

6

НОЯБРЬ — ДЕКАБРЬ

ISSN 2686-7613 (Online)  
ISSN 0372-9311 (Print)

Том 100  
2023

Ж  
М  
Э  
И

ЖУРНАЛ  
МИКРОБИОЛОГИИ  
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И  
ИММУНОБИОЛОГИИ

JOURNAL

OF MICROBIOLOGY  
EPIDEMIOLOGY  
AND  
IMMUNOBIOLOGY

6

NOVEMBER — DECEMBER

VOLUME 100  
2023

**УЧРЕДИТЕЛИ:**  
ФБУН ЦНИИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ РОСПОТРЕБНАДЗОРА  
ВСЕРОССИЙСКОЕ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО ЭПИДЕМИОЛОГОВ,  
МИКРОБИОЛОГОВ И ПАРАЗИТОЛОГОВ

# **ЖУРНАЛ МИКРОБИОЛОГИИ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ИММУНОБИОЛОГИИ**

**(Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii)**

*Двухмесячный научно-практический журнал*

*Основан в 1924 г.*

Рецензируемый «Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии» рассматривает актуальные проблемы мировой науки и обеспечивает синтез новейших результатов исследований в области микробиологии, вирусологии, эпидемиологии, вакцинологии, иммунобиологии, профилактики и контроля инфекционных заболеваний. Междисциплинарный подход дает возможность интеграции передовых научных знаний смежных специальностей, широкого видения проблем фундаментальной и прикладной инфектологии, а также комплексного подхода к созданию биомедицинских технологий. К публикации принимаются научные труды российских и зарубежных исследователей, лекции, а также методические материалы и законодательные документы в области сохранения эпидемиологического благополучия населения.

Журнал входит в базу данных SCOPUS и рекомендованный ВАК «Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук» по специальностям:

1.5.10. Вирусология (медицинские и биологические науки);

1.5.11. Микробиология (медицинские и биологические науки);

3.2.2. Эпидемиология (медицинские и биологические науки);

3.2.7. Аллергология и иммунология (медицинские и биологические науки).

В соответствии с рекомендациями ВАК (письмо ВАК от 06.12.2022 № 02-1198), журнал относится к категории K1 как издание, входящее в базы данных SCOPUS и RSCI.

**6**

**НОЯБРЬ – ДЕКАБРЬ**

**ТОМ 100  
2023**

Журнал зарегистрирован  
Федеральной службой по надзору  
в сфере связи, информационных  
технологий и массовых  
коммуникаций.

Свидетельство ПИ № ФС77-75442

ISSN 0372-9311 (Print)  
ISSN 2686-7613 (Online)

DOI prefix: 10.36233

Журнал открытого доступа,  
не берущий плату за публикации.

Контент доступен под лицензией  
Commons Attribution International  
4.0 CC-BY.

Используется сервис CrossMark для  
поддержания контента журнала  
в актуальном состоянии и информирования  
читателей об изменениях в опубликованных  
статьях.

При публикации статьи на русском  
и английском языках статья  
размещается под одним DOI.  
Переводы публикуются на сайте журнала.

**Журнал представлен  
в международных базах данных  
и информационно-справочных  
системах:**  
RSCI; RUSMED; SCOPUS; DOAJ; Ulrich's  
Periodicals Directory, ROAD; EBSCO  
Publishing (на платформе EBSCOhost);  
ROAD; HYPERLINK; OPENALEX; FATCAT;  
ZEITSCHRIFTEN DATENBANK; CrossRef;  
Dimensions.

**ПОДПИСКА:**  
ГК «Урал-пресс», индекс: 71436.  
Тел.: +7(343) 262-65-43.  
E-mail: info@ural-press.ru.

**Полные тексты статей журнала  
доступны на сайтах:**  
<https://microbiol.crie.ru>;  
<https://www.elibrary.ru>;  
<https://www.cyberleninka.ru>;  
<https://www.rucont.ru>;  
<https://www.ebsco.com>;  
<https://www.doaj.org>;  
<http://www.elsevier.com>

**УЧРЕДИТЕЛИ:**  
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии  
Роспотребнадзора  
[www.crie.ru](http://www.crie.ru)

Всероссийское научно-практическое  
общество эпидемиологов,  
микробиологов и паразитологов

**ИЗДАТЕЛЬ:**  
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии  
Роспотребнадзора

111123, Москва, ул. Новогиревская, д. 3А.  
Тел.: +7(495) 974-96-46.  
E-mail: [crie@pcr.ru](mailto:crie@pcr.ru)

*Начальник редакционно-  
издательского отдела:*  
Осокина Ольга Владимировна

**РЕДАКЦИЯ:**  
111123, Москва, ул. Новогиревская, д. 3А.  
Тел.: +7(925)011-87-79.  
E-mail: [jmei@crie.ru](mailto:jmei@crie.ru)

*Заведующая редакцией:*  
Устинкова Ольга Владимировна

Журнал размещает рекламу в соответствии  
с ФЗ РФ от 13.03.2006 № 38-ФЗ  
«О рекламе» и рекламной политикой.

К публикации принимаются только статьи,  
подготовленные в соответствии с правилами  
для авторов (<https://microbiol.crie.ru>).

Направляя статью в редакцию, авторы  
принимают условия договора публичной  
оферты (<https://microbiol.crie.ru>).

Подписано в печать 28.12.2023.  
Формат 60×90<sup>1/8</sup>. Тираж 158 экз.  
Усл.-печ. л. 15.

Отпечатано в «Объединенный  
полиграфический комплекс»  
115114, Москва, Дербеневская  
набережная, 7с2.  
E-mail: [info@opk.bz](mailto:info@opk.bz) [www.opk.bz](http://www.opk.bz)

16+

© ФБУН ЦНИИ эпидемиологии  
Роспотребнадзора, 2023

## ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

**Зверев В.В.**, д.б.н., проф., acad. РАН, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии,  
иммунологии, Первый Московский государственный медицинский университет  
им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

## Заместитель главного редактора

**Семенов Т.А.**, д.м.н., проф., руководитель отдела эпидемиологии ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии  
имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

## Ответственные секретари

**Платонов А.Е.**, д.м.н., проф., главный научный сотрудник лабораторией эпидемиологии природно-очаговых  
инфекций, ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия  
**Миронов К.О.**, д.м.н., зав. лаб. молекулярных методов изучения генетических полиморфизмов ФБУН ЦНИИ  
Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

### Российские члены редакционной коллегии

**Акимкин В.Г.**, д.м.н., проф., acad. РАН, директор  
ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва,  
Россия

**Брико Н.И.**, д.м.н., проф., acad. РАН, директор Института  
общественного здоровья, зав. кафедрой эпидемиологии  
и доказательной медицины, Первый Московский  
государственный медицинский университет  
им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва,  
Россия

**Брусина Е.Б.**, д.м.н., проф., член-корр. РАН,  
зав. кафедрой эпидемиологии, Кемеровский  
государственный медицинский университет, Кемерово,  
Россия

**Бухарин О.В.**, д.м.н., проф., acad. РАН, научный  
руководитель Института клеточного и внутриклеточного  
симбиоза Уральского отделения РАН, Оренбург, Россия

**Гинцбург А.Л.**, д.б.н., проф., acad. РАН, директор ФНИЦ  
эпидемиологии и микробиологии имени почетного  
академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва,  
Россия

**Горелов А.В.**, д.м.н., проф., acad. РАН, зам.  
директора по научной работе ЦНИИ Эпидемиологии  
Роспотребнадзора, Москва, Россия

**Жирнов О.П.**, д.б.н., проф., член-корр. РАН, зав. лабора-  
торией вирусного патогенеза Института вирусологии  
им. Д.И. Иванова, ФНИЦ эпидемиологии и микробио-  
логии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи  
Минздрава России, Москва, Россия

**Караулов А.В.**, д.м.н., проф., acad. РАН, зав. кафедрой  
клинической иммунологии и аллергологии Института  
клинической медицины, Первый Московский государ-  
ственный медицинский университет им. И.М. Сеченова  
(Сеченовский Университет), Москва, Россия

**Козлов Р.С.**, д.м.н., проф., член-корр. РАН, ректор,  
Смоленский государственный медицинский  
университет, Смоленск, Россия

**Куличенко А.Н.**, д.м.н., проф., acad. РАН,  
директор Ставропольского научно-исследовательского  
противочумного института Роспотребнадзора,  
Ставрополь, Россия

**Кутырев В.В.**, д.м.н., проф., acad. РАН, директор,  
Российский научно-исследовательский институт  
«Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Россия

**Лобзин Ю.В.**, д.м.н., проф., acad. РАН, директор,  
Детский научно-клинический центр инфекционных  
болезней ФМБА, Санкт-Петербург, Россия

### Иностранные члены редакционной коллегии

**Alexander V. Bocharov**, MD, PhD (Medicine), Staff  
scientist, Department of Laboratory Chemistry, Clinical  
Center, National Institutes of Health, Bethesda, USA

**Shubhada Vopengamag**, PhD, MSc, Professor, Institute  
of Microbiology, Slovak Medical University, Bratislava,  
Slovak Republic

**Michael O. Favorov**, PhD, D.Sci. (Medicine), President,  
DiaPrep System Inc., Atlanta, GA, United States;  
Chief Scientific Officer, Turklab, Turkey

**Elena A. Govorkova**, MD, PhD, St. Jude Children's  
Research Hospital, Memphis, USA

**Helmut Hahn**, MD, PhD, Professor, Vice-president  
of the European Academy of Natural Sciences, President  
of the R. Koch Medical Society (Germany), Chairman of  
German-Russian Koch-Mechnikov Forum, Berlin, Germany

### РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

**Дьяков И.Н.**, к.б.н., заведующий лабораторией  
биосинтеза иммуноглобулинов ФГБНУ НИИВС  
им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

**Кюрегян К.К.**, д.б.н., проф., заведующий лабораторией  
молекулярной эпидемиологии вирусных гепатитов ЦНИИ  
Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

**Макарова М.А.**, д.м.н., старший научный сотрудник  
Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробио-  
логии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

**Лукашев А.Н.**, д.м.н., проф., член-корр. РАН, директор  
Института медицинской паразитологии, тропических и  
трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского,  
Первый Московский государственный медицинский уни-  
верситет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет),  
Москва, Россия

**Максютов Р.А.**, д.б.н., генеральный директор,  
ГНЦ вирусологии и биотехнологии (Вектор)  
Роспотребнадзора, Новосибирск, Россия

**Малеев В.В.**, д.м.н., проф., acad. РАН, советник  
директора, ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора,  
Москва, Россия

