helicobacter pylori* to antimicrobial preparations by the results of bacteriologic testing. *Lechashchii vrach = Lechashchii Vrach*, 2015, no. 4: 91. (In Russ.)] URL: <https://www.lvrach.ru/2015/04/15436214>
 5. Патент № 2546253 Российская Федерация, МПК C12N 1/20 (2006.01), C12Q 1/68 (2006.01), A61K 35/74 (2015.01), A23C 9/123 (2006.01). Способ получения персонафицированного аутопробиотического продукта и способ лечения синдрома раздраженного кишечника с использованием этого продукта; № 2013120765/10; заявлено 25.04.2013; опубликовано: 10.04.2015 / Симаненков В.И., Суворов А.Н., Соловьева О.И., Ермоленко Е.И., Цапиева А.Н., Сундукова З.Р. Патентообладатель: Симаненков В.И., Суворов А.Н. 23 с. [Patent No. 2546253 Russian Federation, Int. C12N 1/20 (2006.01), C12Q 1/68 (2006.01), A61K 35/74 (2015.01), A23C 9/123 (2006.01). Method of obtaining personified autoprobiotic product and method of treating syndrome of irritable bowl with thereof application. No. 2013120765/10; application: 25.04.2013; date of publication 10.04.2015 / Simanenkov V.I., Suvorov A.N., Solov'eva O.I., Ermolenko E.I., Tsapieva A.N., Sundukova Z.R. Proprietors: Simanenkov V.I., Suvorov A.N. 23 p.]
 6. Суворов А.Н., Барышникова Н.В., Сварваль А.В., Ниязов Р.М. Возможности некоторых пробиотических штаммов в эрадикации *Helicobacter pylori* in vitro и in vivo // Фарматека. 2018. № 2. С. 74–78. [Suvorov A.N., Baryshnikova N.V., Svarval A.V., Niyazov R.M. Possibilities of some probiotic strains in the eradication of *Helicobacter pylori* in vitro and in vivo. *Farmateka = Pharmateca*, 2018, no. 2, pp. 74–78. (In Russ.)]
 7. Ткаченко Е.И., Успенский Ю.П., Барышникова Н.В. Оптимизация лечения заболеваний, ассоциированных с *Helicobacter pylori* // Врач. 2012. no. 1, pp. 36–38. [Tkachenko E., Uspenskiy Yu., Baryshnikova N. Optimization of treatment for *Helicobacter pylori*-associated diseases. *Vrach = Physician*, 2012, no. 1, pp. 36–38. (In Russ.)]
 8. Цапиева А.Н., Боровкова Е.А., Карасева А.Б., Алиева Е.В., Суворов А.Н. Разработка метода идентификации индигенных лактобацилл кишечника при создании аутопробиотиков // Вопросы детской диетологии. 2019. Т. 17, № 3, pp. 52–59. [Tsapieva A.N., Borovkova E.A., Karaseva A.B., Alieva E.V., Suvorov A.N. Development of a method for identification of indigenous gut lactobacilli in the creation of autoprobiotics. *Voprosy detskoj dietologii = Pediatric Nutrition*, 2019, vol. 17, no. 3, pp. 52–59. (In Russ.)] doi: 10.20953/1727-5784-2019-3-52-59
 9. Boonyaritchaikij S., Kuwabara K., Nagano J., Kobayashi K., Koga Y. Long-term administration of probiotics to asymptomatic pre-school children for either the eradication or the prevention of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*, 2009, vol. 14, no. 3, pp. 202–207. doi: 10.1111/j.1523-5378.2009.00675.x
 10. Canducci F., Cremonini F., Armuzzi A., Di Caro S., Gabrielli M., Santarelli L., Nista E., Lupascu A., De Martini D., Gasbarrini A. Probiotics and *Helicobacter pylori* eradication. *Dig. Liver. Dis.*, 2002, vol. 34, suppl. 2, pp. S81–S83. doi: 10.1016/s1590-8658(02)80172-4
 11. Dore M.P., Cuccu M., Pes G.M., Manca A., Graham D.Y. Lactobacillus reuteri in the treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Intern. Emerg. Med.*, 2014, vol. 9, no. 6, pp. 649–654. doi: 10.1007/s11739-013-1013-z
 12. Ermolenko E.I., Abdurasulova I.N., Kotyleva M.P., Svirido D.A., Matsulevich A.V., Karaseva A.B. Effects of indigenous enterococci on the intestinal microbiota and the behavior of rats. *Neurosci. Behav. Physiol.*, 2018, vol. 48, no. 4, pp. 496–505. doi: 10.1007/s11055-018-0591-7
 13. Gotteland M., Poliak L., Cruchet S., Brunser O. Effect of regular ingestion of *Saccharomyces boulardii* plus inulin or *Lactobacillus acidophilus* LB in children colonized by *Helicobacter pylori*. *Acta Paediatr.*, 2005, vol. 94, no. 12, pp. 1747–1751. doi: 10.1111/j.1651-2227.2005.tb01848.x
 14. Losurdo G., Cubisino R., Barone M., Principi M., Leandro G., Ierardi E., Di Leo A. Probiotic monotherapy and *Helicobacter pylori* eradication: a systematic review with pooled-data analysis. *World J Gastroenterol.*, 2018, vol. 24, no. 1, pp. 139–149. doi: 10.3748/wjg.v24.i1.139
 15. Lü M., Yu S., Deng J., Yan Q., Yang C., Xia G., Zhou X. Efficacy of probiotic supplementation therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One*, 2016, vol. 11, no. 10: e0163743. doi: 10.1371/journal.pone.0163743
 16. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C.A., Atherton J., Axon A.T., Bazzoli F., Gensini G.F., Gisbert J.P., Graham D.Y., Rokkas T., El-Omar E.M., Kuipers E.J.; European *Helicobacter* Study Group. Management of *Helicobacter pylori* infection — the Maastricht IV/Florence Consensus Report. *Gut*, 2012, vol. 61, no. 5, pp. 646–664. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302084
 17. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C.A., Gisbert J.P., Kuipers E.J., Axon A.T., Bazzoli F., Gasbarrini A., Atherton J., Graham D.Y., Hunt R., Moayyedi P., Rokkas T., Rugge M., Selgrad M., Suerbaum S., Sugano K., El-Omar E.M.; European *Helicobacter* and Microbiota Study Group and Consensus panel. Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht V/Florence Consensus Report. *Gut*, 2017, vol. 66, no. 1, pp. 6–30. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312288

18. Molina-Infante J., Gisbert J.P. Probiotics for *Helicobacter pylori* eradication therapy: not ready for prime time. *Rev. Esp. Enferm. Dig.*, 2013, vol. 105, no. 8, pp. 441–444. doi: 10.4321/s1130-01082013000800001
19. Rosania R., Minenna M.F., Giorgio F., Facciorusso A., De Francesco V., Hassan C., Panella C., Ierardi E. Probiotic multistrain treatment may eradicate *Helicobacter pylori* from the stomach of dyspeptics: a placebo-controlled pilot study. *Inflamm. Allergy Drug Targets.*, 2012, vol. 11, no. 3, pp. 244–249. doi: 10.2174/187152812800392698
20. Shi X., Zhang J., Mo L., Shi J., Qin M., Huang X. Efficacy and safety of probiotics in eradicating *Helicobacter pylori*: a network meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*, 2019, vol. 98, no. 15: e15180 doi: 10.1097/MD.00000000000015180
21. Suvorov A., Karaseva A., Kotyleva M., Kondratenko Y., Lavrenova N., Korobeynikov A., Kozyrev P., Kramskaya T., Leontieva G., Kudryavtsev I., Guo D., Lapidus A., Ermolenko E. Autoprobiotics as an approach for restoration of personalised microbiota. *Front. Microbiol.*, 2018, no. 9: 1869. doi: 10.3389/fmicb.2018.01869
22. Szajewska H., Horvath A., Piwowarczyk A. Meta-analysis: the effects of *Saccharomyces boulardii* supplementation on *Helicobacter pylori* eradication rates and side effects during treatment. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2010, vol. 32, no. 9, pp. 1069–1079. doi: 10.1111/j.1365-2036.2010.04457.x
23. Wang F., Feng J., Chen P., Liu X., Ma M., Zhou R., Chang Y., Liu J., Li J., Zhao Q. Probiotics in *Helicobacter pylori* eradication therapy: systematic review and network meta-analysis. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.*, 2017, vol. 41, no. 4, pp. 466–475. doi: 10.1016/j.clinre.2017.04.004
24. Zhang M.M., Qian W., Qin Y.Y., He J., Zhou Y.H. Probiotics in *Helicobacter pylori* eradication therapy: a systematic review and meta-analysis. *World J. Gastroenterol.*, 2015, vol. 21, no. 14, pp. 4345–4357. doi: 10.3748/wjg.v21.i14.4345

Авторы:

Ермоленко Е.И., д.м.н., зав. лабораторией биомедицинской микрoэкологии отдела молекулярной микробиологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия; профессор кафедры медицинской микробиологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия; **Молостова А.С.**, врач-гастроэнтеролог ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия; младший научный сотрудник ФГБУ Северо-Западный окружной научно-клинический центр имени Л.Г. Соколова ФМБА, Санкт-Петербург, Россия; **Барышникова Н.В.**, к.м.н., доцент, научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия; доцент кафедры внутренних болезней стоматологического факультета ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия; младший научный сотрудник лаборатории медико-социальных проблем педиатрии ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия; **Сварваль А.В.**, к.м.н., старший научный сотрудник, зав. лабораторией идентификации патогенов ФБН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; **Гладышев Н.С.**, лаборант лаборатории идентификации патогенов ФБН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; студент образовательной программы «Лечебное дело» медицинского факультета ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; **Кащенко В.А.**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой факультетской хирургии ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; зам. генерального директора по научно-образовательной работе, главный хирург ФГБУ Северо-Западный окружной научно-клинический центр имени Л.Г. Соколова ФМБА, Санкт-Петербург, Россия; **Суворов А.Н.**, член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор, зав. отделом молекулярной микробиологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия; зав. кафедрой фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий факультета стоматологии и медицинских технологий ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Ermolenko E.I., PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory of Biomedical Microecology, Department of Molecular Microbiology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation; Professor, Department of Medical Microbiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation; **Molostova A.S.**, Gastroenterologist, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation; Junior Researcher, North-Western District Scientific and Clinical Center named after L.G. Sokolov Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation; **Baryshnikova N.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Researcher, Department of Molecular Microbiology, Research Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation; Associate Professor, Dental Faculty, Internal Diseases Department, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation; Junior Researcher, Laboratory of Medical and Social Pediatric Problems, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation; **Svarval A.V.**, PhD (Medicine), Senior Researcher, Head of the Pathogens Identification Laboratory, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; **Gladyshev N.S.**, Laboratory Assistance, Pathogens Identification Laboratory, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Student of the Educational Program “Medical Care”, Faculty of Medicine, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation; **Kashchenko V.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Faculty Surgery, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation; Deputy Director for Scientific and Education Work, Chief Surgeon, North-Western District Scientific and Clinical Center named after L.G. Sokolov Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation; **Suvorov A.N.**, RAS Corresponding Member, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Molecular Microbiology, Research Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation; Head of the Department of Fundamental Problems of Medicine and Medical Technologies, Faculty of Dentistry and Medical Technologies, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation.

ВЫЯВЛЯЕМОСТЬ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА, ВИРУСНАЯ НАГРУЗКА И ФАКТОРЫ РИСКА У ПАЦИЕНТОВ С ПРЕДРАКОВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Д.В. Холопов¹, А.А. Вязовая¹, Э.Э. Топузов², Д.А. Алексеева², С.В. Молчанов², Л.В. Лялина¹

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

² СПб ГБУЗ Городской клинической онкологической диспансер, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Молекулярно-генетические исследования выявили роль различных генотипов вируса папилломы человека (ВПЧ) в канцерогенезе при раке шейки матки и злокачественных опухолях других локализаций. Показано, что больные ВПЧ-позитивным раком имеют лучший прогноз течения заболевания и выживаемости, чем пациенты без выявленной папилломавирусной инфекции или с низкой вирусной нагрузкой. Цель исследования — определить выявляемость, вирусную нагрузку, генотипы вируса папилломы человека при ВПЧ-ассоциированных предраковых и злокачественных новообразованиях различной локализации и факторы риска их возникновения в условиях мегаполиса Санкт-Петербурга в современный период. *Материалы и методы.* Было изучено 80 образцов, полученных в Городском клиническом онкологическом диспансере Санкт-Петербурга от пациентов с диагнозом морфологически подтвержденного орофарингеального и анального рака, злокачественных опухолей вульвы, влагалища, шейки матки и цервикальной интраэпителиальной неоплазии. Выявление, количественное определение и генотипирование ДНК ВПЧ проводили методом ПЦР в режиме реального времени в Санкт-Петербургском НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. *Результаты.* ВПЧ обнаружен у 89,7% (61/68) пациентов со злокачественными опухолями и у 83,3% (10/12) — с тяжелой дисплазией шейки матки. Подавляющее большинство (85,9%) ВПЧ-позитивных пациентов были инфицированы ВПЧ 16-го генотипа; при анальном раке, тяжелой дисплазии и раке шейки матки выявлена папилломавирусная микст-инфекция (генотипы 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45). Средние значения вирусной нагрузки при III–IV стадиях рака анального канала, шейки матки и при тяжелой дисплазии шейки матки превышали 5,7 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток. Среди больных орофарингеальным раком преобладали мужчины (85,7%), в группе пациентов с диагнозом рака анального канала — женщины (90,0%). Выявляемость ВПЧ у мужчин составила 73,7%, у женщин — 95,9% (p = 0,016). При изучении факторов риска (возраст, курение, употребление алкоголя) у пациентов с ВПЧ-позитивными и ВПЧ-негативными злокачественными новообразованиями статистически значимых различий не выявлено. *Заключение.* Выявляемость ВПЧ, преимущественно 16 генотипа, ва-

Адрес для переписки:

Дмитрий Вячеславович Холопов
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 921 770-63-99 (моб.).
E-mail: Xolopov.D.V@yandex.ru

Contacts:

Dmitrii V. Kholopov
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 921 770-63-99 (mobile).
E-mail: Xolopov.D.V@yandex.ru

Для цитирования:

Холопов Д.В., Вязовая А.А., Топузов Э.Э., Алексеева Д.А., Молчанов С.В., Лялина Л.В. Выявляемость вируса папилломы человека, вирусная нагрузка и факторы риска у пациентов с предраковыми заболеваниями и злокачественными новообразованиями в Санкт-Петербурге // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4. С. 735–744. doi: 10.15789/2220-7619-DOH-1981

Citation:

Kholopov D.V., Vyazovaya A.A., Topuzov E.E., Alekseeva D.A., Molchanov S.V., Lyalina L.V. Detection of Human papillomavirus, viral load and risk factors in patients with precancerous diseases and malignant neoplasms in St. Petersburg // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 735–744. doi: 10.15789/2220-7619-DOH-1981

рыировала в зависимости от локализации новообразования и составляла: при раке анального канала — 100%, женских половых органов — 94% (при раке влагалища и шейки матки — 100%), при орофарингеальном раке — 76,2%. Наибольшее содержание ДНК ВПЧ в опухолевой ткани выявлено при III–IV стадиях рака шейки матки и анального канала.

Ключевые слова: вирус папилломы человека, злокачественные новообразования, рак шейки матки, орофарингеальный рак, анальный рак, факторы риска, вирусная нагрузка.

DETECTION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS, VIRAL LOAD AND RISK FACTORS IN PATIENTS WITH PRECANCEROUS DISEASES AND MALIGNANT NEOPLASMS IN ST. PETERSBURG

Kholopov D.V.^a, Vyazovaya A.A.^a, Topuzov E.E.^b, Alekseeva D.A.^b, Molchanov S.V.^b, Lyalina L.V.^a

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

^b St. Petersburg City Oncology Clinic, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Molecular genetic studies have revealed the involvement of different genotypes of human papillomavirus (HPV) in the carcinogenesis of cervical cancer and malignant lesions of other localizations. It is reported that patients with HPV-positive cancer have a better prognosis of the disease and survival than patients with unconfirmed HPV infection or with a low viral load. The objective was to identify the detectability, viral load, genotypes of human papillomavirus in HPV-associated precancerous and malignant neoplasia of various localization and to determine risk factors for their occurrence in the metropolis of St. Petersburg at the present time. *Materials and methods.* A total of 80 samples taken from morphologically confirmed tissues of oropharyngeal and anal cancer, malignant tumors of vulva, vagina, cervix and cervical intraepithelial neoplasia were studied in St. Petersburg Clinical Oncologic Center. Detection, quantification and genotyping of HPV DNA were carried out by real-time PCR at the St. Petersburg Pasteur Institute. *Results.* HPV was detected in 89.7% (61/68) of patients with malignant tumors and 83.3% (10/12) — with severe cervical dysplasia. The vast majority (85.9%) of HPV-positive patients were infected with HPV genotype 16; papillomavirus mixed infection (genotypes 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45) was detected in anal cancer, cancer and severe cervical dysplasia. The average viral load in stages III–IV of anal cancer, cervical cancer and severe cervical dysplasia exceeded 5.7 lg HPV DNA/10⁵ cells. Among patients with oropharyngeal cancer, men predominated (85.7%); anal cancer was detected in women (90.0%). No statistically significant risk factors (smoking and alcohol consumption) for the occurrence of HPV-associated malignancies were identified. *Conclusions.* The detection of HPV, mainly of genotype 16, varied depending on the location of the neoplasia: anal cancer — 100%, cancer of the female genitalia — 94% (in case of cancer of the vagina and cervix — 100.0%), head and neck cancer — 76.2%. The highest HPV DNA load in the tumor tissue was found in III–IV stages of the cervical and anal cancer.

Key words: Human papillomavirus, malignancies, cervical cancer, oropharyngeal cancer, anal cancer, risk factors, viral load.

Введение

Обширные эпидемиологические и молекулярно-биологические исследования показали этиологическую роль вируса папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (ВКР) в развитии рака шейки матки (РШМ), а также других опухолей аногенитальной и орофарингеальной областей [25]. Потенциальная роль ВПЧ в возникновении злокачественных новообразований (ЗНО) других анатомических локализаций является недостаточно изученной и требует продолжения исследований в этом направлении. Согласно опубликованным данным, в 2012 г. 4,5% всех видов рака в мире (630 000 новых случаев) были связаны с ВПЧ: 8,6% у женщин и 0,8% у мужчин. Доля РШМ составила 83%, остальные локализации включали рак вульвы, влагалища, анального канала, полового члена, а также ВПЧ-ассоциированные ЗНО головы и шеи, большая часть которых была представлена раком ротоглотки. ВПЧ 16, 18 и 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52,

58 генотипов в структуре распространенности в указанных опухолях занимали 73 и 90% случаев соответственно [12].

По данным метаанализа, высокие показатели заболеваемости РШМ связаны с широкой распространенностью ВПЧ. Дополнительными факторами риска заражения папилломавирусной инфекцией (ПВИ) являются недостаточный уровень информированности молодых женщин об отдаленных последствиях инфицирования, курение и раннее начало половой жизни [7]. Цервикальная интраэпителиальная неоплазия (англ. cervical intraepithelial neoplasia, CIN), играющая основную роль в развитии РШМ, связана с инфицированием ВПЧ ВКР 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58 генотипов [12]. По вопросу значения вирусной нагрузки в канцерогенезе в литературе имеются противоречивые сведения. По данным одних авторов, высокая нагрузка ВПЧ, сопровождающая персистенцию вируса в зараженной клетке, может рассматриваться как маркер риска CIN и карциномы шейки матки [2]. В других ис-

следованиях отмечается снижение вирусной нагрузки по мере прогрессирования атипических изменений в шейке матки [13], приводятся данные о том, что у пациентов с РШМ низкая вирусная нагрузка ВПЧ ассоциируется с более низкой выживаемостью и плохим прогнозом [27]. Отечественными учеными показано, что среди больных РШМ повышенная ($> 3 \lg$) вирусная нагрузка чаще определялась при местнораспространенных формах РШМ, а малозначимая вирусная нагрузка ($< 3 \lg$) более часто встречалась на ранних стадиях ЗНО [11]. Основными факторами риска развития рака головы и шеи являются употребление алкоголя и табака, инфицирование ВПЧ и ультрафиолетовое облучение [6]. Плоскоклеточный рак головы и шеи по патогенетическому принципу разделен на две большие группы с различными показателями выживаемости — ВПЧ-положительный [ВПЧ(+)] и ВПЧ-отрицательный [ВПЧ(-)]. Предположительно, в 45–90% случаев орофарингеальный плоскоклеточный рак ассоциирован с ВПЧ [8], при этом миндалины были самой распространенной его локализацией с частотой обнаружения ДНК ВПЧ у больных от 12,6 до 90,9% [9]. ВПЧ 6/11/16/18 генотипов выявлены в клетках плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта в 41,4% случаев [4]. Приводятся сведения о том, что больные ВПЧ(+) раком, особенно с локализацией в ротоглотке, имеют лучший прогноз течения заболевания, чем те, у кого этот тип рака развивается на других участках верхних отделов пищеварительного тракта [24]. Установлено, что у пациентов с ВПЧ(-) опухолями головы и шеи или с низкой вирусной нагрузкой показатели выживаемости были значительно хуже, чем у ВПЧ 16(+) пациентов с высокой вирусной нагрузкой [15].

Рак анального канала и кожи перианальной области составляет около 2,5% всех злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта [23], чаще встречается у женщин и у пациентов в возрасте 65 лет и старше, отмечается увеличение заболеваемости, особенно у мужчин [16, 20]. С этиологической точки зрения рак анального канала имеет больше сходства с РШМ, чем с опухолями желудочно-кишечного тракта. В большинстве случаев возникновение данной формы неоплазии следует рассматривать как следствие ВПЧ-инфекции [3]. Другими факторами риска возникновения рака анального канала являются иммуносупрессия, гемобластозы, а также наличие в анамнезе других видов ВПЧ-ассоциированных ЗНО, низкий социально-экономический статус и курение [14]. Удельный вес рака анального канала, ассоциированного с ВПЧ, составляет около 90%, при этом более чем в 70% случаев обнаруживаются 16 и 18 генотипы вируса [21]. Уровень ВПЧ-положительности выше среди

женщин. При исследовании вирусной нагрузки ВПЧ 16 выявлено, что она была выше в группе больных, ранее не получавших лечения [19]. Установлено, что ВПЧ-положительность была связана с лучшей выживаемостью и ответом на химиолучевую терапию (подобно плоскоклеточному раку головы и шеи), а низкая вирусная нагрузка была прогностическим фактором более низкой общей выживаемости [1, 17].

Плоскоклеточный рак вульвы по этиологическому фактору разделяют на две группы: кератозный (ВПЧ(-) вариант) и базалоидный и веррукозный (ВПЧ(+) вариант). ВПЧ обнаружен у молодых женщин в 54,2%, у пожилых — в 18% случаев, доминирующим в обеих группах был 16 генотип ВПЧ [5]. Некоторые исследования отмечают лучшую выживаемость женщин с ВПЧ(+) опухолями вульвы [11], другие не выявили такой закономерности [18]. Результаты крупного многоцентрового исследования в США в период 1994–2005 гг. показали, что до 75% случаев рака влагалища были ассоциированы с ВПЧ [22]. Установлено, что по сравнению с нормальными вагинальными образцами вирусная нагрузка была значительно выше при интраэпителиальной неоплазии влагалища и увеличивалась при наличии ВПЧ 16, 52, 58 генотипов [26].

Цель исследования: определить выявляемость, вирусную нагрузку, генотипы вируса папилломы человека при ВПЧ-ассоциированных предраковых заболеваниях и злокачественных новообразованиях различной локализации и факторы риска их возникновения в условиях мегаполиса Санкт-Петербурга в современный период.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 80 пациентов, проходивших обследование и лечение в СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер» в период с октября 2020 г. по ноябрь 2021 г. Диагноз верифицирован гистологически, установлен в соответствии с Международной статистической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем, 10-го пересмотра (МКБ-10) и классификацией TNM (8-е издание, 2017 г.). Количество пациентов с учетом локализации опухоли: 21 — орофарингеальный рак (код МКБ-10 C01–06, C09–10, C12–13), 10 — рак анального канала и кожи перианальной области (C21), 8 — рак вульвы (C51), 1 — рак влагалища (C52), 28 — рак шейки матки (C53) и 12 пациенток — тяжелая дисплазия шейки матки (англ. highgrade squamous intraepithelial lesions, HSIL).

Настоящее исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией 1964 г., получено разрешение локального этического

комитета Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Всеми пациентами было подписано информированное согласие. Для выявления возможных факторов риска возникновения ВПЧ-ассоциированных ЗНО для каждого пациента использовалось добровольное анкетирование.

Материалом для исследования служили соскобы с опухолевой ткани предраковых заболеваний и злокачественных новообразований вышеуказанных локализаций. Выявление, количественное определение и генотипирование ДНК ВПЧ ВКР проводили методом ПЦР в режиме реального времени на приборе RotorGene 6000 (Corbett Research, Австралия) с использованием комплектов реагентов фирмы «Amplisens®» («АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-FL», кат#R-V31-T4x (RG, iQ, Mx); «АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип FL», кат#R-V25(RG, iQ, Mx) (ООО «Интерлабсервис», Россия). Определяли наличие ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 и 59 генотипов. Значение вирусной нагрузки рассчитывали в геномных эквивалентах ДНК ВПЧ/10⁵ клеток, порог релевантного количества вируса принимался равным 3 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток в соскобе.

Статистическую обработку результатов исследования проводили стандартными методами параметрической статистики с использованием пакетов программ Microsoft Office Excel 2019, онлайн-калькулятора «Медицинская статистика» (<https://medstatistic.ru/calculators/calchit.html>), «WinPepi» (версия 11.65) и «EpiInfo» (версия 7.2.4.0).

Для установления статистической значимости различий качественных признаков между группами использовали критерий Фишера (Р) для четырехпольной и произвольных таблиц (критический уровень значимости $p < 0,05$).

Результаты

Исследованы образцы тканей 12 пациенток с HSIL и 68 пациентов, страдающих ЗНО: 37 (54,4%) образцов тканей опухолей женских половых органов, 21 (30,9%) — орофарингеальной области, 10 (14,7%) — рака анального канала и кожи перианальной области (далее по тексту — анальный рак). Вакцинированных против ВПЧ среди обследованных пациентов не было.

ВПЧ обнаружен в 61 (89,7%) из 68 образцов пациентов с ЗНО (табл. 1) и у 10 (83,3%) из 12 пациенток с HSIL. ВПЧ несколько чаще выявляли у больных РШМ (94,6%; 35/37), чем у пациенток с HSIL (83,3%; 10/12) ($p = 0,167$) (рис. 1).

Результаты исследования показали, что выявляемость ВПЧ у пациентов мужского и женского пола составила 73,7 и 95,9% соответственно ($p = 0,016$). Статистически значимых различий выявляемости ВПЧ в возрастных группах до 60 и старше 60 лет не обнаружено ($p > 0,05$). Курение и употребление алкоголя также не оказали существенного влияния на выявляемость ВПЧ ($p > 0,05$). Указанные факторы риска встречались с одинаковой частотой у пациентов с ВПЧ(+) и ВПЧ(–) ЗНО.

Таблица 1. Клинико-эпидемиологическая характеристика пациентов с ВПЧ(+) и ВПЧ(–) злокачественными новообразованиями

Table 1. Clinical and epidemiological characteristics of patients with HPV(+) and HPV(–) malignancies

Характеристика Characteristic	N, абс. (%) N, abs. (%)	ВПЧ-статус, N, абс. (%) / HPV status, N, abs. (%)		P
		ВПЧ(+)/HPV(+)	ВПЧ(–)/HPV(–)	
Всего/Total	68 (100)	61 (89,7)	7 (10,3)	
Пол/Sex				
мужчины/males	19 (27,9)	14 (73,7)	5 (26,3)	0,016
женщины/females	49 (72,1)	47 (95,9)	2 (4,1)	
Возраст, лет/Age, years				
> 60	39 (57,4)	35 (89,7)	4 (10,3)	0,384
≤ 60	29 (42,6)	28 (96,6)	1 (3,4)	
Курение/Smoking				
да/yes	30 (44,1)	25 (83,3)	5 (16,7)	0,450
нет/no	38 (55,9)	35 (92,1)	3 (7,9)	
Алкоголь/Alcohol*				
часто/often	8 (11,8)	6 (75,0)	2 (25,0)	0,189
редко/rarely	60 (88,2)	55 (91,7)	5 (8,3)	
Стадии заболевания/Stages of the disease				
I–II	31 (45,6)	30 (96,8)	1 (3,2)	0,116
III–IV	37 (54,4)	31 (83,8)	6 (16,2)	

Примечание. *Здесь и далее: часто — чаще 1 раза в неделю, редко — реже 1 раза в неделю.

Note. *Here and further: often — more than once a week, rarely — less than once a week.

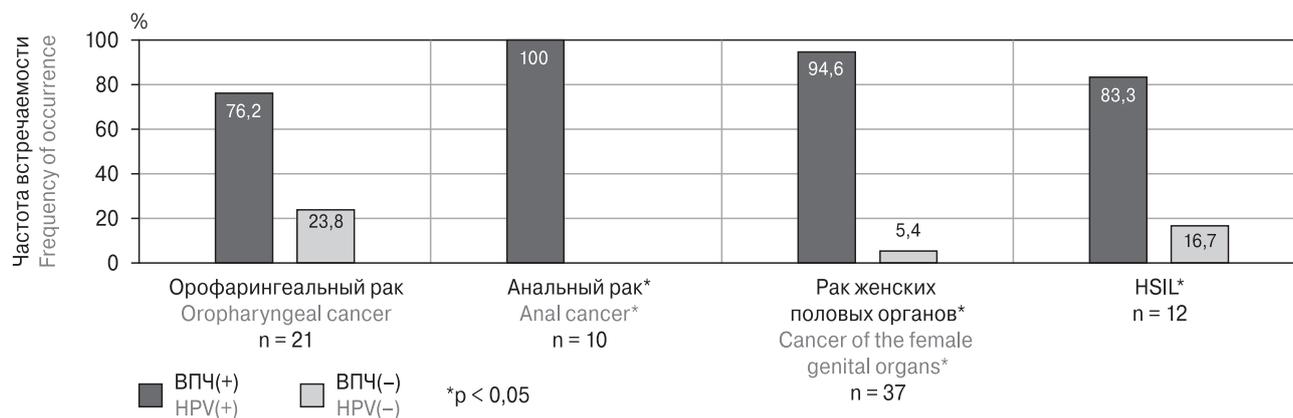


Рисунок 1. Выявляемость ВПЧ в образцах тканей ЗНО различных локализаций и HSIL среди пациентов в Санкт-Петербурге, 2020–2021 гг.

Figure 1. Detection of HPV in cancer tissue samples of various localizations and HSIL among the patients in St. Petersburg, 2020–2021

При изучении морфологии ЗНО в 94,1% (64/68) случаев верифицирован плоскоклеточный рак (ВПЧ-положительный — 89,1%), в остальных 4-х ВПЧ-положительных случаях — аденокарцинома и светлоклеточный рак (причем только при РШМ).

Генотипирование ВПЧ-положительных образцов показало, что у 85,9% (61/71) пациентов диагностирована моноинфекция ВПЧ 16; в 14,1% (10/71) случаев (при анальном раке, РШМ и HSIL) выявлена папилломавирусная микстинфекция, одновременно с ВПЧ 16 обнаружены генотипы 18, 31, 33, 35, 39, 45. При этом ВПЧ 16 был обнаружен во всех ВПЧ-положительных образцах при ЗНО (n = 61), а в образцах HSIL — в 90,0% (9/10) случаев, что согласуется с опубликованными данными [12].

Из 61 пациента с ВПЧ-ассоциированными ЗНО более половины (54,4%) были с неоплазиями, диагностированными на поздних (III–IV) стадиях заболевания, однако статистически значимых различий в распределении высокой вирусной нагрузки в зависимости от стадии процесса не отмечено (p > 0,05) (табл. 2).

Среди больных орофарингеальным раком преобладали мужчины (85,7%); более 61,9% пациентов были старше 60 лет (табл. 3).

Большинство участников исследования сообщили о систематическом курении (более 10 сигарет в день в течение 10 лет и более) и приеме крепкого алкоголя реже 1 раза в месяц (табл. 3). Практически все пациенты отрицали частое употребление горячей пищи и напитков, использование плохо подобранных зубных протезов, спиртосодержащей жидкости для полоскания полости рта и наличие хронических воспалительных заболеваний ротовой полости. I–II стадии рака орофарингеальной области наблюдали у 42,9% больных, при этом во всех

случаях обнаружен ВПЧ, тогда как у более половины пациентов (58,3%) с III–IV стадиями заболевания — ВПЧ-негативный рак (табл. 3).

В зависимости от локализации ЗНО — полость рта, миндалины, ротоглотка — выявляемость ВПЧ составила 50, 80 и 100% соответственно. В ВПЧ-положительных образцах с низкой вирусной нагрузкой среднее значение равнялось 2,07, с высокой — 4,38 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток. Вирусная нагрузка ВПЧ не зависела от стадии неопластического процесса (p > 0,05) (рис. 2, 3).

Все случаи анального рака были ассоциированы с ВПЧ (табл. 4). Среди больных преобладали женщины старше 60 лет; значительная часть анкетированных отрицали вредные привычки. Заболевание было диагностировано на поздних стадиях в подавляющем большинстве случаев (70%). При этом в образцах пациентов с ЗНО III–IV стадий среднее значение вирусной нагрузки составило 5,78 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток и было значимо больше (p = 0,016), чем в случае I–II стадий со средним значением 1,68 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток (рис. 2, 3).

Таблица 2. Зависимость вирусной нагрузки ВПЧ от стадии злокачественного новообразования

Table 2. Dependence of HPV viral load on the stage of malignant neoplasm

Стадия Stage	N, абс. (%) N, abs. (%)	Вирусная нагрузка ВПЧ, абс. (%) [*] HPV viral load, abs. (%) [*]		P
		Высокая High	Низкая Low	
I–II	29 (47,5)	14 (48,3)	15 (51,7)	0,072
III–IV	32 (52,5)	23 (71,8)	9 (28,2)	

Примечание. ^{*}Здесь и далее вирусная нагрузка ВПЧ: низкая — < 3 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток, высокая — > 3 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток.

Note. ^{*}Here and further HPV: low viral load — < 3 lg HPV DNA/10⁵ cells, high viral load — > 3 lg HPV DNA/10⁵ cells.

Таблица 3. Клинико-эпидемиологическая характеристика пациентов с орофарингеальным раком

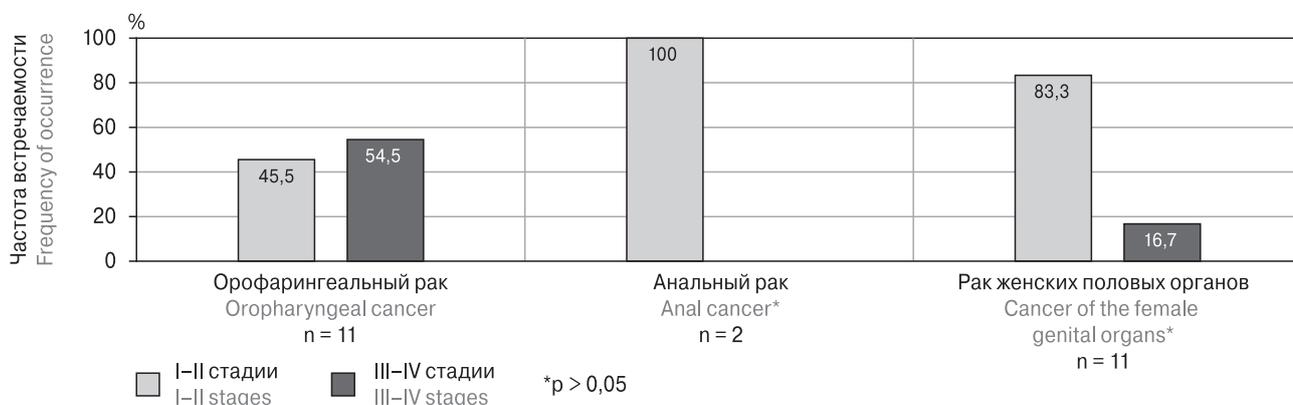
Table 3. Clinical and epidemiological characteristics of patients with oropharyngeal cancer

Характеристика Characteristic	N, абс. (%) N, abs. (%)	ВПЧ-статус, N, абс. (%) / HPV status, N, abs. (%)		P
		ВПЧ(+)/HPV(+)	ВПЧ(-)/HPV(-)	
Всего/Total	21 (100)	16 (76,2)	5 (23,8)	
Пол/Sex				
мужчины/males	18 (85,7)	13 (72,2)	5 (27,8)	0,549
женщины/females	3 (14,3)	3 (100)	–	
Возраст, лет/Age, years				
> 60	13 (61,9)	9 (69,2)	4 (30,8)	0,606
≤ 60	8 (38,1)	7 (87,5)	1 (12,5)	
Курение/Smoking				
да/yes	18 (85,7)	14 (77,8)	4 (22,2)	1,000
нет/no	3 (14,3)	2 (66,7)	1 (33,3)	
Алкоголь/Alcohol				
часто/often	4 (19,0)	3 (75,0)	1 (25,0)	0,695
редко/rarely	17 (81,0)	11 (64,7)	6 (35,3)	
Стадии/Stages				
I–II	8 (42,9)	8 (100)	–	0,111
III–IV	13 (57,1)	8 (58,3)	5 (41,7)	
Локализация/Localization				
полость рта/oral cavity	6 (28,6)	3 (50,0)	3 (50,0)	0,142
миндалины/tonsils	10 (47,6)	8 (80,0)	2 (20,0)	
ротоглотка/oropharynx	5 (23,8)	5 (100)	–	

Из 37 образцов ткани ЗНО женских половых органов большая часть (75,7%) принадлежала больным РШМ (табл. 5).

Значимых возрастных различий между группами не выявлено. Значительная часть анкетированных отрицали курение и частое употребление алкоголя. ВПЧ обнаружен во всех образцах больных РШМ и влагалища в отличие от рака вульвы ($p = 0,022$) (табл. 5). В образцах опухолевой ткани больных раком вульвы в 5 из 6 случаев ВПЧ выявлен в количестве менее 50 копий/клетку. В образцах больных РШМ при I–II стадиях среднее значение вирусной на-

грузки составило 4,26 lg, при III–IV стадиях – 5,65 lg ДНК ВПЧ/ 10^5 клеток, при этом статистически значимых различий ВПЧ-позитивности рака вульвы, влагалища и шейки матки в зависимости от стадии ЗНО не выявлено. Однако в большинстве (58,3%) образцов тканей опухолей III–IV стадии определялась высокая вирусная нагрузка ВПЧ (рис. 3). Следует отметить, что один из образцов взят из гистологически подтвержденного метастаза плоскоклеточного РШМ в молочную железу, где выявлен ВПЧ 16 генотипа с высокой вирусной нагрузкой (> 6 lg ДНК ВПЧ/ 10^5 клеток).

**Рисунок 2. Зависимость низкой вирусной нагрузки (< 3 lg ДНК ВПЧ/ 10^5 клеток) ВПЧ от стадии злокачественного новообразования**Figure 2. Dependence of low viral load (< 3 lg HPV DNA/ 10^5 cells) HPV from the stage of malignant neoplasm

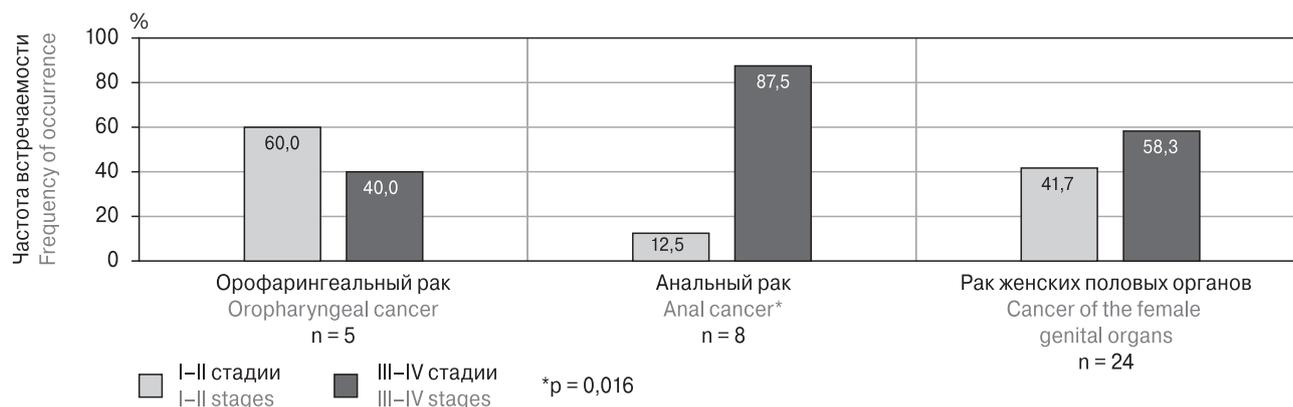


Рисунок 3. Зависимость высокой вирусной нагрузки (> 3 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток) ВПЧ от стадии злокачественного новообразования

Figure 3. Dependence of high viral load (> 3 lg HPV DNA/10⁵ cells) HPV from the stage of malignant neoplasm

Большинство пациенток с тяжелой дисплазией шейки матки были моложе 60 лет, половина курили, и все редко употребляли алкоголь. ВПЧ был выявлен в 83,3% образцов HSIL (табл. 6), при этом высокая вирусная нагрузка (среднее значение 5,72 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток) обнаружена в 80,0% (8/10) случаях.