**Михайлов М.И.**, д.м.н., проф., член-корр. РАН, зав. ла-  
бораторией вирусных гепатитов НИИ вакцин и сывороток  
им. И.И. Мечникова, Москва, проф. кафедры эпидемио-  
логии Белгородского государственного университета,  
Белгород, Россия

**Несвижский Ю.В.**, д.м.н., проф., проф. кафедры  
микробиологии, вирусологии и иммунологии  
им. А.А. Воробьева, Первый Московский государствен-  
ный медицинский университет им. И.М. Сеченова  
(Сеченовский Университет), Москва, Россия

**Онищенко Г.Г.**, д.м.н., проф., acad. РАН, зав. кафедрой  
экологии человека и гигиены окружающей среды,  
Первый Московский государственный медицинский  
университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский  
Университет), Москва, Россия

**Свитич О.А.**, д.м.н., член-корр. РАН, директор,  
НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва,  
Россия

**Тартаковский И.С.**, д.б.н., проф., зав. лабораторией  
легионеллеза, ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии  
имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава  
России, Москва, Россия

**Тотоян А.А.**, д.м.н., проф., acad. РАН, директор,  
Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии  
и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург,  
Россия

**Черкасов С.В.**, д.м.н., проф., член-корр. РАН,  
директор, Оренбургский федеральный  
исследовательский центр Уральского отделения РАН,  
Оренбург, Россия

**Шаркова В.А.**, д.м.н., проф., зав. кафедрой микробио-  
логии и вирусологии, Тихоокеанский государственный  
медицинский университет, Владивосток, Россия

**Werner Lubitz**, MSc, PhD, Professor, VP R&D, Founder,  
Biotech Innovation Research Development & Consulting,  
Vienna, Austria

**Bogdan N. Petrunov**, MD, DSc, Professor, Academic  
of the Bulgarian Academy of Sciences, National Center  
of Infectious and Parasitic Diseases, President  
of the Medical Section of the Bulgarian Academy  
of Sciences, Sofia, Bulgaria

**Georgy S. Nikolov**, MD, PhD, Associate Professor,  
National Center of Infectious and Parasitic Diseases,  
Sofia, Bulgaria

**Murad Giyas oglu Mammadov**, MD, DSc, Professor,  
National Oncology Center of the Ministry of Health  
of the Republic of Azerbaijan, Baku,  
Republic of Azerbaijan

**Мескина Е.Р.**, д.м.н., зав. отделением детских инфекций  
отдела терапии, ГБУЗ МО «Московский областной  
научно-исследовательский клинический институт  
им. М.Ф. Владимирского», Москва, Россия

**Никонова А.А.**, к.б.н., зав. лаб. молекулярной  
биотехнологии ФГБНУ «Научно-исследовательский  
институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»,  
Москва, Россия

FOUNDERS:  
Central Research Institute for Epidemiology  
Russian Scientific Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists

**JOURNAL  
of MICROBIOLOGY,  
EPIDEMIOLOGY  
AND  
IMMUNOBIOLOGY**  
(Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii)

*Bimonthly scientific and practical journal*

*Founded in 1924*

Peer-reviewed Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology is dedicated to the most significant issues of world science and provides a synthesis of the cutting edge research in the field of microbiology, virology, epidemiology, vaccinology, immunobiology, prevention of infectious diseases.

The interdisciplinary approach enables the reader to integrate advanced scientific knowledge of related specialties, to receive a broad vision of the problems of fundamental and applied infectology and a comprehensive approach to creating innovative biomedical technologies.

The Journal welcomes Russian and foreign original research articles, reviews, brief reports, mini-reviews, opinions and other special featured articles as well as lectures, methodological materials related to its profile.

The Journal is indexed in the SCOPUS database and 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:

1.5.10. Virology (medical and biological sciences);

1.5.11. Microbiology (medical and biological sciences);

3.2.2. Epidemiology (medical and biological sciences);

3.2.7. Clinical immunology, Allergology (medical and sciences).

In accordance with the recommendations of the Higher Attestation Commission (letter of the Higher Attestation Commission dated December 06, 2022 No. 02-1198), the Journal belongs to the K1 category, as a publication included in the SCOPUS and RSCI databases.

**6**

**NOVEMBER–DECEMBER**

**VOLUME 100**

**2023**

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media. Certificate of registration PI no. FS77-75442

ISSN 0372-9311 (Print)  
ISSN 2686-7613 (Online)

DOI prefix: 10.36233

The journal is an Platinum Open Access peer-reviewed scholarly journal, which does not charge author fees.

The content is licensed under Commons Attribution International 4.0 CC-BY.

The CrossMark service is used.

Some articles are translated into English under the decision of the Editorial Board. When publishing an article in Russian and English, the translated article is placed under the same DOI on the Journal's website.

**The Journal is indexed by the following abstracting and indexing services:**

RSCI; RUSMED; SCOPUS; DOAJ; Ulrich's Periodicals Directory, ROAD; EBSCO Publishing (на платформе EBSCOhost); ROAD; HYPERLINK; OPENALEX; FATCAT; ZEITSCHRIFTEN DATENBANK; CrossRef; Dimensions.

**Index for subscription to the printed version of the journal:**

Ural Press: 71436.  
Tel.: +7(343) 262-65-43.  
E-mail: info@ural-press.ru.

**Full texts of issues of the journal are available:**

<https://microbiol.crie.ru/>;  
<https://www.elibrary.ru/>;  
<https://www.cyberleninka.ru/>;  
<https://www.rucont.ru/>;  
<https://www.ebsco.com/>;  
<https://www.doaj.org/>;  
<http://www.elsevier.com>

#### FOUNDERS:

Central Research Institute for Epidemiology; Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists

#### PUBLISHER:

Central Research Institute for Epidemiology, 111123, 3A, Novogireevskaya St., Moscow, Russian Federation.  
Phone/fax: +7(495) 974-96-46.  
E-mail: crie@pcr.ru

#### EDITORIAL OFFICE:

5A, Maly Kazenny per., Moscow, 105064, Russia.  
Tel.: +7(925)011-87-79.  
E-mail: jmel@crie.ru

*Head of the Editorial and publishing department:*

Olga V. Osokina

*Head of Editorial Office:*

Olga V. Ustinkova

The Editorial Board is not responsible for the advertising content.

The materials that do not meet the requirements of the journal (<https://microbiol.crie.ru>) are rejected without further consideration.

When the author submits an article to the Editorial Board, he/she accepts the terms and conditions of the public offer agreement (<https://microbiol.crie.ru>).

Signed to the press on December 28, 2023.

Print format 60×90<sup>1/8</sup>.

Circulation 158 copies.

Printed at the Ob'yedinenny poligraficheskiy kompleks Ltd.115114, 7C2, Derbenevskaya emb., Moscow, Russian Federation.

E-mail: info@opk.bz. www.opk.bz

## EDITOR-IN-CHIEF

**Vitaly V. Zverev**, Dr. Sci. (Biology), RAS Full Member, Professor, Head, Department of microbiology, virology and immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

## Deputy Editor

**Tatiana A. Semenenko**, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Epidemiology Department, N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

## Executive Secretaries

**Alexander E. Platonov**, Professor, Dr. Sci. (Medicine), chief researcher, Laboratory of Zoonoses, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

**Konstantin O. Mironov**, Dr. Sci. (Medicine), Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

## EDITORIAL BOARD

### Russian members of the Editorial Board

**Vasily G. Akimkin**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

**Nikolay I. Briko**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Institute of Public Health, Head, Department of Epidemiology and Evidence-Based Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

**Elena B. Brusina**, professor, Dr. Sci. (Medicine), RAS Corr. Member, Head, Department of epidemiology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia

**Oleg V. Bukharin**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Scientific Director of the Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Academy of Sciences, Orenburg, Russia

**Aleksandr L. Gintsburg**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Biology), Director, N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

**Alexandr V. Gorelov**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Deputy Director for Scientific Research, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

**Oleg P. Zhironov**, RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Biology), Head, Laboratory of viral pathogenesis, N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

**Alexander V. Karaulov**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Department of Clinical Immunology and Allergology, Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

**Alexander N. Kulichenko**, D. Sci. (Medicine), Professor, RAS Full Member, Director of the Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia

**Roman S. Kozlov**, RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Rector, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

**Vladimir V. Kutryev**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russia

**Yuri V. Lobzin**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, St. Petersburg, Russia

### Foreign members of the Editorial Board

**Alexander V. Bocharov**, MD, PhD (Medicine), Staff scientist, Department of Laboratory Chemistry, Clinical Center, National Institutes of Health, Bethesda, USA

**Shubhada Bopemage**, PhD, MSc, Professor, Institute of Microbiology, Slovak Medical University, Bratislava, Slovak Republic

**Michael O. Favorov**, PhD, DSc (Medicine), President, DiaPrep System Inc., Atlanta, GA, United States; Chief Scientific Officer, Turklab, Turkey

**Elena A. Govorkova**, MD, PhD, St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, USA

**Helmut Hahn**, MD, PhD, Professor, Vice-president of the European Academy of Natural Sciences, President of the R. Koch Medical Society (Germany), Chairman of German-Russian Koch-Mechnikov Forum, Berlin, Germany

## EDITORIAL COUNCIL

**Ilya N. Dyakov**, Cand. Sci. (Biology), Head, Laboratory of biosynthesis of immunoglobulins, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia

**Karen K. Kyuregyan**, Dr. Sci. (Biology), Professor, Head, Laboratory of molecular epidemiology of viral hepatitis Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

**Maria A. Makarova**, Dr. Sci. (Medicine), senior researcher, Laboratory for Identification of Pathogens, Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia

**Alexander N. Lukashev**, RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Martsinovskiy Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector-Borne Diseases, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

**Rinat A. Maksyutov**, Dr. Sci. (Biology), Director General, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Novosibirsk, Russia

**Victor V. Maleev**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director adviser, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

**Mikhail I. Mikhaylov**, RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Laboratory of viral hepatitis, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Professor, Department of epidemiology, Belgorod State University, Medical Institute, Belgorod, Russia

**Gennadiy G. Onishchenko**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Department of Human Ecology and Environmental Health, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

**Yury V. Nesvizhsky**, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of microbiology, virology and immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia, Russia

**Oxana A. Svitch**, RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia

**Valentina A. Sharkova**, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Department of Microbiology and Virology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

**Igor S. Tartakovskiy**, Professor, Dr. Sci. (Biology), Head, Laboratory of legionellosis, N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

**Areg A. Totolian**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia

**Sergey V. Cherkasov**, RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch of RAS, Orenburg, Russia

**Werner Lubitz**, MSc, PhD, Professor, VP R&D, Founder, Biotech Innovation Research Development and Consulting, Vienna, Austria

**Bogdan N. Petrunov**, MD, DSc, Professor, Academic of the Bulgarian Academy of Sciences, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, President of the Medical Section of the Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria

**Georgy S. Nikolov**, MD, PhD, Associate Professor, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria

**Murad Giyas oglu Mammadov**, MD, DSc, Professor, National Oncology Center of the Ministry of Health of the Republic of Azerbaijan, Baku, Republic of Azerbaijan

**Elena R. Meskina**, Dr. Sci. (Medicine), Head, Department of Pediatric Infections, Department of Therapy, M.F. Vladimirovsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russia

**Alexandra A. Nikonova**, Cand. Sci. (Biology), Head, laboratory of molecular biotechnology, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia

## СОДЕРЖАНИЕ

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Воронина О.Л., Кунда М.С., Рыжова Н.Н., Аксенова Е.И., Садеева З.З., Новикова И.Е., Лазарева А.В., Карасева О.В., Фисенко А.П., Гинцбург А.Л.**  
Геномные особенности резистентных изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из кровяного русла и ликвора пациентов детского стационара\* ..... 399
- Афонина Н.М., Михеева И.В., Корабельникова М.И., Родионова З.С., Сницарь А.В., Переходов С.Н., Сметанина С.В., Тутельян А.В., Кузин С.Н., Акимкин В.Г.**  
Результаты скрининга на антитела к вирусу ветряной оспы у медицинских работников многопрофильного стационара Москвы\* ..... 410
- Муртазалиев Х.Х., Макарова М.А., Кафтырева Л.А., Алиева Е.В., Ошаева А.В., Жамборова М.Х.**  
Генетические маркеры возбудителей острых кишечных инфекций у ВИЧ-инфицированных пациентов в Чеченской Республике\* ..... 420
- Лебедева И.Б., Жданова С.Н., Кондратов И.Г., Сибиль К.В., Огарков О.Б., Брусина Е.Б.**  
Генетическая структура и лекарственная устойчивость популяции *Mycobacterium tuberculosis* в Кемеровской области — Кузбассе ..... 428
- Ляшко А.В., Руднева И.А., Щербинин Д.Н., Ломакина Н.Ф., Трещалина А.А., Куприянова И.М., Гамбарян А.С., Тимофеева Е.Б., Шилов А.А., Садыкова Г.К., Прилипов А.Г., Тимофеев Б.И., Шмаров М.М., Рязанова Е.Л., Тимофеева Т.А.**  
Потенциал адаптации к млекопитающим вирусам гриппа птиц H7N2 североамериканской линии\* ..... 442
- Рахматулина М.Р., Брико Н.И., Новоселова Е.Ю., Попухов П.Д.**  
Рост заболеваемости сифилисом в Российской Федерации: иностранные граждане-мигранты как группа риска распространения заболевания ..... 454
- Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Писанов Р.В., Олейников И.П., Носков А.К.**  
Молекулярно-генетический мониторинг возбудителей холеры ..... 462
- Рубис Л.В., Чевская В.Е., Екимова О.В., Сафонова О.С.**  
Оценка регистрируемого и скрытого эпидемического процесса клещевого энцефалита в Республике Карелия ..... 472
- Царева Т.В., Янушевич О.О., Царев В.Н., Балмасова И.П.**  
Бактерии рода *Filifactor* у больных пародонтитом и сахарным диабетом по данным метагеномного анализа микробиома пародонта\* ..... 485
- ОБЗОРЫ**
- Нагорных А.М., Тюменцева М.А., Тюменцев А.И., Акимкин В.Г.**  
Накопленный опыт и перспективы исследования вируса гепатита В *in vivo*\* ..... 495
- ХРОНИКА**
- Итоги X Российской научной конференции с международным участием «Персистенция и симбиоз микроорганизмов» ..... 511

\* Статья опубликована на русском и английском языках на сайте журнала: <https://www.microbiol.crie.ru>.

## CONTENTS

### ORIGINAL RESEARCHES

<b>Voronina O.L., Kunda M.S., Ryzhova N.N., Aksenova E.I., Sadeeva Z.Z., Novikova I.E., Lazareva A.V., Karaseva O.V., Fisenko A.P., Gintsburg A.L.</b> Genomic features of resistant <i>Klebsiella pneumoniae</i> , isolated from the bloodstream and cerebrospinal fluid of pediatric hospital patients* .....	399
<b>Afonina N.M., Mikheeva I.V., Korabelnikova M.I., Rodionova Z.S., Snitsar A.V., Perekhodov S.N., Smetanina S.V., Tutelyan A.V., Kuzin S.N., Akimkin V.G.</b> Results of screening for antibodies to varicella-zoster virus in healthcare workers of a multidisciplinary hospital in Moscow* .....	410
<b>Murtazaliev Kh.Kh., Makarova M.A., Kaftyreva L.A., Alieva E.V., Oshaeva A.V., Zhamborova M.Kh.</b> Molecular markers of acute intestinal infections in HIV-infected patients in the Chechen Republic* .....	420
<b>Lebedeva I.B., Zhdanova S.N., Kondratov I.G., Sybil K.V., Ogarkov O.B., Brusina E.B.</b> Genetic structure and drug resistance of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> strains in the Kemerovo Region — Kuzbass.....	428
<b>Lyashko A.V., Rudneva I.A., Shcherbinin D.N., Lomakina N.F., Treshchalina A.A., Kupriyanova I.M., Gambaryan A.S., Timofeeva E.B., Shilov A.A., Sadykova G.K., Prilipov A.G., Timofeev B.I., Shmarov M.M., Ryazanova E.L., Timofeeva T.A.</b> The adaptive potential of North American subtype H7N2 avian influenza viruses to mammals* .....	442
<b>Rakhmatulina M.R., Briko N.I., Novoselova E.Yu., Lopukhov P.D.</b> The increase in the incidence of syphilis in the Russian Federation: foreign migrant citizens as a risk group for the spread of the disease .....	454
<b>Vodopyanov A.S., Vodopyanov S.O., Pisanov R.V., Oleinikov I.P., Noskov A.K.</b> Development of a methodology for molecular genetic monitoring for the cholera causative agent .....	462
<b>Rubis L.V., Chevskaya V.E., Ekimova O.V., Safonova O.S.</b> Assessment of registered and hidden epidemic process of tick-borne encephalitis in the Republic of Karelia.....	472
<b>Tsareva T.V., Yanushevich O.O., Tsarev V.N., Balmasova I.P.</b> Bacteria of genus <i>Filifactor</i> in patients with periodontitis and type 2 diabetes in accordance with metagenomic analysis of the periodontal microbiome* .....	485
<b>REVIEWS</b>	
<b>Nagornykh A.M., Tyumentseva M.A., Tyumentsev A.I., Akimkin V.G.</b> Accumulated experience and future prospects of <i>in vivo</i> hepatitis B virus research* .....	495
<b>CHRONICLE</b>	
Results of the X Russian Scientific Conference with the participation of MSM “Persistence and symbiosis of events”.....	511

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оригинальное исследование  
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-430>



# Геномные особенности резистентных изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из кровяного русла и ликвора пациентов детского стационара

Воронина О.Л.<sup>1✉</sup>, Кунда М.С.<sup>1</sup>, Рыжова Н.Н.<sup>1</sup>, Аксенова Е.И.<sup>1</sup>, Садеева З.З.<sup>2</sup>, Новикова И.Е.<sup>2</sup>, Лазарева А.В.<sup>2</sup>, Карасева О.В.<sup>2,3</sup>, Фисенко А.П.<sup>2</sup>, Гинцбург А.Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия;

<sup>2</sup>Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей, Москва, Россия;

<sup>3</sup>Научно-исследовательский институт неотложной детской хирургии и травматологии, Москва, Россия

### Аннотация

**Введение.** *Klebsiella pneumoniae*, продуцирующие карбапенемазы и относящиеся к международным клонам особого риска, адаптируясь к условиям стационара, эволюционируют в конвергентные патотипы. Такие варианты сочетают признаки двух генетических линий: множественно резистентной (MDR) и гипервирулентной. Патотипы, наряду с MDR *K. pneumoniae*, при системной инфекции представляют особую угрозу для пациентов раннего возраста.

**Цель** исследования — подробный молекулярно-генетический анализ MDR-изолятов *K. pneumoniae*, выявленных при мониторинге резистентных грамотрицательных бактерий в НМИЦ здоровья детей в 2014–2021 гг.

**Материалы и методы.** Проведено полногеномное секвенирование с последующим биоинформационным анализом 8 MDR-изолятов из крови и ликвора.

**Результаты.** MDR-изоляты относились к 4 сублиниям (SL): SL307, SL395, SL29 и SL1198. В геномах 6 пан-резистентных (PDR) изолятов выявили гены устойчивости ко всем категориям антибиотиков, рекомендованных для терапии *Enterobacteriaceae*. Плазмиды, присутствовавшие во всех геномах, помимо генов антибиотикорезистентности, в 6 изолятах содержали опероны устойчивости к ионам тяжёлых металлов. В переносе генов резистентности участвовали также профаги в составе плазмид. Изолят ST395 из ликвора по показателям резистентности и вирулентности относился к конвергентному патотипу. Сопоставление геномов внутри SLs выявило рекомбинационные события в областях K- и O-локусов и оперона иерсиниябактина.

**Заключение.** В выборке резистентных изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из кровотока и ликвора, обнаружили 6 изолятов PDR, один из которых относится к конвергентному патотипу ST395.

**Ключевые слова:** *Klebsiella pneumoniae*, полногеномное секвенирование, устойчивость к карбапенемам, бета-лактамазы расширенного спектра действия, множественная устойчивость к антибиотикам, вирулентность, плазмиды, профаги

**Этическое утверждение.** Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов и их законных представителей. Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом НМИЦ здоровья детей (протокол № 5а от 02.06.2022).

**Источник финансирования.** Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного задания НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи и Государственного задания НМИЦ здоровья детей.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Для цитирования:** Воронина О.Л., Кунда М.С., Рыжова Н.Н., Аксенова Е.И., Садеева З.З., Новикова И.Е., Лазарева А.В., Карасева О.В., Фисенко А.П., Гинцбург А.Л. Геномные особенности резистентных изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из кровяного русла и ликвора пациентов детского стационара. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(6):399–409.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-430>

EDN: <https://www.elibrary.ru/uwgu1>



Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-430>

# Genomic features of resistant *Klebsiella pneumoniae*, isolated from the bloodstream and cerebrospinal fluid of pediatric hospital patients

Olga L. Voronina<sup>1✉</sup>, Marina S. Kunda<sup>1</sup>, Natalia N. Ryzhova<sup>1</sup>, Ekaterina I. Aksenova<sup>1</sup>, Zulfirya Z. Sadeeva<sup>2</sup>, Irina E. Novikova<sup>2</sup>, Anna V. Lazareva<sup>2</sup>, Olga V. Karaseva<sup>2,3</sup>, Andrey P. Fisenko<sup>2</sup>, Alexander L. Gintsburg<sup>1</sup>

<sup>1</sup>N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Clinical and Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Trauma, Moscow, Russia

## Abstract

**Introduction.** Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* (CP-Kp), which are international high-risk clones, have become a problem of utmost importance. CP-Kps, adapting to the hospital environment, evolve into convergent pathotypes. Such variants combine traits of two genetic lineages: multidrug resistant (MDR) and hypervirulent. The pathotypes, along with MDR *K. pneumoniae*, pose an exceptional threat to young patients during systemic infection.