Обсуждение

С использованием современных методов молекулярной эпидемиологии доказано, что ВПЧ является основным этиологическим фактором в развитии РШМ, а также других опухолей аногенитальной и орофарингеальной областей [25]. В нашем исследовании выявлено, что в структуре ВПЧ-ассоциированных ЗНО более половины случаев составили опухоли женских половых органов (75,7% — случаи РШМ), ассоциированные с ПВИ. Определены гендерные различия ВПЧ-ассоциированного рака: среди больных орофарингеальным раком преобладали мужчины (85,7%), в то время как рак анального канала намного чаще встречался у женщин (90,0%). Статистически значимых факторов риска возникновения ВПЧ-ассоциированных ЗНО не выявлено. ЗНО, ассоциированные с ВПЧ, чаще обнаруживались на поздних стадиях заболевания. Установлено, что в 85,9% присутствие ВПЧ 16 в морфологически подтвержденных ЗНО может играть значимую роль в канцерогенезе не только РШМ, но и других ВПЧ-ассоциированных опухолей, что соответствует ряду опубликованных работ [2, 10, 12, 27].

При ЗНО орофарингеальной локализации максимальное выявление ВПЧ было зафиксировано при раке ротоглотки и миндалин [9]. В результате проведенного исследования статистически значимого влияния вирусной нагрузки ВПЧ при ЗНО головы и шеи не выявлено, при этом в большей части образцов обнаружены следовые концентрации вируса.

В нашем исследовании при анальном раке и РШМ ВПЧ ВКР выявлен во всех образцах, что согласуется с данными, опубликованными ранее зарубежными авторами об этиологическом сходстве возникновения РШМ и анального рака [3, 12, 21]. Средняя величина вирусной нагрузки (5,7–5,8 lg ДНК ВПЧ/10⁵ клеток) при III–IV стадиях рака анального канала, РШМ и HSIL подтверждает гипотезу, что большое число копий генома ВПЧ увеличивает вероятность интеграции вирусной ДНК в геном хозяина, что может играть роль в канцерогенезе инвазивного рака и прогрессировании заболевания [19, 20].

Таблица 4. Клинико-эпидемиологическая характеристика пациентов с анальным раком

Table 4. Clinical and epidemiological characteristics of patients with anal cancer

Характеристика Characteristic	N, абс. (%) N, abs. (%)
Всего/Total	10 (100)
ВПЧ-статус/HPV status	10 (100)
Пол/Sex	
мужчины/men	1 (10,0)
женщины/women	9 (90,0)
Возраст, лет/Age, years	
> 60	7 (70,0)
≤ 60	3 (30,0)
Курение/Smoking	
да/yes	2 (20,0)
нет/no	8 (80,0)
Алкоголь/Alcohol	
часто/often	1 (10,0)
редко/rarely	9 (90,0)
Стадии/Stages	
I–II	3 (30,0)
III–IV	7 (70,0)

Таблица 5. Клинико-эпидемиологическая характеристика пациентов с раком женских половых органов

Table 5. Clinical and epidemiological characteristics of patients with cancer of the female genital organs

Характеристика Characteristic	N, абс. (%) N, abs. (%)	ВПЧ-статус, N, абс. (%) / HPV status, N, abs. (%)		P
		ВПЧ(+)/HPV(+)	ВПЧ(-)/HPV(-)	
Всего/Total	37 (100)	35 (94,6)	2 (5,4)	
Возраст, лет/Age, years				
> 60	19 (51,4)	19 (100)	–	
≤ 60	18 (48,6)	18 (100)	–	
Курение/Smoking				
да/yes	10 (27,0)	9 (90,0)	1 (10,0)	1,000
нет/no	27 (73,0)	25 (92,6)	2 (7,4)	
Алкоголь/Alcohol				
часто/often	3 (8,1)	2 (66,7)	1 (33,3)	0,1576
редко/rarely	34 (91,9)	33 (94,1)	1 (5,9)	
Локализация/Localization				
вульва/vulva	8 (21,6)	6 (75,0)	2 (25,0)	0,022
влагалище/vagina	1 (2,7)	1 (100)	–	
шейка матки/cervix	28 (75,7)	28 (100)	–	
Стадии/Stages				
I–II	19 (51,4)	18 (94,7)	1 (5,3)	1,000
III–IV	18 (48,6)	17 (94,4)	1 (5,6)	

Заключение

В настоящем исследовании установлено, что выявляемость вируса у пациентов Городского клинического онкологического диспансера в Санкт-Петербурге с ВПЧ-ассоциированными ЗНО составила в целом 89,7% и варьировала в зависимости от локализации новообразования, составляя при раке анального канала — 100%, женских половых органов — 94% (при раке влагалища и шейки матки — 100%), оро-

фарингеальном раке — 76,2%. Также ВПЧ обнаружен у 83,3% пациенток с тяжелой степенью цервикальной дисплазии.

Подавляющее большинство (85,9%) ВПЧ-позитивных пациентов были инфицированы ВПЧ 16-го генотипа; при анальном раке, HSIL и РШМ выявлена папилломавирусная микст-инфекция (генотипы 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45). При этом ВПЧ 16 был обнаружен во всех ВПЧ-позитивных образцах ЗНО и в 90% образцов HSIL.

При оценке факторов риска (возраст, курение, употребление алкоголя) у пациентов с ВПЧ-позитивными и ВПЧ-негативными злокачественными новообразованиями статистически значимых различий не выявлено.

У 52,4% пациентов ВПЧ-ассоциированные ЗНО были диагностированы на поздних стадиях, однако статистически значимых различий в распределении высокой вирусной нагрузки в зависимости от стадии процесса не отмечено. Наибольшее содержание ВПЧ в опухолевой ткани выявлено при III–IV стадии РШМ, анального канала, а также при HSIL. Высокая вирусная нагрузка на поздних стадиях заболевания раком анального канала и шейки матки может служить возможным биомаркером неблагоприятного клинического течения данных неоплазий.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, о которых необходимо сообщить в связи с публикацией данной статьи.

Таблица 6. Клинико-эпидемиологическая характеристика тяжелой дисплазии шейки матки

Table 6. Clinical and epidemiological characteristics of severe cervical dysplasia

Характеристика Characteristic	N, абс. (%) N, abs. (%)	ВПЧ-статус, N, абс. (%) HPV status, N, abs. (%)		P
		ВПЧ(+) HPV(+)	ВПЧ(-) HPV(-)	
Всего/Total	12 (100)	10 (83,3)	2 (16,7)	
Возраст, лет/Age, years				
> 60	3 (25,0)	2 (66,7)	1 (33,3)	0,455
≤ 60	9 (75,0)	8 (88,9)	1 (11,1)	
Курение/Smoking				
да/yes	6 (50,0)	6 (100,0)	–	0,227
нет/no	6 (50,0)	4 (66,7)	2 (33,3)	
Алкоголь/Alcohol				
часто/often	–	–	–	1,000
редко/rarely	12 (100)	10 (83,3)	2 (16,7)	

Список литературы/References

- Гордеев С.С., Бесова Н.С., Глебовская В.В., Горбунова В.А., Мамедли З.З., Ткачев С.И., Федянин М.Ю. Черных М.В. Практические рекомендации по лечению рака анального канала и кожи перианальной области // Злокачественные опухоли. 2020. Т. 10, № 3s2. С. 440–449. [Gordeev S.S., Besova N.S., Glebovskaya V.V., Gorbunova V.A., Mammadli Z.Z., Tkachev S.I., Fedyanin M.Yu., Chernykh M.V. Practical recommendations for the treatment of anal canal and perianal skin cancer. *Zlokachestvennye opukholi = Malignant Tumors*, 2020, vol. 10, no. 3s2, pp. 440–449. (In Russ.)] doi: 10.18027/2224-5057-2020-10-3s2-24
- Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Карабут И.В., Чуруксаева О.Н., Шпилева О.Н., Бычков В.А., Коломиец Л.А., Литвяков Н.В. Интегративная и эписомальная формы генотипа 16 вируса папилломы человека при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях и раке шейки матки // Вопросы вирусологии. 2016. Т. 61, № 6. С. 270–274. [Ibragimova M.K., Tsyganov M.M., Karabut I.V., Churuksaeva O.N., Shpileva O.N., Bychkov V.A., Kolomiets L.A., Litviakov N.V. Integrative and episomal forms of genotype 16 of human papillomavirus in patients with cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2016, vol. 61, no. 6, pp. 270–274. (In Russ.)] doi: 10.18821/0507-4088-2016-61-6-270-274
- Комарова Л.Е., Барсуков Ю.А. Эпидемиология и статистика рака анального канала (обзор литературы) // Тазовая хирургия и онкология. 2018. Т. 8, № 4. С. 30–33. [Komarova L.E., Barsukov Yu.A. Epidemiology and statistics of anal cancer (literature review). *Tazovaya khirurgiya i onkologiya = Pelvic Surgery and Oncology*, 2018, vol. 8, no. 4, pp. 30–33. (In Russ.)] doi: 10.17650/2220-3478-2018-8-4-30-33
- Кутукова С.И., Чухловин А.Б., Яременко А.И., Иваскская Ю.В., Разумова А.Я., Ермакова Т.С. Встречаемость ДНК основных типов онкогенных вирусов в структуре плоскоклеточного рака и нормальной слизистой оболочки полости рта // Пародонтология. 2020. Т. 25, № 3. С. 206–210. [Kutukova S.I., Chukhlovina A.B., Yaremenko A.I., Ivaskova Y.V., Razumova A.Y., Ermakova T.S. Prevalence of DNA of the different types of oncogenic viruses in the squamous cell carcinoma and normal oral mucosa. *Parodontologiya = Parodontology*, 2020, vol. 25, no. 3, pp. 206–210. (In Russ.)] doi: 10.33925/1683-3759-2020-25-3-206-210
- Неродо Г.А., Зыкова Т.А., Иванова В.А., Неродо Е.А. Наличие вирусной ДНК в тканях больных раком вульвы // Акушерство и гинекология. 2017. № 12. С. 89–95. [Nerodo G.A., Zyкова T.A., Ivanova V.A., Nerodo E.A. The presence of viral DNA in the tissues of patients with vulvar cancer. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and gynecology*, 2017, no. 12, pp. 89–95. (In Russ.)] doi: 10.18565/aig.2017.12.89-95
- Попруженко Т.В., Терехова Т.Н. Управляемые факторы канцерогенеза в области головы и шеи // Современная стоматология. 2020. Т. 79, № 2. С. 8–17. [Papruzenka T., Terekhova T. Controlled factors of carcinogenesis in the head and neck. *Sovremennaya stomatologiya = Modern Dentistry*, 2020, vol. 79, no. 2, pp. 8–17. (In Russ.)]
- Роик Е.Е., Баранов А.Н., Трешева Н.Д. Эпидемиологические особенности папилломавирусной инфекции // Экология человека. 2015. № 5. С. 21–26. [Roik E.E., Baranov A.N., Treshcheva N.D. Epidemiological features of Human Papilloma Viral Infection. *Ekologiya cheloveka = Human Ecology*, 2015, vol. 5, pp. 21–26. (In Russ.)]
- Стукань А.И., Мурашко Р.А., Бодня В.Н., Чухрай О.Ю., Дулина Е.В. Возможности терапии плоскоклеточного рака головы и шеи в зависимости от молекулярных особенностей опухоли (обзор литературы) // Опухоли головы и шеи. 2017. Т. 7, № 3. С. 66–73. [Stukan' A.I., Murashko R.A., Bodnya V.N., Chukhray O.Yu., Dulina E.V. Treatment of head and neck squamous cell carcinoma according on the specific molecular features of the tumor (a literature review). *Opukholi golovy i shei = Head and Neck Tumors*, 2017, vol. 7, no. 3, pp. 66–73. (In Russ.)] doi: 10.17650/2222-1468-2017-7-3-66-73
- Стукань А.И., Чухрай О.Ю., Порханов В.А., Мурашко Р.А., Бодня В.Н., Макарова Ю.М. Орофарингеальная карцинома, ассоциированная с вирусом папилломы человека: тенденции эпидемиологии и методы выявления вируса в опухолях // Опухоли головы и шеи. 2018. Т. 8, № 3. С. 77–83. [Stukan' A.I., Chukhray O.Yu., Porkhanov V.A., Murashko R.A., Bodnya V.N., Makarova Yu.M. Human papillomavirus-associated oropharyngeal carcinoma: trends in epidemiology and methods for detecting the virus in tumors. *Opukholi golovy i shei = Head and Neck Tumors*, 2018, vol. 8, no. 3, pp. 77–83. (In Russ.)] doi: 10.17650/2222-1468-2018-8-3-77-83
- Чуруксаева О.Н., Коломиец Л.А. Онкотропная папилломавирусная инфекция и прогноз течения рака шейки матки // Сибирский онкологический журнал. 2013. № 1. С. 82–87. [Churuksaeva O.N., Kolomiets L.A. Oncotropic papillomavirus infection and prognosis for patients with cervical cancer. *Sibirskii onkologicheskii zhurnal = Siberian Journal of Oncology*, 2013, no. 1, pp. 82–87. (In Russ.)]
- Alonso I., Fusté V., del Pino M., Castillo P., Torné A., Fusté P., Rios J., Pahisa J., Balasch J., Ordi J. Does human papillomavirus infection imply a different prognosis in vulvar squamous cell carcinoma? *Gynecol. Oncol.*, 2011, vol. 122, no. 3, pp. 509–514. doi: 10.1016/j.ygyno.2011.05.016
- De Martel C., Plummer M., Vignat J., Franceschi S. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *Int. J. Cancer*, 2017, vol. 141, no 4, pp. 664–670. doi: 10.1002/ijc.30716
- Del Río-Ospina L., Soto-De León S.C., Camargo M., Moreno-Pérez D.A., Sánchez R., Pérez-Prados A., Patarroyo M.E., Patarroyo M.A. The DNA load of six high-risk human papillomavirus types and its association with cervical lesions. *BMC Cancer*, 2015, vol. 15, no. 100. doi: 10.1186/s12885-015-1126-z
- Glynn-Jones R., Nilsson P.J., Aschele C., Goh V., Peiffert D., Cervantes A., Arnold D. Anal cancer: ESMO-ESSO-ESTRO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Radiother. Oncol.*, 2014, vol. 111, no. 3, pp. 330–339. doi: 10.1016/j.radonc.2014.04.013
- Hashida Y., Higuchi T., Matsumoto S., Iguchi M., Murakami I., Hyodo M., Daibata M. Prognostic significance of human papillomavirus 16 viral load level in patients with oropharyngeal cancer. *Cancer Sci.*, 2021, vol. 112, no. 10, pp. 4404–4417. doi: 10.1111/cas.15105
- Jemal A., Simard E.P., Dorell C., Noone A.M., Markowitz L.E., Kohler B., Ehemann C., Saraiya M., Bandi P., Saslow D., Cronin K.A., Watson M., Schiffman M., Henley S.J., Schymura M.J., Anderson R.N., Yankey D., Edwards B.K. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975–2009, featuring the burden and trends in human papillomavirus (HPV)-associated cancers and HPV vaccination coverage levels. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2013, vol. 105, no. 3, pp. 175–201. doi: 10.1093/jnci/djs491

17. Koerber S.A., Schoneweg C., Slynyk A., Krug D., Haefner M.F., Herfarth K., Debus J., Sterzing F., von Knebel Doeberitz M., Prigge E.S., Reuschenbach M. Influence of Human papillomavirus and p16(INK4a) on treatment outcome of patients with anal cancer. *Radiother. Oncol.*, 2014, vol. 113, no. 3, pp. 331–336. doi: 10.1016/j.radonc.2014.11.013
18. Larsson G.L., Helenius G., Andersson S., Elgh F., Sorbe B., Karlsson M.G. Human papillomavirus (HPV) and HPV 16-variant distribution in vulvar squamous cell carcinoma in Sweden. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 2012, vol. 22, no. 8, pp. 1413–1419. doi: 10.1097/IGC.0b013e31826a0471
19. Małusecka E., Chmielik E., Suwiński R., Giglok M., Lange D., Rutkowski T., Mazurek A.M. Significance of HPV16 viral load testing in anal cancer. *Pathol. Oncol. Res.*, 2020, vol. 26, no. 4, pp. 2191–2199 doi: 10.1007/s12253-020-00801-7
20. Nelson R.A., Levine A.M., Bernstein L., Smith D.D., Lai L.L. Changing patterns of anal canal carcinoma in the United States. *J. Clin. Oncol.*, 2013, vol. 31, no. 12, pp. 1569–1575. doi: 10.1200/JCO.2012.45.2524
21. Plummer M., de Martel C., Vignat J., Ferlay J., Bray F., Franceschi S. Global burden of cancers attributable to infections in 2012: a synthetic analysis. *Lancet Glob. Health*, 2016, vol. 4, no. 9, pp. 609–616. doi: 10.1016/S2214-109X(16)30143-7
22. Saraiya M., Unger E.R., Thompson T.D., Lynch C.F., Hernandez B.Y., Lyu C.W., Steinau M., Watson M., Wilkinson E.J., Hopenhayn C., Copeland G., Cozen W., Peters E.S., Huang Y., Saber M.S., Altekruse S., Goodman M.T.; HPV Typing of Cancers Workgroup. US assessment of HPV types in cancers: implications for current and 9-valent HPV vaccines. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2015, vol. 107, no. 6: djv086. doi: 10.1093/jnci/djv086
23. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J. Clin.*, 2019, vol. 69, no. 1, pp. 7–34. doi: 10.3322/caac.21551
24. Veitía D., Liuzzi J., Ávila M., Rodríguez I., Toro F., Correnti M. Association of viral load and physical status of HPV-16 with survival of patients with head and neck cancer. *Ecancermedicalscience*, 2020, vol. 14: 1082. doi: 10.3332/ecancer.2020.1082
25. World Cancer Report: cancer research for cancer prevention. Eds.: Wild C.P., Weiderpass E., Stewart B.W. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2020, pp. 45–48.
26. Zhou F.Y., Zhou Q., Zhu Z.Y., Hua K.Q., Chen L.M., Ding J.X. Types and viral load of human papillomavirus, and vaginal microbiota in vaginal intraepithelial neoplasia: a cross-sectional study. *Ann. Transl. Med.*, 2020, vol. 8, no. 21: 1408. doi: 10.21037/atm-20-622
27. Zuo J., Huang Y., An J., Yang X., Li N., Huang M., Wu L. Nomograms based on HPV load for predicting survival in cervical squamous cell carcinoma: an observational study with a long-term follow-up. *Chin. J. Cancer Res.*, 2019, vol. 31, no. 2, pp. 389–399. doi: 10.21147/j.issn.1000-9604.2019.02.13

Авторы:

Холопов Д.В., аспирант ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Вязовая А.А., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Топузов Э.Э., д.м.н., профессор, главный врач СПб ГБУЗ Городской клинический онкологический диспансер, Санкт-Петербург, Россия;
Алексеева Д.А., к.м.н., зав. онкологическим отделением хирургических методов лечения № 8 (опухолей головы и шеи) СПб ГБУЗ Городской клинический онкологический диспансер, Санкт-Петербург, Россия;
Молчанов С.В., к.м.н., зав. онкологическим отделением хирургических методов лечения № 3 (онкогинекологии) СПб ГБУЗ Городской клинический онкологический диспансер, Санкт-Петербург, Россия;
Лялина Л.В., д.м.н., профессор, зав. лабораторией эпидемиологии инфекционных и неинфекционных заболеваний ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Kholopov D.V., PhD Student, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Vyazovaya A.A., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Topuzov E.E., PhD, MD (Medicine), Professor, Head doctor, St. Petersburg City Oncology Clinic, St. Petersburg, Russian Federation;
Alekseeva D.A., PhD (Medicine), Head of the Oncological Department of Surgical Methods of Treatment No. 8 (Head and Neck Tumors), St. Petersburg City Oncology Clinic, St. Petersburg, Russian Federation;
Molchanov S.V., PhD (Medicine), Head of the Oncological Department of Surgical Methods of Treatment No. 3 (Oncogynecology), St. Petersburg City Oncology Clinic, St. Petersburg, Russian Federation;
Lyalina L.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of the Epidemiology of Infectious and Non-Infectious Diseases, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 16.06.2022
 Принята к печати 20.08.2022

Received 16.06.2022
 Accepted 20.08.2022

РАЗРАБОТКА КРИТЕРИЕВ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫХ ИНФЕКЦИЙ ВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ

М.В. Сафонова¹, Е.Г. Симонова², А.А. Лопатин¹, А.С. Долгова³, В.Г. Дедков³

¹ ФКУЗ Противочумный центр Роспотребнадзора, Москва, Россия

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия

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

Резюме. С ростом актуальности изучения «новых и возвращающихся инфекций» важным становится не только непосредственно выявление новой инфекции, но и определение предпосылок вызванных ею эпидемиологических осложнений. В результате, возникает необходимость оценки степени их эпидемиологической опасности, или эпидемического потенциала, т. е. определения значимости их свойств, определяющих способность вызывать эпидемический процесс и осложнения эпидемиологической ситуации. Цель: разработка методики количественной оценки эпидемического потенциала, универсальной для природно-очаговых вирусных инфекций с трансмиссивным и нетрансмиссивным механизмом передачи. *Материалы и методы.* Для разработки критериев определения эпидемического потенциала проведена разноплановая оценка экологических, генетических и эпидемиологических характеристик возбудителей природно-очаговых инфекций вирусной этиологии, объединенных общими закономерностями существования в рамках теории природной очаговости и учения об эпидемическом процессе. В основу разработанной методики положена связь эпидемического потенциала с понятием эпидемиологической опасности, формирующей эпидемиологический риск и складывающейся из опасностей источника инфекции, механизма передачи и восприимчивости макроорганизма. *Результаты и обсуждение.* Разработана система количественной оценки эпидемического потенциала природно-очаговых инфекций вирусной этиологии. В рамках каждого звена эпидемического процесса выделены факторы, ранжированные в соответствии со значимостью с точки зрения реализации эпидемиологического риска с присвоением им балльной оценки. Эпидемический потенциал вируса определяется суммой баллов по трем категориям, соотношение баллов между ними позволяет оценить ведущий фактор эпидемиологического риска. Для оценки эпидемического потенциала вируса в соответствии с разработанными критериями необходимо обобщить и проанализировать известные данные по трем рассматриваемым группам факторов, участвующих в формировании эпидемиологической опасности. Для апробации оценочной методики определен эпидемический потенциал ряда возбудителей вирусных трансмиссивных и нетрансмиссивных природно-очаговых инфекций, при этом полученные значения соответствуют современным представлениям об их

Адрес для переписки:

Сафонова Марина Викторовна
127490, Россия, Москва, ул. Мусоргского, 4,
ФКУЗ Противочумный центр Роспотребнадзора.
Тел.: 8 968 472-97-72.
E-mail: safonova_mv@apc-rpn.ru

Contacts:

Marina V. Safonova
127490, Russian Federation, Moscow, Musorgscogo str., 4,
Antiplague Center.
Phone: +7 968 472-97-72.
E-mail: safonova_mv@apc-rpn.ru

Для цитирования:

Сафонова М.В., Симонова Е.Г., Лопатин А.А., Долгова А.С., Дедков В.Г.
Разработка критериев количественной оценки эпидемического
потенциала природно-очаговых инфекций вирусной этиологии //
Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4. С. 745–754. doi: 10.15789/2220-
7619-DOQ-1926

Citation:

Safonova M.V., Simonova E.G., Lopatin A.A., Dolgova A.S., Dedkov V.G.
Development of quantitative criteria for assessing epidemic potential
of the natural-focal viral infections // Russian Journal of Infection
and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 745–754.
doi: 10.15789/2220-7619-DOQ-1926

Работа выполнена с привлечением средств гранта Российского научного фонда № 20-64-46014.
This work was carried out with the help of grant No. 20-64-46014 from the Russian Science Foundation.

эпидемиологической опасности. Таким образом, оценочная система позволяет количественно представить эпидемический потенциал возбудителя, сравнить показатели различных возбудителей с оценкой ведущего фактора эпидемиологического риска. Система может служить дополнительным инструментом в оценке эпидемиологической опасности в случае угроз возникновения чрезвычайных ситуаций санитарно-эпидемиологического характера. Между тем оценка эпидемического потенциала новых инфекций тесно сопряжена с необходимостью изучения их фундаментальных основ, а сам эпидемический потенциал представляет собой динамическую величину, которая может изменяться с появлением новых данных об эколого-генетических основах существования, механизмах изменчивости изучаемых возбудителей.

Ключевые слова: эпидемический потенциал, эпидемиологический риск, вирус Кемерово, группа вирусов Грейт Айленд, генетическое разнообразие, высокопроизводительное секвенирование.

DEVELOPMENT OF QUANTITATIVE CRITERIA FOR ASSESSING EPIDEMIC POTENTIAL OF THE NATURAL-FOCAL VIRAL INFECTIONS

Safonova M.V.^a, Simonova E.G.^b, Lopatin A.A.^a, Dolgova A.S.^c, Dedkov V.G.^c

^a *Antiplague Center, Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation*

^b *I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation*

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

Abstract. Not only directly detected new infection, but also determining prerequisites for associated epidemiological complications becomes relevant with growing importance of “new and recurring infections”. As a result, a need to assess a degree of their epidemiological threat, or epidemic potential, i.e. determining the significance of related properties that determine a potential to cause an epidemic process and complications of the epidemiological situation is emphasized. Purpose. Develop methodology for quantitative assessment of the epidemic potential universal for natural-foci viral infections. *Materials and methods.* A multifaceted assessment of the virological and epidemiological characteristics of causative agents for natural-focal viral infections was carried out to develop criteria for determining the epidemic potential. The developed methodology for determining the epidemic potential is based on connection between the epidemic potential and the concept of epidemiological hazard, which forms an epidemic risk, and consists of the hazards for source of infection, the mechanism of transmission and host susceptibility. *Results and discussion.* The platform for quantitative assessment of the epidemic potential of natural-foci viral infections was developed. Within each link of the epidemic process, factors were identified, ranked in accordance with their significance for enabling epidemiological risk and score assigned. The epidemic virus potential is determined by the sum of points in three categories, the ratio of points between them allowing to evaluate a lead factor of epidemiological risk. To assess an epidemic virus potential in accordance with the developed criteria, it is necessary to summarize and analyze the known data on the three considered groups of factors involved in formation of epidemiological threat. To test the assessment methodology, the epidemic potential of a number of diverse pathogens of natural-foci viral was determined. The values obtained on the epidemic potential for such infections is based on the degree of relevant epidemiological hazard. Thus, the evaluation system allows to quantify an epidemic potential of the pathogen, compare parameters of various pathogens with assessment of the lead epidemiological risk factor. The platform can serve as an additional tool in assessment of epidemiological threat in case of epidemiological emergencies. Meanwhile, assessment of epidemic potential for new infections is closely associated with the need to investigate their basics. The epidemic potential is a dynamic parameter that can change with the advent of new data on ecological and genetic foundations of pathogen existence as well as mechanisms for related variability.

Key words: epidemic potential, epidemic risk, Kemerovo virus, Great Island virus group, genetic diversity, high-throughput sequencing.

Несмотря на значительные успехи, достигнутые в текущем веке в изучении инфекционных болезней, весь спектр инфекционной патологии в настоящем времени по-прежнему остается неясным, и его проявления способны приводить к возникновению чрезвычайных ситуаций санитарно-эпидемиологического характера [4].

Существующая система надзора за инфекционными заболеваниями включает в себя сложившиеся и доказавшие эффективность алгоритмы реагирования на уже возникшие эпидемии, вызванные известными возбудителями.

С актуализацией проблемы новой инфекционной патологии стали складываться принципы действий в условиях чрезвычайных ситуаций, вызванных возбудителями неизвестных инфекционных болезней [10], однако вопросу отслеживания потенциальных эпидемиологических рисков по-прежнему не уделяется должного внимания. Между тем спектр новых инфекций чрезвычайно широк и находится в сфере интереса различных научно-исследовательских организаций, и специалисты уже обращают внимание на необходимость совершенствования

круга задач, стоящих перед современным эпидемиологическим надзором [8]. Одно из первоочередных направлений в этом — расширение спектра рассматриваемых инфекционных болезней [13]. Необходимость этого наглядно показало пандемическое распространение новой коронавирусной инфекции, вызванной бета-коронавирусом SARS-CoV-2, ставшее неожиданностью для мирового сообщества и уже поспособствовавшее изменению устоявшихся представлений об инфекционной патологии и о месте, занимаемом «новыми инфекциями».

Необходимость совершенствования мониторинга за новыми инфекциями влечет за собой необходимость создания единой концепции для целостного восприятия проблемы, координации направлений деятельности по изучению новых инфекций, общей оценки эпидемиологической ситуации, своевременного выявления потенциальных угроз санитарно-эпидемиологическому благополучию. Данная концепция предусматривает существование систем мониторинга этих инфекций, отличающихся от традиционного надзора за уже известными возбудителями. Одной из таких особенностей является осуществление так называемой «предэпидемической диагностики», сопровождающей целенаправленный поиск возбудителей с оценкой степени их опасности, т. е. не только выявления новой инфекции, но и определение предпосылок возникновения вызванных ею эпидемиологических осложнений [9, 14].

Мерой «предэпидемической диагностики» в отношении уже известных эпидемиологически значимых возбудителей может считаться давно существующий метод мониторинга природно-очаговых инфекций — оценка эпидемиологического потенциала природных очагов [11]. Этот метод позволяет определить степень потенциальной эпидемиологической опасности территории в отношении возможного распространения инфекции, и в настоящий момент разработаны способы оценки данного показателя для возбудителей геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС), лептоспирозов, туляремии, инфекций, передающихся клещами, холеры и чумы [3, 5, 6]. Однако при данном подходе дается оценка состояния конкретной территории без учета особенностей самого возбудителя, которые могут играть немаловажную роль, особенно для новых инфекций, когда их эпидемиологическая характеристика затруднена ввиду малой изученности. Оценить степень эпидемиологической опасности в данном случае поможет оценка эпидемиологического потенциала непосредственно возбудителя.

Под эпидемиологическим потенциалом возбудителя понимается совокупность его свойств, определяющих способность вызывать эпиде-

миологический процесс [15] и осложнения эпидемиологической ситуации. Иначе говоря, этот показатель отражает эпидемиологическую опасность возбудителя, связанную с риском инфицирования людей [2]. В настоящий момент в литературе отсутствует какая-либо единая система определения эпидемиологического потенциала возбудителя. Он складывается из совокупности разнородных качественных и количественных показателей, которые влияют на формирование и проявление эпидемического процесса, и могут по-разному учитываться каждым исследователем относительно каждого отдельно взятого инфекционного агента. Поэтому определение эпидемиологического потенциала может носить достаточно умозрительный характер и не позволяет сравнивать между собой различные возбудители. В свою очередь, без четко определенных критериев невозможно оценить эпидемический потенциал новых и возвращающихся инфекций, находящихся, по определению В.В. Шкарина с соавт., «в зале ожидания», т. е. находящихся в стадии изучения [14].

В связи с все возрастающим интересом специалистов к данной группе инфекций все большее внимание уделяется проблемам их мониторинга и разработке подходов к оценке эпидемиологической опасности. На примере пандемии свиного гриппа H1N1 2009 г. [18], вспышек ближневосточного респираторного синдрома, вызванного коронавирусом (MERS-CoV) [17], и лихорадки Зика [16], массовой эпизоотии гриппа птиц в 2003–2004 гг. [20], а также текущей глобальной пандемии коронавирусной инфекции COVID-19 [22], было показано, что чрезвычайные ситуации, связанные с новыми инфекциями, могут представлять серьезную угрозу для человека и требуют совершенствования подходов к выявлению и мониторингу новых инфекционных заболеваний [23].

Целью настоящего исследования была разработка методики количественной оценки эпидемиологического потенциала, универсальной для природно-очаговых инфекций с трансмиссивным и нетрансмиссивным механизмом передачи, которая может служить дополнительным инструментом в оценке эпидемиологической опасности в случае угроз возникновения чрезвычайных ситуаций санитарно-эпидемиологического характера.

Материалы и методы

Для разработки критериев количественного определения эпидемиологического потенциала проведена разноплановая оценка с учетом экологических, генетических и эпидемиологических характеристик возбудителей природно-очаговых инфекций вирусной этиологии, поскольку

они объединены общими закономерностями существования в рамках теорий природной очаговости [7] и учения об эпидемическом процессе [1].

Понятие эпидемического потенциала тесно связано с понятием эпидемиологической опасности, формирующей эпидемиологический риск и складывающейся из опасностей источника инфекции, механизма передачи и восприимчивости организма [12] в соответствии с классической триадой эпидемического процесса Громашевского [1]. Для разработки универсальных критериев оценки эпидемического потенциала проанализированы факторы, формирующие эпидемиологический риск как в отношении уже изученных возбудителей, так и для новых инфекций, находящихся в стадии изучения. При этом особенное внимание необходимо уделить именно инфекциям, находящимся в «зале ожидания», эпидемиологическую опасность которых еще предстоит оценить [14], поскольку риски возникновения чрезвычайных ситуаций, связанных с группой малоизученных возбудителей, являются неочевидными и, как следствие, недооцененными [15].

Результаты и обсуждение

В рамках созданной системы количественной оценки эпидемического потенциала был определен ряд показателей, разделенных на три группы по опасности каждого из элементарных звеньев эпидемического процесса в рамках существующих представлений об эпидемиологическом риске: опасность источника возбудителя инфекции, опасность механизма передачи и опасность восприимчивости макроорганизма [12]. В рамках каждой группы обозначено по 4 показателя, в каждый из которых включены факторы, ранжированные по шкале от 1 до 5, в соответствии со значимостью с точки зрения реализации эпидемиологического риска (табл. 1). Максимальное количество баллов, по которым может быть оценен возбудитель в каждой из трех групп — 20, с учетом всех трех вышеозначенных групп — 60. Эпидемический потенциал вируса оценивается при суммировании баллов по всем трем группам, соотношение баллов между группами позволяет оценить значимость того или иного элемента в развитии эпидемического процесса для данного возбудителя, а следовательно, ведущий фактор эпидемиологического риска.

1. Опасность источника возбудителя инфекции. Источник возбудителя инфекции — первое звено эпидемического процесса, место естественной жизнедеятельности возбудителя. Согласно традиционным представлениям о природно-очаговых инфекциях, сюда необ-

ходимо относить все, что касается природы животных — резервуаров инфекции, в популяции которых возбудитель циркулирует за счет эпизоотий и носительства. Однако современные представления в контексте изучения эпидемиологии новых и возвращающихся инфекций указывают на необходимость рассмотрения не только характеристик источника возбудителя, но также и самого возбудителя, участвующих в формировании и поддержании эпидемического процесса [19], в первую очередь — его потенциала генетической изменчивости и других факторов, модулирующих вирулентность и способность адаптироваться к различным видам носителей и переносчиков.

В эту группу были отнесены такие факторы, как тип генетического материала вируса, с которым непосредственно связаны темпы мутационной изменчивости, дополнительные источники генетической изменчивости в виде реассортации и рекомбинации, филогенетические взаимоотношения с близкородственными вирусами, патогенными для человека, а также характеристика природного резервуара возбудителя, от видового состава и разнообразия которого также напрямую зависит изменчивость вируса и риск инфицирования человека.

Следует отметить, что оценка эпидемического потенциала на геномном уровне требует учета стохастических событий, связанных с генетической изменчивостью в обширных популяциях патогена, циркулирующего в ареалах обитания резервуарных хозяев и переносчиков [21], что делает предсказание эпидемического потенциала на геномном уровне очень сложным, особенно в случае малоизученных возбудителей, для которых отсутствуют данные о детерминантах патогенности и об уровне и механизмах формирования генетического разнообразия. Поэтому оценка эпидемического потенциала новых инфекций тесно сопряжена с необходимостью изучения их фундаментальных основ, а сам эпидемический потенциал представляет собой динамическую величину, которая может изменяться с появлением новых данных об эколого-генетических основах существования, механизмах изменчивости изучаемых возбудителей.

2. Опасность механизма передачи возбудителя. В данную группу факторов входят ведущий механизм передачи возбудителя, возможность передачи от человека к человеку, территориальная характеристика природного резервуара инфекции и особенности взаимодействия человека с ним. Тот или иной механизм передачи инфекции, как второе звено эпидемического процесса, реализуется посредством разнообразных факторов передачи, и, как и первая группа факторов, отчасти сопряжен с биологическими

Таблица 1. Критерии оценки эпидемического потенциала возбудителей природно-очаговых инфекций вирусной этиологии

Table 1. The epidemic potential assessing criteria for the natural-focalviral infections

Опасность источника инфекции Threat of infectionsource		
Фактор Factor	Элементы фактора Factor-related elements	Баллы Scores
Тип генетического материала вируса Type of viral genome	(+)РНК (+)RNA	5
	Сегментированная (-)РНК и дцРНК Segmented (-)RNA and dsRNA	4
	Несегментированная (-)РНК Nonsegmented (-)RNA	3
	оцДНК ssDNA	2
	дцДНК dsDNA	1
Дополнительные источники генетической изменчивости Additional sources of the genetic diversity	Показана способность к межвидовой реассортации и/или рекомбинации Ability for the interspecies reassortment and/or recombination	5
	Показана способность к внутривидовой реассортации и/или рекомбинации Ability for the intraspecies reassortment and/or recombination	4
	Показана межвидовая реассортация и/или рекомбинация у близкородственного вируса, патогенного для человека Ability for the interspecies reassortment and/or recombination in closely related virus with human pathogenicity	3
	Показана внутривидовая реассортация и/или рекомбинация у близкородственного вируса, патогенного для человека Ability for the intraspecies reassortment and/or recombination in closely related virus with human pathogenicity	2
	Наличие реассортационных и/или рекомбинационных явлений у любого близкородственного вируса Ability for the reassortment and/or recombination in any closely related virus	1
Филогенетические взаимоотношения вируса с близкородственными представителями The phylogenetic relationships with the closely related viruses	Наличие в пределах рода возбудителей актуальных инфекций, для которых проводятся надзорные мероприятия The presence within the genus of topical infection pathogens undergoing supervisory activities	5
	Наличие в пределах рода представителей с доказанной патогенностью для человека The presence within the pathogen genus with proven human pathogenicity	4
	Наличие в филогенетически близких родах возбудителей актуальных инфекций, для которых проводятся надзорные мероприятия The presence within the phylogenetically close genera for relevant infection pathogens undergoing supervisory activities	3
	Наличие в филогенетически близких родах представителей с доказанной патогенностью для человека The presence within the phylogenetically close genera for pathogens with proven human pathogenicity	2
	Наличие в семействе патогенных представителей The presence within the family of human pathogens	1
Характеристика организмов – резервуаров инфекции Characterization of the infection reservoirs	Полигостальность, включая птиц и рукокрылых Polyhostality, including birds and bats	5
	Полигостальность, включая мелких млекопитающих, грызунов и диких хищников Polyhostality, including small mammals, rodents and wild predators	4
	Полигостальность, включая КРС, МНС, свиней и диких копытных Polyhostality, including cattle, pigs and wild hoofed mammals	3
	Моногостальность с повсеместным распространением Monohostality with the ubiquitous circulation	2
	Моногостальность с локальным распространением Monohostality with the local circulation	1

Окончание таблицы 1. Критерии оценки эпидемического потенциала возбудителей природно-очаговых инфекций вирусной этиологии

Table 1. The epidemic potential assessing criteria for the natural-focalviral infections (continued)

Опасность источника инфекции Threat of infectionsource		
Фактор Factor	Элементы фактора Factor-related elements	Баллы Scores
Ведущий механизм передачи The lead transmission mechanism	Аспирационный Aspiration transmissionmechanism	5
	Фекально-оральный Fecal-oral transmission mechanism	4
	Трансмиссивный поливекторный Polyvector transmissionmechanism	3
	Трансмиссивный моновекторный Monovector transmission mechanism	2
	Контактный Contact transmissionmechanism	1
Характер взаимодействия человека с природным резервуаром инфекции Features of human interaction with the infection reservoir	Постоянное взаимодействие всех групп населения с эпизоотическим очагом Constant interaction of all population groups with epizootic focus	5
	Регулярное взаимодействие с эпизоотическим очагом характерно для определенных групп населения Constant interaction of certain population groups with epizootic focus	4
	Нерегулярное взаимодействие с эпизоотическим очагом среди различных групп населения Irregular interaction of different population groups with epizootic focus	3
	Нерегулярное взаимодействие с эпизоотическим очагом характерно для определенных групп населения Irregular interaction of certain population groups with epizootic focus	2
	Случайное взаимодействие с эпизоотическим очагом Random interaction with epizootic focus	1
Территориальная характеристика природного резервуара Features of the territorial characteristics of the infection reservoir	Множественные очаги в различных природно-климатических зонах Multiple foci in various natural and climatic zones	5
	Множественные очаги в пределах одной природно-климатической зоны Multiple foci within the same natural and climatic zone	4
	Локальные очаги большой территориальной протяженности Local foci of the large territorial extent	3
	Множественные очаги малой территориальной протяженности Local foci of the small territorial extent	2
	Единичные очаги малой территориальной протяженности Single foci of the small territorial extent	1
Возможность передачи от человека к человеку Opportunity of the human-to-human transmission	Формирует устойчивые антропоургические очаги за счет передачи аспирационным или фекально-оральным путем Forms the constant anthropurgic foci due to aspiration or fecal-oral transmission	5
	Возможна аспирационная или фекально-оральная передача без формирования устойчивых антропоургических очагов aspiration or fecal-oral transmissionis possible without constant anthropurgic foci	4
	Возможна контактная передача Contact transmission is possible	3
	Возможна трансмиссивная передача Vector transmission is possible	2
	Возможна вертикальная передача Vertical transmission is possible	1
Восприимчивый организм Receptive organism	Доказана патогенность для человека Pathogenic for humans is proved	5
	Доказана патогенность для млекопитающих – различных видов тест-организмов Pathogenic for different types of mammalian test organisms is proved	4
	Патогенен для определенного вида тест-организмов или только при определенном способе заражения Pathogenic for a certain type of test organisms or only for certain route of infection	3

Опасность источника инфекции Threat of infectionsource		
Фактор Factor	Элементы фактора Factor-related elements	Баллы Scores
Восприимчивый организм Receptive organism	Патогенен для новорожденных мышей, вызывает ЦПД на клетках Pathogenic for newborn mice or causes CPE on cells	2
	Наличие патогенных близкородственных представителей The presence of the pathogenic closely related viruses	1
Обычная продолжительность инкубационного периода The incubation period	Более 3 недель More than 3 weeks	5
	До 3 недель Up to 3 weeks	4
	До 2 недель Up to 2 weeks	3
	От 5 дней до недели Up 5 days to a week	2
	Менее 5 дней Less than 5 days	1
Характер течения инфекционного процесса The course of the infectious process	Неманифестное (бессимптомное) Asymptomatic	5
	Манифестное легкое The mild course of the disease	4
	Манифестное средней тяжести The symptomatic moderate severity	3
	Манифестное тяжелое Severe course of the disease	2
	Манифестное тяжелое с летальным исходом Severe fatal disease	1
Интенсивность распространения эпидемического процесса The intensity of the epidemic process	Зарегистрированы случаи пандемической заболеваемости Cases of pandemic morbidity have been reported	5
	Зарегистрированы случаи эпидемической заболеваемости Cases of epidemic morbidity have been reported	4
	Зарегистрированы случаи вспышечной заболеваемости Cases of outbreaks morbidity have been reported	3
	Зарегистрированы случаи спорадической заболеваемости Cases of sporadic morbidity have been reported	2
	Наличие серопревалентности при отсутствии заболеваемости The seroprevalence in the absence of morbidity	1

свойствами возбудителя, предопределяющими его способность сохраняться во внешней среде.

Характер взаимодействия человека, проживающего на эндемичной территории, с источником инфекции, также как и территориальная характеристика природного резервуара в определенной мере относятся к факторам, отражающим опасность первого звена эпидемического процесса, но при этом также характеризуют эпидемиологическую опасность реализации механизма передачи инфекции, поэтому в существующей системе показателей данные факторы отнесены ко второму звену.

3. *Опасность восприимчивости макроорганизма.* Включает факторы, описывающие опасность третьего, обязательного, элемента эпидемического процесса, особенности течения инфекционного процесса при взаимодействии организма

человека с возбудителем, которые способствуют проявлению и поддержанию патологического процесса на популяционном уровне.

В данную группу отнесены непосредственный круг восприимчивых организмов и факторы, характеризующие время существования возможного эпидемического очага и риск возникновения вторичных и третичных случаев заражения (обычная продолжительность инкубационного периода, характер течения инфекции), а также интенсивность распространения эпидемического процесса.

Для оценки эпидемического потенциала вируса в соответствии с разработанными критериями необходимо обобщить и проанализировать известные данные по трем рассматриваемым группам факторов, участвующих в формировании эпидемиологической опасности.

По результатам оценки возбудителя по предложенным факторам и сумме баллов предлагается следующая шкала определения эпидемического потенциала:

- 1) при сумме баллов 24 и ниже — низкий эпидемический потенциал;
- 2) при сумме баллов от 25 до 44 — средний эпидемический потенциал;
- 3) при сумме баллов 45 и выше — высокий эпидемический потенциал.

Если в ходе балльной оценки для вируса подходит несколько факторов из перечисленных — оценка выставляется по максимальному значению. Если данные по какому-либо факто-

ру отсутствуют или в настоящий момент никак не изучены — ставится 0.

Для проверки предлагаемой системы оценки эпидемического потенциала дополнительно с помощью представленных критериев было проведено определение эпидемического потенциала ряда возбудителей природно-очаговых инфекций с трансмиссивным и нетрансмиссивным механизмом передачи (табл. 2).

Полученные значения и присвоенный согласно им эпидемический потенциал, в целом, соответствуют современным представлениям об эпидемиологической опасности оцененных возбудителей природно-очаговых инфек-

Таблица 2. Результаты оценки эпидемического потенциала возбудителей некоторых природно-очаговых инфекций

Table 2. Assessment of epidemic potential for some natural-focal viral infections

Вирус Virus	1 группа 1 st group	2 группа 2 nd group	3 группа 3 rd group	Сумма баллов Summary	Эпидемический потенциал Epidemic potential
Вирус Кемерово Kemerovo virus (KEMV)	16	11	11	38	Средний Medium
Вирус Муко Muko virus (MUV)	13	8	0	21	Низкий Low
Вирус клещевого энцефалита Tick-borne encephalitis virus (TBEV)	12	15	15	42	Средний Medium
Вирус геморрагической лихорадки Крым-Конго Crimean-Congo hemorrhagic fever orthonairovirus	17	16	14	47	Высокий High
Вирус Парамушир Paramushir virus (PARV)	10	12	0	22	Низкий Low
Вирус Лихорадки Западного Нила West Nile virus	19	13	15	47	Средний Medium
Вирус денге Dengue virus (DENV)	19	15	16	50	Высокий High
Вирус Зика Zika virus (ZIKV)	18	15	16	49	Высокий High
Вирус японского энцефалита Japanese encephalitis virus	19	12	14	45	Высокий High
Вирус Ласса Lassa virus (LASV)	16	18	14	48	Высокий High
Вирус Луйо Lujo virus (LUJV)	15	13	11	39	Средний Medium
Вирус Эбола Заир Ebola virus Zaire	8	18	14	40	Средний Medium
Вирус Рестон Reston virus (RESTV)	9	8	1	18	Низкий Low
Вирус бешенства Rabies virus (RABV)	16	10	14	40	Средний Medium
Вирус Хатанга Khatanga virus	15	7	1	23	Низкий Low
Вирус Добрава-Белград Dobrava-Belgrade virus (DOBV)	15	14	16	45	Высокий High
Вирус Пуумала Puumala virus (PUUV)	15	14	16	45	Высокий High
Вирус Вад-Медани Wad Medani virus (WMV)	12	8	0	20	Низкий Low
Бетакоронавирус SARS-CoV-2 Betacoronavirus SARS-CoV-2	18	17	15	49	Высокий High

ций. Возбудители особо опасных инфекций I–II группы патогенности, такие как вирус Эбола Заир, вирус Ласса, вирус геморрагической лихорадки Крым-Конго, способные передаваться нетрансмиссивно, а также от человека к человеку, обладают высоким эпидемическим потенциалом. Возбудители II группы патогенности с трансмиссивным механизмом передачи обладают средним и приближающимся к высокому эпидемическим потенциалом, который ограничивается отсутствием возможности нетрансмиссивной передачи или отсутствием передачи от человека к человеку (например, вирус клещевого энцефалита). Малоизученные, непатогенные для человека вирусы и вирусы с еще недоказанной патогенностью ожидаемо обладают низким эпидемическим потенциалом. Однако по мере их изучения и появления новых данных текущее значение эпидемического потенциала для них может измениться.

Таким образом, предложенная система оценки эпидемического потенциала показала свою

работоспособность и позволила не только представить способность возбудителей к формированию эпидемического процесса в количественном выражении, но и сравнить эпидемический потенциал различных возбудителей между собой и оценивать в полученном значении удельный вес каждого из трех факторов эпидемиологической опасности, составляющих компоненты эпидемического процесса. В дальнейшем система оценки может быть расширена за счет внесения новых значимых показателей или усовершенствована иным образом, что позволит ей стать универсальным инструментом в рамках развивающегося подхода «аналитики вспышек» [24] и предупреждения угроз возникновения ЧС санитарно-эпидемиологического характера.

Конфликт интересов

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Список литературы/References

1. Громашевский Л.В. Общая эпидемиология. 4-е изд. М.: Медицина, 1965. 290 с. [Gromashevsky L.V. General epidemiology. 4th ed. Moscow: Medicine, 1965. 290 p. (In Russ.)]
2. Кисличкина А.А., Кадникова Л.А., Платонов М.Е., Майская Н.В., Коломбет Л.В., Соломенцев В.И., Богун А.Г., Анисимов А.П. Дифференциация штаммов *Yersinia pestis* основного, неосновного подвидов и других представителей *Yersinia pseudotuberculosis* complex // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2017. Т. 35, № 2. С. 5–10. [Kislichkina A.A., Kadnikova L.A., Platonov M.E., Maiskaya N.V., Kolombet L.V., Solomentsev V.I., Bogun A.G., Anisimov A.P. Differentiation of *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia pestis* subsp. *pestis* and subsp. *microti* strains and other representatives of *Yersinia pseudotuberculosis* complex. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2017, vol. 35, no. 2, pp. 5–10. (In Russ.)] doi: 10.18821/02080613-2017-35-2-43-48
3. Куклев Е.В., Кокушкин А.М., Кутырев В.В. Количественная оценка величины эпидемического потенциала природных очагов чумы и оптимизация эпидемиологического надзора за этой инфекцией // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2001. № 5. С. 10–13. [Kuklev E.V., Kokushkin A.M., Kutyrer V.V. Quantitative assessment of the magnitude of the epidemic potential of natural plague foci and optimization of epidemiological surveillance of this infection. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases*, 2001, no. 5, pp. 10–13. (In Russ.)]
4. Малеев В.В. Проблемы инфекционной патологии на современном этапе // Инфекционные болезни. 2015. Т. 13, № 2. С. 5–9. [Maleev V.V. Problems of infectious pathology at the present stage. *Infeksionnye bolezni = Infection Diseases*, 2015, vol. 13, no. 2, pp. 5–9. (In Russ.)] doi: 10.20953/1729-9225-2015-2-5-9
5. Москвитина Э.А., Горобец А.В., Прометной В.И., Баташев В.В. Оценка эпидемического потенциала территории при холере с использованием комплекса показателей (Сообщение 2) // Проблемы особо опасных инфекций: сб. науч. тр., 2001. Т. 82. С. 35–43. [Moskvitina E.A., Gorobets A.V., Prometnoy V.I., Batashev V.V. Evaluation of epidemic contamination of the territory during cholera using an array of indicators (Message 2). *Problems of Particularly Dangerous Infections: Collection of Conference Papers*, 2001, vol. 82, pp. 35–43. (In Russ.)]
6. Нафеев А.А. Современные особенности эпидемических проявлений природно-очаговых инфекций (геморрагической лихорадки с почечным синдромом, лептоспирозов, иксодовых клещевых боррелиозов, туляремии) и оптимизация эпидемиологического надзора за ними (на модели Ульяновской области) // СПб.: Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, 2007. 346 с. [Nafeev A.A. Modern features of epidemic manifestations of natural focal infections (hemorrhagic fever with renal syndrome, leptospirosis, ixodid tick-borne borreliosis, tularemia) and optimization of their epidemiological surveillance (on the model of the Ulyanovsk region). *St. Petersburg: S.M. Kirov Military Medical Academy*, 2007. 346 p. (In Russ.)]
7. Павловский Е.Н. О природной очаговости инфекционных и паразитарных болезней // Вестник АН СССР. 1939. Т. 10. С. 98–108. [Pavlovsky E.N. About the natural focality of infectious and parasitic diseases. *Vestnik AN SSSR = Bulletin of the USSR Academy of Sciences*, 1939, vol. 10, pp. 98–108. (In Russ.)]
8. Симонова Е.Г. Современный этап развития эпидемиологического надзора и перспективы его совершенствования // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2017. Т. 16, № 4. С. 4–8. [Simonova E.G. Modern stage of development of the epidemiological surveillance and prospects of its improvement. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2017, vol. 16, no. 4, pp. 4–7. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2017-16-4-4-7
9. Симонова Е.Г., Сергеев В.И. Предэпидемическая диагностика в системе риск-ориентированного эпидемиологического надзора над инфекционными болезнями // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2018. Т. 17, № 5.

- C. 31–37. [Simonova E.G., Sergevnin V.I. Pre-epidemic diagnosis in the system risk-oriented epidemiological surveillance of infectious diseases. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2018, vol. 17, no. 5, pp. 31–37. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2018-17-5-31-37
10. Топорков А.В., Куклев Е.В., Щербаклова С.А., Осина Н.А., Топорков В.В. Типовой алгоритм действий в условиях чрезвычайных ситуаций, вызванных возбудителями неизвестных инфекционных болезней // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2010. № 5. С. 20–24. [Toporkov A.V., Kuklev E.V., Scherbakova S.A., Osina N.A., Toporkov V.P. Typical procedure of actions during emergency situations caused by agents of unknown infectious diseases. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2010, no. 5, pp. 20–24. (In Russ.)]
 11. Хотько Н.И., Федянин Ю.П., Коломиец В.В. К проблеме использования эпидемического потенциала при эпиднадзоре за инфекциями с природной очаговостью. В кн. Природно-очаговые болезни человека: сб. научн. тр. Омск, 1996. С. 232–233. [Khotko N.I., Fedyanin Yu.P., Kolomiets V.V. On the problem of using epidemic potential in surveillance of natural-foci infections. In: *Natural-foci human diseases: collection of scientific works*. Omsk, 1996, pp. 232–233. (In Russ.)]
 12. Черкасский Б.Л. Оценка риска в эпидемиологии. М.: Медицина, 2006. 160 с. [Cherkassky B.L. Risk estimation in epidemiology. Moscow: Medicine, 2006. 160 p. (In Russ.)]
 13. Шкарин В.В., Ковалишена О.В. Новые инфекции: систематизация, проблемы, перспективы // Нижний Новгород: Изд-во НГМА, 2012. 510 с. [Shkarin V.V., Kovalishena O.V. New infections: systematization, problems, prospects. *Nizhny Novgorod: Publishing House of NGMA*, 2012. 510 p. (In Russ.)]
 14. Шкарин В.В., Ковалишена О.В. Проблемы и перспективы системы мониторинга контроля за новыми инфекциями // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2013. № 4. С. 4–9. [Shkarin V.V., Kovalishena O.V. An emerging infection monitoring and control system: problems and prospects. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni. Aktual'nye voprosy = Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items*, 2013, no. 4, pp. 4–9. (In Russ.)]
 15. Bettencourt L.M., Ribeiro R.M. Real time bayesian estimation of the epidemic potential of emerging infectious diseases. *PLoS One*, 2008, vol. 3, no. 5: e2185. doi: 10.1371/journal.pone.0002185
 16. Campos G.S., Bandeira A.C., Sardi S.I. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.*, 2015, vol. 21, no. 10, pp. 1885–1886. doi: 10.3201/eid2110.150847
 17. Cauchemez S., Fraser C., Van Kerkhove M.D., Donnelly C.A., Riley S., Rambaut A., Ferguson N.M. Middle East respiratory syndrome coronavirus: quantification of the extent of the epidemic, surveillance biases, and transmissibility. *Lancet Inf. Dis.*, 2014, vol. 14, no. 1, pp. 50–56. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70304-9
 18. Fraser C., Donnelly C.A., Cauchemez S., Hanage W.P., Van Kerkhove M.D., Hollingsworth T.D., Griffin J. Pandemic potential of a strain of influenza A (H1N1): early findings. *Science*, 2009, vol. 324, no. 5934, pp. 1557–1561. doi: 10.1126/science.1176062
 19. Holmes E.C., Rambaut A., Andersen K.G. Pandemics: spend on surveillance, not prediction. *Nature*, 2018, vol. 558, no. 7709, pp. 180–182. doi: 10.1038/d41586-018-05373-w
 20. Liu J., Xiao H., Lei F., Zhu Q., Qin K., Zhang X.W., Zhang X.L., Zhao D., Wang G., Feng Y., Ma J., Liu W., Wang J., Gao G.F. Highly pathogenic H5N1 influenza virus infection in migratory birds. *Science*, 2005, vol. 309, no. 5738: 1206. doi: 10.1126/science.1115273
 21. Morens D.M., Folkers G.K., Fauci A.S. The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature*, 2004, vol. 430, no. 6996, pp. 242–249. doi: 10.1038/nature0275
 22. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it. URL: [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it) (11.04.2022)
 23. Osterholm M.T. Preparing for the next pandemic. *N. Engl. J. Med.*, 2005, vol. 352, no. 18, pp. 1839–1842. doi: 10.1056/NEJMp058068
 24. Polonsky J.A., Baidjoe A., Kamvar Z.N., Cori A., Durski K., Edmunds W.J., Eggo R.M., Funk S., Kaiser L., Keating P., de Waroux O.L.P., Marks M., Moraga P., Morgan O., Nouvellet P., Ratnayake R., Roberts C.H., Whitworth J., Jombart T. Outbreak analytics: a developing data science for informing the response to emerging pathogens. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 2019, vol. 374, no. 1776: e20180276. doi: 10.1098/rstb.2018.0276

Авторы:

Сафонова М.В., биолог лаборатории диагностики вирусных инфекций I–II групп патогенности ФКУЗ Противочумный центр Роспотребнадзора, Москва, Россия;
Симонова Е.Г., д.м.н., профессор кафедры эпидемиологии Института профессионального образования ФГАОУ ВО Первый Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия;
Долгова А.С., к.б.н., старший научный сотрудник, руководитель группы молекулярной генетики патогенных микроорганизмов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Лопатин А.А., к.м.н., директор ФКУЗ Противочумный центр Роспотребнадзора, Москва, Россия;
Дедков В.Г., к.м.н., зам. директора по научной работе ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Safonova M.V., Biologist, Laboratory of Diagnostics of I–II Pathogenicity Groups Viral Infections, Antiplague center, Federal Service for Surveillance on Consumers Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation;
Simonova E.G., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Epidemiology, Institute of Vocational Education, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation;
Dolgoval A.S., PhD (Biology), Senior Researcher, Head of the Group of Molecular Genetics of Pathogenic Microorganisms, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Lopatin A.A., PhD (Medicine), Director of the Antiplague center, Federal Service for Surveillance on Consumers Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation;
Dedkov V.G., PhD (Medicine), Deputy Director for Scientific Work, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ВОДНЫХ ДИСПЕРСИЙ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

О.В. Нечаева¹, Т.А. Шульгина², К.В. Зубова³, Е.В. Глинская³, Н.В. Беспалова¹,
Н.И. Дарьин⁴, Е.И. Тихомирова¹, А.Г. Афиногенова⁵

¹ Саратовский государственный технический университет имени Ю.А. Гагарина, г. Саратов, Россия

² НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Саратов, Россия

³ Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского

⁴ ООО «М9», г. Тольятти, Россия

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

Резюме. В настоящее время в медицинской, микробиологической и ветеринарной практике широко используются металлические наноструктуры. Особенно перспективными в качестве антимикробных агентов являются наночастицы серебра, так как в литературе отсутствуют данные о формировании у микроорганизмов устойчивости к ним. При разработке препаратов на основе металлических наночастиц важным вопросом остается выбор стабилизатора, введение которого в процессе синтеза обеспечивает сохранение структур в наноразмерном диапазоне, а, следовательно, и их основных характеристик, в том числе биоцидных свойств. Объектом исследования являлись водные дисперсии наночастиц серебра, стабилизированные природными и синтетическими полимерными соединениями. В качестве экспериментальных моделей использовали стандартные штаммы грамположительных и грамотрицательных бактерий: *S. aureus* 209 P, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus mirabilis* ATCC 3177 (O-форма), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 31488, полученные из Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Оценку антимикробной активности различных вариантов водных дисперсий наночастиц серебра проводили методом серийных разведений в плотной питательной среде. В работе не проводили исследование влияния наночастиц серебра без стабилизаторов, так как их отсутствие приводило к быстрой агломерации наноструктур и утрате наноразмерных характеристик. Наибольшая чувствительность грамположительных и грамотрицательных бактерий установлена к действию водной дисперсии наночастиц серебра, стабилизированных полиаэзолидинаммонием, модифицированным гидрат-ионами йода. Рабочие концентрации препарата от 0,5 до 3% оказывали бактерицидное действие в отношении возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний, а минимальная рабочая концентрация 0,125% приводила к снижению колониеобразующих единиц на 20–57% разных штаммов бактерий. Наночастицы серебра, стабилизированные додецилсульфатом натрия, показали высокую эф-

Адрес для переписки:

Афиногенова Анна Геннадьевна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 (812) 232-86-31 (служебн.); 8 921 557-88-94 (моб.).
E-mail: spbtestcenter@mail.ru

Contacts:

Anna G. Afinogenova
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (812) 232-86-31 (office); +7 921 557-88-94 (mobile).
E-mail: spbtestcenter@mail.ru

Для цитирования:

Нечаева О.В., Шульгина Т.А., Зубова К.В., Глинская Е.В., Беспалова Н.В., Дарьин Н.И., Тихомирова Е.И., Афиногенова А.Г. Антимикробная активность водных дисперсий наночастиц серебра в отношении возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4. С. 755–764. doi: 10.15789/2220-7619-AAO-1937

Citation:

Nechaeva O.V., Shulgina T.A., Zubova K.V., Glinskaya E.V., Bespalova N.V., Darin N.I., Tichomirova E.I., Afinogenova A.G. Antimicrobial activity of aqueous dispersions of silver nanoparticles against pathogens of purulent-inflammatory diseases // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 755–764. doi: 10.15789/2220-7619-AAO-1937

эффективность в отношении исследуемых тест-штаммов, что, вероятно, связано с высокой токсичностью используемого стабилизатора, которая была установлена ранее при проведении комплексной оценки безопасности с использованием биотест-объектов и культур клеток. В связи с этим его использование в качестве компонента антимикробных препаратов нежелательно. Результаты проведенных исследований показали, что среди вариантов водных дисперсий наночастиц серебра наиболее перспективными для использования в медико-биологической практике являются препараты, стабилизированные поливиниловым спиртом и полиазолидинаммонием, модифицированным гидрат-ионами йода, поскольку они демонстрируют высокий уровень антибактериальной активности в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий — возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний — и низкий уровень токсичности. Это позволяет рекомендовать их в качестве безопасных и эффективных антимикробных компонентов дезинфицирующих средств, а также антисептических препаратов для профилактики и лечения инфекционных заболеваний кожи и мягких тканей.

Ключевые слова: наночастицы серебра, полимеры, полиазолидинаммоний, водные дисперсии, возбудители гнойно-воспалительных заболеваний, антимикробная активность, антибиотикорезистентность.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF AQUEOUS DISPERSIONS OF SILVER NANOPARTICLES AGAINST PATHOGENS OF PURULENT-INFLAMMATORY DISEASES

Nechaeva O.V.^a, Shulgina T.A.^b, Zubova K.V.^c, Glinskaya E.V.^c, Bespalova N.V.^a, Darin N.I.^d, Tichomirova E.I.^a, Afinogenova A.G.^e

^a Yuri Gagarin State Technical University of Saratov, Saratov, Russian Federation

^b Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Saratov, Russian Federation

^c Saratov State University, Saratov, Russian Federation

^d LLC "M9", Saratov, Russian Federation

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

Abstract. Currently, metal nanostructures are widely used in medical, microbiological, and veterinary practice. Silver nanoparticles are especially promising as antimicrobial agents, because no published data regarding antimicrobial resistance are available. While developing preparations based on metal nanoparticles, an important remaining issue is the choice of a stabilizer, introduction of which during the synthesis ensures the preservation of structures at the nanoscale range, and, consequently, relevant main characteristics, including biocidal properties. The object of the study was to investigate silver nanoparticle aqueous dispersions stabilized by natural and synthetic polymeric compounds. Routine strains of Gram-positive and Gram-negative bacteria were used as experimental models: *S. aureus* 209 P, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus mirabilis* ATCC 3177 (O-form), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 31488, obtained from the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. The antimicrobial activity of diverse variants of silver nanoparticle aqueous dispersions was assessed by serial dilution plating on dense nutrient medium. In this work, we examined no effect of silver nanoparticles without stabilizers, because their absence led to rapid agglomeration of nanostructures and loss of nanoscale characteristics. The highest sensitivity of Gram-positive and Gram-negative bacteria was found to the action of a silver nanoparticle aqueous dispersions stabilized by polyazolidinammonium and modified with iodine hydrate ions. Drug working concentrations ranging from 0.5 to 3% had a bactericidal effect against pathogens of purulent-inflammatory diseases, and the minimum working concentration of 0.125% led to decreased colony-forming units by 20–57% for diverse bacterial strains. Silver nanoparticles stabilized with sodium dodecyl sulfate showed high efficiency against the studied test strains probably due to the high toxicity of the stabilizer used as was previously established during a comprehensive safety assessment using biotest objects and cell cultures. In this regard, its use as a component of antimicrobial preparations is not preferred. The results of the studies showed that among the variants of silver nanoparticle aqueous dispersions, preparations stabilized with polyvinyl alcohol and polyazolidinammonium modified with iodine hydrate ions are the most promising for use in biomedical practice, because they demonstrate a high level of antibacterial activity against both Gram-positive and Gram-negative bacteria as causative agents of purulent-inflammatory diseases and a low toxicity level. This allows us to recommend them as safe and effective antimicrobial components in disinfectants, as well as antiseptic preparations for prevention and treatment of skin and soft tissue infectious diseases.

Key words: silver nanoparticles, polymers, polyazolidinammonium, aqueous dispersions, causative agents of purulent-inflammatory diseases, antimicrobial activity, antibiotic resistance.

Введение

Рост и распространение возбудителей инфекционных заболеваний, характеризующихся множественной лекарственной устойчивостью, является одной из основных проблем современной прикладной биологии, медицины и ветеринарии [6, 21]. Это связано прежде всего с чрезмерным назначением антимикробных средств медицинскими специалистами, нарушением сроков приема препаратов, а также низким уровнем информированности населения о сложившейся ситуации, что приводит к самостоятельному бесконтрольному применению этиотропных препаратов [7, 20, 22]. Введение антибиотиков в корма сельскохозяйственных животных и использование их в растениеводстве также повышает вероятность формирования полирезистентных штаммов бактерий. Например, метициллинрезистентные *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра, могут передаваться сотрудникам животноводческих ферм при непосредственном контакте с животными, а населению — алиментарным путем при употреблении продуктов животноводства [11, 13].

Научный поиск альтернативных методов и средств борьбы с возбудителями инфекционных заболеваний, является крайне актуальным. В настоящее время в медицинской, микробиологической и ветеринарной практике широко используются металлические наноструктуры [8, 9, 18, 27, 35, 36]. В качестве наиболее перспективных компонентов антимикробных средств следует рассматривать наночастицы серебра, для которых характерен широкий спектр антимикробной активности, а у возбудителей до настоящего времени не установлены пути формирования устойчивости к ним [1, 14, 19, 24, 26, 28]. Это обусловлено особым механизмом их действия, основанным на электростатических силах, возникающих при адсорбции положительно заряженных ионов серебра на бактериальных клетках, имеющих отрицательный заряд [29, 33]. Вследствие этого происходит нарушение синтеза ДНК и РНК, блокировка процессов клеточного дыхания, разобщение окислительных реакций, а взаимодействие с поверхностными структурами микробных клеток приводит к снижению их адгезивной способности и нарушению дальнейшей реализации факторов вирулентности в клетках макроорганизма [25, 30].

При разработке препаратов на основе металлических наночастиц важным вопросом остается выбор стабилизатора, введение которого в процессе синтеза обеспечивает сохранение структур в наноразмерном диапазоне, а, следовательно, и их основных характери-

стик, в том числе биоцидных свойств [2, 3, 37]. Использование малоэффективного стабилизатора приводит к росту токсичности и снижает показатели стабильности препарата, что приводит к агрегации наночастиц и потере уникальных антимикробных свойств.

Целью настоящего исследования являлось изучение антимикробных свойств водных дисперсий наночастиц серебра, стабилизированных природными и синтетическими полимерными соединениями.

Материалы и методы

Объектом исследования являлись водные дисперсии наночастиц серебра (производитель ООО «М9», Тольятти), стабилизированные различными полимерами (табл. 1).

Исследования проводили на модели референс-штаммов условно-патогенных бактерий: *Staphylococcus aureus* 209 P, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus mirabilis* ATCC 3177 (O-форма), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 31488, предоставленные ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва). Антимикробную активность исследуемых препаратов определяли методом серийных разведений в плотной питательной среде [10]. Для этого рабочие концентрации водных дисперсий наночастиц серебра, рекомендованные фирмой производителем, 3, 2, 1, 0,5, 0,25, 0,125, добавляли в расплавленный и остуженный ГРМ-агар (ФБУН ГНЦ ПМБ), тщательно перемешивали и разливали его в стерильные чашки Петри. Аналогичным образом была проведена оценка антимикробной активности полимерных соединений, используемых в качестве стабилизаторов наночастиц серебра в составе водных дисперсий. Для проведения исследования из суточных культур исследуемых бактерий готовили взвеси по оптическому стандарту мутности 5 Ед (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, Москва) в 0,9%-м растворе NaCl. Полученную взвесь титровали до концентрации 10^4 м.к./мл и проводили мерный высеv (по 100 мкл) на поверхность подготовленной питательной среды. В питательные среды контрольных образцов тестовых культур наноструктуры и стабилизаторы не вносили. Контрольные и опытные посевы культивировали в суховоздушном термостате ТС-1/80 СПУ при температуре 37°C в течение суток, а затем рассчитывали количество жизнеспособных бактерий по показателям колониеобразующих единиц (КОЕ) и определяли характер действия водных дисперсий наночастиц серебра. Наночастицы серебра без добавления полимеров в работе не использовали, поскольку отсутствие стабилизаторов способствовало их быстрой агрегации и выходу из наноразмерного диапазона.

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных осуществляли с помощью определения средней арифметической (M) и ошибки репрезентативности (m) с использованием программного обеспечения Statistica 10.0 и Microsoft Excel 2010. Результаты считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты

Исследуемые препараты наночастиц серебра содержали известные концентрации стабилизаторов, поэтому была проведена оценка их антимикробной активности в отношении тестовых культур микроорганизмов. Для этого предварительно рассчитывали концентрации стабилизаторов, присутствующих в рабочих разведениях водных дисперсий наночастиц серебра: для поливинилового спирта они составили 4, 8, 16, 35, 70 и 100 мкг/мл, для карбоксиметилцеллюлозы — 0,05, 0,1, 0,2, 0,5, 1,0 и 1,5 мкг/мл, для олеата натрия, додецилсульфата натрия и ПААГ-М — 1, 2, 4, 8, 16, 24 мкг/мл. Полученные результаты показали, что рабочие концентрации стабилизаторов не влияли на жизнеспособность референс-штаммов бактерий (табл. 2), следовательно, их наличие обеспечивало только сохранение наноразмерности металлических наноструктур.

Анализ антимикробной активности водных дисперсий наночастиц серебра позволил установить бактерицидный характер действия AgСМС стандартных штаммов *S. aureus* 209 P и *E. coli* ATCC 25922 для концентраций 1–3%, а в отношении *P. mirabilis* ATCC 3177 и *K. pneumoniae* ATCC 31488 — 2–3% (рис. 1).

Наибольшую чувствительность к AgСМС проявил штамм *S. aureus* 209 P, поскольку при действии рабочих концентраций 0,125, 0,25 и 0,5% наблюдали достоверное снижение показателей КОЕ по сравнению с контролем на 18,5, 30,7 и 40,6% соответственно. Для штаммов грамотрицательных бактерий действие рабочих концентраций 0,25 и 0,5% незначительно снижало число КОЕ, а минимальная концентрация 0,125% не влияла на выживаемость бактерий.

Аналогичные результаты получены при изучении биоцидных свойств AgOleNa (рис. 2). Бактерицидное действие в отношении штаммов *S. aureus* 209 P и *E. coli* ATCC 25922 показано для концентраций 1–3%, для штаммов *P. mirabilis* ATCC 3177 и *K. pneumoniae* ATCC 31488 — 2–3%. Установлено, что рабочая концентрация препарата 0,5% приводила к снижению показателей КОЕ бактерий *P. mirabilis* ATCC 3177 и *E. coli* ATCC 25922 на 15,0 и 16,1% соответственно, однако не было установлено статистически значимых отличий значений КОЕ *K. pneumoniae* ATCC 31488 по сравнению с контролем. Наибольшая чувствительность к действию AgOleNa также установлена для штамма грамположительных бактерий *S. aureus* 209 P, при действии рабочих концентраций 0,125, 0,25 и 0,5% наблюдали статистически значимое уменьшение значений КОЕ на 33,9, 22,4 и 9,2% соответственно по сравнению с контрольными показателями.

Неодинаковую чувствительность проявили референс-штаммы бактерий к действию AgPVA: большая эффективность биоцидного действия была установлена в отношении *S. aureus* 209 P и *E. coli* ATCC 25922, для которых бактерицидный характер действия на-

Таблица 1. Характеристика наночастиц серебра

Table 1. Characterization of silver nanoparticles

Наночастицы Nanoparticles	Стабилизатор (Концентрация) Stabilizer (Concentration)	Природа стабилизатора Nature of the stabilizer	Концентрация наночастиц в исходном препарате Concentration of nanoparticles in the original preparation
AgPVA	поливиниловый спирт (0,7%) polyvinylalcohol (0.7%)	синтетический полимер synthetic polymer	0,5 г/л 0.5 g/l
AgСМС	карбоксиметилцеллюлоза (0,01%) carboxymethylcellulose (0.01%)	натуральный полимер natural polymer	0,5 г/л 0.5 g/l
AgOleNa	олеат натрия (0,15%) sodium oleate (0.15%)	натуральное ПАВ natural SAS	0,5 г/л 0.5 g/l
AgSDS	додецилсульфат натрия (0,15%) sodium dodecylsulfate (0.15%)	синтетическое ПАВ synthetic SAS	0,5 г/л 0.5 g/l
AgPG-m	полиазолидиламмоний, модифицированный гидрат-ионами йода/ПААГ-М (0,15%) polyazolidylammonium modified with iodinehydrate ions (0.15%)	синтетический полимер synthetic polymer	0,5 г/л 0.5 g/l

блюдали в диапазоне концентраций 0,5–3% (рис. 3). Минимальная рабочая концентрация 0,125% способствовала статистически значимому уменьшению значений КОЕ по сравнению с контрольными значениями на 11,1% для *E. coli* ATCC 25922 и 25,7% для *S. aureus* 209 P. Меньшая чувствительность к действию AgPVA установлена для стандартных штаммов *P. mirabilis* ATCC 3177 и *K. pneumoniae* ATCC 31488, так как бактерицидный характер действия в их отношении проявляли только концентрации препарата от 1 до 3%, более низкие концентрации водных дисперсий серебра способствовали достоверному снижению показателей КОЕ, не вызывая пол-

ной гибели микробных клеток. Концентрация препарата, равная 0,125%, не оказывала подавляющего действия на штамм *K. pneumoniae* ATCC 31488, поскольку значения КОЕ не имели статистически значимых отличий от контрольных показателей.