The **objective** of this study is the detailed molecular genetic analysis of MDR isolates of *K. pneumoniae* detected during the monitoring of resistant Gram-negative bacteria at the National Medical Research Center for Children's Health in 2014–2021.

**Materials and methods.** Whole-genome sequencing with a subsequent bioinformatics analysis of eight MDR isolates from the bloodstream and cerebrospinal fluid.

**Results.** MDR isolates belonged to 4 sublineages (SL): SL307, SL395, SL29 and SL1198. In the genomes of 6 pangrug-resistant (PDR) isolates, genes associated with resistance to all categories of antibiotics recommended for *Enterobacteriaceae* therapy were identified. Plasmids were present in all genomes. In 6 isolates, plasmids contained heavy metal ion resistance operons in addition to antibiotic resistance genes. Prophages within the plasmids were also involved in the transfer of resistance genes. The ST395 isolate from the cerebrospinal fluid belonged to the convergent pathotype in terms of resistance and virulence. Comparison of genomes within SLs revealed recombination events in the K- and O-locus regions and the Yersiniabactin operon.

**Conclusion.** Thus, in a sample of resistant *K. pneumoniae* isolated from bloodstream and cerebrospinal fluid, 6 PDR isolates were detected, one of which belongs to the convergent pathotype ST395.

**Keywords:** *Klebsiella pneumoniae*, whole genome sequencing, carbapenem resistance, extended-spectrum beta-lactamases, multidrug resistance, virulence, plasmids, prophages

**Ethics approval.** The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the National Medical Research Center for Children's Health (protocol No. 5a, June 2, 2022).

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**For citation:** Voronina O.L., Kunda M.S., Ryzhova N.N., Aksenova E.I., Sadeeva Z.Z., Novikova I.E., Lazareva A.V., Karaseva O.V., Fisenko A.P., Gintsburg A.L. Genomic features of resistant *Klebsiella pneumoniae*, isolated from the bloodstream and cerebrospinal fluid of pediatric hospital patients. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2023;100(6):399–409.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-430>

EDN: <https://www.elibrary.ru/uwgum1>

## Введение

Среди энтеробактерий, ставших причиной внутрибольничных инфекций, *Klebsiella pneumoniae* занимает лидирующее положение в России [1]. Вызывает беспокойство рост доли устойчивых к карбапенемам *K. pneumoniae* и выявление изолятов, в геномах которых одновременно присутствуют гены карбапенемаз разных классов (A, B, D) [1] (carbapenemase-producing, CP-Kp). По данным за

2020 г., CP-Kp в России принадлежали клональным группам (CG, clonal group) CG395, CG11, CG147 и CG307 [1], относящимся к международным клонам особого риска. CP-Kp ST395 преобладают при инфекциях кровотока у пациентов с гематологическими злокачественными новообразованиями (37,7%) [2], пациентов нейрохирургии и отделений реанимации и интенсивной терапии (27,1%) [3], вызывают тяжёлые системные инфекции [4]. На-

циональная система мониторинга антибиотикорезистентности AMRmap<sup>1</sup> позволила выявить с 2013 по 2018 г. 108 изолятов CP-Kp ST395, вошедших в международное геномное исследование, которое показало появление в CG395 конвергентного патотипа, сочетающего маркеры резистентности и гипервирулентности [5]. Впервые о конвергенции признаков двух генетических линий *K. pneumoniae*: множественно резистентной (Multy Drug Resistance, MDR) и гипервирулентной (hvKp) сообщили D. Gu и соавт. в отношении изолята ST11 [6]. P. Starkova и соавт. исследовали конвергентные (CP-hvKp) изоляты ST15, ST147, ST395, ST874, выделенные в клиниках Санкт-Петербурга, и показали наличие в них гибридных плазмид, несущих гены вирулентности и NDM β-лактамазу [7]. Наряду с плазмидами, другие мобильные генетические элементы: фаги, интегроны, транспозоны, способствуют эволюции геномов бактерий [8]. Конъюгативным транспозонам (интегративным конъюгативным элементам, ICE) отводится особая роль в горизонтальном транспорте генов *K. pneumoniae* [9].

Высокая скорость адаптации и эволюции *K. pneumoniae* в условиях стационаров представляет особую угрозу для пациентов раннего возраста, нуждающихся в оперативном вмешательстве. Инфекции кровотока у таких пациентов приводят к неблагоприятному клиническому прогнозу [10]. В задачу нашего исследования входил анализ MDR-изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из крови и ликвора пациентов НМИЦ здоровья детей в 2014–2021 гг.

## Материалы и методы

### Материалы

Изучали 8 культур *K. pneumoniae* (табл. 1), выделенных из кровотока и ликвора в НМИЦ здоровья детей и НИИ неотложной детской хирургии и травматологии в ходе мониторинга лекарственной устойчивости внутрибольничных изолятов *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* (КАР) в 2014–2021 гг. Исследование проводили при добровольном информированном согласии пациентов и их законных представителей, протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом НМИЦ здоровья детей (протокол № 5а от 02.06.2022).

Культуры характеризовались фенотипической MDR, широкой (Extremely Drug Resistance, XDR) или пан-резистентностью (Pan Drug Resistance, PDR) в отношении категорий антибиотиков, рекомендованных EUCAST для *Enterobacteriaceae* [11, 12], и в соответствии с критериями EUCAST [11].

<sup>1</sup> База данных AMRmap. URL: <https://AMRmap.ru>

**Таблица 1.** Характеристики антибиотикорезистентных изолятов *K. pneumoniae*  
**Table 1.** Characteristics of antibiotic-resistant *K. pneumoniae* isolates

Пациент Patient	Изолят Isolate	Дата выделения Data of isolation	Номер в GenBank Assembly Accession/ Accession number	Генотип Genotype	Сублиния Sublineage	Клональная группа (CG) Clonal group (CG)	wzi аллель wzi allele	Соответ- ствующий KL-тип Associated KL type	О-локус O locus	О-тип O type	Показатель вирулент- ности Virulence score	Показатель резистент- ности Resistance scores
P9	SCCH70:Kpn76815	19.06.2017	JAUPHS000000000	ST307	SL307	CG307	–	KL102*	O1/O2v2	O2afg	1	3
P11	SCCH72:Kpn881723	20.09.2018	JAUPHU000000000	ST2975	SL307	CG307	173	KL102	OL102	OL102	1	3
P8	SCCH69:Kpn69138	13.04.2016	JAUOCC000000000	ST395	SL395	CG395	2	KL2	O1/O2v2	O2afg	4	3
P18	SCCH87:Kpn2182174	05.11.2021	CP122350-CP122355	ST395	SL395	CG395	2	KL2	O1/O2v1	O1	1	3
P17	SCCH84:Kpn2082401	12.09.2020	JAUTPO000000000	ST866	SL1198	CG1198	478	KL46	O3b	O3b	1	3
P17	SCCH86:Kpn207262	02.10.2020	JAUTIQ000000000	ST866	SL1198	CG1198	478	KL46	O3b	O3b	1	3
P10	SCCH71:Kpn863165	17.12.2018	JAUPHT000000000	ST985	SL29	CG985	39	KL39	O1/O2v2	O1	1	3
P12	SCCH73:Kpn96857	11.03.2019	JAUPHV000000000	ST29	SL29	CG29	19	KL19	O1/O2v2	O1	1	3

## Методы

Культивирование *K. pneumoniae* выполняли на кровяном и Uri-select агаре («BioRad») при 37°C в течение 24–48 ч. Для идентификации использовали масс-спектрометр «MALDI-TOF» («Bruker Daltonics»).

Минимальные ингибирующие концентрации (minimum inhibitory concentration, MIC) определяли методом микроразведений в отношении антимикробных препаратов следующих категорий:

- 1) аминогликозиды: гентамицин, тобрамицин, амикацин, нетилимицин;
- 2) карбапенемы: имипенем, меропенем;
- 3) цефалоспорины расширенного спектра (3 и 4 поколений): цефалоспорин, цефепим;
- 4) фторхинолоны: цiproфлоксацин, левофлоксацин;
- 5) ингибиторы метаболизма фолатов: триметоприм/сульфаметоксазол;
- 6) монобактамы: азтреонам;
- 7) фосфоновые кислоты: фосфомицин;
- 8) полимиксины: колистин (полимиксин E), полимиксин B;
- 9) пенициллины с ингибиторами β-лактамаз: тикарциллин/клавуланат, пиперациллин/тазобактам.

ДНК из изолятов выделяли по методике [13], дополненной очисткой от полисахаридов с помощью СТАВ (cetyltrimethylammonium bromide).

Библиотеки ДНК готовили по протоколу «Nextera DNA Flex Library Prep» («Illumina») и секвенировали на приборе «NextSeq 500/550» («Illumina»), используя картридж «Mid Output 300 cycles».

Для сборки геномов применяли «CLC Genomic Workbench v.21.0.1» («Qiagen») и «SPAdes v. 3.13.0»<sup>2</sup>. Для визуализации результатов сборки репликонов и сравнения геномов использовали «CGView Server»<sup>3</sup> [14]. Аннотацию выполняли с помощью Rapid Annotations Subsystems Technology [15] и NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline [16]. Для поиска областей профагов использовали «PHASTER»<sup>4</sup> [17]. Результаты полногеномного секвенирования депонировали в GenBank в биопроект PRJNA561493 под номерами, представленными в табл. 1.

Анализ геномных данных проводили с помощью ресурсов платформы «Pathogenwatch v. 21.0.0»<sup>5</sup>, позволяющей взаимодействовать с «Kleborate v. 2.2.0»<sup>6</sup> [18] — ресурсом, специально разработанным для исследования *K. pneumoniae*

complex. С помощью «Kleborate v. 2.2.0» определяли генотип в контексте генов MLST (MultiLocus Sequence Typing), факторы вирулентности: иерсиниябактин (*ybt*), аэробактин (*iuc*), колибактин (*clb*), сальмохелин (*iro*), гипермукоидность (*rmpA*, *rmpA2*), детерминанты антимикробной резистентности. С обращением к сайту Kaptive<sup>7</sup> [19] определяли аллели гена *wzi*, типировали K-локусы (капсула) и O-локусы (липополисахарид).