Высокий уровень чувствительности к действию AgSDS установлен для всех исследуемых штаммов бактерий (рис. 3), поскольку рабочие концентрации от 0,5 до 3% оказывали бактерицидное действие, а концентрации 0,125 и 0,25% приводили к значительному снижению показателей КОЕ для большинства исследуемых штаммов: *S. aureus* 209 P — на 32,3 и 47,2%, *E. coli*

Таблица 2. Антимикробная активность стабилизаторов ($M \pm m$, $p \leq 0,05$)

Table 2. Stabilizer-related antimicrobial activity ($M \pm m$, $p \leq 0,05$)

Штаммы Strains	PVA, мкг/мл $\mu\text{g/ml}$					
	100	70	35	16	8	4
<i>S. aureus</i> 209 P	2,99±0,61	2,99±0,53	2,98±0,32	3,00±0,67	2,99±0,24	2,98±0,33
<i>E. coli</i> ATCC 25922	3,00±0,56	3,01±0,52	2,99±0,50	2,99±0,51	3,00±0,52	3,00±0,51
<i>P. mirabilis</i> ATCC 3177	2,98±0,23	2,98±0,25	3,00±0,27	3,00±0,29	3,01±0,28	3,00±0,28
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 31488	2,98±0,31	2,99±0,38	2,98±0,34	3,00±0,33	3,00±0,34	3,00±0,36
Штаммы Strains	СМС, мкг/мл $\mu\text{g/ml}$					
	1,5	1	0,5	0,2	0,1	0,05
<i>S. aureus</i> 209 P	2,98±0,39	2,99±0,37	2,99±0,37	2,98±0,39	2,98±0,40	2,98±0,37
<i>E. coli</i> ATCC 25922	3,00±0,52	2,98±0,49	2,98±0,54	2,99±0,53	3,00±0,48	3,00±0,52
<i>P. mirabilis</i> ATCC 3177	3,01±0,44	2,99±0,43	2,99±0,42	3,00±0,45	3,01±0,42	3,00±0,47
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 31488	2,99±0,39	2,98±0,41	2,98±0,42	2,99±0,44	2,99±0,41	2,98±0,42
Штаммы Strains	OleNa, мкг/мл $\mu\text{g/ml}$					
	24	16	8	4	2	1
<i>S. aureus</i> 209 P	3,01±0,52	3,00±0,54	3,00±0,55	2,99±0,56	2,99±0,54	2,98±0,55
<i>E. coli</i> ATCC 25922	2,99±0,57	2,99±0,56	2,98±0,59	2,98±0,59	3,01±0,60	3,01±0,57
<i>P. mirabilis</i> ATCC 3177	3,00±0,55	3,00±0,52	2,99±0,56	2,98±0,54	2,99±0,54	2,98±0,55
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 31488	2,99±0,57	2,99±0,56	2,98±0,57	2,98±0,59	3,00±0,58	3,01±0,59
Штаммы Strains	SDS, мкг/мл $\mu\text{g/ml}$					
	24	16	8	4	2	1
<i>S. aureus</i> 209 P	3,00±0,23	3,00±0,21	3,01±0,20	2,98±0,23	2,98±0,22	2,98±0,21
<i>E. coli</i> ATCC 25922	2,98±0,30	2,99±0,31	2,98±0,35	2,99±0,33	2,98±0,35	2,99±0,32
<i>P. mirabilis</i> ATCC 3177	3,00±0,19	3,01±0,20	3,00±0,23	3,01±0,22	3,00±0,19	3,01±0,19
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 31488	2,98±0,24	2,99±0,25	2,99±0,23	2,98±0,22	2,98±0,23	2,98±0,23
Штаммы Strains	PG-M, мкг/мл $\mu\text{g/ml}$					
	24	16	8	4	2	1
<i>S. aureus</i> 209 P	3,00±0,26	3,01±0,24	2,98±0,26	2,99±0,22	3,00±0,24	3,01±0,23
<i>E. coli</i> ATCC 25922	2,99±0,18	2,99±0,19	2,98±0,20	2,98±0,17	3,01±0,18	3,00±0,20
<i>P. mirabilis</i> ATCC 3177	2,98±0,22	2,98±0,23	2,99±0,25	3,00±0,26	3,00±0,25	3,00±0,22
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 31488	3,01±0,29	3,00±0,27	3,01±0,26	2,99±0,24	2,98±0,28	2,99±0,27

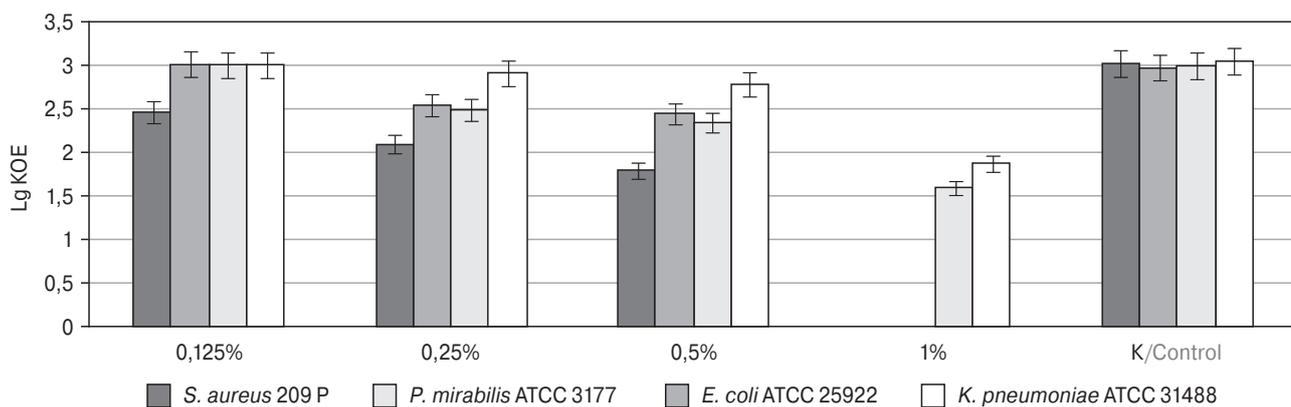


Рисунок 1. Антимикробная активность водной дисперсии наночастиц серебра, стабилизированных карбоксиметилцеллюлозой ($M \pm m$, $p \leq 0,05$)

Figure 1. Antimicrobial activity of carboxymethyl cellulose-stabilized silver nanoparticle aqueous dispersion ($M \pm m$, $p \leq 0.05$)

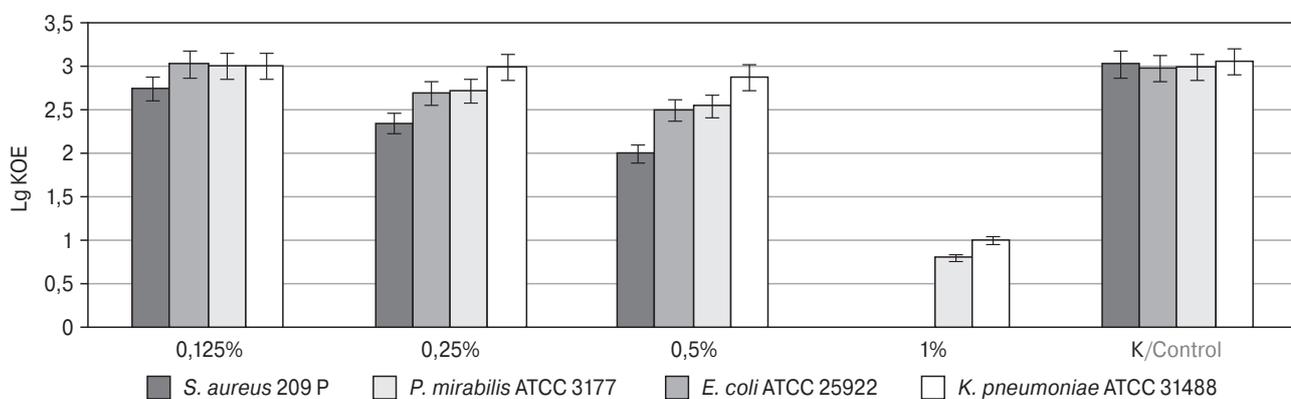


Рисунок 2. Антимикробная активность водной дисперсии наночастиц серебра, стабилизированных олеатом натрия ($M \pm m$, $p \leq 0,05$)

Figure 2. Antimicrobial activity of ansodium oleate-stabilized silver nanoparticle aqueous dispersion ($M \pm m$, $p \leq 0.05$)

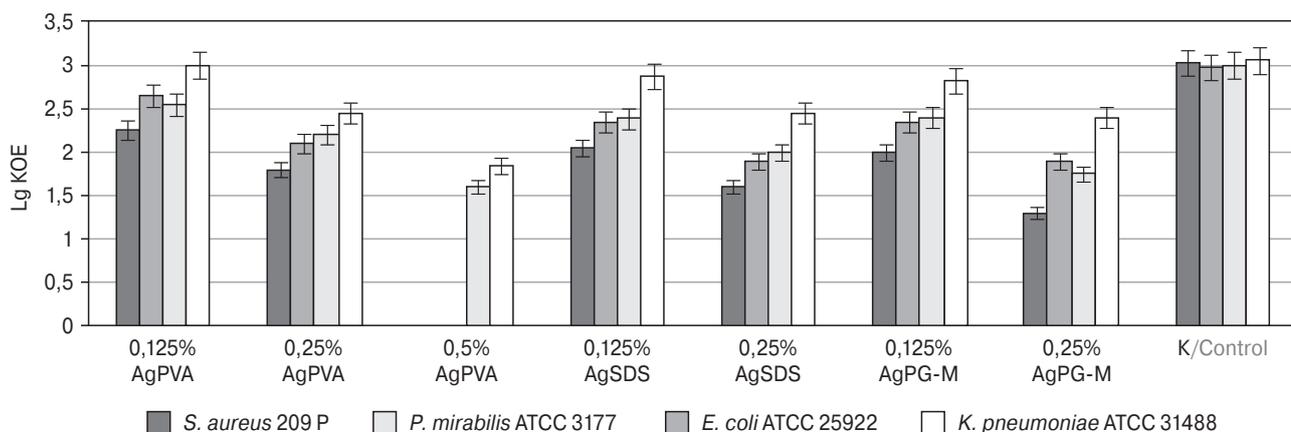


Рисунок 3. Антимикробная активность водной дисперсии наночастиц серебра, стабилизированных поливиниловым спиртом, додецилсульфатом натрия и полиазолидинаммонием, модифицированным гидрат-ионами йода ($M \pm m$, $p \leq 0,05$)

Figure 3. Antimicrobial activity of aqueous dispersion of silver nanoparticles stabilized by polyvinyl alcohol, sodium dodecyl sulfate and iodine hydrate ion-modified polyazolidylammonium ($M \pm m$, $p \leq 0.05$)

ATCC 25922 — на 21,1 и 36,2%, *P. mirabilis* ATCC 3177 — на 20,3 и 33,3%, *K. pneumoniae* ATCC 31488 — на 5,9 и 19,9% соответственно по сравнению с контрольными значениями.

Высокой эффективностью антимикробного действия в отношении возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний характеризовалась водная дисперсия AgPG-m, которая проявляла бактерицидный характер действия в диапазоне концентраций 0,5–3% (рис. 3). При действии рабочих концентраций 0,125 и 0,25% происходило достоверное снижение показателей КОЕ *S. aureus* 209 P — на 33,9 и 57,1%, *E. coli* ATCC 25922 — на 21,1 и 36,2%, *P. mirabilis* ATCC 3177 — на 20,0 и 41,7%, *K. pneumoniae* ATCC 31488 — на 7,8 и 21,6% соответственно по сравнению с контролем.

Обсуждение

Проведенные исследования позволили установить, что наночастицы серебра в составе водных дисперсий характеризовались широким спектром антимикробной активности в отношении референс-штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий, которая зависела от стабилизирующего полимера и концентрации наноструктур. Среди тестовых штаммов бактерий наибольшая чувствительность к действию исследуемых препаратов установлена для грамположительных бактерий вида *S. aureus* 209 P. Меньшая чувствительность грамотрицательных бактерий *E. coli* ATCC 25922, *P. mirabilis* ATCC 3177 и *K. pneumoniae* ATCC 31488 к действию водных дисперсий наночастиц Ag, возможно, обусловлена спецификой структурной организации их клеточной стенки, наличием внешней мембраны и ограниченной доступностью коллоидных систем серебра для действия на мишени клеток из-за высокомолекулярных стабилизаторов, не способных пройти через пориновые каналы [4, 23]. Наиболее устойчивым к действию водных дисперсий металлических наночастиц оказался стандартный штамм *K. pneumoniae* ATCC 31488, что, вероятно, связано с наличием у клеток истинной капсулы, которая нарушает проникновение наноструктур к мишеням этих бактерий [12, 15].

Наименьшей антимикробной активностью обладали наночастицы серебра, имеющие в составе поверхностно активное вещество олеат натрия. Низкая стабилизирующая способность полимера подтверждена экспериментами по влиянию гидродинамического размера олеата натрия на высокую скорость агрегации наночастиц серебра [5].

Наночастицы серебра, стабилизированные додецилсульфатом натрия, показали высокую эффективность в отношении исследуемых

грамположительных и грамотрицательных бактерий, что, возможно, обусловлено высокой степенью токсичности полимера, данные по которой были получены ранее на биотест-объектах при проведении биотестирования и культурах клеток млекопитающих. Остальные природные и синтетические полимерные стабилизаторы, используемые в работе, по показателям острой токсичности были отнесены к малоопасным соединениям [32, 34].

Детальный анализ биоцидного действия водных дисперсий наночастиц серебра позволил рекомендовать для дальнейших исследований варианты препаратов, в которых в качестве стабилизаторов были использованы синтетические полимеры — поливиниловый спирт и полиазолидинаммоний, модифицированный гидрат-ионами йода. Широкий спектр антимикробной активности, установленный в отношении референс-штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий, и отсутствие токсического действия их рабочих концентраций [16, 17, 31] позволяет рассматривать исследуемые соединения в качестве высокоэффективных и безопасных биоцидных субстанций при разработке антисептических и дезинфицирующих средств, которые могут быть использованы в медико-биологической и ветеринарной практике для профилактики и лечения гнойно-воспалительных заболеваний кожных покровов и мягких тканей.

Заключение

Результаты проведенного исследования позволили установить, что наночастицы серебра в составе водных дисперсий характеризуются высоким уровнем антимикробной активности в отношении широкого спектра грамположительных и грамотрицательных условно-патогенных бактерий — потенциальных возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний. Наиболее выраженный биоцидный эффект отмечен для стандартного штамма *S. aureus* 209 P. Поскольку грамположительные кокки являются значимыми этиологическими агентами гнойно-воспалительных заболеваний кожи и мягких тканей, это определяет дальнейшее применение препаратов на основе наночастиц серебра. Важное значение для проявления антибактериального действия имеет выбор стабилизатора. Среди изученных образцов наноструктур наиболее перспективными оказались препараты серебра, стабилизированные поливиниловым спиртом, додецилсульфатом натрия и ПААГ-М, поскольку даже их низкие рабочие концентрации приводили к гибели клеток большинства исследуемых штаммов бактерий. Ограничивающим фактором приме-

нения в качестве стабилизатора додецилсульфата натрия является его высокая токсичность. Поэтому для разработки высокоэффективных и безопасных препаратов с широким спектром антимикробного действия могут быть исполь-

зованы наночастицы серебра в составе водных дисперсий, в которых в качестве стабилизаторов выступают синтетические полимеры — поливиниловый спирт и полиазолидинаммоний, модифицированный гидрат-ионами йода.

Список литературы/References

1. Александрова В.А., Футорянская А.М., Садыкова В.С. Синтез и антибактериальная активность наночастиц серебра, стабилизированных сукцинамидом хитозана // Прикладная биохимия и микробиология. 2020. Т. 56, № 5. С. 497–502. [Aleksandrova V.A., Futoryanskaya A.M., Sadykova V.S. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles stabilized with chitosan succinamide. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya = Applied Biochemistry and Microbiology*, 2020, vol. 56, no. 5, pp. 497–502. (In Russ.)] doi: 10.31857/S0555109920050025
2. Валуева С.В., Боровикова Л.Н. Влияние природы биологически активного стабилизатора на спектральные и размерные характеристики гибридных селеносодержащих наносистем // Журнал физической химии. 2019. Т. 93, № 1. С. 113–118. [Valueva S.V., Borovikova L.N. Influence of the nature of a biologically active stabilizer on the spectral and dimensional characteristics of hybrid selenium-containing nanosystems. *Zhurnal fizicheskoi khimii = Journal of Physical Chemistry*, 2019, vol. 93, no. 1, pp. 113–118. (In Russ.)] doi: 10.1134/S0044453719010308
3. Валуева С.В., Назарова О.В., Вылегжанина М.Э., Боровикова Л.Н., Золотова Ю.И., Панарин Е.Ф. Медьсодержащие наносистемы на основе высокомолекулярных гидрофильных стабилизаторов // Доклады академии наук. 2019. Т. 489, № 3. С. 254–257. [Valueva S.V., Nazarova O.V., Vylegzhanina M.E., Borovikova L.N., Zolotova Yu.I., Panarin E.F. Copper-containing nanosystems based on high-molecular hydrophilic stabilizers. *Doklady akademii nauk = Reports of the Academy of Sciences*, 2019, vol. 489, no. 3, pp. 254–257. (In Russ.)] doi: 10.31857/S0869-56524893254-257
4. Габриелян Л.С., Трчуян А.А. Антибактериальные свойства наночастиц серебра и мембранотропные механизмы их действия // Журнал Белорусского государственного университета. Биология. 2020. № 3. С. 64–71. [Gabrielyan L.S., Trchunyan A.A. Antibacterial properties of silver nanoparticles and membranotropic mechanisms of their action. *Zhurnal Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Journal of the Belarusian State University. Biology*, 2020, no. 3, pp. 64–71. (In Russ.)] doi: 10.33581/2521-1722-2020-3-64-71
5. Дьяченко С.В., Кондрашкова И.С., Жерновой А.И. Исследование седиментации ферромагнитных наночастиц в магнитной жидкости методом ЯМР // Журнал технической физики. 2017. Т. 87, Вып. 10. С. 1596–1598. [Dyachenko S.V., Kondrashkova I.S., Zhernovoy A.I. Investigation of the sedimentation of ferromagnetic nanoparticles in a magnetic fluid by NMR. *Zhurnal tekhnicheskoi fiziki = Journal of Technical Physics*, 2017, vol. 87, iss. 10, pp. 1596–1598. (In Russ.)] doi: 10.21883/JTF.2017.10.45007.2213
6. Егорова С.А., Кулешов К.В., Кафтырева Л.А., Матвеева З.Н. Чувствительность к антибиотикам, механизмы резистентности и филогенетическая структура популяции *S. typhi*, выделенных в 2005–2018 гг. в Российской Федерации // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 1. С. 99–110. [Egorova S.A., Kuleshov K.V., Kaftyreva L.A., Matveeva Z.N. The antimicrobial susceptibility, resistance mechanisms and phylogenetic structure of *S. typhi* isolated in 2005–2018 in the Russian Federation. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, vol. 10, no. 1, pp. 99–110. (In Russ.)] doi: 10.15789/10.15789/2220-7619-ASM-1171
7. Козлова Н.С., Баранцевич Н.Е., Баранцевич Е.П. Чувствительность к антибиотикам *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в многопрофильном стационаре // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8, № 1. С. 79–84. [Kozlova N.S., Barantsevich N.E., Barantsevich E.P. Susceptibility to antibiotics in *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in a multidisciplinary medical centre. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2018, vol. 8, no. 1, pp. 79–84. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2018-1-79-84
8. Мазитова Г.Т., Киенская К.И., Буторова И.А. Зависимость антимикробной активности нанодисперсий оксида цинка от формы и размера частиц // Журнал прикладной химии. 2020. Т. 93, Вып. 6. С. 823–827. [Mazitova G.T., Kienskaya K.I., Butorova I.A. Dependence of the antimicrobial activity of zinc oxide nanodispersions on the shape and size of particles. *Zhurnal prikladnoi khimii = Journal of Applied Chemistry*, 2020, vol. 93, iss. 6, pp. 823–827. (In Russ.)]
9. Мелешко А.А., Афиногенова А.Г., Афиногенов Г.Е., Спиридонова А.А., Толстой В.П. Антибактериальные неорганические агенты: эффективность использования многокомпонентных систем // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 4. С. 639–654. [Meleshko A.A., Afinogenova A.G., Afinogenov G.E., Spiridonova A.A., Tolstoy V.P. Antibacterial inorganic agents: efficiency of using multicomponent systems. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, vol. 10, no. 4, pp. 639–654. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-AIA-1512
10. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. МУК 4.2.1890-04. Москва: Издательский отдел Федерального центра Госсанэпиднадзора Минздрава РФ, 2004. [Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs. MUK 4.2.1890-04. Moscow: Publishing Department of the Federal Center for Sanitary and Epidemiological Surveillance of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2004. (In Russ.)]
11. Панин А.Н., Комаров А.А., Куликовский А.В., Макаров Д.А. Проблема резистентности к антибиотикам возбудителей болезней, общих для человека и животных // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2017. № 5. С. 18–24. [Panin A.N., Komarov A.A., Kulikovskiy A.V., Makarov D.A. The problem of resistance to antibiotics of pathogens common to humans and animals. *Veterinariya, zootekhnika i biotekhnologiya = Veterinary, Zootechnics and Biotechnology*, 2017, no. 5, pp. 18–24. (In Russ.)]
12. Петрицкая Е.Н., Рогаткин Д.А., Русанова Е.В. Сравнительная характеристика антибактериального действия препаратов серебра и наносеребра in vitro // Альманах клинической медицины. 2016. Т. 44, № 2. С. 221–226. [Petritskaya E.N., Rogatkin D.A., Rusanova E.V. Comparative characteristics of the antibacterial action of silver and nanosilver

- preparations in vitro. *Al'manakh klinicheskoi meditsiny = Almanac of Clinical Medicine*, 2016, vol. 44, no. 2, pp. 221–226 (In Russ.) doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-2-221-226
13. Сазыкин И.С., Хмельцова Л.Е., Селиверстова Е.Ю., Сазыкина М.А. Влияние антибиотиков, используемых в животноводстве, на распространение лекарственной устойчивости бактерий (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2021. Т. 57, № 1. С. 24–35. [Sazykin I.S., Khmelevtsova L.E., Seliverstova E.Yu., Sazykina M.A. Influence of antibiotics used in animal husbandry on the spread of bacterial drug resistance (review). *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya = Applied Biochemistry and Microbiology*, 2021, vol. 57, no. 1, pp. 24–35. (In Russ.)] doi: 10.31857/S0555109921010335
 14. Сухина М.А., Шельгин Ю.А., Пиядина А.Ю., Фельдман Н.Б., Ананян М.А., Луценко С.В., Фролов С.А. Исследование ингибирующего и разрушающего действия препарата наночастиц серебра на биопленки, сформированные клинически значимыми микроорганизмами // Колопроктология. 2019. Т. 18, № 3 (69). С. 56–70. [Sukhina M.A., Shelygin Yu.A., Piyadina A.Yu., Feldman N.B., Ananyan M.A., Lutsenko S.V., Frolov S.A. Study of the inhibitory and destructive effect of a silver nanoparticle preparation on biofilms formed by clinically significant microorganisms. *Koloproktologiya = Coloproctology*, 2019, vol. 18, no. 3 (69), pp. 56–70. (In Russ.)] doi: 10.33878/2073-7556-2019-18-3-56-70
 15. Удегова Е.С., Гильдеева К.А., Рукосуева Т.В., Съед Б. Антибактериальный эффект наночастиц металлов на антибиотикорезистентные штаммы бактерий // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 4. С. 771–776. [Udegova E.S., Gildeeva K.A., Rukosueva T.V., Baker S. Metal nanoparticle antibacterial effect on antibiotic-resistant strains of bacteria. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 4, pp. 771–776. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-MNA-1359
 16. Шульгина Т.А., Зубова К.В., Глинская Е.В., Нечаева О.В., Беспалова Н.В. Сравнительная характеристика антимикробной активности водных дисперсий наночастиц серебра и золота, стабилизированных природными и синтетическими полимерами // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2021. Т. 19, № 4. С. 405–411. [Shulgina T.A., Zubova K.V., Glinskaya E.V., Nechaeva O.V., Bepalova N.V. Comparative characteristics of the antimicrobial activity of aqueous dispersions of silver and gold nanoparticles stabilized by natural and synthetic polymers. *Obzory po klinicheskoi farmakologii i lekarstvennoi terapii = Reviews of Clinical Pharmacology and Drug Therapy*, 2021, vol. 19, no. 4, pp. 405–411. (In Russ.)] doi: 10.17816/RCF194405-411
 17. Шульгина Т.А., Нечаева О.В., Глинская Е.В., Торгашова А.С., Зубова К.В. Оценка влияния наночастиц серебра, стабилизированных полимерными соединениями, на выживаемость штаммов *Staphylococcus aureus* // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, Вып. 3. С. 331–336. [Shulgina T.A., Nechaeva O.V., Glinskaya E.V., Torgashova A.S., Zubova K.V. Evaluation of the effect of silver nanoparticles stabilized by polymeric compounds on the survival of *Staphylococcus aureus* strains. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya. Seriya: Khimiya. Biologiya. Ekologiya = Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 331–336. (In Russ.)] doi: 10.18500/1816-9775-2019-19-3-331-337
 18. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г. Перспективы применения наночастиц металлов для целей регенеративной медицины // Сибирское медицинское обозрение. 2018. Т. 4. С. 31–37. [Shurygina I.A., Shurygin M.G. Prospects for the use of metal nanoparticles for the purposes of regenerative medicine. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie = Siberian Medical Review*, 2018, vol. 4, pp. 31–37. (In Russ.)]
 19. Hamida R.S., Abdelmeguid N.E., Ali M.A., Bin-Meferij M.M., Khalil M.I. Synthesis of silver nanoparticles using a novel *Cyanobacteria desertifilum* sp. extract: their antibacterial and cytotoxicity effects. *Int. J. Nanomedicine*, 2020, vol. 15, pp. 49–63. doi: 10.2147/IJN.S238575
 20. Hasan C.M., Dutta D., Nguyen A.N.T. Revisiting antibiotic resistance: mechanistic foundations to evolutionary outlook. *Antibiotics*, 2021, no. 11: 40. doi: 10.3390/antibiotics11010040
 21. Kyriakidis I., Vasileiou E., Pana Z.D., Tragiannidis A. *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens*, 2021, vol. 10, no. 3: 373. doi:10.3390/pathogens10030373
 22. Kwon J.N., Powderly W.G. The post-antibiotic era is here. *Science*, 2021, vol. 373, iss. 6554, p. 471. doi: 10.1126/science.abl5997
 23. Lee S.H., Jun B.H. Silver nanoparticles: synthesis and application for nanomedicine. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, vol. 20, no. 4, p. 865. doi: 10.3390/ijms20040865
 24. Liao S., Zhang Y., Pan X., Dai G., Wu G., Chen L., Zhu F., Liu Q., Jiang C., Cheng Z., Wang L. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Int. J. Nanomedicine*, 2019, vol. 14, pp. 1469–1487. doi: 10.2147/IJN.S191340
 25. Liu J., Wang Y., Ma J., Peng Y., Wang A. A review on bidirectional analogies between the photocatalysis and antibacterial properties of ZnO. *J Alloys Compd.*, 2019, vol. 783, pp. 898–918. doi: 10.1016/j.jallcom.2018.12.330
 26. Liu X., Shao X., Liu Z., Deng L., Shan K., Shi X., He Y., Jacob J.A. Nanotoxic effects of silver nanoparticles on normal HEK-293 cells in comparison to cancerous HELA cell line. *Int. J. Nanomedicine*, 2021, vol. 16, pp. 753–761. doi: 10.2147/IJN.S289008
 27. Ma C., Yang Z., Wang W., Hao X., Zhang M., Zhu S., Chen S. Fabrication of Ag-Cu₂O/PANI nanocomposites for visiblelight photocatalysis triggering super antibacterial activity. *J. Mater. Chem.*, 2020, vol. 8, pp. 2888–2898. doi: 10.1039/C9TC05891E
 28. Mirjalili A., Zamanian A., Hadavi M.M. TiO₂ nanotubes-polydopamine-silver composites for long-term antibacterial properties: preparation and characterization. *Biomedical Engineering: Applications, Basis and Communications*, 2019, vol. 31, no. 3, pp. 1950023-1–1950023-9. doi: 10.4015/S1016237219500236
 29. Pareek V., Gupta R., Panwar J. Do physico-chemical properties of silver nanoparticles decide their interaction with biological media and bactericidal action? A review. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.*, 2018, no. 90, pp. 739–749. doi: 10.1016/j.msec.2018.04.093
 30. Sánchez-López E., Gomes D., Esteruelas G., Bonilla L., Lopez-Machado A.L., Galindo R., Cano A., Espina M., Ettcheto M., Camins A., Silva A.M., Durazzo A., Santini A., Garcia M.L., Souto E.B. Metal-based nanoparticles as antimicrobial agents: an overview. *Nanomaterials*, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 292–331. doi: 10.3390/nano10020292
 31. Shulgina T.A., Nechaeva O.V., Tikhomirova E.I., Bepalova N.V., Ushakova O.V. Photodynamic aspects of antimicrobial action of silvernanoparticles on *Staphylococcus aureus* strains. *Optical and Nano-Technologies for Biology and Medicine: proc. of Saratov Fall Meeting 2018*, vol. 11065, p. 1106518. doi: 10.1117/12.2522957

32. Shulgina T., Nechaeva O., Torgashova A., Darin N. Using the method of biotesting to assess the toxicity of waste medical and biological practices containing nanomaterials. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, vol. 337: 012012. doi: 10.1088/1755-1315/337/1/012012
33. Vallet-Regí M., González B., Izquierdo-Barbal. Nanomaterials as promising alternative in the infection treatment. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, vol. 20, no. 15: 3806. doi: 10.3390/ijms20153806
34. Verkhovskii R., Kozlova A., Atkin V., Kamyshinsky R., Shulgina T., Nechaeva O. Physical properties and cytotoxicity of silver nanoparticles under different polymeric stabilizers. *Heliyon*, 2019, vol. 5, iss. 3: e01305. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e01305
35. Yang Z., Ma C., Wang W., Zhang M., Hao X., Chen S. Fabrication of Cu₂O-Ag nanocomposites with enhanced durability and bactericidal activity. *J. Colloid Interface Sci.*, 2019, vol. 557, pp. 156–167. doi: 10.1016/j.jcis.2019.09.015
36. Yao S., Feng X., Lu J., Zheng Y., Wang X., Volinsky A.A., Wang L.N. Antibacterial activity and inflammation inhibition of ZnO nanoparticles embedded TiO₂ nanotubes. *Nanotechnology*, 2018, vol. 29, no. 24, pp. 1–29. doi: 10.1088/1361-6528/aabac1
37. Zhao R., Lv M., Li Y., Sun M., Kong W., Wang L., Song S., Fan C., Jia L., Qiu S., Sun Y., Song H., Hao R. Stable nanocomposite based on PEGylated and silver nanoparticles loaded graphene oxide for long-term antibacterial activity. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2017, vol. 9, no. 18, pp. 15328–15341. doi: 10.1021/acsami.7b03987

Авторы:

Нечаева О.В., д.б.н., профессор кафедры экологии и техносферной безопасности Саратовского государственного технического университета им. Ю.А. Гагарина, г. Саратов, Россия;

Шульгина Т.А., биолог отделения лабораторной и функциональной диагностики НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского, г. Саратов, Россия;

Зубова К.В., аспирант кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, Россия;

Глинская Е.В., к.б.н., доцент, доцент кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, Россия;

Беспалова Н.В., к.ф.-м.н., доцент кафедры информационной безопасности автоматизированных систем Саратовского государственного технического университета им. Ю.А. Гагарина, г. Саратов, Россия;

Дарин Н.И., технический директор ООО «М9», г. Саратов, Россия;

Тихомирова Е.И., зав. кафедрой экологии и техносферной безопасности Саратовского государственного технического университета им. Ю.А. Гагарина, г. Саратов, Россия;

Афиногенова А.Г., д.б.н., ведущий научный сотрудник, руководитель испытательного лабораторного центра ФБУН НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Nechaeva O.V., PhD, MD (Biology), Professor of the Department of Ecology and Technosphere Safety, Yuri Gagarin State Technical University of Saratov, Saratov, Russian Federation;

Shulgina T.A., Biologist, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Saratov, Russian Federation;

Zubova K.V., Graduate Students, Department of Microbiology and Plant Physiology, Saratov State University, Saratov, Russian Federation;

Glinkaya E.V., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology and Plant Physiology, Biological Faculty, Saratov State University, Saratov, Russian Federation;

Bespalova N.V., PhD (Physics and Mathematics), Associate Professor, Department of Information Security of Automated Systems, Yuri Gagarin State Technical University of Saratov, Saratov, Russian Federation;

Darin N.I., Technical Director, LLC "M9", Saratov, Russian Federation;

Tichomirova E.I., PhD, MD (Biology), Professor, Head of the Department of Ecology and Technosphere Safety, Yuri Gagarin State Technical University of Saratov, Saratov, Russian Federation;

Afinogenova A.G., PhD, MD (Biology), Leading Researcher, Head of Laboratory Testing Centre, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

TYPE OF CERCARIA IN FRESHWATER SNAILS AT TUNGGU PAMPANG RESERVOIR, MAKASSAR CITY, INDONESIA

A.R. Jabal^a, D. Mutiasari^a, H. Akbar^b, M. Arfah^c, Marhani^c, Rini^c, N.A. Sobak^c, A.J. Pisu^c, A.I. Toemon^a, A. Ratnasari^a

^a Palangka Raya University, Palangka Raya, Indonesia

^b Graha Medika Institute of Health Technology, Kotamobago, Indonesia

^c Megarezky University, Makassar, Indonesia

Abstract. The Tunggu Pampang Reservoir is one of the reservoirs located in the city of Makassar. The functions of the reservoir area was tourist attractions and fish farming locations so that the local community uses them for swimming, fishing, selling, and gardening. The existence of various types of freshwater snails in the reservoir has the potential to act as intermediate hosts for trematodes in animals and humans. This study aimed to analyze the type of cercariae in freshwater snails. This research is a descriptive survey to determine the distribution of trematode larvae. The stages of this research began with the snails were collected from Tunggu Pampang Reservoir, Makassar City. Freshwater snails were collected at several points in the reservoir. Freshwater snail collection using hand collecting method. The snails were put into a plastic bag with different types of snails and site of collection. The collected samples and cercariae were examined in the Tropical Disease Laboratory of the Study Program of DIII Medical Laboratory Technology, Megarezky University, South Sulawesi, Indonesia. Freshwater snails are placed on a petri dish and their shells were gently crushed with a stamper. Dropped with aquadest on the crushed snail shell. The next step was observed using a microscope to determine the presence of cercariae. Cercariae found then identified according to morphological classification as previously study. A total number of 500 freshwater snail were collected in Tunggu Pampang Reservoir. The results showed that overall snails infected with cercariae was 33,4%. The highest prevalence of cercariae in *Indoplanorbis exustus* was 94.3%. Total of *Echinostoma* cercariae found (n = 224) compared to furcocercous cercariae (n = 5). Cercariae of *Echinostoma* sp., *Fasciola gigantica*, *Fasciolopsis buski* living in Tunggu Pampang Reservoir can cause diseases in humans and animals. Larval trematodes can be controlled in snails using reducing parasite contamination, monitoring surveillance, information dissemination, and preventive education.

Key words: cercariae, freshwater, snail, reservoir, Makassar, Indonesia.

ТИП ЦЕРКАРИЙ В ПРЭСНОВОДНЫХ УЛИТКАХ ВОДОХРАНИЛИЩА ТУНГУ ПАМПАНГ, ГОРОД МАКАССАР, ИНДОНЕЗИЯ

Джабал А.Р.¹, Мутиасари Д.¹, Акбар Х.², Арфах М.³, Мархани³, Рини³, Собак Н.А.³, Пису А.Д.³, Тоэмон А.И.¹, Ратнасари А.¹

¹ Университет Палангка Райя, Палангка Рая, Индонезия

² Институт технологий здравоохранения Граха Медика, Котамобаго, Индонезия

³ Мегарезский университет, Макассар, Индонезия

Резюме. Водоохранилище Тунггу Пампанг — одно из водоохранилищ, расположенных в городе Макассар, являющегося туристической достопримечательностью и местом разведения рыбы, используемым местным

Адрес для переписки:

Ариф Рахман Джабал
73112, Индонезия, Палангка Райя, Jl Йос Сударсо,
Университет Палангка Райя.
Тел.: +6282252301538. E-mail: arifrjabal@med.upr.ac.id

Contacts:

Arif Rahman Jabal
73112, Indonesia, Palangka Raya, Jl. Yos Sudarso,
Palangka Raya University.
Tel.: +6282252301538. E-mail: arifrjabal@med.upr.ac.id

Для цитирования:

Джабал А.Р., Мутиасари Д., Акбар Х., Арфах М., Мархани, Рини, Собак Н.А., Пису А.Д., Тоэмон А.И., Ратнасари А. Тип церкарий в пресноводных улитках водоохранилища Тунгу Пампанг, город Макассар, Индонезия // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4. С. 765–770. doi: 10.15789/2220-7619-TCI-1700

Citation:

Jabal A.R., Mutiasari D., Akbar H., Arfah M., Marhani, Rini, Sobak N.A., Pisu A.J., Toemon A.I., Ratnasari A. Type of cercaria in freshwater snails at Tunggu Pampang reservoir, Makassar City, Indonesia // Russian Journal of Infection and Immunity = Infeksiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 765–770. doi: 10.15789/2220-7619-TCI-1700

населением для купания, рыбалки, продажи и садоводства. Существующие в водоеме различные виды пресноводных улиток может выступать в качестве промежуточных хозяев для трематод у животных и людей. Настоящее исследование было направлено на анализ типа церкарий у пресноводных улиток. Это исследование представляет собой описательный обзор для определения распределения личинок трематод. Исследование заключалось в сборе улиток в нескольких точках водохранилища Тунгу Пампанг, город Макаassar. Сбор улиток пресной воды осуществлялся ручным методом. Улиток помещали в полиэтиленовый пакет с разными видами улиток из определенного места сбора. Собранные образцы и церкарии были исследованы в Лаборатории тропических болезней Программы исследований ДПП Медицинской лаборатории технологий, Университет Мегарежки, Южный Сулавеси, Индонезия. Пресноводных улиток помещали в чашку Петри и осторожно измельчали их раковины с помощью ступки, капали вакуумный испаритель на раздавленную раковину улитки. Далее под микроскопом определяли наличие церкарий, которые были идентифицированы в соответствии с морфологической классификацией, как в предыдущем исследовании. Всего в водохранилище Тунгу Пампанг было собрано 500 пресноводных улиток. Результаты показали, что общее количество улиток, инфицированных церкариями, составило 33,4%. Самая высокая распространенность церкарий у улиток *Indoplanorbis exustus* составила 94,3%. Всего обнаружено 224 эхиностомных церкарий по сравнению с 5 фуркоцеркозными церкариями. Церкарии *Echinostoma* sp., *Fasciola gigantica*, *Fasciolopsis buski*, обитающих в водохранилище Тунгу Пампанг, способны вызывать заболевания человека и животных. С трематодами личинок у улиток можно бороться с помощью снижения заражения паразитами, мониторинга, распространения информации и профилактического просвещения.

Ключевые слова: *Cercariae*, пресная вода, улитка, водохранилище, Макаassar, Индонезия.

Introduction

The Tunggu Pampang Reservoir is one of the reservoirs located in the city of Makassar. The reservoir is used as a water catchment area. The reservoir is located in Manggala Sub-district, Makassar City. Other functions of the reservoir area was tourist attractions and fish farming locations so that the local community uses them for swimming, fishing, selling, and gardening. According to Selmi et al. (2019) anthropogenic loads such as ammonia (0.4127), nitrite (0.0397), lead (0.002), cadmium (0.003). Measurement of water temperature of 25–27°C, pH 8.3, Dissolved Oxygen (Do) of 5.9 mg/L [20]. All parameters are classified as normal in the Tunggu Pampang Reservoir. Apart from fish, there are several species of snails found in the reservoir. Several species of snails as intermediate hosts of helminth in animals and humans [14].

This infection occurs through a water medium. Snail species that can be intermediate hosts, such as *Brotia* sp., *Gyraulus* sp., *Bellamya* sp., *Melanoides* sp., *Indoplanorbis* sp., *Lymnaea rubiginosa* and *Biomphalaria* sp. [1, 7]. Helminth that can infect snails are one of the trematodes. This infection occurs through the intermediary of water. According to Malatji et al. (2019), lymnaeidae species snail is an intermediate host for trematodes in humans and livestock, especially *Fasciola* sp. [15].

Trematode larvae residing in the snails are sporocysts, redia, and cercariae. Various types of cercariae that infect on snails. According to Ngern-Klun et al. (2006), type of cercariae is virgulate, lophocercous, monostome, and wer [18]. According to Chontanarith and Wongsawad (2013) type

is furcocercous cercaria, megalurous cercaria and gymnocephalous cercaria [7].

The water comes from several sub-districts in the Makassar and parts of the Gowa regency to the Tunggu pampang reservoir. The existence of various types of freshwater snails in the reservoir has the potential to act as intermediate hosts for trematodes. Therefore, a study was conducted on the presence of cercariae in freshwater snails. There is no data on the type of cercariae in snails in Tunggu Pampang Reservoir.

Materials and methods

This research is a descriptive survey to determine the distribution of trematode larvae in the Tunggu Pampang Reservoir. The stages of this research began with sample collection in the field and laboratory examinations. This research was conducted from January to June 2018. This research was conducted at the Tropical Disease Laboratory of Departemen DIII Medical Laboratory Technology, Faculty of Health Technology, Megarezky University.

Freshwater snails were collected at several points in the reservoir. Snail collection using hand collecting method. The snails were put into a plastic bag with different types of snails and site of collection. Snails identified refer to Chontanarith and Wongsawad (2013) [7]. Freshwater snails are placed on a petri dish and gently crushed by the snail shells using a stamper. Dropped with aquadest on the crushed snail shell. The next step was observed using a microscope to determine the presence of cercariae. Cercariae found then identified according to morphological classification as previously study [6, 9, 23].

Table 1. The number of cercariae infections in snails

Snails species	Number examined	Infected snails (n)		Larva trematode (n)		
		–	+	Sporocysts	Redia	Cercariae
<i>Pila</i> sp.	100	97	3	2	5	0
<i>Bellamya</i> sp.	100	70	30	3	45	1
<i>Lymnaea rubiginosa</i>	100	66	34	19	35	7
<i>Indoplanorbis exustus</i>	100	40	60	6	298	216
<i>Melanoides</i> sp.	100	60	40	16	90	5
Total	500	333	167	46	473	229

Results

A total number of 500 snail were collected at Tunggu Pampang reservoir in Manggala Sub-district, Makassar. Snails classified into 5 genera, including *Ampullariidae* (*Pila* sp.), *Viviparidea* (*Bellamya* sp.), *Lymnaeidae* (*Lymnaea rubiginosa*), *Planorbidae* (*Indoplanorbis exustus*), and *Thiaridae* (*Melanoides* sp.) (Fig. 1). All collected snail species found trematode larvae in Tunggu Pampang reservoir. The results showed that overall snails infected with cercariae was 33.4% (167/500).

Species of snails, such as *Pila* sp., *Bellamya* sp., *Lymnaea rubiginosa*, *Indoplanorbis exustus*, and *Melanoides* sp., found sporocysts, redia, and cercariae in Tunggu Pampang Reservoir (Fig. 2, see color plate, p. II). The highest prevalence of cer-

cariae in *Indoplanorbis exustus* was 94.3% (216/229) compared to cercariae in other species of snails (Table 1).

Type of cercariae dominated echinostome than furcocercous. *Echinostome cercariae* found in *Bellamya* sp., *Lymnaea rubiginosa*, and *Indoplanorbis exustus*, while furcocercous cercariae found in one types of snail, such us, *Melanoides* sp. Total of *Echinostome cercariae* found (n = 224) compared to furcocercous cercariae (n = 5) in all snail (Table 2).

Discussion

Almost all mollusks that have the role of intermediate host for trematode are freshwater snails. The overall of trematode life cycle begun fecal

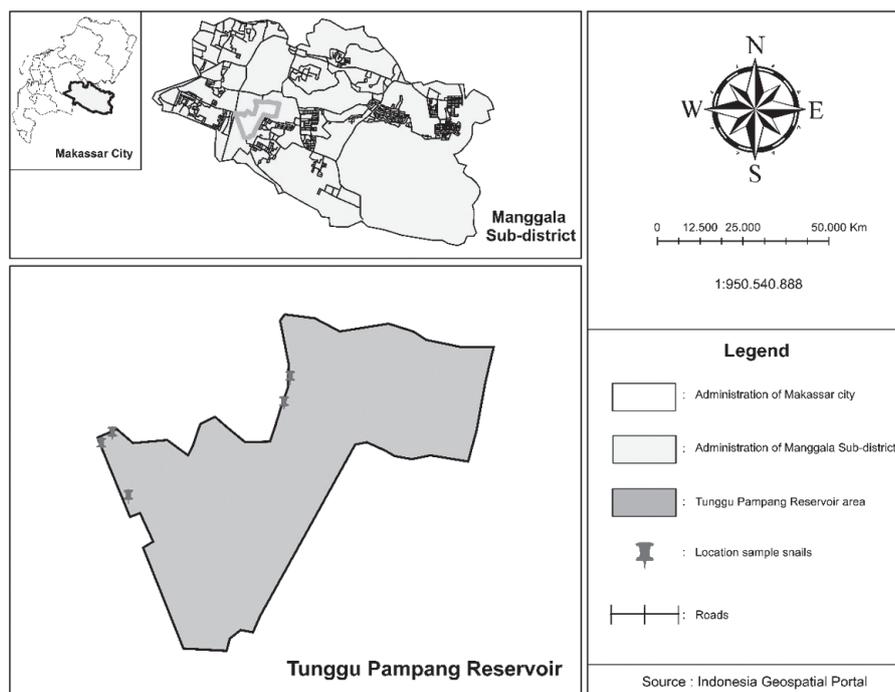


Figure 1. Map of the sampling sites

Table 2. Type of cercariae infections in snails

Snails species	Type cercariae (n)	
	Echinostome	Furcocercous
<i>Pila</i> sp.	0	0
<i>Bellamya</i> sp.	1	0
<i>Lymnaea rubiginosa</i>	7	0
<i>Indoplanorbis exustus</i>	216	0
<i>Melanoides</i> sp.	0	5
Total	224	5

mammals or human containing trematode eggs in water develop into miracidium. Miracidium enters the body of the snail and transform into sporocyst, redia, and cercariae. Cercariae infected humans in water through skin pores or become metacercariae and adhere to aquatic plants.

This study was the first known report on cercariae infection in snails freshwater at Tunggu Pampang Reservoir, Makassar City. Species snail found at Tunggu Pampang Reservoir was *Pila* sp., *Bellamya* sp., *Lymnaea rubiginosa*, *Indoplanorbis exustus*, and *Melanoides* sp. According to Chontanarith et al. (2013); Chontanarith et al. (2017) and Dodangeh et al. (2019), infected snail species, such as *Pila* sp., *Pomacea* sp., *Indoplanorbis exustus*, *Lymnaea auricularia*, *Melanoides tuberculata* and *Bellamya bengalensis* [6, 7, 8].

This study showed that all species of snails found sporocysts, redia, and cercariae. Total prevalence of cercariae infection found in Tunggu Pampang Reservoir (45.8%) as similar to that of the previous report by Anucherngchai et al. (2016) in Chao-Phraya Basin, Central Thailand, which the prevalence of cercariae infection at 5.90% [1]. According to Anucherngchai et al. (2017) overall prevalence cercariae was 7.92 in the snail intermediate hosts from Ratchaburi Province, Thailand [2]. Percentage of prevalence cercariae was 2.57 in Laguna, Philippines [19]. The findings of cercariae in various types of snails in Tunggu Pampang Reservoir because many aquatic plants such as water hyacinth in several sites in the reservoir. The community around cultivated certain parts of the Tunggu Pampang Reservoir. Aquatic plants near the reservoir are feed for freshwater snails.

The highest quantity of cercariae found in *Indoplanorbis exustus* was 94.3% (216/229). According to Chontanarith et al. (2017), the prevalence of cercariae in the snails *Indoplanorbis exustus* was 0.64% [6]. Cercariae infected *Indoplanorbis exustus* snails was 4.9% [1]. According to Chontanarith and Wongsawad (2013), cercariae infected *Indoplanorbis exustus* was 0.2% [7]. The location of *Indoplanorbis*

exustus, snail collection is close to an aquatic plant was water hyacinth on the side of Tunggu Pampang reservoir. The existence of *Indoplanorbis exustus* in the Tunggu Pampang Reservoir probably originated from the water of Pampang canal, Gowa canal, and Perumnas canal that accommodated in the reservoir. The function of the Tunggu Pampang Reservoir prevent flooding in parts of Makassar City and Gowa Regency.

There are two type of cercariae were found in snails. The difference of cercariae based on morphologically, place and number of sucker. The types of cercariae found are echinostome and furcocercous. *Echinostome cercariae* (n = 224) predominated compared to furcocercous cercariae (n = 5) found in snails. *Echinostome cercariae* found the body snails, such as *Bellamya* sp., *Lymnaea rubiginosa*, and *Indoplanorbis exustus*. *Echinostome cercariae* body is long shape. The oral sucker is round in shape and position on the sub-terminal part of the body and has collar spines. The position of the ventral sucker is two-thirds down the end of the body. The tail is thin and almost the same length as the body cercariae [6]. According to Martin et al. (2018) the adult trematode species of *Echinostome cercariae* was *Echinostoma* sp. found in Barangay Cawongan, Philippines [16]. According to Mareta et al. (2019) *Echinostome cercariae* causes echinostomiasis in humans and livestock [17]. According to Hairani et al. (2016) and Hairani et al. (2018), *Echinostome cercariae* confirmed as *Fasciola gigantica*, *Fasciolopsis buski* in Hulu Sungai Utara Regency, South Kalimantan [12, 13]. Humans infected *Echinostoma* sp., *Fasciola gigantica*, and *Fasciolopsis buski* because of consumption of undercook aquatic plants, fish, snail. Humans are infected with trematode because cercariae enters to skin pores through fishing, swimming, and farming in Tunggu Pampang Reservoir.

In this study, furcocercous cercariae was only found in *Melanoides* sp. This snail is medically important because they serve as the intermediate host for intestinal trematodes [4]. *Melanoides* sp. is an intermediate host of paragonimiasis and digestive trematodes. The body of furcocercous cercariae is long, flat, and oval shaped. The oral sucker is located in the front of the body. Position of ventral sucker at two-thirds of its body-length. The tail of this cercariae is longer than the body and divisible into two furca [1]. According to Anucherngchai et al. (2017), furcocercous cercariae found in Ratchaburi Province, Thailand, and Yousif et al. (2010) furcocercous cercariae were also found in Egypt, respectively in *Melanoides tuberculata* [2, 24]. Furcocercous cercariae can develop into the trematode of family cyathocotylidae [6]. Adult Trematode stages of furcocercous cercariae are strigeidae, diplostomidae, schistosomatidae and sanguinicolidae [10].

M. tuberculata snails and their potential of zoonosis diseases such as heterophyiasis, schistosoma dermatitis, echinostomiasis, and philophthalmiasis in humans and animals [11].

The presence of cercariae can infect human skin that works in the water of the Tunggu Pampang Reservoir. Diseases caused by cercariae infections such as fasciolopsiasis and echinostomiasis. Symptoms of fasciolopsiasis include minor infections such as anemia, eosinophilia, dizziness, and gastrointestinal disorders. Moderate and severe infections occur when parasites on the colon and stomach. A patient has epigastric pain, diarrhea, nausea, acute ileus, anasarca, leucocytosis with

eosinophilia [3, 21]. Pain caused by echinostomiasis is epigastric, fatigue, diarrhea, and weight loss. Patients infected with echinostomiasis experience acid reflux, anorexia, headaches, nausea and vomiting, and urinary incontinence [5, 22].

In summary, the highest quantity of *Echinostome cercariae* found in *Indoplanorbis exustus* at Tunggu Pampang Reservoir. This cercariae potential for establishment of zoonosis diseases, such as *Echinostoma* sp., *Fasciola gigantica*, *Fasciolopsis buski* in human and animal. Larval trematodes can be controlled in snails using reducing parasite contamination, monitoring surveillance, information dissemination, and preventive education.

References

- Anucherngchai S., Tejangkura T., Chontanarith T. Epidemiological situation and molecular identification of cercarial stage in freshwater snails in Chao-Phraya Basin, Central Thailand. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 2016, vol. 6, pp. 539–535.
- Anucherngchai S., Tejangkura T., Chontanarith T. Molecular confirmation of trematodes in the snail intermediate hosts from Ratchaburi Province, Thailand. *Asian Pacific J. Trop. Dis.*, 2017, vol. 7, pp. 286–292.
- Bhattacharjee H.K., Yadav D., Bagga D. Fasciolopsiasis presenting as intestinal perforation: a case report. *Trop. Gastroenterol.*, 2009, vol. 30, no. 1, pp. 40–41.
- Bogéa T., Cordeiro F.M., Gouveia J.S. *Melanoides tuberculatus* (Gastropoda: Thiariidae) as intermediate host of Heterophyidae (Trematoda: Digenea) in Rio de Janeiro metropolitan area, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, 2005, vol. 47, no. 2, pp. 87–90. doi: 10.1590/s0036-46652005000200005
- Chang Y.D., Sohn W.M., Ryu J.H., Kang S.Y., Hong S.J. A human infection of *Echinostoma hortense* in duodenal bulb diagnosed by endoscopy. *Korean J. Parasitol.*, 2005, vol. 43, no. 2, pp. 57–60. doi: 10.3347/kjp.2005.43.2.57
- Chontanarith T., Tejangkura T., Wetchasart N., Chimburt C. Morphological characteristics and phylogenetic trends of trematode cercariae in freshwater snails from Nakhon Nayok Province, Thailand. *Korean J. Parasitol.*, 2017, vol. 55, no. 1, pp. 47–54. doi: 10.3347/kjp.2017.55.1.47
- Chontanarith T., Wongsawad C. Epidemiology of cercarial stage of trematodes in freshwater snails from Chiang Mai province, Thailand. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 2013, vol. 3, no. 3, pp. 237–243. doi: 10.1016/S2221-1691(13)60058-1
- Dodangeh S., Daryani A., Sharif M., Gholami S., Kialashaki E., Moosazadeh M., Sarvi S. Freshwater snails as the intermediate host of trematodes in Iran: a systematic review. *Epidemiol. Health.*, 2019, vol. 41: e2019001. doi: 10.4178/epih.e2019001
- Dunghungzin C., Chontanarith T. The prevalence of cercarial infection and development of a duplex PCR for detection of the cercarial stage of *Haplorchis taichui* and *H. pumilio* in first intermediate hosts from Chai Nat province, Thailand. *Acta Trop.*, 2021, vol. 214: 105795. doi: 10.1016/j.actatropica.2020.105795
- Faltýnková A., Niewiadomska K., Santos M.J., Valtonen E.T. Furcocercous cercariae (Trematoda) from freshwater snails in Central Finland. *Acta Parasitol.*, 2007, vol. 52, pp. 310–317.
- Ghobadi H., Farahnak A. A faunistic survey on the cercariae of *Bellamya* (*Viviparus*) *bengalensis* snails and their zoonotic importance. *Iran J. Public Health*, 2004, vol. 33, no. 2, pp. 38–42.
- Hairani B., Aninda A., Hidayat S., Fakhrizal D. Identifikasi Serkaria *Fasciolopsis buski* dengan PCR untuk Konfirmasi Hospes Perantara di Kabupaten Hulu Sungai Utara, Kalimantan Selatan, Indonesia. *Balaba*, 2016, vol. 12, no. 1, pp. 7–14. doi: 10.22435/blb.v12i1.687
- Hairani B., Fakhrizal D. Identifikasi Serkaria Trematoda dan Keong Hospes Perantara pada Ekosistem Perairan Rawa Tiga Kabupaten di Kalimantan Selatan. *J. Vektor Penyakit.*, 2017, vol. 11, no. 1, pp. 1–8. doi:10.22435/vektor.v11i1.6084.1-8
- Madsen H., Hung N.M. An overview of freshwater snails in Asia with main focus on Vietnam. *Acta Trop.*, 2014, vol. 140, pp. 105–117. doi: 10.1016/j.actatropica.2014.08.005
- Malatji M.P., Pfukenyi D.M., Mukaratirwa S. *Fasciola* species and their vertebrate and snail intermediate hosts in East and Southern Africa: a review. *J. Helminthol.*, 2019, vol. 94: e63. doi: 10.1017/S0022149X19000531
- Martin I.G.L., Cabrera E.C. Morphological characterization of emerging cercariae among lymnaeid snails from Barangay Cawongan, Padre Garcia, Batangas, Philippines. *J. Parasitol. Res.*, 2018, vol. 2018: 5241217. doi: 10.1155/2018/5241217
- Mereta S.T., Bedewi J., Yewhalaw D., Mandefro B., Abdie Y., Tegegne D., Birke W., Mulat W.L., Kloos H. Environmental determinants of distribution of freshwater snails and trematode infection in the Omo Gibe River Basin, southwest Ethiopia. *Infect. Dis. Poverty.*, 2019, vol. 8, no. 1: 93. doi: 10.1186/s40249-019-0604-y
- Ngern-klun R., Sukontason K.L., Tesana S., Sripakdee D., Irvine K.N., Sukontason K. Field investigation of *Bithynia funiculata*, intermediate host of *Opisthorchis viverrini* in northern Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 2006, vol. 37, no. 4, pp. 662–672.
- Paller V.G.V., Macaraig J.R.M., Verona R.T., Estaña L.A. Cercarial fauna of freshwater snails in selected agricultural areas in Laguna, Philippines. *Helminthologia*, 2019, vol. 56, no. 1, pp. 81–86. doi: 10.2478/helm-2018-0040
- Selmi S., Wiharto W., Patang P. Analisis Air, Substrat Tanah dan Cemar Logam Berat Timbal (Pb) dan Cadmium (Cd) Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Pada Waduk Tunggu Pampang Kelurahan Bitoa, Kota Makassar. *J. Pendidik. Teknol. Pertan.*, 2019, vol. 5, no. 2, pp. 36–46. doi: 10.26858/jptp.v5i2.9626

21. Singh U.C., Kumar A., Srivastava A., Patel B., Shukla V.K., Gupta S.K. Small bowel stricture and perforation: an unusual presentation of Fasciolopsis buski. *Trop. Gastroenterol.*, 2011, vol. 32, no. 4, pp. 320–322.
22. Toledo R., Esteban J.G. An update on human echinostomiasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2016, vol. 110, no.1, pp. 37–45. doi: 10.1093/trstmh/trv099
23. Waikagul J., Thaenkham U. Collection of fish-borne trematode Cercaria. In: Approaches to Research on the Systematics of Fish-Borne Trematodes. *Academic Press*, 2014, pp. 39–47.
24. Yousif F., Ibrahim A., El Bardicy S., Sleem S., Ayoub M. Morphology of new eleven cercariae procured from Melanoides tuberculata snails in Egypt. *Aust. J. Basic. Appl. Sci.*, 2010, vol. 4, no. 6, pp. 1482–1484.

Авторы:

Джабал А.Р., бакалавр наук, магистр наук, кафедра паразитологии, медицинский факультет, Университет Палангка Райя, Палангка Райя, Индонезия;

Мутиасари Д., доктор медицины, магистр общественного здравоохранения, кафедра общественного здравоохранения, медицинский факультет, Университет Палангка Райя, Палангка Райя, Индонезия;

Акбар Х., бакалавр общественного здравоохранения, магистр общественного здравоохранения, учебная программа общественного здравоохранения, Институт медицинских технологий Graha Medika, Котамобого, Индонезия;

Арфак М., бакалавр по специальности «Медицинские лабораторные технологии», учебная программа «Медицинские лабораторные технологии DIII», факультет медицинских технологий, Университет Мегарезки, Макаassar, Индонезия;

Мархани, бакалавр по специальности «Медицинские лабораторные технологии», учебная программа DIII «Медицинские лабораторные технологии», факультет медицинских технологий, Университет Мегарезки, Макаassar, Индонезия;

Рини, бакалавр по специальности «Медицинские лабораторные технологии», учебная программа DIII «Медицинские лабораторные технологии», факультет медицинских технологий, Университет Мегарезки, Макаassar, Индонезия;

Собак Н.А., бакалавр по специальности «Медицинская лабораторная технология», учебная программа DIII «Медицинская лабораторная технология», факультет медицинских технологий, Университет Мегарезки, Макаassar, Индонезия;

Пису А.Я., бакалавр по специальности «Медицинская лабораторная технология», учебная программа DIII «Медицинская лабораторная технология», факультет медицинских технологий, Университет Мегарезки, Макаassar, Индонезия;

Тоэмон А.И., доктор медицины, кафедра паразитологии, медицинский факультет, Университет Палангка Райя, Палангка Райя, Индонезия;

Ратнасари А., бакалавр общественного здравоохранения, кафедра паразитологии медицинского факультета Университета Палангка Райя, Палангка Райя, Индонезия.

Authors:

Jabal A.R., Bachelor of Sciences, Masters of Sciences, Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Palangka Raya University, Palangka Raya, Indonesia;

Mutiasari D., MD, Master of Public Health, Department of Public Health, Faculty of Medicine, Palangka Raya University, Palangka Raya, Indonesia;

Akbar H., Bachelor of Public Health, Master of Public Health, Study Program of Public Health, Graha Medika Institute of Health Technology, Kotamobago, Indonesia;

Arfah M., Bachelor of Vocation Medical Laboratory Technology, Study Program of DIII Medical Laboratory Technology, Faculty of Health Technology, Megarezky University, Makassar, Indonesia;

Marhani, Bachelor of Vocation Medical Laboratory Technology, Study Program of DIII Medical Laboratory Technology, Faculty of Health Technology, Megarezky University, Makassar, Indonesia;

Rini, Bachelor of Vocation Medical Laboratory Technology, Study Program of DIII Medical Laboratory Technology, Faculty of Health Technology, Megarezky University, Makassar, Indonesia;

Sobak N.A., Bachelor of Vocation Medical Laboratory Technology, Study Program of DIII Medical Laboratory Technology, Faculty of Health Technology, Megarezky University, Makassar, Indonesia;

Pisu A.J., Bachelor of Vocation Medical Laboratory Technology, Study Program of DIII Medical Laboratory Technology, Faculty of Health Technology, Megarezky University, Makassar, Indonesia;

Toemon A.I., MD, Sp. ParK, Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Palangka Raya University, Palangka Raya, Indonesia;

Ratnasari A., Bachelor of Public Health, Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Palangka Raya University, Palangka Raya, Indonesia.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ «N-CoV-2-IgG PS» ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ IgG ЧЕЛОВЕКА К НУКЛЕОКАПСИДНОМУ БЕЛКУ SARS-CoV-2

Е.В. Зуева¹, Н.Н. Беляев¹, В.Н. Вербов¹, И.В. Лихачев¹, И.А. Бачинин¹,
И.В. Хамитова¹, З.Р. Коробова^{1,2}, Н.А. Арсентьева¹, А.А. Тотолян^{1,2}

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

² ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика Павлова
Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Подтверждение наличия антител, специфичных к коронавирусу SARS-CoV-2, важно для выявления иммунного ответа у лиц, переболевших COVID-19, а также для проведения популяционных исследований путем скрининга антител на предмет определения частоты заражения COVID-19. Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера первым в России разработал иммуноферментный набор реагентов «N-CoV-2-IgG PS» для количественного определения IgG человека к нуклеокапсидному белку SARS-CoV-2. Оценка количества антител осуществлялась в условных единицах (УЕ/мл). В связи с созданием Первого Международного стандарта для количественного определения иммуноглобулинов к SARS-CoV-2, нами был проведен пересчет единиц УЕ/мл в международные единицы ВАУ/мл. Сопоставление калибровочных проб набора с калибровочной кривой Международного стандарта показало полную связь между ними ($r = 0,999$, $R^2 = 0,997$), при этом коэффициент пересчета определен как 1ВАУ/мл = 5,97 УЕ/мл. Цель данного сообщения — представить характеристики количественного набора реагентов «N-CoV-2-IgG PS», провести сравнение результатов количественного ИФА с качественным ИФА, оценить корреляционную связь между N-антиген-связывающими антителами с SARS-CoV-2-нейтрализующими антителами. Данные корреляционного анализа показали статистически значимую связь между количественными значениями антител и титрами антител ($r = 0,8436$, $R^2 = 0,7802$) и существенное различие между концентрациями антител и значениями индекса позитивности качественного набора ($r = 0,6648$, $R^2 = 0,3307$) при параллельном исследовании 83 образцов плазмы крови пациентов, переболевших COVID-19. Сравнение значений концентраций связывающих антител с титрами нейтрализующих антител показало статистически значимую сопоставимость результатов количественного теста и теста микронейтрализации вируса ($r = 0,7310$, $R^2 = 0,6527$) при параллельном исследовании 80 образцов плазмы крови реконвалесцентов и больных COVID-19. Значение AUC под ROC кривой составило 0,71 ($P < 0,0001$), что свидетельствует о приемлемой информативности набора «N-CoV-2-IgG PS» по отношению его к тесту микронейтрализации. Эффективность разработанного набора составила 95%, а положительная и отрицательная прогностические ценности составили 97 и 87%. Результаты исследования подтвердили наличие корреляции N-белок-связывающих

Адрес для переписки:

Зуева Елена Викторовна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 921 382-50-07 (моб.).
E-mail: elenazueva9@gmail.com

Contacts:

Elena V. Zueva
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St.Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 921 382-50-07 (mobile).
E-mail: elenazueva9@gmail.com

Для цитирования:

Зуева Е.В., Беляев Н.Н., Вербов В.Н., Лихачев И.В., Бачинин И.А.,
Хамитова И.В., Коробова З.Р., Арсентьева Н.А., Тотолян А.А.
Характеристика набора реагентов «N-CoV-2-IgG PS» для
количественного определения IgG человека к нуклеокапсидному белку
SARS-CoV-2 // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4. С. 771–778.
doi: 10.15789/2220-7619-CAN-1904

Citation:

Zueva E.V., Belyaev N.N., Verbov V.N., Likhachev I.V., Bachinin I.A.,
Khamitova I.V., Korobova Z.R., Arsentieva N.A., Totolian A.A. Characterizing
a "N-CoV-2-IgG PS" diagnostic kit to quantify SARS-CoV-2 nucleocapsid
protein-specific human IgG antibodies // Russian Journal of Infection
and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 771–778.
doi: 10.15789/2220-7619-CAN-1904

антител с титрами нейтрализующих антител. Проверка межтестовой согласованности свидетельствовала о приемлемости показателей информативности и эффективности набора «N-CoV-2-IgG PS», что подтвердило возможность использования его для скрининга IgG-антител и оценки серопревалентности в разных группах населения.

Ключевые слова: COVID-19, ИФА-наборы, N-белок SARS-CoV-2, единицы BAU/мл, N-белок-связывающие антитела, нейтрализующие антитела, анализ антител.

CHARACTERIZING A “N-CoV-2-IgG PS” DIAGNOSTIC KIT TO QUANTIFY SARS-CoV-2 NUCLEOCAPSID PROTEIN-SPECIFIC HUMAN IgG ANTIBODIES

Zueva E.V.^a, Belyaev N.N.^a, Verbov V.N.^a, Likhachev I.V.^a, Bachinin I.A.^a, Khamitova I.V.^a, Korobova Z.R.^{a,b}, Arsentieva N.A.^a, Totolian A.A.^{a,b}

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

^b Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Confirming detected SARS-CoV-2-specific antibodies is necessary to reveal immune response in COVID-19 convalescent subjects as well as to conduct population studies by screening for specific antibodies to assess rate of COVID-19 prevalence. With this purpose St. Petersburg Pasteur Institute was the first in Russia to develop the ELISA kit for the quantitative determination of human IgG to the SARS-CoV-2 nucleocapsid (N-CoV-2-IgG PS). Arbitrary units (AU/ml) were used to assess the level of antibodies. The data shown in AU/ml were recalculated later to the international units (BAU/ml) in accordance with established the First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 human Immunoglobulin. Comparing the data of the N-CoV-2-IgG PS calibration curve with those of the First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 human Immunoglobulin revealed a complete inter-assay association ($r = 0.999$, $R^2 = 0.997$) allowing to find that 1BAU/ml = 5.97 AU/ml. The aim of the study was to characterize the “SARS-CoV-2 protein N Human IgG Quantitative ELISA Kit” (N-CoV-2-IgG PS), compare quantitative and qualitative data of ELISA kits, assess a correlation between the binding antibodies to SARS-CoV-2 N proteins and the neutralizing antibodies against SARS-CoV-2. The data of correlation analysis of the 83 COVID-19 convalescent blood plasma samples a significant relationship between the antibodies quantitative values and titers SARS-CoV-2-specific antibody ($r = 0.8436$, $R^2 = 0.7802$) as well as a moderate relationship between antibody concentration and positivity index ($r = 0.6648$, $R^2 = 0.3307$), assessed by Chaddock scale. Comparing concentration of N-protein binding antibodies with neutralizing antibody titers level uncovered data consistency obtained by quantitative and virus microneutralization assays ($r = 0.7310$, $R^2 = 0.6527$) used in parallel to analyze 80 blood plasma samples obtained from COVID-19 patients and convalescents. AUC under the ROC curve comprised 0.701 ($P < 0.0001$) evidencing about a satisfactory informative value for “N-CoV-2-IgG PS” compared with microneutralization assay. In addition, the efficacy of the “N-CoV-2-IgG PS” was 95%, while the positive and negative prognostic value was 97% and 87%, respectively. The data obtained confirmed a correlation between N-protein binding antibody level and neutralizing antibody titer. Checking inter-assay agreement evidenced about acceptance for informativeness and efficacy of using “N-CoV-2-IgG PS”, thereby confirming an opportunity to apply the Kit to screen for SARS-CoV-2 N protein-specific IgG antibody level and assess seroprevalence in diverse population cohorts.

Key words: COVID-19, ELISA kit, SARS-CoV-2 N-protein, BAU/ml, N-protein binding antibodies, neutralizing antibodies, antibody assays.

Введение

11 марта 2020 г. Всемирная организация здравоохранения объявила вспышку заболеваемости вирусом SARS-CoV-2 пандемией [11]. Распространение вируса и рост заболеваемости COVID-19 по всему миру потребовали быстрого внедрения в клиническую практику вновь разработанных диагностических инструментов, в том числе и серологических тестов. Обнаружение антител к SARS-CoV-2 стало необходимостью для установления заражения, воздействия вируса на тяжесть течения заболевания COVID-19 и развития иммунитета у лиц после перенесения заболевания или вакцина-

ции, а также для проведения сероэпидемиологических исследований. Уже к июню 2020 г. в разных странах были разработаны и зарегистрированы ИФА-наборы и тест-системы, определяющие иммуноглобулины классов М, А и G к белкам SARS-CoV-2. Первые наборы были разработаны на основе качественного анализа, и результаты анализов определялись по коэффициентам позитивности или титрам. Вслед за ними, чуть позже, к концу 2020 г., были разработаны количественные ИФА-наборы, которые позволяли определять концентрацию антител по калибровочной кривой с оценкой в условных единицах. Специалисты ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

первыми в России разработали набор реагентов «N-CoV-2-IgG PS» для количественного определения IgG человека к белку N SARS-CoV-2 (временное РУ Росздравнадзора № РЗН 2021/1485). Количественное значение антител, определяемых данным набором, оценивалось в условных единицах (УЕ/мл). В 2021 г. ВОЗ сообщила о создании Первого Международного стандарта для количественного определения иммуноглобулинов человека к SARS-CoV-2 [3, 4] в международных антитело-связывающих единицах ВАУ/мл (binding antibody units). Таким образом, использование в лабораторной практике Международного стандарта как надежного инструмента построения калибровочных кривых способствовало гармонизации получаемых результатов количественного определения SARS-CoV-2 антиген-связывающих и нейтрализующих антител на глобальном уровне. В связи с этим нами была проведена работа по переводу значений калибратора из единиц УЕ/мл в ВАУ/мл путем определения коэффициента перерасчета и по повторной регистрации набора (РУ № РЗН 2022/16633 бессрочно).

В настоящее время в России разработано и зарегистрировано восемь ИФА-наборов для количественного определения IgG-антител в международных единицах ВАУ/мл, семь из которых направлены на определение IgG-антител к поверхностному гликопротеину S (Spike) или к участку RBD (рецептор-связывающий домен) S-белка SARS-CoV-2. Представленный нами набор «N-CoV-2-IgG PS» отличается тем, что предназначен для определения количества антител к N-белку как у клинически переболевших COVID-19, так и у лиц с бессимптомным течением заболевания, а также для проведения скрининга антител с целью определения ис-

тинной частоты заражения COVID-19 в разных популяциях. Для подтверждения такого предназначения набора была проведена валидация функциональных характеристик и проверка согласованности между ИФА «N-CoV-2-IgG PS» и тестом микронейтрализации вируса SARS-CoV-2 с оценкой показателей информативности и эффективности.

Цель данного сообщения — представить характеристики количественного набора реагентов «N-CoV-2-IgG PS», провести сравнение результатов количественного ИФА с качественным ИФА, оценить корреляционную связь между N-антиген-связывающими антителами с SARS-CoV-2-нейтрализующими антителами.

Материалы и методы

Образцы плазмы крови больных COVID-19 ($n = 57$) на сроках 0–24 дней после получения положительных результатов ПЦР-тестов, доноров-реконвалесцентов ($n = 22$) на сроках 31–56 дней после инфицирования были получены в Отделении переливания крови Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова (ПСПбГМУ им. Павлова) и переданы в Центральную клиническую диагностическую лабораторию (ЦКДЛ) Медицинского центра ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (НИИ им. Пастера) для дальнейшего исследования в рамках договора о научном сотрудничестве. Образцы плазмы крови ($n = 83$) были получены от лиц, переболевших COVID-19. Взятие крови проводили в ЦКДЛ на сроках 30–100 дней после инфицирования. Критериями включения были: возраст пациентов старше 18 лет, положитель-

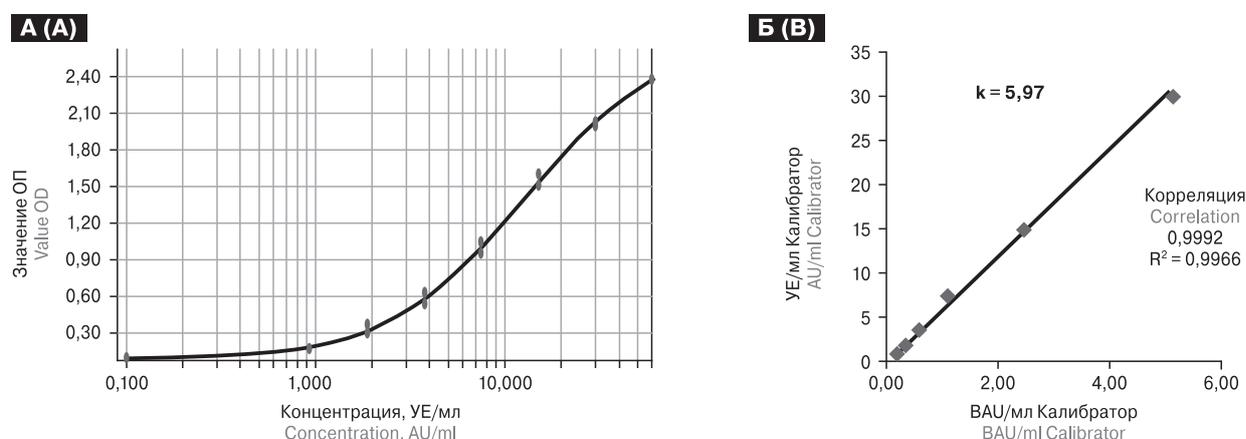


Рисунок 1. А. Калибровочная кривая 4-параметрической логистической регрессии. Б. График взаимосвязи между УЕ/мл и ВАУ/мл Калибратора

Figure 1. A. 4-Parameter Logistic Regression Calibration Curve. B. The correlation plot between AU/ml and BAU/ml of the Calibrator

ный мазок на SARS-CoV-2, наличие согласия на участие в исследовании. Исследование проводилось по одобрению этического комитета НИИ им. Пастера. Все образцы плазмы хранились в морозильной камере при -80°C .

Диагностика с помощью набора реагентов «N-CoV-2-IgG PS» для количественного определения специфических IgG антител к нуклеокапсидному белку (N-антиген) коронавируса SARS-CoV-2 основана на взаимодействии антител с N-антигеном, сорбированным в 96-луночные микропланшеты (High Binding Corning Incorporated), с последующим образованием иммунного комплекса с пероксидазным конъюгатом моноклональных антител к тяжелой цепи иммуноглобулинов G человека (ООО «Полигност», Россия). Рекомбинантный полноразмерный (419 аминокислоты) нуклеокапсидный белок SARS-CoV-2 (His-tag M.m. = 48,9 kDa) был приобретен в ООО «Иннова плюс» (Россия). В качестве калибратора использовали пул плазмы крови доноров, переболевших COVID-19. Нулевая калибровочная проба K0 представляла собой разведенный 1:100 пул образцов плазмы крови здоровых доноров от 2018 г.

Коэффициент перерасчета условных единиц количества IgG-антител на международные единицы был определен путем сравнения калибровочной кривой, построенной по средним значениям оптической плотности (ОП) полученных от трех образцов калибратора (рис. 1А), с Международным стандартом. Перерасчет

осуществляли двухшаговым анализом: первоначально определяли значения калибровочных проб в BAU/мл по Международному стандарту, затем проводили сопоставление количественных значений калибровочных проб в УЕ/мл с полученными на первом этапе значениями BAU/ml (рис. 2Б).

Функциональные характеристики набора определяли в соответствии с рекомендациями ГОСТ Р 51352-2013 [1]. Порог серопозитивности набора «N-CoV-2-IgG PS» определяли методом линейной регрессии калибровочной кривой по формуле $\text{LoQ} = 10 \times (\text{Sy}/\text{S})$, где Sy — стандартное отклонение для средних значений точки калибровочной пробы K7, находящейся на уровне аппроксимации предела обнаружения антител, S — наклон линии регрессии logit-log калибровочной кривой [11].

Количественное содержание антител в исследуемых образцах рассчитывали по калибровочной кривой, построенной по семи калибровочным пробам (K1–K7), и нулевой пробой K0. Полученные концентрации исследуемых образцов сывороток/плазмы выражали в международных единицах (Binding Antibody Units) BAU/мл. Учет результатов анализа осуществляли умножением количественных значений на коэффициент 100 в соответствии с разведением исследуемых образцов 1:100.

Сравнение результатов определения IgG антител, полученных при параллельном исследовании 83 образцов плазмы на двух набо-

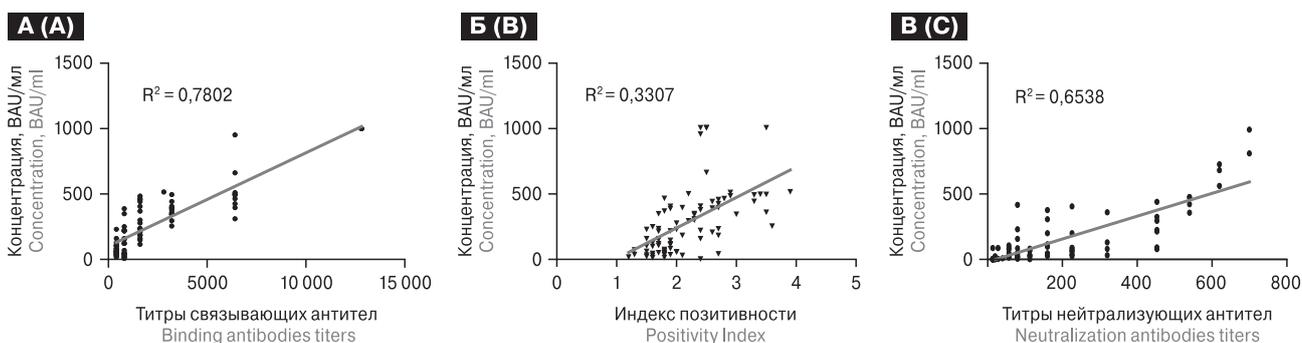


Рисунок 2. Корреляция значений концентрации N-белок-связывающих антител (BAU/мл), измеренных с использованием ИФА-набора «N-CoV-2-IgG PS» и А) титров N-белок-связывающих антител, измеренных с использованием качественного ИФА набора, Б) значений индексов позитивности, измеренных с использованием качественного ИФА-набора, В) титров нейтрализующих антител, полученных методом микронейтрализации вируса SARS-CoV-2

Figure 2. Correlation between binding antibody concentration (BAU/ml) measured by «N-CoV-2-IgG PS» ELISA Kit and A) antibody titer magnitude evaluated by “SARS-CoV-2 Human IgG Qualitative ELISA Kit”, B) positivity index magnitude assessed by qualitative ELISA kit, C) neutralizing antibody titers analyzed by the SARS-CoV-2 virus microneutralization

Примечание. Коэффициенты корреляции Спирмена с 95% доверительными интервалами для каждого анализа были: А) $r = 0,8424$ (0,7632–0,8967) $p < 0,0001$; Б) $r = 0,6648$ (0,5196–0,7727) $p < 0,0001$; В) $r = 0,7410$ (0,6177–0,8288) $p < 0,0001$. Note. Spearman’s correlation coefficients with 95% confidence intervals for each analysis were: A) $r = 0.8424$ (0.7632–0.8967) $p < 0.0001$; B) $r = 0.6648$ (0.5196–0.7727) $p < 0.0001$; C) $r = 0.7410$ (0.6177–0.8288) $p < 0.0001$.

рах — количественном наборе «N-CoV-2-IgG PS» и качественном наборе «ИФА анти-SARS-CoV-2 IgG» (РУ № РД-38069/98980), а также при параллельном сравнении значений количественных IgG-антител и титров нейтрализующих антител 79 образцов, осуществляли с помощью корреляционного анализа Спирмена. Коэффициент ранговой корреляции Спирмена оценивали по шкале Чеддека: 1 — полная связь; 0,99–0,71 — сильная связь; 0,7–0,3 — средняя связь; 0,3–0,1 — слабая, 0 — нет связи. Оценку качественного наличия антител осуществляли по индексу серопозитивности, который рассчитывали как 3-кратное среднее значение оптической плотности отрицательного контрольного образца. Результаты ниже порога отсечения 0,9 считались отрицательными. За значение титра связывающих антител принимали наибольшее разведение образца, оптическая плотность которого была выше порога отсечения. Определение нейтрализующей активности образцов плазмы крови больных и реконвалесцентов с помощью теста микронейтрализации вируса SARS-CoV-2 (МНВ) с использованием клеток VeroE6 было осуществлено в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». За значение титра нейтрализующих антител принимали наибольшее разведение образца плазмы, полностью защищающее клетки от цитопатического эффекта в половине дублированных лунок микропланшета. Титр теста МНВ ≤ 40 считался отрицательным.

Анализ ROC-кривых проводили по вычислению значений площадей под кривыми (AUC) и по определению пороговых отсечений концентраций связывающих антител, при которых имелся баланс между чувствительностью и специфичностью. Определение согласия между положительными и отрицательными результатами количественного теста и теста МНВ было осуществлено с помощью четырехпольных таблиц сопряженности 2 x 2 бинарных величин с вычислением критерия χ^2 с поправкой Йейтса. При этом положительные и отрицательные результаты теста МНВ были приняты за истинные. Коэффициент взаимной сопряженности Пирсона рассчитывали по формуле $C = \sqrt{\chi^2 / (\chi^2 + n)}$, где $n = 79$ — число образцов плазмы крови больных пациентов и реконвалесцентов.

Статистический анализ и графические рисунки выполняли с использованием пакета Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft Corporation, Seattle, USA) и программного обеспечения GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc).

Результаты и обсуждение

Перерасчет значений условных единиц в международно признанные единицы, проведенный путем сопоставления калибровочной кривой,

построенной по значениям УЕ/мл, с калибровочной кривой, рассчитанной по Международному стандарту ВОЗ в единицах ВАУ/мл, показал их полную корреляцию и связь между значениями $1\text{ВАУ/мл} = 5,97\text{ УЕ/мл}$ (рис. 1Б).

Набор «N-CoV-2-IgG PS» имел следующие функциональные характеристики: аналитическая чувствительность с учетом разведения 1:100 составила 3 ВАУ/мл, концентрации IgG антител в трех образцах сывороток крови при их пропорциональном разведении холостыми образцами имели линейный характер в диапазоне 837–17 ВАУ/ml, точность измерения составила 90–110%, предел количественного определения составил 16,0 ВАУ/мл.

Проведено сравнение набора «N-CoV-2-IgG PS» и набора «ИФА анти-SARS-CoV-2 IgG» при параллельном исследовании 83 образцов плазмы крови пациентов, переболевших COVID-19, для определения наличия корреляции между значениями концентраций антител и значениями титров антител (рис. 2А) и индексов позитивности (рис. 2Б). Коэффициент корреляции Спирмена $r = 0,8436$ ($p < 0,0001$) свидетельствовал о значительной связи значений концентраций антител со значениями титров антител, при этом коэффициент линейной регрессии $R^2 = 0,7802$ подтвердил наличие их статистически значимой связи. В то же время корреляционная связь ($r = 0,6648$) между значениями концентраций антител и значениями индексов позитивности антител была средней плотности, а значение коэффициента линейной регрессии $R^2 = 0,3307$ свидетельствовало о существенном различии между количественным и качественным тестами. Такое различие в сопоставлении количественного набора с двумя разными вариантами анализа и расчета одного и того же качественного набора ИФА могут свидетельствовать о несовпадении результатов определения антител по коэффициенту позитивности с результатами определения титров антител. В данном случае коэффициент позитивности не мог служить критерием диагностики COVID-19. При этом применение трудоемкого метода титрования образцов в качественном тесте, по-видимому, позволяет получать диагностически значимые результаты определения антител. Кроме того, была осуществлена оценка соответствия разработанного набора с тестом МНВ при параллельном исследовании 79 образцов плазмы крови реконвалесцентов и больных COVID-19 (рис. 2В). Сопоставление значений концентраций связывающих антител к белку нуклеокапсида с титрами нейтрализующих антител ($r = 0,7410$) показало значительную корреляционную связь между ними. Коэффициент линейной регрессии $R^2 = 0,6538$ подтвердил наличие статистически значимой сопоставимости количественного ИФА «N-CoV-2-IgG PS» и теста МНВ.