Критерии, разработанные «Kleborate v. 2.2.0», использовали для оценки степени вирулентности и резистентности (virulence score, antimicrobial resistance score).

Для вирулентности:

- степень 5 — *ybt*, *iuc*, *clb*;
- степень 4 — *ybt*, *iuc*;
- степень 3 — *iuc*;
- степень 2 — *ybt*, *clb* (или только *clb*);
- степень 1 — *ybt*;
- степень 0 — все отсутствуют.

Для резистентности:

- степень 3 — карбапенемазы и устойчивость к колистину;
- степень 2 — карбапенемазы;
- степень 1 — β-лактамазы расширенного спектра без карбапенемаз;
- степень 0 — отсутствие β-лактамаз расширенного спектра [18].

Для анализа расширенного спектра факторов вирулентности использовали базу данных VFDB<sup>8</sup> [20]. К веб-платформе BIGSdb-Pasteur<sup>9</sup> обращались для уточнения генотипов для *ybt*, *iuc*, *clb*, а также для выявления локусов резистентности к ионам тяжёлых металлов.

Более полный спектр генов резистентности определяли с помощью ресурса CARD<sup>10</sup> [21], а также BV-BRC<sup>11</sup>, образованного на основе PATRIC [22].

PlasmidFinder 2.1<sup>12</sup> [23] использовали для выявления групп несовместимости (incompatibility, Inc) репликонов плазмид.

## Результаты

В ходе мониторинга лекарственной устойчивости внутрибольничных изолятов *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* (КАР) в двух многопрофильных детских стационарах: НМИЦ здоровья детей и НИИ неотложной детской хирургии и трав-

<sup>2</sup> St. Petersburg genome assembler, Russia.

URL: <http://cab.spbu.ru/software/spades>

<sup>3</sup> CGView Server.

URL: [http://stothard.afns.ualberta.ca/cgview\\_server](http://stothard.afns.ualberta.ca/cgview_server)

<sup>4</sup> PHAge Search Tool Enhanced Release. URL: <https://phaster.ca>

<sup>5</sup> Pathogenwatch v. 21.0.0. URL: <https://pathogen.watch>

<sup>6</sup> Kleborate v. 2.2.0.

URL: <https://github.com/klebgenomics/Kleborate/wiki>

<sup>7</sup> Kaptive. URL: <https://kaptive-web.erc.monash.edu/>

<sup>8</sup> Virulence factor database. URL: <http://www.mgc.ac.cn/VFs>

<sup>9</sup> Institut Pasteur Klebsiella pneumoniae species complex.

URL: <https://bigsdb.pasteur.fr/klebsiella>

<sup>10</sup> Comprehensive Antibiotic Resistance Database.

URL: <https://card.mcmaster.ca>

<sup>11</sup> Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center.

URL: <https://www.bv-brc.org>

<sup>12</sup> PlasmidFinder 2.1.

URL: <https://cge.food.dtu.dk/services/PlasmidFinder>

матологии, в 2014–2021 гг. выделили 685 культур из кровотока и ликвора. *K. pneumoniae* составила 9,2% (63 изолята). Восемь изолятов, представленных в табл. 1, отличались устойчивостью ко множественным категориям антибиотиков. Изоляты пациентов P8–P12, P18 были PDR, по данным MIC, для всех 9 категорий антибиотиков. От пациента P17 исследовали 2 изолята, выделенных с разницей в 3 нед. Оба изолята (табл. 2) были чувствительны к фторхинолонам (к левофлоксацину при увеличенной экспозиции). Первый по времени выделения был, кроме того, чувствителен к ингибиторам метаболизма фолатов, а также показывал MIC в отношении полимиксина В, соответствующую пограничному значению резистентности. Таким образом, этот изолят можно признать MDR, а второй — XDR. Из 8 изолятов 7 выделили из кровотока, а один (P8) — из спинномозговой жидкости. Отметим, что пациенты, за исключением P12 (8 лет), были в возрасте до 1 года, преимущественно имели генетически обусловленные заболевания, приводящие к порокам развития, требующим хирургического вмешательства. P8 имел тяжёлую сочетанную травму, P12 — системный васкулит, сопровождавшийся гемолитико-уремическим синдромом. В 2 случаях (P10 и P12) зафиксирован летальный исход. Для выявления механизмов резистентности и анализа факторов вирулентности 8 изолятов исследовали с помощью полногеномного секвенирования.

**Основные характеристики резистентных изолятов.** Все 8 изолятов относились к филогруппе Kp1 и подразделялись на 4 сублинии (SL) (табл. 1), из которых 2 (307 и 395) относятся к наиболее представленным у нозокомиальных *K. pneumoniae* в России [1]. Три сублинии включали по одной CG. SL29 была представлена двумя CG. Несмотря на то что ST985 отличается по одному локусу (*gapA*) аллельного профиля от ST29 (single locus variant, SLV), он относится к другой клональной группе — CG985.

Отметим, что в CG307 ST2975 также является SLV ST307 по локусу *rpoB*.

Изоляты SL29 имели одинаковый вариант O-антигена — O1/O2v2. Такой же вариант характерен для изолятов ST307 и ST395 P8. Другой изолят ST395 (P18) имел O-антиген O1/O2v1. Разные варианты O-антигена определяются мономером, составляющим полисахарид. В варианте 1 — d-galactan I, в варианте 2 — d-galactan III [24]. Таким образом, даже геномы изолятов одного генотипа могут различаться структурой оперона, отвечающего за O-антиген. У изолятов P17 свой вариант — O3b, но так же, как и варианты O1/O2, превалирующий у изолятов, вызывающих заболевания человека [24]. У изолята ST2975 O-антиген новый, потому назван OL102 по номеру капсульного антигена.

Капсульные полисахариды, напротив, различают изоляты SL29, но одинаковы у изолятов ST395. У изолятов SL307 новый KL-тип — KL102. Кроме того, если у изолята ST2975 капсульный оперон представлен полностью, то в геноме изолята ST307 из генов 5'-конца оперона (*galF*, *cpsACP*, *wzi*, *wza*, *wzb*, *wzc*) есть только полноценный *cpsACP*. Ген *galF* является псевдогеном, а ещё 4 гена, а также следующий за ними *wbaP*, отсутствуют. Ген *wbaP* кодирует гликозилтрансферазу, которая инициирует синтез капсульного полисахарида, перенося галактозу-1-фосфат на акцептор удепренил-фосфат. В отсутствие этого фермента синтез капсулы невозможен [25]. Гены *wzi*, *wza* отвечают за белки-каналы наружной мембраны, а *wzc*, *wzb* — за регуляторы полимеризации и транспорта полисахаридов капсулы на поверхность бактериальной клетки.

Опероны фимбрий *fimA–fimK* (1-го типа) и *mrkA–mrkJ* (3-го типа), а также ген *pilW* пилей IV типа присутствовали в геномах всех изолятов.

Определяя резистентность и вирулентность выбранных изолятов на основе геномных данных, мы воспользовались количественными оценками

**Таблица 2.** Сравнение антибиотикограмм изолятов *K. pneumoniae* ST866 от пациента P17 по трем категориям антибиотиков

**Table 2.** Comparison of antibiograms of *K. pneumoniae* ST866 isolates from patient P17 in three categories of antibiotics

Изолят Isolate	МИК, мг/л   MIC, mg/L			
	фторхинолоны fluoroquinolones		ингибиторы метаболизма фолатов folate pathway inhibitors	полимиксины polymyxins
	ципрофлоксацин ciprofloxacin	левофлоксацин levofloxacin	триметоприм/сульфаметоксазол trimethoprim/sulfamethoxazole	полимиксин В Polymyxin B
SCCH84:Kpn2082401	≤ 0,25	1*	2	2
SCCH86:Kpn207262	0,5*	1*	16/304	16
Референсные значения МИК, мг/л Resistance — MIC breakpoints, mg/L	0,5	1	4	2

**Примечание.** \*Чувствительность при увеличенной экспозиции; серым цветом выделены ячейки, соответствующие чувствительности изолята к антимикробному препарату.

**Note.** \*The sensitivity at increased exposure; the cells corresponding to the sensitivity of the isolate to the antimicrobial drug are highlighted in grey.

ми, которые предлагает «Kleborate v. 2.2.0» [19] (табл. 1). Геномы всех изолятов содержали оперон *ybt*, который находится в ICEKp: ICEKp4 (*ybt10*) у изолятов CG307, ICEKp5 (*ybt14*) у изолятов ST395 P8 и ST29, ICEKp12 (*ybt16*) у изолятов ST395 P18 и ST985, ICEKp15 (*ybt18*) у изолятов ST866.

Большинство изолятов имело показатель вирулентности 1. У изолята ST395 P8 показатель 4 — самый высокий, поскольку помимо *ybt*, геном изолята кодирует аэробактин (AbST95). Из дополнительных генов вирулентности *peg-344* [26], отвечающий за пермеазу транспортера лекарств и метаболитов, присутствует только в геноме ST395 P8. Гены гипермукоидности *rmpA*, *rmpA2* в этой группе изолятов не выявлены.

Оценка резистентности у всех изолятов самая высокая (3), поскольку в геномах присутствуют как гены карбапенемаз, так и мутации в генах (*PhoP\_26Q*), обеспечивающие устойчивость к колистину (полимиксину E) [27].

Спектр генов β-лактамаз в геномах изолятов обширен (рис. 1). Во всех геномах присутствует хотя бы одна карбапенемаза: OXA-48 (класс D) или NDM-1 (класс B, металло-β-лактамаза), а в геномах ST2975 и ST395 P18 есть обе β-лактамазы. NDM-1 также относят к β-лактамазам расширенного спектра [28], к которым принадлежат и CTX-M-15 и CTX-M-3 (класс A). Только у изолята ST395 P18 не было CTX-M-лактамазы. Из других β-лактамаз класса A лактамазы TEM и SHV есть во всех геномах. Цефалоспориноаза CMY-6 (класс C) при-

сутствует в большинстве геномов, её нет только в геномах изолятов ST307 и ST395 P8. Однако в этих геномах есть дополнительная β-лактамаза класса D — OXA-1, которая присутствует также в геноме ST985. Геном изолята ST29 отличается наличием двух дополнительных β-лактамаз класса D — OXA-10 и OXA-244. Таким образом, в геномах изолятов есть, по крайней мере, 5 генов β-лактамаз разных классов, а в геноме ST29 их 7.