Для оценки информативности был проведен анализ характеристических кривых (ROC-анализ) количественного «N-CoV-2-IgG PS» набора относительно теста МНВ, а также метода титрования образцов качественного набора «ИФА анти-SARS-CoV-2 IgG» относительно количественного набора «N-CoV-2-IgG PS» (рис. 3). Значение коэффициента площади под ROC-кривой (AUC), построенной по титрам антител относительно концентрациям антител (рис. 3А), свидетельствовало об очень слабой информативности качественного набора «ИФА анти-SARS-CoV-2 IgG». Визуальная оценка показала совпадение ROC-кривой с линией диагонали, а расположение кривой над диагональной линией, находящейся выше значения порога отсека титров антител (cut off < 3148 титр связывающих антител), доказало низкое значение информативности — 32,53%.

Данные AUC ROC-кривой, построенной по концентрациям связывающих антител относительно титров нейтрализующих антител, свидетельствовали о приемлемой информативности количественного набора «N-CoV-2-IgG PS» относительно теста МНВ. На рис. 3Б видно, что ROC-кривая находилась над диагональной линией, а значение баланса чувствительности и специфичности в точке порога отсека (cut off < 16,33 BAU/ml) показало 83,55% информативности.

Эффективность разработанного набора оценивали относительно теста МНВ путем расчета чувствительности и специфичности по числам ложноположительных и истинно положи-

тельных образцов плазмы крови болеющих пациентов и реконвалесцентов (n = 79), при этом образцы с отрицательными значениями нейтрализующих антител (n = 14), полученные от пациентов на первой неделе заболеваемости, были приняты за истинно отрицательные. Серопревалентность нейтрализующих антител была 82,28%. Коэффициент сопряженности Пирсона С = 0,6542 превышал значение 0,5, что свидетельствовало о достоверной взаимозависимости между положительными и отрицательными результатами количественного ИФА и теста МНВ. Чувствительность и специфичность разработанного набора относительно теста МНВ составили 97,01% (ДИ95% 89,63–99,64) и 87,50% (ДИ95% 6165,57–98,45) с высокой положительной прогностической ценностью. Более низкое значение специфичности объясняется, по-видимому, тем, что у некоторых пациентов на первой неделе заболевания, связывающие антитела могли образовываться раньше нейтрализующих антител, что и привело к получению ложноположительных результатов.

Тест микронеutralизации аутентичного вируса является «золотым стандартом» выявления защитных антител [5]. Данные опубликованных исследований [3, 4, 7, 13, 15], проведенных на различных ИФА-тестах и коммерческих тест-системах, определяющих антитела как к S-белкам, так и N-белкам SARS-CoV-2, показали, что результаты ИФА могут иметь хорошую корреляцию антител с результатами теста нейтрализации аутентичного вируса. Такое

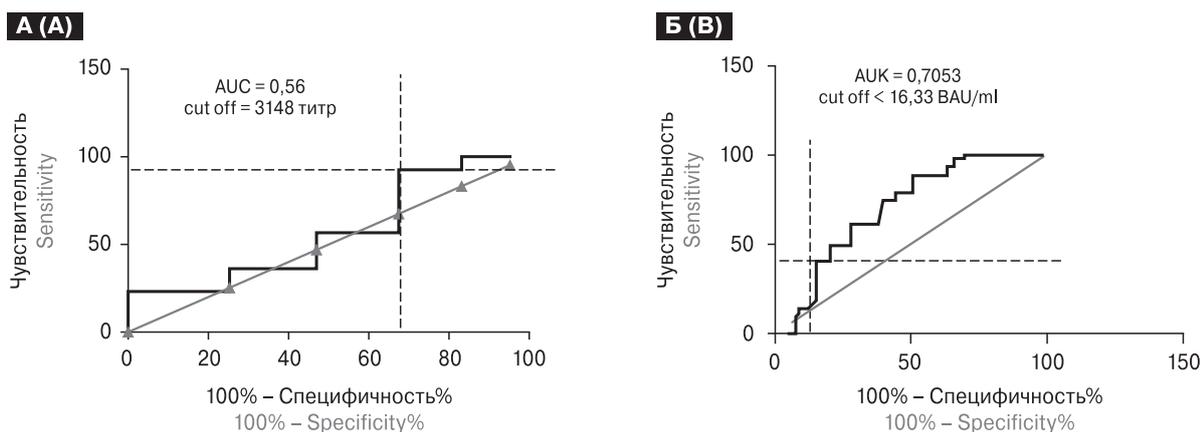


Рисунок 3. ROC-кривые А) титров антител качественного набора «ИФА анти-SARS-CoV-2 IgG» относительно концентраций антител количественного набора «N-CoV-2-IgG PS» и Б) концентрации антител количественного набора «N-CoV-2-IgG PS» относительно титров нейтрализующих антител

Figure 3. ROC-curves for A) antibody titers evaluated in “SARS-CoV-2 Human IgG Qualitative ELISA Kit” relative to antibody concentration assessed by quantitative kit “N-CoV-2-IgG PS” and B) the antibodies concentration of the quantitative kit “N-CoV-2-IgG PS” relative to neutralizing antibody titers

Примечание. Пересечение пунктирных линий соответствует значения порога отсека.
Note. The dotted line intersection corresponds to the cut off level.

тестовое сопоставление важно для подтверждения правильности определения положительных и отрицательных результатов ИФА при проведении скрининга антител.

Таким образом, результаты проведенного исследования продемонстрировали наличие хорошей корреляционной связи между N-белок-связывающими антителами и сопоставимости разработанного нами набора с тестом нейтра-

лизации вируса SARS-CoV-2. Проверка между тестовой согласованностью свидетельствовала об информативности и эффективности разработанного набора, что подтвердило его потенциал для проведения скрининга IgG антител у лиц, переболевших COVID-19, и для использования его в масштабных популяционных исследованиях [2, 10, 12] для оценки серопревалентности к COVID-19 в разных группах населения.

Список литературы/References

- ГОСТ Р 51352-2013. Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Методы испытаний. Дата введения 2015-01-01. [GOST R 51352-2013 *In vitro* diagnostic medical devices. Test methods. Date of introduction 2015-01-01. (In Russ.)] URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200108445>
- 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.А., 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 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. [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.A., 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., Gubanov A.V., Totolian Areg A. Herd immunity to SARS-CoV-2 among the population of the Republic of Belarus amid the COVID-19 pandemic. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 887–904. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-HIT-1798
- Jääskeläinen A.J., Kuivainen S., Kekäläinen E., Ahava M.J., Loginov R., Kallio-Kokko H., Vapalahti O., Jarva H., Kurkela S., Lappalainen M. Performance of six SARS-CoV-2 immunoassays in comparison with microneutralisation. *J. Clin. Virol.*, 2020, vol. 129: 104512. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104512
- James J., Rhodes S., Ross C.S., Skinner P., Smith S.P., Shipley R., Warren C.J., Goharriz H., McElhinney L.M., Temperton N., Wright E., Fooks A.R., Clark T.W., Brookes S.M., Brown I.H., Banyard A.C. Comparison of serological assays for the detection of SARS-CoV-2 antibodies. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 4: 713. doi: 10.3390/v13040713
- Klasse P.J. Neutralization of virus infectivity by antibodies: old problems in new perspectives. *Adv. Biol.*, 2014, vol. 2014: 157895. doi: 10.1155/2014/157895
- Kristiansen P.A., Page M., Bernasconi V., Mattiuzzo G., Dull P., Makar K., Plotkin S., Knezevic I. WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin. *Lancet*, 2021, vol. 397, no. 10282, pp. 1347–1348. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00527-4
- McAndrews K.M., Dowlatshahi D.P., Dai J., Becker L.M., Hensel J., Snowden L.M., Leveille J.M., Brunner M.R., Holden K.W., Hopkins N.S., Harris A.M., Kumpati J., Whitt M.A., Lee J.J., Ostrosky-Zeichner L.L., Papanna R., LeBleu V.S., Allison J.P., Kalluri R. Heterogeneous antibodies against SARS-CoV-2 spike receptor binding domain and nucleocapsid with implications for COVID-19 immunity. *JCI Insight*, 2020, vol. 5, no. 18: e142386. doi: 10.1172/jci.insight.142386
- NIBSC. Medicines and Healthcare products Regulatory Agency. WHO International Standard. First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin. 2021. URL: <https://www.nibsc.org/documents/ifu/20-136.pdf>
- NIBSC. Medicines and Healthcare products Regulatory Agency. Working Standard. Working reagent for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin NIBSC code: 21/234 (Version 2.0, Dated 20/08/2021). URL: <https://www.nibsc.org/documents/ifu/21-234.pdf>
- Popova A.Yu., Kasymov O.T., Smolenski V.Y., Smirnov V.S., Egorova S.A., Nurmatov Z.S., Milichkina A.M., Suranbaeva G.S., Kuchuk T.E., Khamitova I.V., Zueva E.V., Ivanov V.A., Nuridinova Z.N., Derkenbaeva A.A., Drobyshevskaya V.G., Sattarova G.Z., Kaliev M.T., Gubanov A.V., Zhimbaeva O.B., Razumovskaya A.P., Verbov V.N., Likhachev I.V., Krasnov A.V., Totolian A.A. SARS-CoV-2 herd immunity of the Kyrgyz population in 2021. *Med. Microbiol. Immunol.*, 2022, vol. 211, no. 4, pp. 195–210. doi: 10.1007/s00430-022-00744-7
- Shrivastava A., Gupta V.B. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chron. Young Sci.*, 2011, vol. 2, iss. 1, pp. 21–25. doi: 10.4103/2229-5186.79345
- Smirnov V.S., Lyalina L.V., Milichkina A.M., Khamitova I.V., Zueva E.V., Ivanov V.A., Zaguzov V.S., Totolian A.A. Longitudinal randomized cohort study of SARS-CoV-2 antibody seroprevalence in the St. Petersburg population. *Viruses*, 2022, vol. 14, no. 5: 913. doi: 10.3390/v14050913
- Walker G.J., Naing Z., Ospina Stella A., Yeang M., Caguicla J., Ramachandran V., Isaacs S.R., Agapiou D., Bull R.A., Stelzer-Braid S., Daly J., Gosbell I.B., Hoad V.C., Irving D.O., Pink J.M., Turville S., Kelleher A.D., Rawlinson W.D. SARS coronavirus-2 microneutralisation and commercial serological assays correlated closely for some but not all enzyme immunoassays. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 2: 247. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104512

14. WHO Director — General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 — 11 March 2020. URL: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>
15. Wohlgenuth N., Whitt K., Cherry S., Kirkpatrick Roubidoux E., Lin C.Y., Allison K.J., Gowen A., Freiden P., Allen E.K.; St. Jude Investigative Team, Gaur A.H., Estep J.H., Tang L., Mori T., Hijano D.R., Hakim H., McGargill M.A., Krammer F., Whitt M.A., Wolf J., Thomas P.G., Schultz-Cherry S. An assessment of serological assays for SARS-CoV-2 as surrogates for authentic virus neutralization. *Microbiol. Spectr.*, 2021, vol. 9, no. 2: e0105921. doi: 10.1128/Spectrum.01059-21

Авторы:

Зуева Е.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Беляев Н.Н., д.б.н., старший научный сотрудник отдела новых технологий ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Вербов В.Н., к.х.н., зав. лабораторией биопрепаратов, зав. отделом новых технологий ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Лихачев И.В., младший научный сотрудник лаборатории биопрепаратов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Бачинин И.А., технолог опытно-промышленного производства ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Хамитова И.В., к.б.н., зав. центральной клинической диагностической лабораторией ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Коробова З.Р., лаборант-исследователь лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; старший лаборант кафедры иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика Павлова Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Арсентьева Н.А., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Тотolian А.А., академик РАН, д.м.н., профессор, директор ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; зав. кафедрой иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Zueva E.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Belyaev N.N., PhD, MD (Biology), Senior Researcher, Department of New Technologies, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Verbov V.N., PhD (Chemistry), Head of the Laboratory of Biological Products, Head of the Department of New Technologies, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Likhachev I.V., Junior Researcher, Laboratory of Biological Products, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Bachinin I.A., Pilot Industrial Production Technologist, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Khamitova I.V., PhD (Biology), Head of the Central Clinical Diagnostic Laboratory, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Korobova Z.R., Investigator (Biologist), Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Senior Laboratory Assistant, Department of Immunology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;
Arsentieva N.A., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Totolian A.A., RAS Full Member, PhD, MD (Medicine), Professor, Director, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Head of the Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 03.06.2022
 Отправлена на доработку 06.04.2022
 Принята к печати 28.07.2022

Received 03.06.2022
 Revision received 06.04.2022
 Accepted 28.07.2022

СЛУЧАЙ АБСЦЕДИРУЮЩЕЙ ПНЕВМОНИИ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ COVID-19 У МОЛОДОЙ ПАЦИЕНТКИ

О.В. Воробьева, Л.П. Романова

ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, Россия

Резюме. Вирусные инфекции занимают первое место среди инфекционных заболеваний и являются причиной 5–15% всех внебольничных пневмоний. Цель исследования — описание случая инфицирования COVID-19, протекающего с присоединением бактериальной инфекции и развитием абсцедирующей пневмонии у молодой пациентки. *Материалы и методы.* Изучена сопроводительная медицинская документация, проведен клинико-морфологический анализ с помощью описания макро- и микропрепаратов. *Результаты.* Больная А.Е., 31 год, в течение 5 ч 10 мин находилась на стационарном лечении с диагнозом: «Коронавирусная инфекция, тяжелое течение. Внебольничная двусторонняя полисегментарная пневмония». Поступила с жалобами на затруднение дыхания, одышку, слабость, повышение температуры тела до фебрильных цифр, выраженные боли в правой паховой области, в обеих нижних конечностях, пастозность рук и ног. Однако, несмотря на начатое лечение, состояние пациентки ухудшалось, и была констатирована биологическая смерть. На патолого-анатомическом исследовании выявлялись признаки двусторонней тотальной геморрагической пневмонии. При гистологическом исследовании определялись участки некроза альвеолярного эпителия и признаки выраженного отека с геморрагическим компонентом, в просвете альвеол встречались гемолизированные эритроциты. Визуализировались очаговые кровоизлияния в легочной паренхиме, местами сливающиеся и участки некроза легочной ткани с формированием «гнойников» (микроабсцессов). На периферии участка некроза отмечался хорошо выраженный вал из зернистых лейкоцитов и полнокровных сосудов с эритроцитарными сладжами. В альвеолах, расположенных ближе к гнойникам, определялся фибринозный и серозный экссудат. В головном мозге наблюдались признаки отека, при гистологическом исследовании определялись периваскулярные, перицеллюлярные оптические пустоты с полнокровием сосудов, эритроцитарными сладжами и мелкими кровоизлияниями. Вирусная пневмония, вызванная коронавирусом и присоединением бактериальной инфекции, в нашем случае стафилококка, привела к абсцедирующей пневмонии и тяжелой дыхательной недостаточности с развитием острого дистресс-синдрома. Очевидно, что высокая частота деструктивных процессов при стафилококковой пневмонии объясняется тем, что для патогенных стафилококков характерна выработка большого количества протеолитических ферментов, разрушающих ткани. Таким образом, представленный случай инфицирования COVID-19 у молодой пациентки имеет особую важность и актуальность, так как демонстрирует неблагоприятный исход заболевания, несмотря на молодой возраст, и отсутствие сопутствующей патологии.

Ключевые слова: COVID-19, пневмония, микроабсцессы, отек легких, дыхательная недостаточность, перицеллюлярный отек.

Адрес для переписки:

Воробьева Ольга Васильевна
428015, Россия, г. Чебоксары, Московский пр., 15,
ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет
им. И.Н. Ульянова.
Тел.: 8 927 858-05-18 (моб.).
E-mail: olavorobeva@mail.ru

Contacts:

Olga V. Vorobeva
428045, Russian Federation, Cheboksary, Moskovskii pr., 15,
I.N. Ulyanov Chuvash State University.
Phone: +7 927 858-05-18 (mobile).
E-mail: olavorobeva@mail.ru

Для цитирования:

Воробьева О.В., Романова Л.П. Случай абсцедирующей пневмонии при инфицировании COVID-19 у молодой пациентки // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4. С. 779–782. doi: 10.15789/2220-7619-ACO-1582

Citation:

Vorobeva O.V., Romanova L.P. A case of abscessed pneumonia due to COVID-19 infection in a young patient // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 779–782. doi: 10.15789/2220-7619-ACO-1582

A CASE OF ABSCESS PNEUMONIA DUE TO COVID-19 INFECTION IN A YOUNG PATIENT

Vorobeva O.V., Romanova L.P.

I.N. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation

Abstract. Viral infections are the first ranked conditions among infectious diseases causing 5–15% of all community-acquired pneumonia. The aim of the study was to describe a case of COVID-19 infection, proceeding with acquired bacterial infection and developing abscess pneumonia in a young patient. *Material and methods.* The accompanying medical documentation was examined, clinical and morphological analysis was carried out for assessing macro- and micropreparations. *Results.* Patient A.E., 31 years old, within 5 hours 10 minutes was at in-hospital treatment with a diagnosis of Coronavirus infection, severe course. Community-acquired bilateral polysegmental pneumonia. The patient admitted with complaints of respiratory difficulty, shortness of breath, weakness, fever up to febrile level, severe pain in the right groin area, both lower extremities, swelling in hands and feet. However, despite initiated treatment, the patient's condition worsened and biological death was verified. The postmortem examination revealed signs of total bilateral hemorrhagic pneumonia. Histological examination showed areas of necrosis in the alveolar epithelium and signs of marked edema with a hemorrhagic component; hemolyzed erythrocytes were found in alveolar lumen. Focal hemorrhages were visualized in the pulmonary parenchyma, sometimes merging along with lung tissue with forming microabscesses. A well-defined shaft consisting of granular leukocytes and congested vessels with erythrocyte sludge was noted on the periphery of necrosis area. In the alveoli located closer to the abscesses, fibrinous and serous exudate was detected. Signs of edema were observed in the brain; histological examination revealed perivascular, pericellular optical voids with vascular congestion, erythrocyte sludge and minor hemorrhages. SARS-CoV-2-caused pneumonia and acquired bacterial infection, in this case due to staphylococcus, led to abscess pneumonia and severe respiratory failure with developing acute distress syndrome. Obviously, the high frequency of destructive processes in staphylococcal pneumonia is due to the pathogenic staphylococci characterized by production of high-level proteolytic enzymes destroying body tissues. Thus, the current case of COVID-19 infection in a young patient is of particular importance and relevance, because it demonstrates an unfavorable disease outcome despite patient young age and lack of concomitant pathology.

Key words: COVID-19, pneumonia, microabscesses, pulmonary edema, respiratory failure, pericellular edema.

Введение

Вирусные инфекции занимают первое место среди инфекционных заболеваний и являются причиной 5–15% всех внебольничных пневмоний [1, 5, 7]. Уникальная антигенная изменчивость вируса приводит к возникновению эпидемий, развитию тяжелых осложнений и летальных исходов [1, 2, 3, 6]. Одним из видов вирусных инфекций является COVID-19, вызываемый коронавирусом SARS-CoV-2, при котором на ранних стадиях заболевания в легких преобладают явления пневмонии, интерстициального отека, ателектазы, в поздний период присоединяются очаги пневмонии с абсцедированием и процессы фиброза [2]. Очевидно, если все защитные реакции организма угнетены высокой вирулентностью и патогенностью микроорганизма, наблюдается подавление лейкоцитарной и пролиферативной реакции в очагах воспаления, происходит накопление большого количества микроорганизмов и наступает ранний некроз альвеолярных перегородок. В литературе отсутствуют описания случаев возникновения микроабсцессов в легких на фоне коронарорвирусной инфекции. В связи с актуальностью проблемы, цель исследования — описание случая инфицирования COVID-19, протекающего с присоединением бактериальной инфекции и развитием абсцедирующей пневмонии у молодой пациентки.

Материалы и методы

Изучена сопроводительная медицинская документация (амбулаторная карта пациента, история болезни). Проведен клинико-морфологический анализ с помощью описания макро- и микропрепаратов, использован гистологический метод окраски.

Результаты

Больная А.Е., 31 год, в течение 5 ч 10 мин 31.07.2020 г. находилась на стационарном лечении с диагнозом: «Коронавирусная инфекция, тяжелое течение. Внебольничная двусторонняя полисегментарная пневмония». Поступила с жалобами на затруднение дыхания, одышку, слабость, повышение температуры тела до фебрильных цифр, выраженные боли в правой паховой области, в обеих нижних конечностях, пастозность рук и ног. Боли в паховой области появились с 22.07.2020 г., возникновение болей пациентка ни с чем не связывала; позже присоединилась болезненность обеих нижних конечностей, преимущественно на уровне бедер, затем появились боли в верхних конечностях, пастозность рук и ног. 30.07.2020 г. обратилась к участковому терапевту, была осмотрена сосудистым хирургом. Больной была проведена процедура ультразвуковой доплерографии артерий и вен нижних конечностей (патологии

выявлено не было), затем — МРТ тазобедренных суставов. Данных о наличии патологических изменений тазобедренных суставов также получено не было. Выявлялись признаки распространенного миозита средней и малой ягодичной мышц справа с наличием воспалительного инфильтрата в межмышечном пространстве ягодичных мышц с затеком в межфасциальные пространства передней группы мышц бедра. Была выполнена компьютерная томография органов грудной клетки, обнаружены признаки тяжелой двусторонней полисегментарной пневмонии с внутригрудной лимфоаденопатией, двусторонней очаговой и милиарной диссеминацией. В связи с этим пациентка была направлена на госпитализацию. В общем анализе крови отмечались признаки острого воспаления: лейкоциты — $29,4 \times 10^9/\text{л}$, СОЭ — 49 мм/ч, и признаки анемии: эритроциты — $3,72 \times 10^{12}/\text{л}$, гемоглобин — 108 г/л.

Было начато комплексное лечение, включающее антибактериальные, отхаркивающие средства, назначены препараты для профилактики тромбоэмболии легочной артерии, начата оксигенация и поддерживающая терапия, однако состояние пациентки ухудшилось, периферическое капиллярное насыщение кислородом снизилось до 34,3%, а частота сердечных сокращений — до 34 уд/мин. В 18 ч констатирована биологическая смерть пациентки.

Выставлен посмертный клинический диагноз. Основное заболевание: «Коронавирусная инфекция, тяжелое течение». Осложнения основного заболевания: «Внебольничная двусторонняя полисегментарная пневмония. Отек головного мозга. Отек легких. Острая дыхательная недостаточность. Острая сердечно-сосудистая недостаточность». Сопутствующее заболевание: «Анемия средней степени тяжести».

При патогистологическом исследовании секционного материала в трахее и бронхах был выявлен некроз слизистой оболочки с дегенерацией и десквамацией эпителиальных клеток, выраженный отек, полнокровие сосудов и мононуклеарная инфильтрация подслизистого слоя с кровоизлияниями (рис. 1, вклейка, с. II).

В легких были выявлены признаки двусторонней тотальной геморрагической пневмонии. При макроскопическом исследовании: легкие с двух сторон плотной консистенции, тяжелые, безвоздушные, отечные, синюшного цвета. При гистологическом исследовании определялись неравномерно расправленные альвеолы с утолщенными межальвеолярными перегородками за счет отека и полнокровия, признаки пролиферации эндотелиоцитов капилляров, десквамация альвеолярного эпителия, отек, мононуклеарная инфильтрация, в альвеолах и альвеолярных ходах наблюдались гиалиновые

мембраны. Также выявлялись участки некроза альвеолярного эпителия с обнажением базальной мембраны и признаками выраженного отека с геморрагическим компонентом, в просвете альвеол встречались гемолизированные эритроциты, гемосидерин, гемосидерофаги. Визуализировались очаговые кровоизлияния в легочной паренхиме, местами сливающиеся, с выходом форменных элементов крови в просвет альвеол и участки некроза легочной ткани с формированием «гнойников» (микроабсцессов), в зонах некроза встречались микробные колонии. В окружности участка некроза отмечался хорошо выраженный вал из зернистых лейкоцитов. В альвеолах, расположенных ближе к гнойникам, определялся фибринозный и серозный экссудат (рис. 2 и 3, вклейка, с. II).

В головном мозге наблюдались признаки отека, что гистологически указывало на наличие выраженных периваскулярных, перичеллюлярных оптических пустот с полнокровием сосудов, эритроцитарными сладжами и мелкими кровоизлияниями (рис. 4, вклейка, с. II).

По результатам вирусологического исследования секционного материала: РНК SARS-CoV-2 была обнаружена в легком. По результатам микробиологического исследования был выявлен обильный рост *Staphylococcus aureus*.

Согласно макро- и микроскопического описания был выставлен патологоанатомический диагноз. Основное заболевание: «Острая двусторонняя тотальная бактериальная пневмония» (при гистологическом исследовании выявлялись участки некроза легочной ткани с формированием «гнойников» [микроабсцессов]), вызванная *Staphylococcus aureus*, с участками микроабсцедирования. Осложнения основного заболевания: «Отек легких. Отек головного мозга. Острый респираторный дистресс взрослого. Острая респираторная недостаточность». Сопутствующие заболевания: «Анемия средней степени тяжести».

Заключение

Представленный случай инфицирования COVID-19 у молодой пациентки имеет особую актуальность, так как демонстрирует неблагоприятный исход заболевания в связи с особенностями возбудителя инфекции. Несмотря на молодой возраст и отсутствие сопутствующей патологии, мы наблюдали поражение не только верхних, но и нижних дыхательных путей за счет возникновения отека альвеолярно-капиллярной мембраны, появления тяжелого острого дистресс-синдрома и присоединением в финале бактериальной инфекции, что привело к образованию микроабсцессов. Таким образом, вирусная пневмония, вы-

званная коронавирусом и присоединением бактериальной инфекции, в нашем случае стафилококка, может привести к тяжелой дыхательной недостаточности с развитием острого дистресс-синдрома, обуславливающей высокую летальность, в том числе и у пациентов без сопутствующей патологии. Очевидно, что высокая частота деструктивных процессов при стафилококковой пневмонии объясняется тем, что для патогенных стафилококков характерна выработка большого количества протеолитических ферментов, таких как: плазмокоагулаза — защищает микроорганизмы от фагоцитоза, гиалуронидаза — способствует распространению стафилококка за пределы сосудистой стенки в ткань, фибринолизин — растворяет фибриновые нити и пленки и, наконец, некро-

токсин — вещество, способствующее развитию некротических процессов.

На основании приведенного случая можно отметить, что микроабсцессы в легких возникли вследствие особенностей возбудителя, несвоевременной диагностики пневмонии, неадекватного лечения в амбулаторных условиях, что привело к осложнениям. Диагностические критерии и благоприятный исход возможен при полном клиническом обследовании с использованием современных методов диагностики, с обязательным бактериологическим посевом мокроты и определения чувствительности к антибактериальным препаратам и своевременного комплексного лечения, что позволило бы снизить риск возникновения осложнений.

Список литературы/References

1. Воробьева О.В. Изменения в органах при инфицировании COVID-19 с развитием септикопиемии // Профилактическая медицина. 2021. Т. 24, № 10. С. 89–93. [Vorobyeva O.V. Changes in organs in COVID-19 infection with septicopyemia. *Profilakticheskaya meditsina = The Russian Journal of Preventive Medicine*, 2021, vol. 24, no. 10, pp. 89–93. (In Russ.)] doi: 10.17116/profmed20212410189
2. Воробьева О.В., Ласточкин А.В. Патоморфологические изменения в органах при COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 587–590. [Vorobeveva O.V., Lastochkin A.V. Organ-specific pathomorphological changes during COVID-19. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 587–590. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-PCI-1483
3. Alsaad K.O., Hajeer A.H., Al Balwi M., Al Moaiqel M., Al Oudah N., Al Ajlan A., AlJohani S., Alsolamy S., Gmati G.E., Balkhy H., Al-Jahdali H.H., Baharoon S.A., Arabi Y.M. Histopathology of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection — clinicopathological and ultrastructural study. *Histopathology*, 2018, vol. 72, no. 3, pp. 516–524. doi: 10.1111/his.13379
4. Hwang D.M., Chamberlain D.W., Poutanen S.M., Low D.E., Asa S.L., Butany J. Pulmonary pathology of severe acute respiratory syndrome in Toronto. *Mod. Pathol.*, 2005, vol. 18, no. 1, pp. 1–10. doi: 10.1038/modpathol.3800247
5. Liu J., Zheng X., Tong Q., Li W., Wang B., Sutter K., Trilling M., Lu M., Dittmer U., Yang D. Overlapping and discrete aspects of the pathology and pathogenesis of the emerging human pathogenic coronaviruses SARS-CoV, MERS-CoV, and 2019-nCoV. *J. Med. Virol.*, 2020, vol. 92, no. 5, pp. 491–494. doi: 10.1002/jmv.25709
6. Zhang H., Zhou P., Wei Y., Yue H., Wang Y., Hu M., Zhang S., Cao T., Yang C., Li M., Guo G., Chen X., Chen Y., Lei M., Liu H., Zhao J., Peng P., Wang C.Y., Du R. Histopathologic changes and SARS-CoV-2 immunostaining in the lung of a patient with COVID-19. *Ann. Intern. Med.*, 2020, vol. 172, no. 9, pp. 629–632. doi: 10.7326/M20-0533
7. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W., Si H.R., Zhu Y., Li B., Huang C.L., Chen H.D., Chen J., Luo Y., Guo H., Jiang R.D., Liu M.Q., Chen Y., Shen X.R., Wang X., Zheng X.S., Zhao K., Chen Q.J., Deng F., Liu L.L., Yan B., Zhan F.X., Wang Y.Y., Xiao G.F., Shi Z.L. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 2020, vol. 579, no. 7798, pp. 270–273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7

Авторы:

Воробьева О.В., к.м.н., доцент кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, Россия;

Романова Л.П., к.б.н., доцент кафедры дерматовенерологии с курсом гигиены ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, Россия.

Authors:

Vorobeveva O.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of General and Clinical Morphology and Forensic Medicine, I.N. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation;

Romanova L.P., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Dermatovenereology and Hygiene, Cheboksary, Russian Federation.

Поступила в редакцию 12.08.2020
Принята к печати 15.05.2022

Received 12.08.2020
Accepted 15.05.2022

ОЦЕНКА УРОВНЯ СМЕРТНОСТИ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ SARS-CoV-2 В РЕГИОНАХ РОССИИ, НА ОСНОВЕ ЭКОНОМЕТРИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ

В.С. Степанов

ФГБУН Центральный экономико-математический институт Российской академии наук, Москва, Россия

Резюме. Объектами исследования были официальные данные по заболеваемости и смертности от COVID-19 в российских регионах, а также региональные медико-демографические и экологические данные за последние годы. Математическими методами работы являются корреляционный и регрессионный анализ, методы проверки статистических гипотез. Сначала специфицируется модель регрессии, имеющая переменную структуру; свободный член в ней отличается от региона к региону в зависимости от сочетания значений ряда фиктивных переменных (dummy). На роль зависимой переменной Y^t выбиралась смертность, привязанная в сводной таблице оперативного штаба к суткам с отсчетом t , причем основной причиной смерти считалась COVID-19. Комплекс объясняющих переменных включал две факторные переменные, которые изменяются ежесуточно, причем с лагами относительно t . Также в этот комплекс входил еще ряд переменных, которые не изменялись во времени: показатель обеспеченности региона врачами ряда специальностей и четыре dummy-переменные. Одна из них кодировала южную принадлежность региона: ЮФО или СКФО. Три прочие характеризовали повышенное загрязнение атмосферного воздуха в населенных пунктах за последние годы, а также радиационное загрязнение территории и здоровье жителей регионов по 10 классам болезней (для системы кровообращения, эндокринной системы и проч.). Значения этих dummy-переменных были получены по открытым данным Росстата и др. Параметры модели оценивались методом наименьших квадратов по обучающей таблице, которая включала 40 регионов, где отсчет t переменной Y^t входил за дату 1.xi.2021. В итоге построена статистическая модель с ошибкой аппроксимации 3%; для $\frac{3}{4}$ регионов из этой таблицы она оказалась 1,94 ($\pm 1,5$)%. Приводятся графики с ежесуточными прогнозами смертности от COVID-19 в первой половине ноября 2021 г. для семи регионов в сравнении с фактическими значениями. Модель может быть полезной при разработке медико-демографической политики в регионах, а также при построении уточненных моделей секторного типа, состоящих из систем дифференциальных уравнений (SEIRF, SIRD и др.).

Ключевые слова: модель регрессии, загрязнение воздуха, SARS-CoV-2, моделирование смертности, заболеваемость населения, общественное здоровье, прогноз смертности, регионы России.

ASSESSING SARS-CoV-2-RELATED MORTALITY RATE IN RUSSIAN REGIONS, BASED ON THE ECONOMETRIC MODEL

Stepanov V.S.

The Central Economics and Mathematics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Abstract. The objects of the study were the daily data on the population morbidity and mortality due to coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Russian regions, as well as regional medical, demographic and environmental data recorded

Адрес для переписки:

Степанов Владимир Сергеевич
117418, Россия, Москва, Нахимовский пр., 47,
ФГУН Центральный экономико-математический институт РАН.
Тел.: 8 (916) 872-52-07. E-mail: _stepanov@cemi.rssi.ru

Contacts:

Vladimir S. Stepanov
117418, Russian Federation, Moscow, Nakhimovsky pr., 47,
Central Economics and Mathematics Institute of the RAS.
Phone: +7 (916) 872-52-07. E-mail: _stepanov@cemi.rssi.ru

Для цитирования:

Степанов В.С. Оценка уровня смертности, обусловленной SARS-CoV-2 в регионах России, на основе эконометрической модели // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4. С. 783–789. doi: 10.15789/2220-7619-ASR-1846

Citation:

Stepanov V.S. Assessing SARS-CoV-2-related mortality rate in Russian regions, based on the econometric model // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 783–789. doi: 10.15789/2220-7619-ASR-1846

in recent years. COVID-19 is a contagious disease caused by the novel coronavirus (SARS-CoV-2). The mathematical methods consist of correlation and regression analysis, methods of testing statistical hypotheses. First, a multiple Variable Structure Regression should be specified. The intercept in the model differs from region to region, depending on the combination of values for dummy variables. The role of the dependent variable Y^t was chosen as the cumulative mortality published by the operational headquarters for the regions that has been linked to day t , so that COVID-19 was considered the main cause of death. The complex of explanatory variables included two factorial variables that changed daily, and had a lag relative to t value. Also, this complex included a number of variables that did not change with the growth of t : the explanatory variable with the region's availability with doctors of certain specialties; and four dummy variables. One of them coded the region's belonging to the two southern Russian Federal Districts. Three other variables characterized the increased air pollution in settlements recorded in recent years, as well as the level of radiation pollution of the region's territory and the population health estimated for 10 classes of diseases (for the circulatory system, endocrine system, etc.). The values of such dummy variables were obtained from open data from the Federal State Statistics Service (Rosstat) etc. The model parameters were estimated by the least squares method using the training table, which included 40 Russia's regions, the t parameter for variable Y^t was assessed starting from November, 1, 2021. As a result, a statistical model was built with an approximation error equal to 3%. For $\frac{3}{4}$ regions of the regions examined this error was 1.94 (± 1.5)% for the value Y^t that has been fixed on the 1st Nov. The plots show daily prediction for mortality rate due to COVID-19 in the first half of November for seven Russian regions compared with actual data. The model can be useful in development of medical and demographic policy in geographic regions, as well as generating adjusted compartment models that based on systems of differential equations (SEIRF, SIRD, etc.).

Key words: regression model, air pollution, SARS-CoV-2, mortality modeling, morbidity, public health, mortality forecast, Russia's regions.

Прогнозирование смертности от COVID-19 на территориях стран и их регионов является актуальной проблемой. Это важно при разработке оперативных профилактических мер в регионах, а также для принятия мер по снижению смертности. Последнее — стратегическая цель Правительства РФ.

Вопросы математического моделирования в эпидемиологии сжато освещаются в [15]; небольшой обзор подходов к моделированию заболеваемости и смертности от COVID-19 приводится в [12]. Дополняя его, отметим, что эконометрическое моделирование этой смертности выполнено в [18]; к временным рядам также применялся подход Бокса и Дженкинса [19]. Сопоставление точности моделей, созданных известными научными центрами, сделано в [16]. Из весьма успешных работ по моделированию смертности в регионах можно выделить [2, 8, 9, 17].

Ряд исследователей в качестве инструментария выбирают регрессионный анализ [3, 4, 6, 12, 18]. Так, в [4] рассматривалась «избыточная смертность» по данным ЗАГС и строились линейные модели; в результате на тех или иных отрезках пандемии наиболее информативными оказались различные факторы. Высокая информативность одного из показателей, связанных со смертностью от COVID-19, была выявлена в [3]. Этот показатель рассчитывается как доля летальных случаев среди случаев с известным исходом (умерших и выздоровевших), которые ранее входили в список зарегистрированных лиц. Он был назван Э.М. Гольдштейном «коэффициентом летальности», поэтому ниже он именуется нами как «индикатор Гольдштейна» (ИГ) (использование «летальности» является здесь нестандартным, согласно О.М. Драпкиной и со-

авт. [2020]). Также важными оказались распространенность активных случаев и обеспеченность населения врачами-специалистами [12]. Влияние загрязненности атмосферного воздуха на заболеваемость изучалось в [6].

Целью исследования является построение (с оценкой по точности) модели линейной регрессии, которая связывает смертность от COVID-19 в регионах с комплексом объясняющих факторных переменных. На основе этой модели можно выполнять краткосрочный прогноз смертности и более эффективно планировать медицинские ресурсы.

Материалы и методы

Регионами, попавшими в таблицу с обучающими данными, были: 14 областей ЦФО, 2 региона из СЗФО и 4 — из ПФО; в состав южных округов входило 11, а 9 оставшихся находятся на Урале, Дальнем Востоке и в Сибири. В выбранных регионах проживает почти $\frac{1}{2}$ населения страны; в итоге таблица включала $n = 40$ строк. В таблицу не вошли города федерального уровня, ряд промышленных регионов (Липецкая, Вологодская области и многие другие), а также — территории Арктики, ряд регионов СКФО, Сибири, Дальнего Востока, Урала.

Некоторые объясняющие факторы были качественными (ординальными) и номинальными по своей природе, поэтому их градации кодируются фиктивными переменными (dummy). В качестве факторных переменных были выбраны (индекс t здесь для простоты не пишется):

– X_t — распространенность активных случаев COVID-19 на сутки $t - 10$, относительно суток с отчетом t , к которым в [14] был привя-

зан показатель смертности (т. е. общее количество подтвержденных случаев COVID-19 за вычетом выздоровевших и умерших к суткам $t-10$ в соотношении со среднегодовой численностью населения в 2020 г.) (*Active Cases*);

– X_2 — показатель обеспеченности населения врачами-специалистами (для трех групп: инфекционисты (*И*), врачи санитарно-противоэпидемической группы (*СПГ*) и анестезиологи-реаниматологи (*АР*), но без учета токсикологов; здесь бралась их линейная комбинация: $X_2 = 0,423 \cdot И + 0,267 \cdot СПГ + 0,118 \cdot АР$, где *И* — количество врачей-инфекционистов на 10 тыс. жителей за 2020 г. и т. д.) [5, 7] (*Doctors*);

– X_3 — осредненное значение для ИГ, измеренное в логарифмической шкале, с использованием 7-дневного окна (при обучении это 23.x-29.x), $\text{Log}(\text{Mortality})$ [14];

– d_1 — dummy переменная, равная 1 для регионов, в которых наблюдается более низкий уровень популяционного здоровья (*Type 1*);

– d_2 — то же для варианта, когда уровень здоровья был сравнительно высок (*Type 2*);

– d_3 — то же для южных регионов, т. е. регионов из ЮФО, СКФО (*South Region*);

– d_4 — то же, когда наблюдался повышенный уровень загрязнения атмосферного воздуха в населенных пунктах региона за ряд последних лет (*Air Pollution*).

Эти четыре переменные и X_2 влияют лишь на изменение свободного члена в (1).

Для материала обучения были взяты значения фактора X_1 на дату 21.x.2021, а значения Y^t включались здесь на 10 суток позднее, т. е. на 1.xi.2021. При этом на этапе «обучение» использовалось значение Y^t , осредненное за 5 суток: с 30.x по 3.xi.2021. При обработке данных по ИГ использовалась операция осреднения по окну шириной 7 суток, после чего брался натуральный логарифм, в итоге получались значения X_3 . Факторы X_2, d_1, \dots, d_4 предполагались постоянными по t .

Затем оценивались параметры модели регрессии с переменной структурой:

$$Y^t = \beta_0 + \beta_1 X_1^{t-10} + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3^{t-7} + \beta_4 d_1 + \beta_5 d_2 + \beta_6 d_3 + \beta_7 d_4 + \varepsilon, \quad (1)$$

где Y^t — смертность от COVID-19 (отношение количества умерших от этого заболевания за все время пандемии к суткам t к среднегодовой численности населения в 2020 г., умноженное на 100 тыс. [11, 14]). Здесь $X_1, X_2, X_3, d_1, d_2, d_3, d_4$ — объясняющие факторы, β_0 отражает влияние на Y^t неучтенных переменных, ε — случайная величина с $E(\varepsilon) = 0$ и дисперсией σ^2 . Неизвестные параметры $\beta_0, \beta_1, \dots, \beta_7$ и σ^2 оцениваются по таблице с обучающими данными, причем оценки b_0, \dots, b_7

для β -параметров и σ^2 находятся методом наименьших квадратов (МНК) средствами MS Excel. Каждая строка этой таблицы содержит набор $Y^t, X_1, \dots, X_3, d_1, \dots, d_4$ для того или иного региона; факторы X_1, X_2 входили здесь с разными лагами относительно даты привязки показателя смертности в [14]. Отчасти близкий подход применялся ранее при анализе данных по онкологии [13].

Нами выделялись регионы типа 1, в которых в 2015–2020 гг. наблюдалась более высокая заболеваемость населения по некоторым основным классам болезней, зарегистрированных у пациентов с диагнозом, установленным впервые в жизни (на 1 тыс. человек населения). В частности, здесь были рассмотрены болезни системы кровообращения; болезни эндокринной системы, расстройства питания и нарушения обмена веществ; врожденные аномалии (пороки развития), деформации и хромосомные нарушения; болезни крови, кроветворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунный механизм; болезни органов дыхания; болезни органов пищеварения; болезни мочеполовой системы и новообразования. Также было рассмотрено среднее значение контингентов пациентов со злокачественными новообразованиями за 2016–2020 гг. (численность пациентов, состоящих на учете в лечебно-профилактических организациях, на конец года). Дополнительно учитывались общие коэффициенты смертности за 2020 г. Часть таких регионов сильно пострадала после катастрофы на ЧАЭС; в других регионах или вблизи них действуют АЭС (с не самыми передовыми технологиями). На территории некоторых, или сравнительно недалеко от них, еще во времена СССР был ряд технологических аварий или взрывов [1]. Для 17-ти регионов этого типа выбирались значения переменных $d_1 = 1, d_2 = 0$. К этому типу можно отнести почти половину областей из ЦФО: Брянскую, Владимирскую, Ивановскую, Курскую, Орловскую, Рязанскую, Смоленскую; 7 регионов из СЗФО, ПФО, ЮФО: Архангельскую, Астраханскую, Волгоградскую, Оренбургскую, Ростовскую, Саратовскую области и Республику Удмуртию, а также некоторые регионы из УФО, СФО, ДФО: Тюменскую область, Алтайский край и Еврейскую автономную область.

Для регионов типа 2, наоборот, характерны довольно низкие значения заболеваемости вышеупомянутых восьми классов болезней, а также — относительно малые радиационные загрязнения и/или загрязнения из-за техногенных аварий. Для них принималось $d_1 = 0, d_2 = 1$; к этому типу были отнесены пять регионов: три южных (республики Адыгея, Кабардино-Балкария и Ставрополье), Хабаровский край и Московская область; здесь проживает больше молодого населения, а также в них сравнительно мала доля лиц старших возрастных групп.

Все прочие регионы, вошедшие в материал обучения, кроме регионов типов 1 и 2, имели нулевые значения думми переменных d_1 и d_2 .

Еще одна переменная кодировала южные регионы на карте страны: $d_3 = 1$. Наконец, высокий уровень загрязнения воздуха регулярно выявлялся в Архангельской, Белгородской, Воронежской, Курской, Новосибирской, Ростовской, Саратовской и Смоленской областях, а также в Алтайском, Забайкальском, Приморском и Хабаровском краях, республиках Кабардино-Балкария, Крым и Северная Осетия — Алания [10]. Для всех этих 15-ти регионов, принималось, что $d_4 = 1$.

Математические методы включали корреляционный и регрессионный анализ, методы проверки статистических гипотез. Использовались различные тесты (через t-статистику Стьюдента для гипотез $H_0: \beta_j = 0$ и DW-статистику Дарбина—Уотсона для выявления автокорреляции) и традиционный дисперсионный анализ Р. Фишера. Для корректного использования тестов также применялись критерии согласия распределения остатков с нормальным законом. Так как дисперсия σ^2 неизвестна, то были взяты тесты χ^2 Пирсона и Лилиефорса после анализа эмпирической функции распределения остатков. Условие гомоскедастичности проверялось на диаграммах рассеяния остатков регрессии. Весь статистический анализ и обработка данных выполнялись в MS Excel.

Результаты и обсуждение

В верхней части таблицы приводятся b -коэффициенты, или МНК-оценки β .

В 3-й строке в скобках приводятся модули t-статистик, из которых после проверки соответствующих гипотез следует, что β -коэффициенты отличны от 0. В последней строке приводится

F-статистика Р. Фишера и число степеней свободы v . Все достигнутые уровни значимости (p-values) в тестах Стьюдента и Фишера были ниже 0,001. Также в 5-й строке приводятся стандартная ошибка s , значение DW-статистики, несмещенная оценка коэффициента детерминации R^2 , а также две статистики для критериев согласия: χ^2 и статистика, содержащая расстояние Колмогорова D_n . Наконец, в 4-й строке приводятся средние коэффициенты эластичности. Каждый из них показывает, на сколько процентов изменится смертность Y^i в среднем по таблице обучения, если X_j увеличить на 1%, и при этом зафиксировать значения прочих факторов. Сильнее всего на переменную Y^i влияют обеспеченность врачами и распространенность активных случаев, а несколько слабее — d_1 и X_3 (логарифм скользящего среднего для ИГ). Так, если значение фактора X_2 с обеспеченностью врачами увеличить на 1% (соблюдая нормативы по балансу между специализациями), то смертность снизится на 0,5%.

Модель получилась довольно точной для многих регионов, попавших в таблицу с обучающими данными и сформировавших материал обучения, когда отсчет t привязан в [14] к суткам 1.xi.2021. А именно для 30 регионов ошибка аппроксимации MAPE = 1,94% для модели (1) с b -коэффициентами и со стандартной ошибкой 1,5%. Иногда она была сравнима по точности с моделью из [2]. Для всего материала обучения MAPE (mean absolute percentage error) была 3%; при этом модель объяснила 97,8% разброса переменной Y^i вокруг ее среднего значения. На рисунке показано, как модель (1) с b -коэффициентами работает на «экзамене» при изменении X_1 и X_3 по оси 0- t . Модель можно улучшить, если уточнить данные по врачам-специалистам; другой вариант ее улучшения — регулярно проводить новое обучение: через 5–7 дней.

Таблица. Результаты оценивания, коэффициенты эластичности, статистики

Table. Least square estimates for all parameters, coefficients of elasticity, statistics

Переменная Variable		X_1	X_2	X_3	d_1	d_2	d_3	d_4
Краткое имя переменной Short name of variable		Активные случаи Active Cases	Обеспеченность населения врачами Doctors	Ln (ИГ) Log (Mortality)	Регионы типа 1 Type 1	Регионы типа 2 Type 2	Южные регионы South Regions	Загрязнение атмосферного воздуха Air Pollution
1 МНК-оценки	b_0	b_1	b_2	b_3	b_4	b_5	b_6	b_7
2 LS estimates	106.46	9.141	-96.988	12.76	47.494	-21.82	26.965	19.116
3 Статистика t t-statistics	(20.7)	(24)	(16.4)	(10.7)	(21.8)	(7.9)	(11.2)	(9.5)
4 Эластичность Elasticity coefficients		0.35	-0.48	0.15	0.14	-0.04	0.05	0.05
5 Статистика Фишера F-stat. = 252,3	$v = 32$	$s = 5.606$	$R^2 = 97,8\%$	$n^{1/2} \cdot D_n = 0.63$	$\chi^2 = 1.36$		DW = 2.10	

Каждый точечный график связан с прогнозом Y^t — распространенности смертности от COVID-19 за сутки t из промежутка $[1.xi, 17.xi]$ — для одного из семи регионов. Здесь дате $1.xi.2021$ для показателя Y^t будет соответствовать отсчет t ; дате $2.xi$ — $t+1, \dots$. Непрерывными и более контрастными линиями на рисунке изображается изменение смертности по факту.

Например, чтобы получить прогнозное значение Y^t на 5 ноября для Подмоскovie, надо взять его значения *dummu*-переменных d_1, \dots, d_4 , а также — переменной с врачами X_2 . Все эти пять переменных не изменяются по t ; они лишь скорректируют для региона значение b_0 (см. табл.). От суток к суткам изменяется количество активных случаев; оно легко находится из [14]; для прогноза на $5.xi.2021$ надо брать накопленные данные на $25.x$, когда значение фактора $X_1 = 8,267$ на 1 тыс. жителей (с учетом того, что здесь проживало около 7700 тыс. граждан). Аналогично изменяется и фактор X_3 ; он определяется по набору из нескольких значений ИГ. Для его расчета здесь берутся данные за $22.x, \dots, 28.x$ по количеству выздоровевших g пациентов в регионе и умерших d за каждые сутки [12], затем находятся значения $ИГ = 100 \cdot d / (d+r)$ за 7 суток: с $22.x$ по $28.x$ (Предполагается, что за эти дни имелся хотя бы 1 летальный случай). Потом

берется их среднее значение, а от него — натуральный логарифм, равный 0,3863; это и есть значение X_3 на $25.x$, т. е. середина 7-дневного окна. В результате находится сумма: $9,141 \cdot X_1 + 12,76 \cdot X_3 - 96,99 \cdot X_2 +$ (сумма четырех произведений с *dummu*...) $+ 106,462$, которая считается через b -коэффициенты из таблицы. При этом выражение в скобках равно $-21,82$, так как $d_2 = 1$, а все d_1, \dots, d_3 нулевые (см. текст ниже). Итак, для региона будет $Y^t = 9,14X_1 + 12,76X_3 + 37,9186$, так как здесь $X_2 = 0,48792$. В итоге на дату $5.xi.2021$ получаем прогноз показателя Y^t , равный 118. Для сравнения: смертность из-за новообразований в регионе к концу 2020 г. была 172 [7].

Заметим, что распространенность активных случаев COVID-19 в последней декаде октября была примерно одинаковой в Ленинградской, Московской, Тверской и Костромской областях [14]. Среди них в первой декаде ноября в Тверской области была самая высокая смертность от COVID-19, а также одно из наихудших в РФ мест по коэффициенту общей смертности в 2019–2020 гг. Значения Y^t были здесь близки к значениям в Костромской и Ленинградской областях, а в Подмоскovie умирали реже.

Сравнивая средние значения для этой четверки регионов по набору более чем 10 медико-демографических показателей, взятых за 2015–

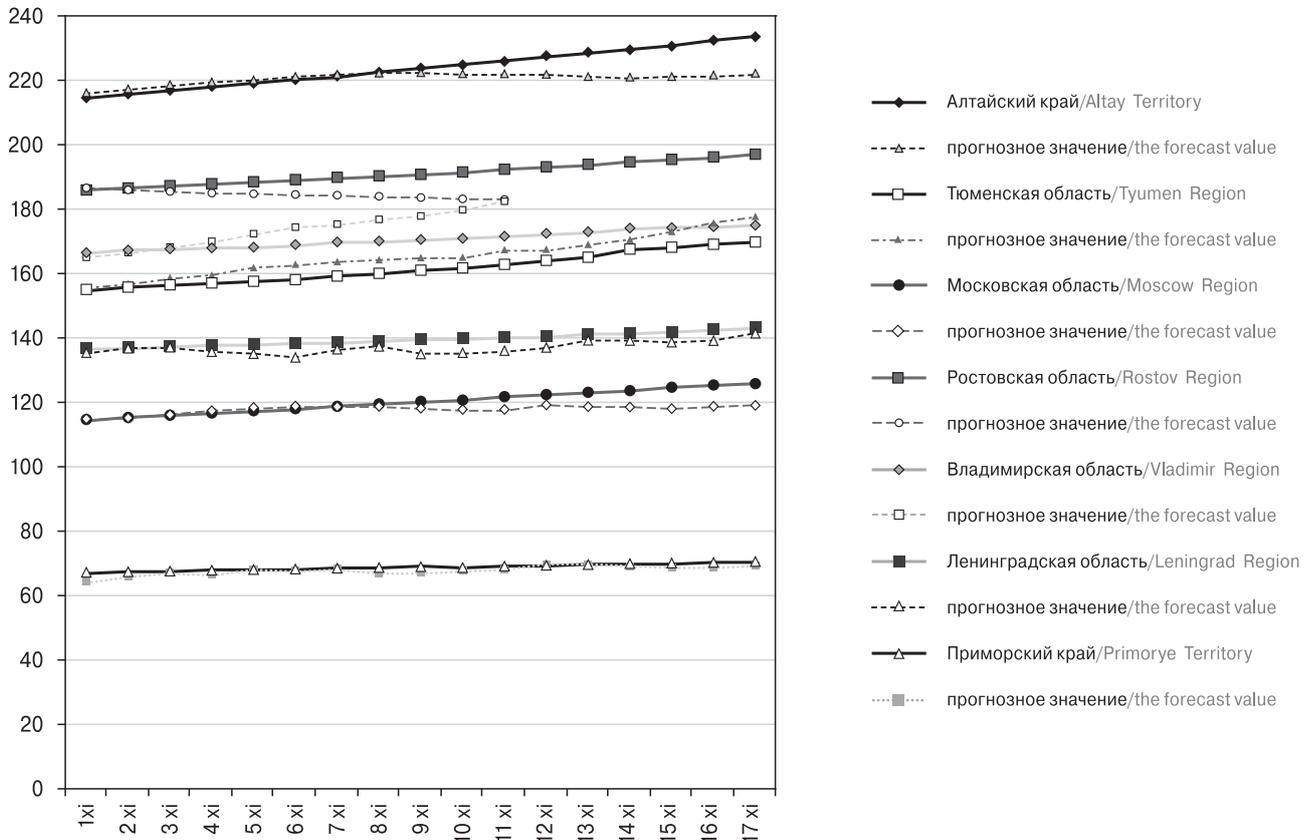


Рисунок. Прогноз смертности Y на $1, \dots, 17.xi$ на 100 тыс. жителей
 Figure. Predicting the mortality Y on the 1st... 17th Nov on 10^5 population

2020 гг. [7], можно предположить, почему смертность из-за COVID-19 в Подмоскowie оказалась в это время ниже. Вблизи Москвы проживает более молодое население и меньше людей старше 70 лет (по отношению к тем, кто младше 25), также здесь стабильно высокие душевые расходы бюджета на здравоохранение. Из-за перечисленного здесь невелик фактор X_3 ; его снизила и более широкая вакцинация взрослых. Также X_3 бывает меньше в регионах, где активнее проводится тестирование на антитела к SARS-CoV-2, отчего возрастает доля нетяжелых случаев, и поэтому больше выздоравливающих [3]. Еще в Московской области в 2019 и 2020 гг. была наименьшая общая смертность в ЦФО (исключая Москву), сравнительно низкие уровни заболеваемости вышеупомянутых восьми классов болезней (исключая болезни органов дыхания и пищеварения). Также здесь относительно низка онкологическая смертность, нет острых проблем с радиоактивным загрязнением территории и загрязнением атмосферного воздуха; поэтому для Подмоскowie принимались следующие значения думми-переменных: $d_1 = d_3 = d_4 = 0$, $d_2 = 1$.

Для читателя с более «продвинутой» математической подготовкой может быть интересно следующее. Нами проверялось выполнение предпосылок теоремы Гаусса–Маркова, в ко-

торой обоснованы хорошие свойства МНК-оценок. Для этого сначала рассматривались коэффициенты корреляций Y^i с каждым из факторов, а также коэффициенты корреляции между факторами. Явление мультиколлинеарности не обнаружено. Гипотеза о нормальности по критерию χ^2 на 5%-м уровне не отвергалась. График эмпирической функции распределения для остатков сравнивался с графиком распределения Гаусса с нулевым средним и стандартом s , где s — несмещенная оценка σ . Наибольшее расхождение графиков $D_n = 0,100$, так что из-за малости $n^{1/2} \cdot D_n$, аналогичный вывод сделан тестом Лиллиефорса [13]. Итак, распределение остатков не противоречит закону Гаусса. Анализ диаграмм рассеяния остатков относительно каждого X_j , а также относительно оценки Y^i , не выявил явного нарушения условия гомоскедастичности. Тест об отсутствии автокорреляции остатков не отвергался. В итоге все предпосылки теоремы были выполнены.

В результате была построена статистическая модель для краткосрочного прогноза смертности в регионах от COVID-19 на текущие сутки, и для нее найдены коэффициенты эластичности. Модель может оказаться полезной при разработке мер борьбы против пандемии в ряде регионов, а также при создании улучшенных секторных моделей (типа SEIRF, SIRD и др.).

Список литературы/References

1. Александров Ю.А. Основы радиационной экологии. Йошкар-Ола: Марийский госуниверситет, 2007. 268 с. [Aleksandrov Yu.A. Fundamentals of radiation ecology. *Yoshkar-Ola: Mariyskii gosuniversitet*, 2007. 268 p. (In Russ.)]
2. Гаврилов Д.В., Абрамов Р.В., Кирилкина А.В., Ившин А.А., Новицкий Р.Э. Модель прогнозирования пандемии COVID-19 на основе машинного обучения в отдельных регионах Российской Федерации // Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. 2021. Т. 14, № 3. С. 342–356. [Gavrilov D.V., Abramov R.V., Kirilkina A.V., Ivshin A.A., Novitskiy R.E. COVID-19 pandemic prediction model based on machine learning in selected regions of the Russian Federation. *Farmakoekonomika. Sovremennaya farmakoekonomika i farmakoepidemiologiya = Farmakoekonomika. Modern Pharmacoconomics and Pharmacoepidemiology*, 2021, vol. 14, no. 3, pp. 342–356. (In Russ.)] doi: 10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2021.108
3. Гольдштейн Э.М. Факторы, влияющие на смертность от новой коронавирусной инфекции в разных субъектах Российской Федерации // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2020. Т. 97, № 6. С. 604–607. [Goldstein E.M. Factors affecting mortality for the novel coronavirus infection in different regions of the Russian Federation. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2020, vol. 97, no. 6, pp. 604–607. (In Russ.)] doi: 10.36233/0372-9311-2020-97-6-11
4. Дружинин П.В., Молчанова Е.В. Смертность населения российских регионов в условиях пандемии COVID-19 // Регионоведение. 2021. Т. 29, № 3. С. 666–685. [Druzhinin P.V., Molchanova E.V. Mortality rates in Russian regions in the context of the COVID-19 pandemic. *Regionologiya = Regionology. Russian Journal of Regional Studies*, 2021, vol. 29, no. 3, pp. 666–685. (In Russ.)] doi: 10.15507/2413-1407.116.029.202103.666-685
5. Единая межведомственная информационно-статистическая система (ЕМИСС). Численность врачей всех специальностей (физических лиц) в организациях, оказывающих медицинские услуги населению, на конец отчетного года. [Unified Interdepartmental Information Statistical System (EMISS). The number of doctors of all specialties (individuals) in organizations providing medical services to the population, at the end of the reporting year. (In Russ.)] URL: <https://www.fedstat.ru/indicator/31547>
6. Зайцева Н.В., Май И.В., Рейс Ж., Спенсер П.С., Кирьянов Д.А., Камалтдинов М.Р. К оценке дополнительной заболеваемости населения COVID-19 в условиях загрязнения атмосферного воздуха: методические подходы и некоторые практические результаты // Анализ риска здоровью. 2021. № 3. С. 14–28. [Zaitseva N.V., May I.V., Reis J., Spenser P.S., Kiryanov D.A., Kamaltdinov M.R. On estimating the additional incidence of COVID-19 among populations exposed to polluted ambient air: methodical approaches and some practical results. *Analiz riska zdorov'yu = Health Risk Analysis*, 2021, no. 3, pp. 14–28. (In Russ.)] doi: 10.21668/health.risk/2021.3.02
7. Здравоохранение в России. Приложение к сборнику (информация в разрезе субъектов Российской Федерации). 2021. [Healthcare in Russia — 2021. Appendix to the collection (information in the context of the subjects of the Russian Federation). 2021. (In Russ.)] URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/210/document/13218>

8. Зинченко Д.И., Куркина Е.С. Компьютерное моделирование распространения эпидемии COVID-19 на примере Германии // Успехи в химии и химической технологии. 2021. Т. 35, № 10 (245). С. 72–75. [Zinchenko D.I., Kurkina E.S. Computational modelling of the spread of the COVID-19 epidemic on the example of Germany. *Uspekhi v khimii i khimicheskoy tekhnologii = Advances in Chemistry and Chemical Technology*, 2021, vol. 35, no. 10 (245), pp. 72–75. (In Russ.)]
9. Макаров В.Л., Бахтизин А.Р., Сушко Е.Д., Агеева А.Ф. Моделирование эпидемии COVID-19 — преимущества агент-ориентированного подхода // Экономические и социальные перемены: факты, тенденции, прогноз. 2020. Т. 13, № 4. С. 58–73. [Makarov V.L., Bakhtizin A.R., Sushko E.D., Ageeva A.F. COVID-19 epidemic modeling — advantages of an agent-based approach. *Ekonomicheskiye i sotsial'nyye peremeny: fakty, tendentsii, prognoz = Economic and Social Changes: Facts, Trends, Forecast*, 2020, vol. 13, no. 4, pp. 58–73. (In Russ.)] doi: 10.15838/esc.2020.4.70.3
10. Охрана окружающей среды в России 2020. Приложение (информация в разрезе субъектов Российской Федерации). М.: Росстат, 2020. [Environmental Protection in Russia 2020. Appendix (information in the context of the constituent entities of the Russian Federation). Moscow: Rosstat, 2020. (In Russ.)] URL: https://gks.ru/bgd/regl/b20_54/Main.htm
11. Регионы России. Социально-экономические показатели: стат. сб. М.: Росстат, 2021. 1114 с. [Regions of Russia. Socio-economic indicators: statistics digest. Moscow: Rosstat, 2021. 1114 p. (In Russ.)] URL: https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Region_Pokaz_2021.pdf
12. Степанов В.С. Зависимость уровня смертности в регионах от распространенности активных носителей SARS-CoV-2 и ресурсов организаций здравоохранения // Анализ риска здоровью. 2020. № 4. С. 12–23. [Stepanov V.S. Dependence between mortality in regions and prevalence of active SARS-CoV-2 carriers and resources available to public healthcare organizations. *Analiz riska zdorov'yu = Human Risk Analysis*, 2020, no. 4, pp. 12–23. (In Russ.)] doi: 10.21668/health.risk/2020.4.02
13. Степанов В.С. Связь онкологической заболеваемости с возрастом населения, проживающего при неблагоприятных факторах окружающей среды // Врач и информационные технологии. 2021. № 3. С. 38–49. [Stepanov V.S. The relationship of cancer prevalence with age of the population living under adverse environmental factors. *Vrach i informatsionnyye tekhnologii = Medical Doctor and Information Technology*, 2021, no. 3, pp. 38–49. (In Russ.)] doi: 10.25881/18110193_2021_3_38
14. Стопкоронавирус.рф. Официальная информация о коронавирусе в России. [Official statistical data on the novel coronavirus in Russia's regions (In Russ.)] URL: <https://стопкоронавирус.рф/information>
15. Янчевская Е.Ю., Меснянкина О.А. Математическое моделирование и прогнозирование в эпидемиологии инфекционных заболеваний // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2019. Т. 23, № 3. С. 328–334. [Yanchevskaya E.Ya., Mesnyankina O.A. Mathematical modelling and prediction in infectious disease epidemiology. *Vestnik Rossiiskogo Universiteta Druzhy Narodov. Seriya: Meditsina = RUDN Journal of Medicine*, 2019, vol. 23, no. 3, pp. 328–334. (In Russ.)] doi: 10.22363/2313-0245-2019-23-3-328-334
16. Friedman J., Liu P., Troeger C.E., Carter A., Reiner R.C. Jr., Barber R.M., Collins J., Lim S.S., Pigott D.M., Vos Th., Hay S.I., Murray C.J.L., Gakidou Em. Predictive performance of international COVID-19 mortality forecasting models. *Nature Communications*, 2021, vol. 12: 2609. 38 p. doi: 10.1038/s41467-021-22457-w
17. Kurkina E.S., Koltsova E.M. Mathematical modeling of the propagation of COVID-19 pandemic waves in the world. *Computational Mathematics and Modeling*, 2021, vol. 32, no. 2, pp. 46–79. doi: 10.1007/s10598-021-09523-0
18. Lifshits M.L., Neklyudova N.P. COVID-19 mortality rate in Russian regions: forecasts and reality. *R-economy*, 2020, vol. 6, no. 3, pp. 171–182. doi: 10.15826/recon.2020.6.3.015
19. Wang Y., Xu Ch., Yao S., Zhao Y., Li Y., Zhao X. Estimating the prevalence and mortality of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the USA, the UK, Russia, and India. *Infection and Drug Resistance*, 2020, vol. 13, pp. 3335–3350. doi: 10.2147/IDR.S265292

Автор:

Степанов В.С., к.ф.-м.н., старший научный сотрудник ФГУН Центральный экономико-математический институт РАН, Москва, Россия.

Author:

Stepanov V.S., PhD (Physics and Mathematics), Senior Researcher, Central Economics and Mathematics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 14.12.2021
Принята к печати 11.05.2022

Received 14.12.2021
Accepted 11.05.2022

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ РИНООРБИТАЛЬНОГО МУКОРМИКОЗА У БОЛЬНОЙ, ПЕРЕНЕСШЕЙ COVID-19: ДИАГНОСТИКА И ТАКТИКА ЛЕЧЕНИЯ

А.Ю. Попова¹, Ю.В. Демина¹, Н.Н. Зайцева², Н.С. Кучеренко³, А.Н. Денисенко⁴,
А.Г. Точилина², И.В. Белова², Г.А. Белозеров⁴, А.В. Полянина², Н.А. Садыкова³,
И.В. Соловьева²

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

² ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия

³ Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Нижегородской области, Нижний Новгород, Россия

⁴ ГБУЗ НО Городская больница № 35 Советского района г. Нижнего Новгорода, Нижний Новгород, Россия

Резюме. Согласно современным данным вирус SARS-CoV-2 обладает способностью вызывать полиорганную патологию, приводя к острым повреждениям различных органов и систем и долгосрочным последствиям, характеризующимся полиморфной симптоматикой. В последнее время среди осложнений COVID-19 отмечается высокая распространенность инвазивных микозов, в частности мукоормикоза — COVID-M. Предрасполагающим фактором развития данной патологии являются сахарный диабет, иммунодефицитные состояния, длительное применение высоких доз глюкокортикостероидов. Мукоормикоз отличается тяжестью клинических проявлений и высокой летальностью, своевременная диагностика данной патологии нередко является сложной проблемой. Целью настоящего исследования стал анализ клинического случая риноорбитального мукоормикоза у больной, перенесшей COVID-19. В качестве материала для исследования послужило слизисто-гноное отделяемое полости носа больной, находившейся ранее на стационарном лечении с диагнозом «Новая коронавирусная инфекция тяжелого течения». В статье приведена методика, позволяющая выделить и идентифицировать чистую культуру плесневого гриба из биоматериала с использованием методов классической бактериологии и MALDI-ToF масс-спектрометрии. При исследовании отделяемого носовой полости методом прямой микроскопии были обнаружены разветвленные несептированные гифы с характерным углом ветвления, что позволило поставить предварительный диагноз «Инвазивный мукоормикоз». При использовании среды Сабуро с теллуридом калия был отмечен рост колонии мицелиального гриба. При микроскопии чистой культуры были обнаружены типичные для мукоормицетов ветвистый мицелий без перегородок, широкие, неравномерные по толщине, несептированные гифы и спорангии с типичной колонкой. Анализ полученных масс-спектров позволил установить видовую принадлежность исследуемого микроорганизма: *Lichtheimia corymbifera*. Как известно, лихтеймии, наряду с другими представителями порядка *Mucorales*, являются возбудителями мукоормикозов. В результате проводимого лечения противогрибковым препаратом (Амфотерицин В) и своевременного оперативного вмешательства больная была выписана из стационара со значительным улучшением, при дальнейшем амбулаторном наблюдении жалоб не предъявляла. Анализ данного клинического случая показал отсутствие ориентированности некоторых

Адрес для переписки:

Точилина Анна Георгиевна
603950, Россия, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71,
ФБУН НИИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (831) 432-81-86 (служебн.), 8 910 103-15-66 (моб.).
Факс: 8 (831) 469-79-20. E-mail: lab-lb@yandex.ru

Contacts:

Anna G. Tochilina
603950, Russian Federation, Nizhny Novgorod,
Malaya Yamskaya str., 71, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod
Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology.
Phone: +7 (831) 432-81-86 (office), +7 910 103-15-66 (mobile).
Fax: +7 (831) 469-79-20. E-mail: lab-lb@yandex.ru

Для цитирования:

Попова А.Ю., Демина Ю.В., Зайцева Н.Н., Кучеренко Н.С.,
Денисенко А.Н., Точилина А.Г., Белова И.В., Белозеров Г.А.,
Полянина А.В., Садыкова Н.А., Соловьева И.В. Клинический случай
риноорбитального мукоормикоза у больной, перенесшей COVID-19:
диагностика и тактика лечения // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12,
№ 4. С. 790–796. doi: 10.15789/2220-7619-CCO-1961

Citation:

Popova A.Yu., Demina Yu.V., Zaytseva N.N., Kucherenko N.S., Denisenko A.N.,
Tochilina A.G., Belova I.V., Belozero G.A., Polyagina A.V., Sadykova N.A.,
Soloveva I.V. Clinical case of rhino-orbital mucormycosis in a convalescent
COVID-19 patient: diagnostic and treatment tactics // Russian Journal
of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4,
pp. 790–796. doi: 10.15789/2220-7619-CCO-1961

клинико-диагностических лабораторий на обнаружение возбудителей инвазивных микозов. Чтобы избежать ошибок при постановке диагноза, необходимо обращать внимание не только на обнаружение спор грибов в клиническом материале, но и принимать во внимание строение мицелия, что является основным различием между дрожжеподобными грибами, высшими и низшими плесенями. Выделение и идентификация чистой культуры возбудителя позволяет уверенно верифицировать диагноз, своевременно корректировать тактику лечения и осуществлять наблюдение за циркуляцией возбудителей мукормикозов для предотвращения возникновения микозов у особо уязвимых контингентов больных.

Ключевые слова: COVID-19, риноорбитальный мукормикоз, *Lichtheimia corymbifera*, морфология грибов, MALDI-ToF масс-спектрометрия, лонг-ковид.

CLINICAL CASE OF RHINO-ORBITAL MUCORMYCOSIS IN A CONVALESCENT COVID-19 PATIENT: DIAGNOSTIC AND TREATMENT TACTICS

Popova A.Yu.^a, Demina Yu.V.^a, Zaytseva N.N.^b, Kucherenko N.S.^c, Denisenko A.N.^d, Tochilina A.G.^b, Belova I.V.^b, Belozеров G.A.^d, Polyamina A.V.^b, Sadykova N.A.^c, Soloveva I.V.^b

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

^b Academician I. N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

^c Department of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Welfare in Nizhny Novgorod region, Nizhny Novgorod, Russian Federation

^d City Hospital No. 35 of the Sovetsky District of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Abstract. According to current data, SARS-CoV-2 virus has the ability to cause multi-organ pathology, leading to acute damage of various organs and systems and long-term consequences characterized by polymorphic symptoms. Recently, a high incidence of invasive mycoses, particularly mucormycosis — COVID-M, has been noted among the COVID-19 complications. The predisposing factor for the development of this pathology is diabetes mellitus, immunodeficiency states, and prolonged use of high doses of glucocorticosteroids. Mucormycosis is characterized by severe clinical manifestations and high lethality, and timely diagnostics of this pathology often represents a difficult problem. The aim of this study was to analyze a clinical case of rhino-orbital mucormycosis in convalescent COVID-19 patient. In the study, there was used mucopurulent nasal discharge from the patient previously hospitalized with a severe novel coronavirus infection. Here, we describe the methodology allowing to isolate and identify a pure mold fungus culture from the biomaterial using methods of routine bacteriology and MALDI-ToF mass spectrometry. Direct microscopy examination of nasal cavity discharge revealed branched non-septic hyphae with a characteristic branching angle, allowing to preliminarily diagnose invasive mucormycosis. Growth of mycelial fungus colony was observed by using Sabouraud's medium with potassium tellurite. Microscopy of the pure culture revealed branching mycelium without septa, broad, with irregular thickness, unsegregated hyphae, and sporangia with a typical column specific to mucormycetes. Analysis of the obtained mass spectra allowed to establish the microbial species identity as *Lichtheimia corymbifera*. The latter along with other members of the order Mucorales, are known to cause mucormycosis. As a result of antifungal treatment (Amphotericin B) and timely surgical intervention, the patient was discharged from the hospital with prominent clinical improvement and no complaints during further outpatient follow-up period. The analysis of this clinical case showed the lack of alertness in some clinical diagnostic laboratories to detect pathogens of invasive mycoses. To avoid errors, while making a diagnosis, attention should be paid not only to detection of fungal spores in clinical material, but also take into account the structure of mycelium underlying major difference between yeast-like fungi, higher and lower molds. The isolation and identification of a pure pathogen culture allows to confidently verify the diagnosis, timely correct the treatment tactics and monitor circulation of mycotic agents to prevent occurrence of mycoses in most vulnerable patients cohorts.

Key words: COVID-19, rhino-orbital mucormycosis, *Lichtheimia corymbifera*, fungal morphology, MALDI-ToF mass spectrometry, long-COVID.

Введение

Согласно имеющимся в настоящее время данным, вирус SARS может поражать в организме любой орган, вызывая острое его повреждение или способствуя развитию патологии спустя некоторое время, причем о наличии возможных отдаленных последствий стало очевидно лишь недавно [2, 10].

В настоящее время выделяют следующие стадии течения COVID-19: острый ковид, при котором остро выражены клинические проявления заболевания (симптомы ОРВИ: ринит, назофарингит, кашель, фебрильная/субфеб-

рильная температура, головная и мышечные боли, бронхиты и пневмониты и пр.), длится 3–4 недели; продолжающийся симптоматический ковид (лонг-ковид) характеризуется длительной персистенцией вируса в организме и менее выраженными клиническими проявлениями до 4–12 недель; постковидный синдром наблюдается у 10–20% пациентов по истечении 12 недель после перенесенной инфекции, характеризуется полиморфной и полиорганной симптоматикой в течение длительного времени.

Долгосрочные последствия COVID-19 включают в себя различные неспецифические сим-

птомы: астения, когнитивные и сенсорные нарушения, расстройство желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, болевой синдром и др. Аналогичная совокупность устойчивых симптомов была описана в предыдущие годы как отдаленные последствия предшествующих эпидемий коронавирусных инфекций, включая атипичную пневмонию (SARS, 2003 г.) и ближневосточный респираторный синдром (MERS, 2012 г.), что позволяет оценить опасность последствий COVID-19 [11, 12].

В последнее время появилось множество сообщений о высокой распространенности инвазивных микозов как осложнений COVID-19. К наиболее часто встречающимся относятся: инвазивный аспергиллез (COVID-ИА), возбудителями которого являются высшие плесневые грибы дейтеромицеты аспергиллы, инвазивный кандидоз (COVID-ИК), обусловленный дрожжеподобными грибами рода *Candida*, и мукормикоз (COVID-М), этиологическим фактором которого являются низшие плесневые грибы зигомицеты порядка *Mucorales*. В связи с тем, что перечисленные заболевания у больных COVID-19 характеризуются высокой летальностью, во Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) (версии 12–15)» (ВМР) включены разделы, посвященные диагностике и лечению инвазивных микозов [1].

Мукормикоз — оппортунистическая грибковая инфекция, обусловленная различными видами условно-патогенных микроорганизмов из разных семейств порядка *Mucorales*, отдел *Mucormycota* (ранее *Zygomycota*), в частности: *Apophysomyces* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Absidia* spp., *Cunninghamella* spp., *Lichtheimia* spp., *Rhizomucor* spp., *Saksenaia* spp., *Syncephalastrum* spp. Возбудители мукормикоза широко распространены в окружающей среде, в частности в почве. В стационарах медицинских организаций они могут контаминировать воздушную среду, постельное белье, перевязочный материал и прочие объекты внешней среды. В различных географических зонах в качестве основного возбудителя выступают разные виды мукормицетов, при этом они обуславливают развитие схожих клинических симптомов [7, 15].

Предрасполагающим фактором развития грибковой инфекции являются иммунодефицитные состояния. Риск развития данного осложнения повышается при длительном применении высоких доз глюкокортикостероидов (ГКС), использовании биологических супрессоров, а также при наличии в анамнезе гематологических и онкологических заболеваний, сахарного диабета (особенно неконтролируемого) и диабетического кетоацидоза. Появление мукормикоза как сопутствующего заболевания при коронавирусной инфекции обусловлено тем, что вирус SARS-CoV-2 способен повреждать эндотелий сосудов и ткань легких, способствуя

повышению восприимчивости к грибковой инфекции. Кроме того, инфекция COVID-19 крайне негативно влияет на иммунную систему, вызывая воспалительный шторм, увеличение количества нейтрофилов и уменьшение количества лимфоцитов, особенно Т-клеток CD4⁺ и CD8⁺, играющих важную роль в борьбе с мукормикозом посредством активации цитокинов, таких как IL-4, IL-10, IL-17, IFN γ [2, 19]. При неконтролируемом сахарном диабете повышенное количество циркулирующей глюкозы обеспечивает благоприятные условия для роста и развития мицелия, связывания его с эндотелием кровеносных сосудов и проникновения в них. Кетоацидоз предотвращает хемотаксис полиморфно-ядерных лейкоцитов, вызывая снижение фагоцитарной активности и уменьшая местную воспалительную реакцию у пациентов, что еще сильнее угнетает иммунный ответ и способствует развитию мукормикоза [14, 16, 17].

Существует пять основных клинических форм мукормикоза: риноцеребральный, легочный, мукормикоз желудочно-кишечного тракта, кожный и диссеминированный. Следует отметить, что риноцеребральная форма встречается значительно чаще других. При тяжелом, часто смертельном, риноцеребральном мукормикозе (летальность 50–80%) гифы гриба поражают стенки сосудов, что приводит к их тромбозу и прогрессирующему некрозу тканей, который может охватить носовую перегородку, небо и кости, окружающие орбиту или синусы. Патологический процесс часто сопровождается повышением температуры, гнойными выделениями из носа, проптозом, офтальмоплегией, флегмоной орбиты, болью, потерей зрения [20].

Согласно ВМР, для постановки диагноза COVID-М проводят компьютерную томографию (КТ) околоносовых пазух, легких и брюшной полости. Для обнаружения мукормицетов осуществляют микроскопию аспиратов и биоптатов, посев и гистологическое исследование материала из очага поражения. При выделении возбудителя в культуре его идентифицируют до рода [1]. В случае выявления характерных клинических симптомов мукормикоза, не дожидаясь результатов лабораторного диагноза, назначают Амфотерицин В, предпочтительней липосомальный Амфотерицин В или липидный комплекс Амфотерицин В. Начинать лечение рекомендуется с пробной дозы: 1 мг препарата вводят внутривенно в течение 1 ч. При отсутствии побочных эффектов дозу поэтапно увеличивают до 5, 10, 20 и 40 мг (4–6-часовые инфузии, повторяющиеся через 6 часов). По достижении эффекта проводят поддерживающую терапию: 1 мг на 1 кг массы тела в сутки. Следует отметить, что при нарушении функции почек используют минимальную дозу Амфотерицина В. В случае возникновения аллергических реакций после назначения пробной дозы препарата допускается повторное на-

значение минимальной дозы в условиях интенсивного наблюдения. При невозможности или неэффективности применения Амфотерицина В назначают Изавуконазол или Позаконазол. Лечение фунгицидными средствами сочетают с хирургическим удалением пораженных тканей и компенсацией сахарного диабета. Повышает шансы на выздоровление также использование гипербарической оксигенации, направленной на устранение тканевой гипоксии и ацидоза. В качестве симптоматического лечения применяют антигистаминные препараты [1, 3].