**Гены резистентности иных категорий антибиотиков** представлены на рис. 2. У изолятов ST866 выявили минимальное количество дополнительных генов резистентности — 6. Среди них отсутствуют гены устойчивости к фторхинолонам и триметоприму, что подтверждает фенотипические данные. Максимальное количество дополнительных генов у изолята ST395 P8 — 16. У него и у изолята ST985 (14 генов) для каждой категории антибиотиков есть хотя бы один ген, определяющий устойчивость. Отметим, что только у изолятов-лидеров есть гены устойчивости к макролидам.

**Гены устойчивости к ионам тяжёлых металлов** обнаружены в 6 из 8 геномов (рис. 3). Это опероны устойчивости к мышьяку (*arsABCDER*), меди (*pcoABCDERS*), серебра (*silABCEFGPRS*) и теллуру (*terABCDEWXYZ*). Все 4 оперона присутствуют в геноме ST307, по 3 — в геномах ST2975 и ST985, по 2 — в ST866, а в геноме ST395 P8 — только оперон устойчивости к теллуру.

**Плазмиды резистентных изолятов.** Как правило, опероны тяжёлых металлов, многие гены ре-

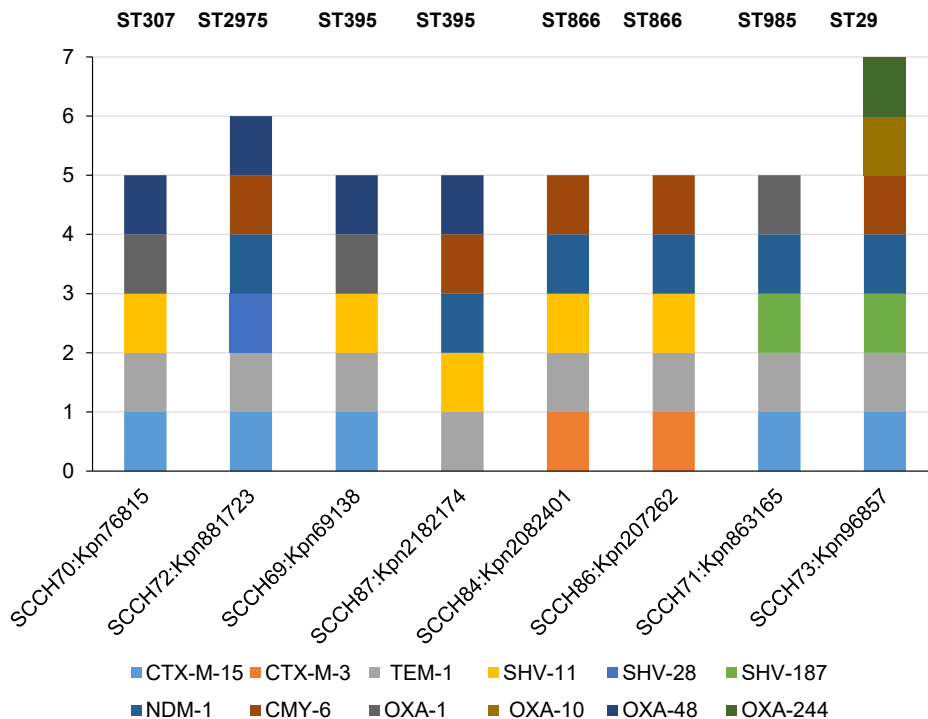


Рис. 1. Разнообразие генов β-лактамаз в геномах исследованных изолятов.

Fig. 1. Diversity of beta-lactamase genes in the genomes of the studied isolates.

зистентности присутствуют в плазидах [29]. Мы оценили количество групп Inc-плазмид для геномных данных каждого изолята (рис. 4). Максимальное количество Inc обнаружили у изолята ST307 (7), минимальное — у изолятов ST985 (1) и ST866 (3).

Данные подтверждают наличие плазмид в геномах всех изолятов.

Обращает на себя внимание различный спектр Inc у изолятов одного генотипа ST395. Сборка плазмидных репликаонов изолятов ST395 P8 и ST395 P18

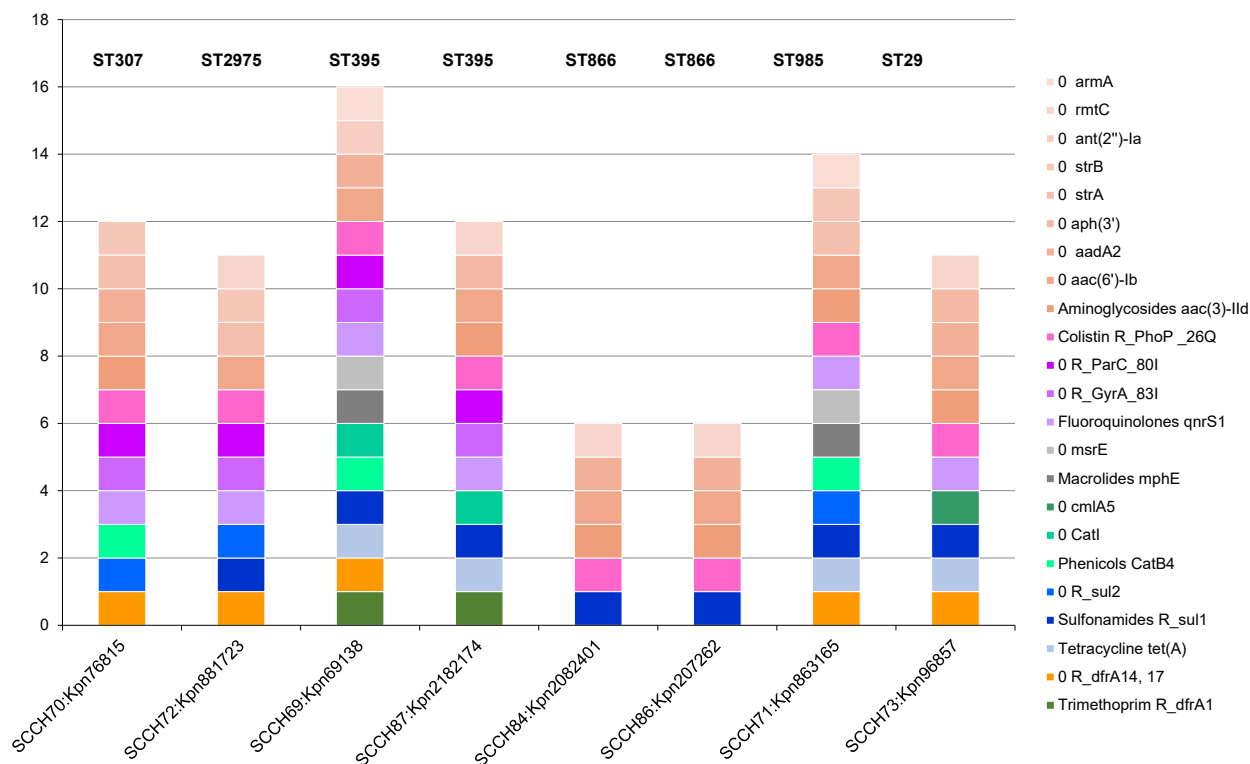


Рис. 2. Разнообразие генов резистентности к иным категориям антибиотиков в геномах исследованных изолятов.

Fig. 2. Diversity of resistance genes to other categories of antibiotics in the genomes of the studied isolates.

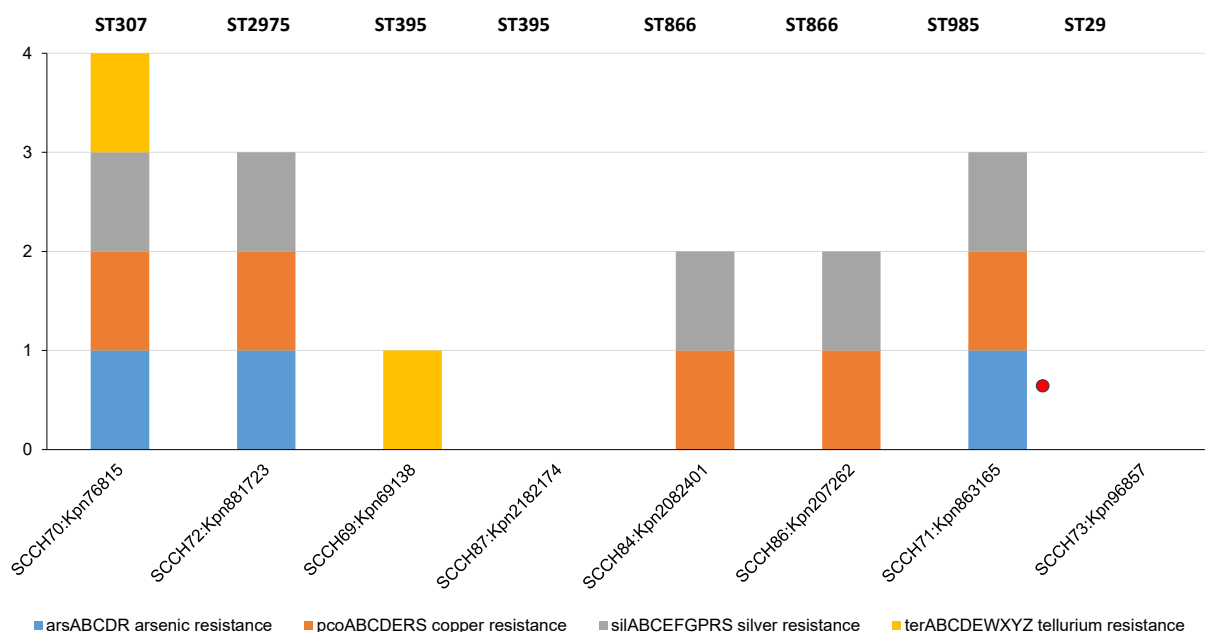


Рис. 3. Гены устойчивости к ионам металлов в геномах исследованных изолятов.

Красной точкой отмечен неполный оперон *arsBCRD*.

Fig. 3. Genes of resistance to heavy metal ions in the genomes of the studied isolates.

The red dot marks the incomplete *arsBCRD* operon.