Цель исследования: анализ клинического случая риноорбитального мукормикоза у больной, перенесшей COVID-19.

Материалы и методы

Пациентка Т.В.Н., 1952 г. рожд., находилась на стационарном лечении в ГБУЗ НО «Городская больница № 35» с 03.02.2022 г. по 18.02.2022 г. с клинической картиной двухстороннего синусита, с жалобами на слизисто-гнойные выделения из носа (больше справа), гнойный запах в носу (больше справа), головные боли. В анамнезе: с 23.12.2021 г. по 25.01.2022 г. находилась на стационарном лечении в инфекционном отделении ЦРБ одного из районов Нижегородской области с диагнозом «Новая коронавирусная инфекция подтвержденная, тяжелое течение, системный кандидоз, двусторонняя полисегментарная интерстициальная пневмония, КТ2 (умеренная пневмония с поражением 25–50% легких), ДН-2 (дыхательная недостаточность второй степени с появлением одышки при обычной нагрузке)» и сопутствующей патологией: «Ишемическая болезнь сердца (ИБС), ожирение II степени, анемия легкой степени, сахарный диабет (СД) 2 типа, диабетическая полинейропатия нижних конечностей, непролиферативная диабетическая ретинопатия обоих глаз». В качестве патогенетической терапии в комплексе лечебных мероприятий использовали дексаметазон в течение 24 дней в максимальной дозе — 20 мг/сутки при внутривенном введении в начале лечения, с постепенным снижением дозы до 4 мг/сутки внутримышечно. Антибактериальная терапия включала левофлоксацин по 500 мг два раза в день в течение 9 дней. На 18-й день пребывания в стационаре после обнаружения в назальном мазке клеток грибов был назначен флуконазол перорально по 150 мг 1 раз в день и внутривенно по 100 мл 2 раза в день курсом 6 дней. Уровень сахара крови во время пребывания пациента в стационаре колебался от 11,4 до 21,0 Мм/л. По окончании стационарного лечения больная была направлена в Нижний Новгород на консультацию оториноларинголога. Мультиспиральная компьютерная томография околоносовых пазух (МСКТ ОНП), проведенная 02.02.2022 г., показала наличие признаков двустороннего верхнечелюстного синусита,

справа — с нарушением целостности стенок обеих пазух, признаки нерезко выраженного фронтита справа, выраженного этмоидита справа, умеренно выраженного сфеноидита. Больная была госпитализирована в оториноларингологическое отделение ГБУЗ НО ГБ № 35.

Забор, транспортировка и прямая микроскопия слизисто-гнойных выделений и биоптата ткани осуществлялись в соответствии со стандартными методиками [5, 6].

Микробиологическую диагностику осуществляли во ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора следующим образом: посев биоматериала производили на пластинчатую питательную среду Сабуро с теллуридом калия. Питательную среду № 2 ГРМ (Сабуро) (ТУ 9398-002-78095326-2006, ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, г. Оболенск) готовили в соответствии с инструкцией производителя. После стерилизации *ex tempore* добавляли 2% раствор теллурида калия (ТУ 9398-019-78095326-2006, ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, г. Оболенск) из расчета 0,5 мл раствора на 100 мл готовой среды. Посев инкубировали при 37°C в течение 48 ч.

Микроскопию культуры, подготовленной по методу «раздавленной капли» с использованием 40% КОН, проводили на микроскопе Micros MC 50 (Австрия) при увеличении $\times 200$.

Видовую идентификацию осуществляли методом MALDI-ToF масс-спектрометрии с использованием масс-спектрометра Autoflex speed LRF и программно-аппаратного комплекса BioTyper (Bruker Daltonics, Германия).

Пробоподготовку культуры мицелиального гриба проводили согласно стандартному операционному протоколу «Экстракция муравьиной кислотой» [9].

Все измерения производили в линейном режиме, детектируя положительные ионы. Для накопления масс-спектров мощность лазерного излучения устанавливали на уровне минимального порогового значения, достаточного для десорбции-ионизации образца. Параметры масс-спектрометра оптимизировали для диапазона m/z от 2000 до 20 000. Для получения пригодных для идентификации масс-спектров в настройках прибора устанавливали следующие параметры: суммирование 10 серий спектров по 50 импульсов лазера. Внешнюю калибровку проводили с использованием бактериального тест-стандарта (Bruker Daltonics, Германия), в качестве матрицы использовали α -циано-4-гидрокси-коричную кислоту (α -CHCA). Идентификацию, запись, обработку и анализ масс-спектров осуществляли с помощью программы BioTyper RTC. О достоверности идентификации судили по значению коэффициента совпадения (Score values) — 2,000–3,000 — идентификация до вида, 1,999–1,700 — идентификация до рода, 1,699–0 — идентификация не прошла) и значе-

нию категорий: А — достоверная идентификация до вида, В — достоверная идентификация до рода, С — недостоверный результат.

Результаты и обсуждение

ЛОР-статус пациентки при поступлении в оториноларингологическое отделение ГБУЗ НО ГБ № 35: наружный нос правильной формы; слизистая оболочка гиперемирована, не отечна, в области среднего носового хода с двух сторон грязно-серые корочки; гнилостный запах с обеих сторон; носовая перегородка по средней линии; подчелюстные, глубокие шейные лимфатические узлы не увеличены; носовое дыхание затруднено. Пациентке была назначена антибактериальная терапия: цефтриаксон (1,0 г/сутки), метронидазол (100 мл/сутки). Отделяемое из носа было направлено на бактериоскопическое исследование.

При исследовании слизисто-гнояного отделяемого методом прямой микроскопии были обнаружены разветвленные несептированные гифы, угол ветвления 45–90° (рис. 1, III обложка).

Типичное расположение гифов позволило поставить предварительный диагноз «Инвазивный мукормикоз» и назначить пациенту антимикотическую терапию Амфотерицином В, постепенно увеличивая дозу с 1 мг в первые сутки до 35 мг на пятые сутки.

Через 3-е суток от начала лечения антимикотиком отделяемое полости носа (корочки и слизь) были направлены на культуральное исследование во ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора.

При использовании культурального метода на первом этапе оценивали характер роста культуры на среде Сабуро с теллуридом калия. По окончании инкубации (48 ч) на поверхности питательной среды был отмечен рост колонии мицелиального гриба: колония круглая, диаметром 50 мм с ровным краем, коричневого цвета, высокая, состоящая из двух ярусов, поверхность густопушистая, беловато-серая (рис. 2, III обложка).

При микроскопии были обнаружены типичные для мукормицетов морфологические признаки [4]: широкие, неравномерные по толщине, несептированные гифы и спорангии с типичной колонкой. Мицелий ветвистый, без перегородок, диаметром 15–18 мкм, со столонами разной степени искривления, разветвляющийся под углом 45–90° на гиалиновые нити. Спорангии 30–40 мкм, грушевидные, располагаются группами по 2–5, хламидоспоры концевые, на ножках (рис. 3, III обложка).

При анализе полученных масс-спектров была установлена видовая принадлежность исследуемого микроорганизма: *Lichtheimia corymbifera* со Score 2,00.

Род *Lichtheimia* принадлежит семейству *Lichtheimiaceae*, порядок *Mucorales*. Род *Lichtheimia*

в настоящее время содержит шесть признанных видов: *L. lakesleeana*, *L. brasiliensis*, *L. corymbifera*, *L. ornata*, *L. ramosa* и *L. sphaerocystis*, из которых *L. corymbifera* и *L. ramosa* признаны клинически важными видами [18], обуславливающими развитие COVID-М, характеризующегося высокой летальностью [1].

Согласно современным научным данным, *Lichtheimia corymbifera* является одним из основных видов мукормицетов, вызывающих мукормикоз у людей, перенесших COVID-19 на фоне коморбидной патологии, в частности неконтролируемого сахарного диабета 2 типа и длительной массивной терапии глюкокортикостероидами [8, 13].

После 7-дневного лечения противогрибковым препаратом проведено оперативное вмешательство — эндоскопическая правосторонняя полисинусотомия с некрэктомией структур полости носа. На I этапе под внутривенной анальгезией и местной анальгезией раствором 2% лидокаина (6,0 мл) торцевым эндоскопом осмотрена полость носа слева. Визуализированы и удалены корки в общем носовом ходе, полость носа слева промыта раствором Хлоргексидина; слизистая оболочка не изменена, все структуры сохранены. На II этапе торцевым эндоскопом осмотрена полость носа справа. Визуализирована и удалена щипцами Блэксли некротически измененная средняя носовая раковина. Резецирован обратным выкусывателем крючковидный отросток справа. Расширено естественное соустье правой верхнечелюстной пазухи. Из пазухи удалены гнойно-некротические массы со слоистыми тяжами. Последовательно вскрыты передние и частично задние клетки решетчатого лабиринта справа, все полипозно-некротические массы удалены. На III этапе удалены щипцами некротические массы в задних отделах перегородки носа справа. Остановлено обильное кровотечение. Наложены гемостатические губки. Выполнена передняя тампонада полости носа. Полученный в ходе операции патологический материал отправлен на гистологическое исследование, результаты которого также подтвердили диагноз риноорбитального мукормикоза.

На третий день после операции больная была выписана из стационара со значительным улучшением: нормализацией носового дыхания, отсутствием некрозов и корочек в полости носа, отсутствием гнилостного запаха и отделяемого из носа. При дальнейшем амбулаторном наблюдении пациентка жалоб не предъявляла; при осмотре: носовое дыхание свободное, отделяемого из носа нет.

Заключение

Рассмотренный случай постковидного риноорбитального мукормикоза показал, что грамотно поставленный по данным клинического ос-

мотра предварительный диагноз, подтвержденный бактериоскопически и бактериологически, своевременно назначенное и проведенное комплексное хирургическое и терапевтическое лечение позволили достичь стойкого излечения пациентки от заболевания, характеризующегося высокой летальностью. В то же время анамнез данной больной является показательным примером того, что районные клинико-диагностические лаборатории до сих пор при бактериоскопии проб клинического материала в большей степени ориентированы на обнаружение дрожжеподобных, чем плесневых грибов — возбудителей инвазивных микозов. При этом лабораторное заключение выдается при обнаружении спор грибов, в то время как основным различием между высшими, низшими плесенями и дрож-

жеподобными грибами является разное строение мицелия. И именно эта характеристика служит основанием для постановки предварительного лабораторного диагноза, позволяющего своевременно назначить адекватное лечение. В то же время выделение и идентификация чистой культуры возбудителя обеспечивает не только подтверждение правильного диагноза и коррекцию назначаемой терапии, но и позволяет осуществлять мониторинг циркуляции штаммов возбудителей микозов, способных контаминировать объекты окружающей среды и вызывать групповые заболевания в медицинских организациях у особо уязвимых контингентов больных с иммунодефицитными состояниями различного генеза, в том числе обусловленными новой коронавирусной инфекцией COVID-19.

Список литературы/References

1. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 15 от 22.02.2022. М., 2022. 233 с. [Interim guidelines. Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19). Version 15 dated 22.02.2022. Moscow, 2022. 233 p. (In Russ.)]
2. Долгополов И.С., Менткевич Г.Л., Рыков М.Ю., Чичановская Л.В. Неврологические нарушения у пациентов с long COVID синдромом и методы клеточной терапии для их коррекции: обзор литературы // Сеченовский вестник. 2021. Т. 12, № 3. С. 56–67. [Dolgopolov I.S., Mentkevich G.L., Rykov M.Yu., Chichanovskaya L.V. Neurological disorders in patients with long COVID syndrome and cell therapy methods for their correction: a literature review. *Sechenovskii vestnik = Sechenov Medical Journal*, 2021, vol. 12, no. 3, pp. 56–67. (In Russ.)] doi: 10.47093/2218-7332.2021.12.3.56-67
3. Древал А.В., Губкина В.А., Камынина Т.С., Лосева В.А., Мельникова Е.В., Зенгер В.Г., Ашуров З.М., Исаев В.М., Слоева А.И., Макаренко М.Ф., Рябцева А.А., Лучков М.Ю., Крючкова Г.С. Три случая мукормикоза у больных сахарным диабетом (Московская область) // Проблемы эндокринологии. 2004. Т. 50, № 5. С. 39–44. [Dreval A.V., Gubkina V.A., Kamynina T.S., Loseva V.A., Mel'nikova E.V., Zenger V.G., Ashurov Z.M., Isaev V.M., Sloeva A.I., Makarenko M.F., Ryabtseva A.A., Luchkov M.Yu., Kryuchkova G.S. Three cases of mucormycosis in patients with diabetes mellitus (Moscow Region). *Problemy endokrinologii = Problems of Endocrinology*, 2004, vol. 50, no. 5, pp. 39–44. (In Russ.)] doi: 10.14341/probl11524
4. Кашкин П.Н., Хохряков М.К., Кашкин А.П. Определитель патогенных, токсигенных и вредных для человека грибов. Л.: Медицина, 1979. 272 с. [Kashkin P.N., Khokhryakov M.K., Kashkin A.P. Identifier of pathogenic, toxigenic and harmful fungi for humans. *Leningrad: Medicine*, 1979. 272p. (In Russ.)]
5. Клиническая микробиология: руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 480 с. [Clinical microbiology: a guide for clinical laboratory diagnostics specialists. Moscow: GEOTAR-Media, 2011. 480 p. (In Russ.)]
6. Лебедева М.Н. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии. М.: Медицина, 1973. 312 с. [Lebedeva M.N. Handbook for practical training in medical microbiology. Moscow: Medicine, 1973. 312 p. (In Russ.)]
7. Тараскина А.Е., Пчелин И.М., Игнатъева С.М., Спиридонова В.А., Учеваткина А.Е., Филиппова Л.В., Фролова Е.В., Васильева Н.В. Молекулярно-генетические методы определения и видовой идентификации грибов порядка Mucorales в соответствии с глобальными рекомендациями по диагностике и терапии мукоромикоза (обзор литературы) // Проблемы медицинской микологии. 2020. Т. 22, № 1. С. 3–14. [Taraskina A.E., Pchelin I.M., Ignat'eva S.M., Spiridonova V.A., Uchevatkina A.E., Filipova L.V., Frolova E.V., Vasil'eva N.V. Molecular genetic methods for detection and species identification of fungal order Mucorales in accordance with the global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis (literature review). *Problemy meditsinskoi mikologii = Problems in Medical Mycology*, 2020, vol. 22, no. 1, pp. 3–14. (In Russ.)] doi: 10.24412/1999-6780-2020-1-3-14
8. Хостелиди С.Н., Зайцев В.А., Пелих Е.В., Яшина Е.Ю., Родионова О.Н., Богомолова Т.С., Авдеенко Ю.Л., Клишко Н.Н. Мукормикоз на фоне COVID-19: описание клинического случая и обзор литературы // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2021. Т. 23, № 3. С. 255–262. [Khostelidi S.N., Zaytsev V.A., Pelikh E.V., Yashina E.V., Rodionova O.N., Bogomolova T.S., Avdeenko Yu.L., Klimko N.N. Mucormycosis following COVID-19: clinical case and literature review. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2021, vol. 23, no. 3, pp. 255–262. (In Russ.)] doi: 10.36488/cmasc.2021.3.255-262
9. Чеботарь И.В., Поликарпова С.В., Бочарова Ю.А., Маянский Н.А. Использование времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-ToF MS) для идентификации бактериальных и грибковых возбудителей III–IV групп патогенности // Лабораторная служба. 2018. Т. 7, № 2. С. 78–86. [Chebotar I.V., Polikarpova S.V., Bocharova Yu.A., Mayansky N.A. Use of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-ToF MS) for identification of bacteria and fungi of the pathogenicity group III and IV. *Laboratornaya sluzhba = Laboratory Service*, 2018, vol. 7, no. 2, pp. 78–86. (In Russ.)] doi: 10.17116/labs20187278-86
10. Шелканов 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., Kruzhkova I.S., Maleev V.V. COVID-19: etiology, clinical picture, 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

11. Bhatt K., Agolli A., Patel M.H., Garimella R., Devi M., Garcia E., Amin H., Dominique C., Del Castillo R.G., Sanchez-Gonzalez M. High mortality co-infection of COVID-19 patients: mucormycosis and other fungal infections. *Discoveries*, 2021, vol. 9, no. 1: e126. doi: 10.15190/d.2021.5
12. Burton C., Fink P., Henningsen P., Löwe B., Rief W., EURONET-SOMA Group. Functional somatic disorders: discussion paper for a new common classification for research and clinical use. *BMC Medicine*, 2020, vol. 18, no. 1: e34. doi: 10.1186/s12916-020-1505-4
13. Fernández-García O., Guerrero-Torres L., Roman-Montes C.M., Rangel-Cordero A., Martínez-Gamboa A., Ponce-de-Leon A., Gonzalez-Lara M.F. Isolation of *Rhizopus microsporus* and *Lichtheimia corymbifera* from tracheal aspirates of two immunocompetent critically ill patients with COVID-19. *Med. Mycol. Case Rep.*, 2021, vol. 33, pp. 32–37. doi: 10.1016/j.mmcr.2021.07.001
14. Hernández J.L., Buckley C.J. Mucormycosis: StatPearls Publishing; Last update: april 30, 2022. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544364> (23.05.2022)
15. Ibrahim A.S., Spellberg B., Walsh T.J., Kontoyannis D.P. Pathogenesis of mucormycosis. *Clin. Infect. Dis.*, 2012, vol. 54, suppl. 1 (suppl. 1), pp. S16–S22. doi: 10.1093/cid/cir865. doi: 10.1093/cid/cir865
16. Katragkou A., Walsh T.J., Roilides E. Why is mucormycosis more difficult to cure than more common mycoses? *Clin. Microbiol. Infect.*, 2014, vol. 20, suppl. 6, pp. 74–81. doi: 10.1111/1469-0691.12466
17. Lin E., Moua T., Limper A.H. Pulmonary mucormycosis: clinical features and outcomes. *Infection*, 2017, vol. 45, no. 4, pp. 443–448. doi: 10.1007/s15010-017-0991-6
18. Pan J., Tsui C., Li M., Xiao K., de Hoog G.S., Verweij P.E., Cao Y., Lu H., Jiang Y. First case of rhinocerebral mucormycosis caused by *Lichtheimia ornata*, with a review of *Lichtheimia* infections. *Mycopathologia*, 2020, vol. 185, no. 3, pp. 555–567.
19. Pasero D., Sanna S., Liperi C., Piredda D., Branca G.P., Casadio L., Simeo R., Buselli A., Rizzo D., Bussu F., Rubino S., Terragni P. A challenging complication following SARS-CoV-2 infection: a case of pulmonary mucormycosis. *Infection*, 2021, vol. 49, no. 5, pp. 1055–1060. doi: 10.1007/s15010-020-01561-x
20. Reid G., Lynch J.P., Fishbein M., Clark N.M. Mucormycosis. *Semin. Respir. Crit. Care Med.*, 2020, vol. 41, no. 1, pp. 99–114. doi: 10.1055/s-0039-3401992

Авторы:

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

Демина Ю.В., д.м.н., профессор, начальник управления эпидемиологического надзора Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия;

Зайцева Н.Н., д.м.н., директор ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия;

Кучеренко Н.С., руководитель Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Нижегородской области, Нижний Новгород, Россия;

Денисенко А.Н., к.м.н., главный врач ГБУЗ НО Городская больница № 35 Советского района г. Нижнего Новгорода, Нижний Новгород, Россия;

Точилина А.Г., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории микробиома человека и средств его коррекции ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия;

Белова И.В., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории микробиома человека и средств его коррекции ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия;

Белозеров Г.А., зав. оториноларингологическим отделением ГБУЗ НО Городская больница № 35 Советского района г. Нижнего Новгорода, Нижний Новгород, Россия;

Полянина А.В., к.м.н., зам. директора ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия;

Садькова Н.А., зам. руководителя Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Нижегородской области, Нижний Новгород, Россия;

Соловьева И.В., д.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник, зав. лабораторией микробиома человека и средств его коррекции ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия.

Authors:

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

Demina Yu.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Epidemiological Surveillance of Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation;

Zaytseva N.N., PhD, MD (Medicine), Director of Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Kucherenko N.S., Head of the Department of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Welfare in Nizhny Novgorod Region, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Denisenko A.N., PhD (Medicine), Head of the City Hospital No. 35 of the Sovetsky District of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Tochilina A.G., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of a Human's Microbiome and Means of its Correction, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Belova I.V., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of a Human's Microbiome and Means of its Correction, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Belozеров G.A., Head of the Otorhinolaryngological Department, City Hospital No. 35 of the Sovetsky District of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Polyanina A.V., PhD (Medicine), Deputy Director, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Sadykova N.A., Deputy Head of the Department of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Welfare in Nizhny Novgorod Region, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Soloveva I.V., PhD, BD (Biology), Associate Professor, Leading Researcher, Head of the Laboratory of the Human Microbiome and Means of its Correction, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation.

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, kDa 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:
 ООО «Урал-Пресс-Округ» и электронный каталог «Российская периодика»
 в сети Internet на сайте www.arpk.org.
 Подписной индекс 41392.
 Подписка на электронную версию журнала
 на сайте www.elibrary.ru**

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Алексеева Д.А.	735	Козлов И.Г.	651	Степанов В.С.	783
Андреевская Н.М.	659	Комарова И.А.	668	Тихомирова Е.И.	755
Арипов В.С.	609	Коробова З.Р.	771	Ткачева Н.К.	713
Арсентьева Н.А.	771	Костюшко А.В.	668	Топузов Э.Э.	735
Афиногенова А.Г.	755	Крюкова А.В.	659	Тотолян А.А.	771
Базыкина Е.А.	713	Ксенафонтов А.Д.	624	Точилина А.Г.	790
Бачинин И.А.	771	Кучеренко Н.С.	790	Трещалина Е.М.	651
Белова И.В.	790	Лиознов Д.А.	639	Троценко О.Е.	713
Белозеров Г.А.	790	Лихачев И.В.	771	Уланская А.В.	659
Беляев Н.Н.	771	Лопатин А.А.	745	Устюжанин А.В.	688
Беляков Н.А.	639	Лягоскин И.В.	701	Хамитова И.В.	771
Беспалова Н.В.	755	Лялина Л.В.	735	Холопов Д.В.	735
Боева Е.В.	639	Мальгина Г.Б.	688	Чеснокова М.В.	659
Бондаренко А.П.	713	Манина И.В.	651	Чистякова Г.Н.	688
Ворбов В.Н.	771	Маркелова Е.В.	668	Шестопапов А.М.	609
Ворожьева О.В.	779	Марков Е.Ю.	659	Шмыленко В.А.	713
Вязовая А.А.	735	Мартиросян Д.В.	651	Шукуров Р.Р.	701
Глинская Е.В.	755	Михайлова И.Н.	651	Шульгина Т.А.	755
Дарьин Н.И.	755	Молчанов С.В.	735	Шелканов М.Ю.	668
Дедков В.Г.	745	Нечаева О.В.	755	Эсауленко Е.В.	639
Демина Ю.В.	790	Николаев В.Б.	659	Акбар Н.	765
Денисенко А.Н.	790	Объедков Д.А.	701	Arfah M.	765
Долгова А.С.	745	Огиенко О.Н.	713	Baryshnikova N.V.	726
Егорова И.Ю.	701	Перепелица С.А.	677	Ermolenko E.I.	726
Загдын З.М.	639	Полянина А.В.	790	Gladyshev N.S.	726
Загоскина Т.Ю.	659	Попов А.Ф.	668	Jabal A.R.	765
Зайцева Н.Н.	790	Попова А.Ю.	790	Kashchenko V.A.	726
Зайцева Т.А.	713	Попова Ю.О.	659	Marhani	765
Зубова К.В.	755	Пшеничная Н.Ю.	713	Molostova A.S.	726
Зуева Е.В.	771	Ремизова И.И.	688	Mutiasari D.	765
Иванова А.В.	609	Решетникова В.В.	651	Pisu A.J.	765
Игумнова С.В.	659	Романова Л.П.	779	Ratnasari A.	765
Казачинская Е.И.	609	Садыкова Н.А.	790	Rini	765
Каргополова П.Е.	701	Сафонова М.В.	745	Sobak N.A.	765
Киселева И.В.	624	Симакина О.Е.	639	Suvorov A.N.	726
Киселевский М.В.	651	Симонова Е.Г.	745	Svarval A.V.	726
Климов В.Т.	659	Соловьева И.В.	790	Toemon A.I.	765

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

анализ антител	771	коронавирус	677	T-клеточный иммунитет	701
анальный рак	735	лихорадка Ласса	609	T-клеточный ответ	651
антибиотикорезистентность	755	лонг-ковид	790	тканевые ингибиторы матричных	
антигены	659	матриксные металлопротеиназы	668	металлопротеиназ	668
антимикробная активность	755	медицинские работники	688	«ТиграТест® SARS-CoV-2»	701
антитела	659	микроабсцессы	779	туберкулез	639
бактериальная микрофлора	713	микроспления	677	факторы риска	735
больные	713	моделирование смертности	783	ферритин	677
валидация	701	модель регрессии	783	хронический гепатит С	639
вариабельность	701	морфология грибов	790	цитокиновый шторм	651
вирус Кемерово	745	мочевина	659	цитокины	668
вирус Ласса	609	наночастицы серебра	755	эпидемиологический риск	745
вирус папилломы человека	735	нейтрализующие антитела	771	эпидемиология	609, 639
вирусная нагрузка	735	общественное здоровье	783	эпидемический потенциал	745
ВИЧ-инфекция	639	орофарингеальный рак	735	этиология	609
влияние локальных факторов	713	особо опасные инфекции	609	autoprobiotics	726
внебольничная пневмония	668, 713	острое респираторное заболевание	668	cerariae	765
водные дисперсии	755	острые респираторные вирусные		COVID-19	624, 639, 651, 688, 701, 771, 779, 790
возбудители гнойно-воспалительных		инфекции	624, 668	ELISPOT	701
заболеваний	755	отек легких	779	enterococci	726
воспалительный ответ	677	первичное обследование	713	Enterococcus faecium	726
высокопроизводительное		перипеллюлярный отек	779	eradication	726
секвенирование	745	пневмония	677, 779	freshwater	765
генетическое разнообразие	745	повторное обследование	713	Helicobacter pylori	726
гипериммунизация	659	полиазолидинаммоний	755	IgG	688
грипп	624, 668	полимеры	755	IgM	688
группа вирусов Грейт Айленд	745	поствакцинальный гуморальный		IL-2	651
диагностика	659	иммунитет	688	Indonesia	765
диагностическая чувствительность	701	прогноз смертности	783	Lichtheimia corymbifera	790
дыхательная недостаточность	677, 779	противоинфекционный гуморальный		Makassar	765
единицы ВАУ/мл	771	иммунитет	688	MALDI-ToF масс-спектрометрия	790
заболеваемость населения	783	псевдотуберкулез	659	N-белок SARS-CoV-2	771
загрязнение воздуха	783	рак шейки матки	735	N-белок-связывающие антитела	771
злонакаственные новообразования	735	регионы России	783	probiotics	726
иммунокорректирующая терапия	651	риновирусные инфекции	624	reservoir	765
интерлейкины	677	риноорбитальный мукормикоз	790	SARS-CoV-2	639, 688, 783
ИФА-наборы	771	РС-вирусные инфекции	624	snail	765
Кагоцел	668	селезенка	677	Yersinia pseudotuberculosis	659
клиническая картина		синдрема	639		
лихорадки Ласса	609	специфичность	701		

Иллюстрации к статье «Внутрилабораторная валидация «ТиграТест® SARS-CoV-2» — теста на высвобождение интерферона гамма *in vitro* для определения в крови Т-лимфоцитов, специфически отвечающих на антигены вируса SARS-CoV-2» (авторы: И.В. Лягоскин, П.Е. Каргополова, Д.А. Объедков, И.Ю. Егорова, Р.Р. Шукуров) (с. 701–712)

Illustrations for the article “Intra-laboratory validated “Tigratest® SARS-CoV-2” — test assessing release of interferon gamma *in vitro* to identify peripheral blood T-lymphocytes specifically responding against SARS-CoV-2 virus antigens” (authors: Lyagoskin I.V., Kargopolova P.E., Obyedkov D.A., Egorova I.Yu., Shukurov R.R.) (pp. 701–712)

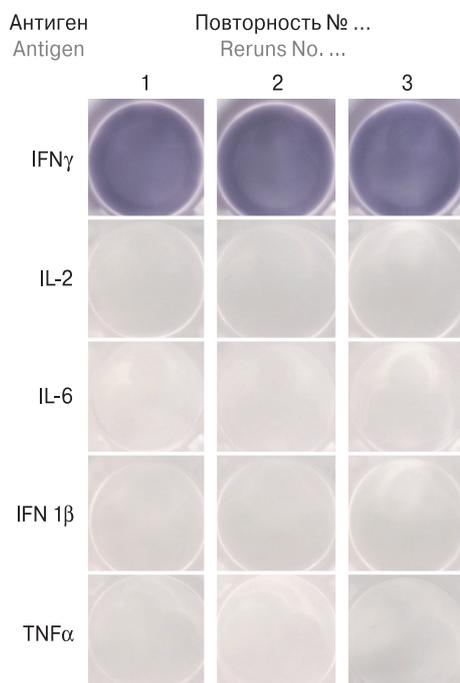


Рисунок 1. Оценка специфичности пары антител, используемых в «ТиграТест® SARS-CoV-2»

Figure 1. Evaluated specificity of the antibody pair used in “Tigratest® SARS-CoV-2”

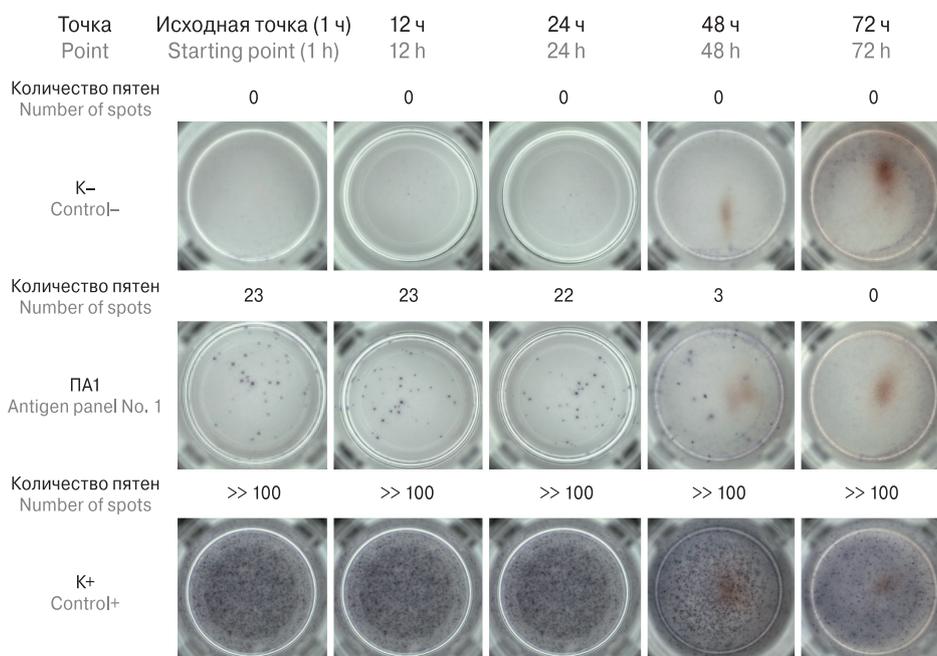


Рисунок 2. Пример результатов оценки уровня выброса IFN γ у пациента, иммунизированного вакциной «Гам-КОВИД-Вак» (Спутник V), после стимуляции МКПК ПА1 в различных временных точках при хранении крови в пробирках BD Vacutainer®

Figure 2. Representative results assessing the IFN γ level released in the patient immunized with the “Gam-COVID-Vac” vaccine (Sputnik V) after PBMC stimulation with antigen panel No. 1 at different time points during blood storage in BD Vacutainer® tubes

Иллюстрация к статье «Тип церкарий в пресноводных улитках водохранилища Тунгу Пампанг, город Макаassar, Индонезия» (авторы: А.Р. Джабал, Д. Мутиасари, Х. Акбар, М. Арфах, Мархани, Рини, Н.А. Собак, А.Д. Пису, А.И. Тозмон, А. Ратнасари) (с. 765–770)

Illustration for the article “Type of cercaria in freshwater snails at Tunggu Pampang reservoir, Makassar City, Indonesia” (authors: Jabal A.R., Mutiasari D., Akbar H., Arfah M., Marhani, Rini, Sobak N.A., Pisu A.J., Toemon A.I., Ratnasari A.) (pp. 765–770)



Figure 2. Snails collected from Tunggu pampang reservoir. A) *Pila* sp., B) *Bellamya* sp., C) *Lymnaea rubiginosa*, D) *Indoplanorbis exustus*, E) *Melanoides* sp.

Иллюстрации к статье «Случай абсцедирующей пневмонии при инфицировании COVID-19 у молодой пациентки» (авторы: О.В. Воробьева, Л.П. Романова) (с. 779–782)

Illustrations for the article “A case of abscessed pneumonia due to COVID-19 infection in a young patient” (authors: Vorobeva O.V., Romanova L.P.) (pp. 779–782)

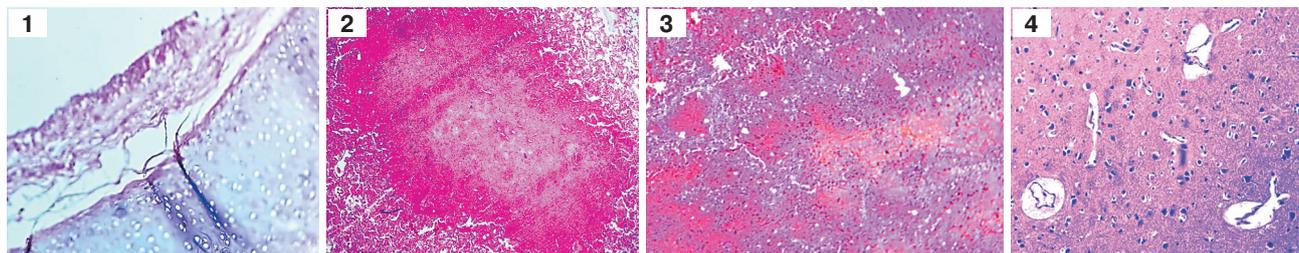


Рисунок 1. Микроскопическая картина некротических изменений слизистой оболочки трахеи с дегенерацией и десквамацией эпителиальных клеток, выраженным отеком, мононуклеарной инфильтрацией подслизистого слоя. Окраска гематоксилином и эозином (×900)

Figure 1. Microscopic picture of necrotic changes in the tracheal mucosa with epithelial cell degeneration and desquamation, severe edema. Stained with hematoxylin and eosin, ×900

Рисунок 2. Микроскопическая картина микроабсцесса в легочной ткани: некротические очаги, сформировавшие микроабсцесс с пиогенной мембраной и лейкоцитарным валом по периферии. В окружении микроабсцесса определяются спавшиеся альвеолы с некротически измененными стенками. Окраска гематоксилином и эозином (×900)

Figure 2. Microscopic picture of necrotic foci with a pyogenic membrane and a leukocyte shaft on the periphery. Surrounded by a microabscess, collapsed alveoli with necrotically modified walls are detected. Stained with hematoxylin and eosin, ×900

Рисунок 3. Микроскопическая картина тотальной абсцедирующей пневмонии: некротические участки с расплавлением альвеолярной ткани, множественными кровоизлияниями, в альвеолах определяется геморрагический и серозный экссудат с инфильтрацией мононуклеарными лейкоцитами. Окраска гематоксилином и эозином (×900)

Figure 3. Microscopic picture of multiple hemorrhages in the alveoli with mononuclear leukocyte infiltration. Stained with hematoxylin and eosin, ×900

Рисунок 4. Микроскопическая картина отека головного мозга с перицеллюлярным и периваскулярным отеком, в сосудах эритроцитарные сладжи с мелкими кровоизлияниями. Окраска гематоксилином и эозином (×900)

Figure 4. Microscopic picture of cerebral edema with pericellularly and perivascularly accumulated transudate. Stained with hematoxylin and eosin, ×900

Иллюстрации к статье «Клинический случай риноорбитального мукормикоза у больной, перенесшей COVID-19: диагностика и тактика лечения» (авторы: А.Ю. Попова, Ю.В. Демина, Н.Н. Зайцева, Н.С. Кучеренко, А.Н. Денисенко, А.Г. Точилина, И.В. Белова, Г.А. Белозеров, А.В. Полянина, Н.А. Садыкова, И.В. Соловьева) (с. 790–796)

Illustrations for the article “Clinical case of rhino-orbital mucormycosis in a convalescent COVID-19 patient: diagnostic and treatment tactics” (authors: Popova A.Yu., Demina Yu.V., Zaytseva N.N., Kucherenko N.S., Denisenko A.N., Tochilina A.G., Belova I.V., Belozеров G.A., Polyamina A.V., Sadykova N.A., Soloveva I.V.) (pp. 790–796)

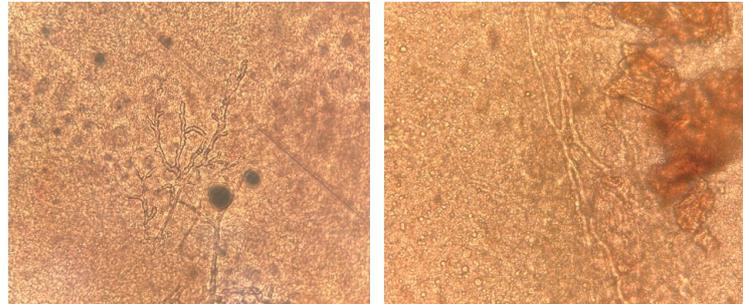


Рисунок 1. Прямая микроскопия биоптата ткани (увеличение $\times 200$)

Figure 1. Direct microscopy of a tissue biopsy (magnification $\times 200$)

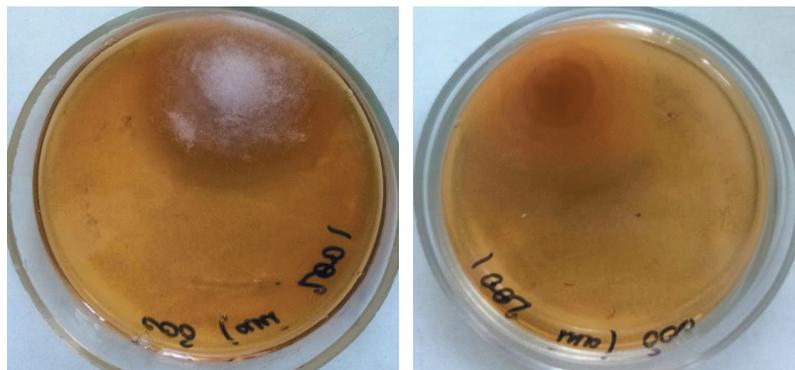


Рисунок 2. Колония мицелиального гриба на поверхности питательной среды Сабуро с теллуридом калия после 48 часов инкубации

Figure 2. Mycelial fungus colony on the surface of Sabouraud agar with potassium tellurite after 48 hours of incubation

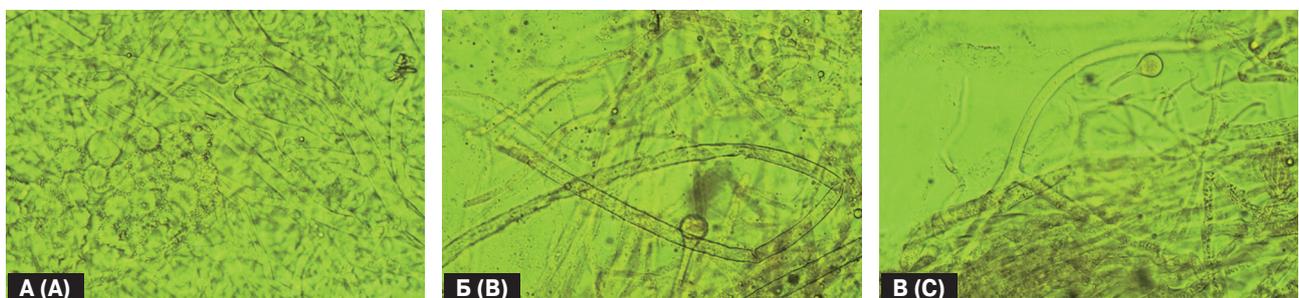


Рисунок 3. Микроскопия мицелиального гриба

Figure 3. Microscopy of mycelial fungus

Примечание. А — группа спорангиев; Б, В — несептированные гифы с характерным ветвлением. Увеличение $\times 200$.

Note. A — group of sporangia; B, C — unseptate hyphae with characteristic branching pattern. Magnification $\times 200$.

Подписной индекс:
Урал-Пресс – 41392