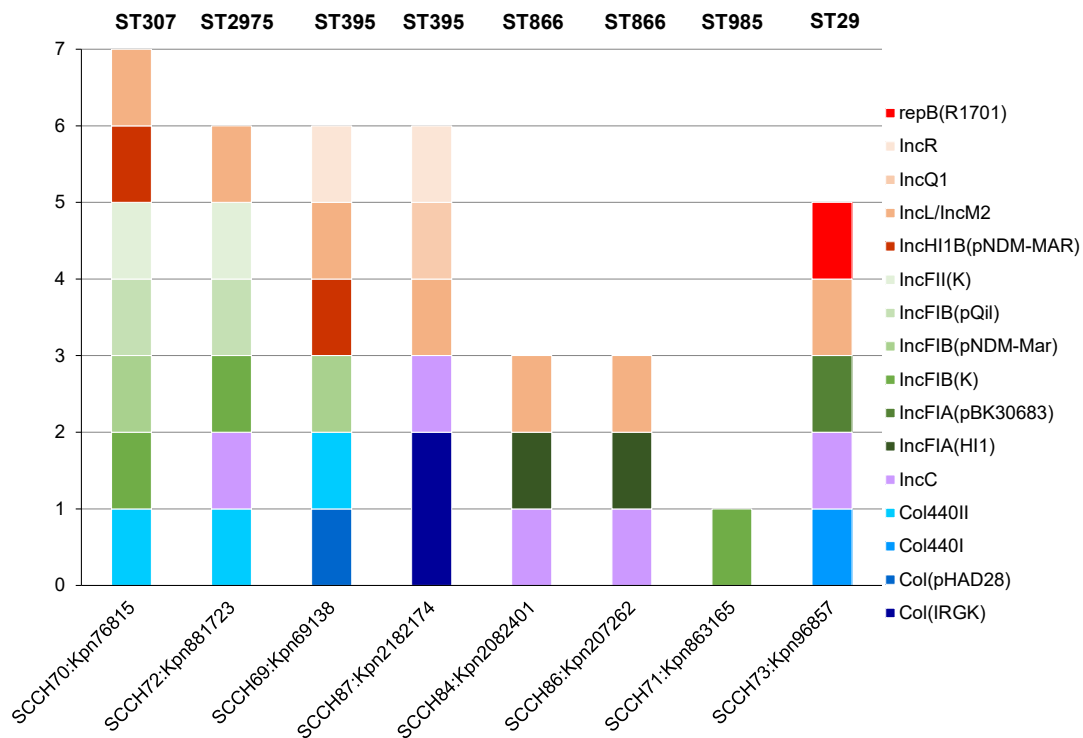


Рис. 4. Разнообразие ориджинов репликации (Inc) плазмид в исследованных изолятах.

Fig. 4. Diversity of origins of replication (Inc) plasmids in the studied isolates.

показала, что в геноме ST395 P18 есть 5 плазмид, 3 из которых способны к конъюгативному переносу, а в геноме ST395 P8 присутствуют 4 плазмиды, одна из которых криптическая (к конъюгативному переносу способны 2). Плазмидомы изолятов различались по количеству и набору генов резистентности и вирулентности (рис. 5). Плазмидом ST395 P8 отличало наличие генов  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра, аэробактина, *peg-344*, оперона устойчивости к теллуру и большего количества генов  $\beta$ -лактамаз. В плазмидоме ST395 P18 было больше генов карбапенемаз, генов устойчивости к сульфонидам и аминогликозидам. Таким образом, плазмидом изолятов ST395 претерпел существенные изменения с 2016 по 2021 г.

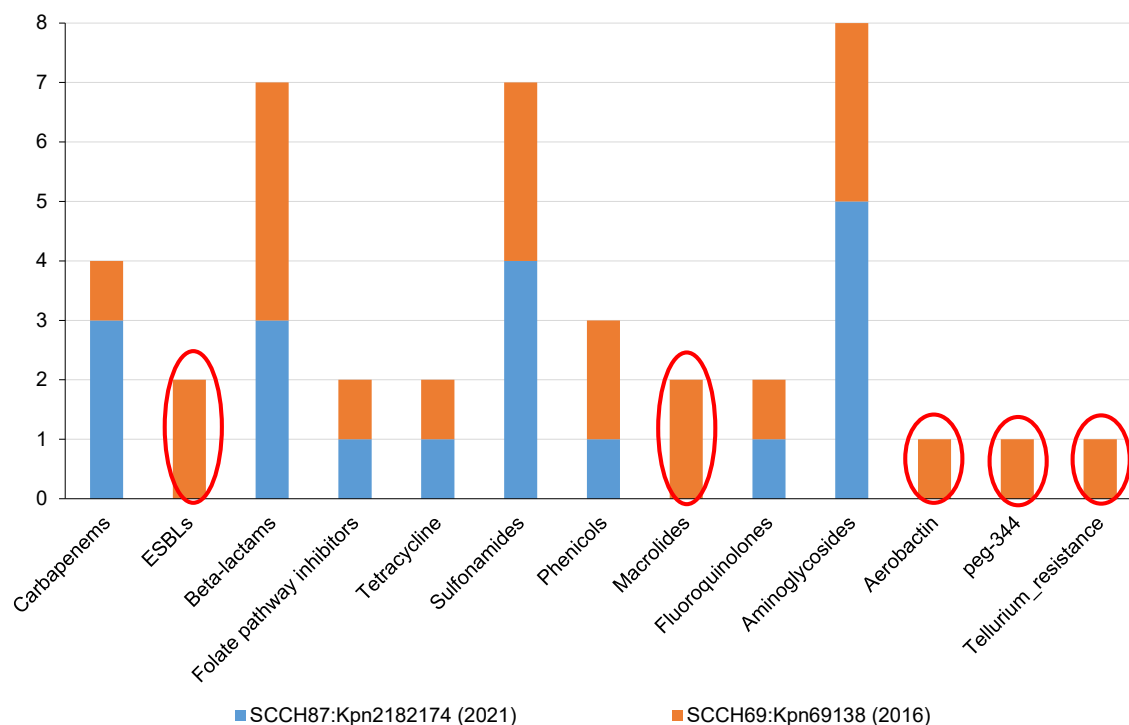
**Сравнение профагов** изолятов ST395 показало различия и по этим мобильным генетическим элементам. В геноме ST395 P8 идентифицировали 8 профагов, в геноме ST395 P18 — 7; 5 профагов были общими для геномов изолятов ST395. Однако плазмиды ST395 P8 содержали в 2 раза больше профагов (10), чем плазмиды ST395 P18 (5). Все профаги имели гомологию с 17 различными бактериальными фагами класса *Caudoviricetes*. Профаги хромосом содержали по 3 гена холинов, формирующих поры в клеточной мембране [30], и гены лизинов, повреждающих пептидогликан: 4 гена лизоцима — ST395 P8 и 5 генов лизоцима и ген мембранно-связанной литической трансгликозилазы D — ST395 P18. При этом CRISPR-Cas (Clustered Regularly

Interspaced Short Palindromic Repeats) системы в обоих геномах отсутствовали. В то же время анализ профагов плазмид изолятов ST395 подтвердил наблюдение, что фаги могут быть переносчиками генов антибиотикорезистентности [31]. В профагах плазмид изолята ST395 P8 находились гены  $\beta$ -лактамаз (5), хлорамфеникол ацетилтрансфераз (3), аминогликозид ацетилтрансфераз (2), дигидрофолат редуктазы, стрептомицин аденилтрансферазы и оперон устойчивости к теллуру. Не уступали им и профаги плазмид изолята ST395 P18, которые содержали гены аминогликозид ацетилтрансфераз (3), дигидроптероат синтаз (2),  $\beta$ -лактамаз TEM и OXA-48, хлорамфеникол ацетилтрансферазы и 3 эффлюксных транспортеров SMR (Small multidrug resistance)

## Обсуждение

Проведённое исследование выявило большое разнообразие генотипов MDR *K. pneumoniae*, выделенных из ликвора и крови. Из них, по данным Института Пастера<sup>13</sup>, лидирующим в мире является ST307 (1786 изолятов, 21 в России), за ним следуют ST395 (380, 188 в России) и ST29 (255, 2 в России), ST985 (48), ST2975 (29, 12 в России), ST866 (7). Инфицирование PDR *K. pneumoniae* ST29 и ST985 привело к смертельным исходам. Инфекция, являясь системной, помимо кровотока, была выявлена

<sup>13</sup> Institut Pasteur. URL: [bigsd.b.pasteur.fr/klebsiella](https://bigsd.b.pasteur.fr/klebsiella)



**Рис. 5.** Гены резистентности и вирулентности в плаزمидах *K. pneumoniae* ST395.

Обведены факторы, присутствующие только в плазмидах изолята ST395 P8.

**Fig. 5.** Resistance and virulence genes in *K. pneumoniae* ST395 plasmids.

Circled are factors that are present only in the plasmids of the ST395 P8 isolate.

и в других локусах как пациентов P10, P12, так и пациентов P9, P11, P17, P18. У пациента P8 инфекция обнаружена только в ликворе и была вызвана наиболее вирулентным изолятом ST395 (степень 4). По показателям резистентности (PDR) и вирулентности изолят ST395 P8 соответствует характеристикам конвергентного патотипа ST395 [5]. Исследование плазмид изолята подтверждает перенос факторов резистентности (в том числе к ионам тяжёлых металлов) и вирулентности именно этими мобильными генетическими элементами и профагами в составе плазмид. Сопоставление геномов изолятов ST395 P8 и ST395 P18 выявляет свидетельства рекомбинаций в «горячих точках», охарактеризованных E.R. Shaidullina и соавт. [5]. У изолятов различаются области O-антигена, ICEKp и профагов. Изолят ST395 P18 имеет ICEKp12 (*ybt16*), превалирующий в CG305 и в субкладе B1 (KL2KL30) [5], при этом характеристика K-локуса изолята соответствует характеристике субклады. У изолята ST395 P8 ICEKp5 (*ybt14*) — редкий [5] и относящийся к субкладе A1 (KL108). Однако у изолята ST395 P8 K-локус — KL2, что может быть ещё одним свидетельством рекомбинационных событий.

У изолятов CG307 отличия в наборе генов резистентности связаны с разным плазмидным про-

филем. В хромосоме изоляты имеют одинаковые области ICEKp4 (*ybt10*), но существенные отличия в главной «горячей точке» рекомбинации — K- и O-локусах.

В SL29 изоляты сходны только O-локусом, имеют разные K-локусы, ICEKp, плазмидный профиль и спектр генов резистентности. Отметим, что единственная плазида изолята ST985 (IncFIB(K)) содержит 3 оперона устойчивости к ионам тяжёлых металлов и большой перечень генов, определяющих вместе с генами хромосомы PDR изолята.

Изоляты ST866 — наименее резистентные, тем не менее являются MDR и XDR, несут плазмиды, содержащие в том числе 2 оперона устойчивости к ионам тяжёлых металлов.

Возвращаясь к актуальной проблеме резистентности *K. pneumoniae* к карбапенемам, необходимо отметить наличие в выборке 2 изолятов, содержащих по 2 гена карбапенемаз: OXA-48 и NDM-1. Изоляты относятся к международным клонам особого риска CG395 и CG307.

Таким образом, в выборке резистентных изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из кровотока и ликвора, обнаружили 6 изолятов PDR, один из которых относится к конвергентному патотипу ST395.



## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Белобородов В.Б., Голощапов О.В., Гусаров В.Г. и др. Методические рекомендации Российской некоммерческой общественной организации «Ассоциация анестезиологов-реаниматологов», Межрегиональной общественной организации «Альянс клинических химиотерапевтов и микробиологов», Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ), общественной организации «Российский Сепсис Форум» «Диагностика и антимикробная терапия инфекций, вызванных полирезистентными штаммами микроорганизмов» (обновление 2022 г.). *Вестник анестезиологии и реаниматологии*. 2022;19(2):84–114. Beloborodov V.B., Goloschapov O.V., Gusarov V.G., et al. Guidelines of the Association of anesthesiologists-intensivists, the Interregional non-governmental organization Alliance of clinical chemotherapists and microbiologists, the Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy (IACMAC), and NGO Russian sepsis forum diagnostics and antimicrobial therapy of the infections caused by multiresistant microorganisms (update 2022). *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*. 2022;19(2):84–114. DOI: <https://doi.org/10.21292/2078-5658-2022-19-2-84-114> EDN: <https://elibrary.ru/vjuoqg>
2. Khrulnova S., Fedorova A., Frolova I., et al. Distribution of virulence genes and capsule types in *Klebsiella pneumoniae* among bloodstream isolates from patients with hematological malignancies. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2022;104(1):115744. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2022.115744>
3. Fursova A.D., Fursov M.V., Astashkin E.I., et al. Early response of antimicrobial resistance and virulence genes expression in classical, hypervirulent, and hybrid hvKp-MDR *Klebsiella pneumoniae* on antimicrobial stress. *Antibiotics (Basel)*. 2021;11(1):7. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010007>
4. Fursova N.K., Astashkin E.I., Ershova O.N., et al. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* causing severe infections in the Neuro-ICU. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(8):979. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10080979>
5. Shaidullina E.R., Schwabe M., Rohde T., et al. Genomic analysis of the international high-risk clonal lineage *Klebsiella pneumoniae* sequence type 395. *Genome Med.* 2023;15(1):9. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13073-023-01159-6>
6. Gu D., Dong N., Zheng Z., et al. A fatal outbreak of ST11 carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese hospital: a molecular epidemiological study. *Lancet Infect. Dis.* 2018;18(1):37–46. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30489-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30489-9)
7. Starkova P., Lazareva I., Avdeeva A., et al. Emergence of hybrid resistance and virulence plasmids harboring New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase in *Klebsiella pneumoniae* in Russia. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(6):691. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10060691>
8. Khedkar S., Smyshlyaev G., Letunic I., et al. Landscape of mobile genetic elements and their antibiotic resistance cargo in prokaryotic genomes. *Nucleic Acids Res.* 2022;50(6):3155–68. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkac163>
9. Johnson C.M., Grossman A.D. Integrative and Conjugative Elements (ICEs): What they do and how they work. *Annu. Rev. Genet.* 2015;49:577–601. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-112414-055018>
10. Shapaka J.T., Muloiwa R., Buys H. Association of full blood count findings with risk of mortality in children with *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection at a South African children's hospital. *BMC Pediatr.* 2023;23(1):302. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12887-023-04104-z>
11. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 13.1; 2023. URL: [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Breakpoint\\_tables/v\\_13.1\\_Breakpoint\\_Tables.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_13.1_Breakpoint_Tables.pdf)
12. Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B., et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012;18(3):268–81. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
13. Wilson K. Preparation of genomic DNA from bacteria. *Curr. Protoc. Mol. Biol.* 2001;Chapter 2:Unit2.4. DOI: <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb0204s56>
14. Grant J.R., Stothard P. The CGView Server: A comparative genomics tool for circular genomes. *Nucleic Acids Res.* 2008;36(Web Server issue):W181–4. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkn179>
15. Brettin T., Davis J.J., Disz T., et al. RASTtk: a modular and extensible implementation of the RAST algorithm for building custom annotation pipelines and annotating batches of genomes. *Sci. Rep.* 2015;5:8365. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep08365>
16. Li W., O'Neill K.R., Haft D.H., et al. RefSeq: expanding the Prokaryotic Genome Annotation Pipeline reach with protein family model curation. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(D1):D1020–8. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1105>
17. Arndt D., Grant J.R., Marcu A., et al. PHASTER: a better, faster version of the PHAST phage search tool. *Nucleic Acids Res.* 2016;44(W1):W16–21. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkw387>
18. Lam M.M.C., Wick R.R., Watts S.C., et al. A genomic surveillance framework and genotyping tool for *Klebsiella pneumoniae* and its related species complex. *Nat. Commun.* 2021;12(1):4188. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24448-3>
19. Lam M.M.C., Wick R.R., Judd L.M., et al. Kaptive 2.0: updated capsule and lipopolysaccharide locus typing for the *Klebsiella pneumoniae* species complex. *Microb. Genom.* 2022;8(3):000800. DOI: <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000800>
20. Chen L., Yang J., Yu J., et al. VFDB: a reference database for bacterial virulence factors. *Nucleic Acids Res.* 2005;33(Issue suppl. 1):D325–8. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gki008>
21. Alcock B.P., Huynh W., Chalil R., et al. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Res.* 2023;51(D1):D690–9. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkac920>
22. Olson R.D., Assaf R., Brettin T., et al. Introducing the Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (BV-BRC): a resource combining PATRIC, IRD and ViPR. *Nucleic Acids Res.* 2023;51(D1):D678–89. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1003>
23. Carattoli A., Zankari E., García-Fernández A., et al. In silico detection and typing of plasmids using PlasmidFinder and plasmid multilocus sequence typing. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014;58(7):3895–903. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.02412-14>
24. Follador R., Heinz E., Wyres K.L., et al. The diversity of *Klebsiella pneumoniae* surface polysaccharides. *Microb. Genom.* 2016;2(8):e000073. DOI: <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000073>
25. Pan Y.J., Lin T.L., Chen C.T., et al. Genetic analysis of capsular polysaccharide synthesis gene clusters in 79 capsular types of *Klebsiella* spp. *Sci. Rep.* 2015;5:15573. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep15573>
26. Liu C., Du P., Xiao N., et al. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* is emerging as an increasingly prevalent *K. pneumoniae* pathotype responsible for nosocomial and healthcare-associated infections in Beijing, China. *Virulence.* 2020;11(1):1215–24. DOI: <https://doi.org/10.1080/21505594.2020.1809322>

27. Olaitan A.O., Morand S., Rolain J.M. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front. Microbiol.* 2014;5:643.  
DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00643>
28. Palzkill T. Metallo- $\beta$ -lactamase structure and function. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2013;1277:91–104.  
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2012.06796.x>
29. Wu F., Ying Y., Yin M., et al. Molecular characterization of a multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* strain R46 isolated

- from a rabbit. *Int. J. Genomics.* 2019;2019:5459190.  
DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/5459190>
30. Fernandes S., São-José C. More than a hole: the holin lethal function may be required to fully sensitize bacteria to the lytic action of canonical endolysins. *Mol. Microbiol.* 2016;102(1):92–106.  
DOI: <https://doi.org/10.1111/mmi.13448>
31. Balcazar J.L. Bacteriophages as vehicles for antibiotic resistance genes in the environment. *PLoS Pathog.* 2014;10(7):e1004219.  
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004219>

#### Информация об авторах

**Воронина Ольга Львовна** — к.б.н., доцент, зав. лаб. анализа геномов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, [olv550@gmail.com](mailto:olv550@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0001-7206-3594>

**Кунда Марина Сергеевна** — к.б.н., с.н.с. лаб. анализа геномов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1945-0397>

**Рыжова Наталья Николаевна** — к.б.н., с.н.с. лаб. анализа геномов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5361-870X>

**Аксенова Екатерина Ивановна** — к.б.н., с.н.с. лаб. анализа геномов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2704-6730>

**Садеева Зульфияра Закиевна** — м.н.с. лаб. молекулярной микробиологии НМИЦ здоровья детей, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-4587-0902>

**Новикова Ирина Евгеньевна** — м.н.с. лаб. молекулярной микробиологии НМИЦ здоровья детей Минздрава России, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4234-0209>

**Лазарева Анна Валерьевна** — д.м.н., г.н.с. лаб. молекулярной микробиологии, зав. лаб. микробиологии НМИЦ здоровья детей, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3896-2590>

**Карасева Ольга Витальевна** — д.м.н., руководитель отделения неотложной хирургии и травм детского возраста НМИЦ здоровья детей, Москва, Россия; зам. директора по научной работе, руководитель отдела сочетанной травмы, анестезиологии-реанимации НИИ неотложной детской хирургии и травматологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9418-4418>

**Фисенко Андрей Петрович** — д.м.н., профессор, директор НМИЦ здоровья детей, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8586-7946>

**Гинцбург Александр Леонидович** — д.б.н., профессор, академик РАН, директор НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1769-5059>

**Вклад авторов:** Воронина О.Л. — методология и дизайн геномного исследования, биоинформационный анализ, написание и редактирование рукописи; Кунда М.С., Рыжова Н.Н., Аксенова Е.И. — геномные исследования, биоинформационный и статистический анализ, визуализация, написание рукописи; Садеева З.З., Новикова И.Е., Лазарева А.В. — выделение культур микроорганизмов и фенотипическое исследование, участие в подготовке рукописи; Карасева О.В. — организация сбора клинического материала; Фисенко А.П. — концептуализация исследования в НМИЦ здоровья детей; Гинцбург А.Л. — концептуализация и координация исследования. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 06.09.2023;  
принята к публикации 15.11.2023;  
опубликована 28.12.2023

#### Information about the authors

**Olga L. Voronina** — Cand. Sci. (Biol.), Assistant Professor, Head, Laboratory of genome analysis, N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, [olv550@gmail.com](mailto:olv550@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0001-7206-3594>

**Marina S. Kunda** — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of genome analysis, N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1945-0397>

**Natalia N. Ryzhova** — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of genome analysis, N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5361-870X>

**Ekaterina I. Aksenova** — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of genome analysis, N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2704-6730>

**Zulfirya Z. Sadeeva** — junior researcher, Laboratory of molecular microbiology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-4587-0902>

**Irina E. Novikova** — junior researcher, Laboratory of molecular microbiology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4234-0209>

**Anna V. Lazareva** — D. Sci. (Med.), chief researcher, Laboratory of molecular microbiology, Head, Laboratory of microbiology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3896-2590>

**Olga V. Karaseva** — D. Sci. (Med.), Head, Department of emergency surgery and childhood injuries, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia; Deputy director for scientific work, Head, Department of combined trauma, anesthesiology-resuscitation, Clinical and Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Trauma, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9418-4418>

**Andrey P. Fisenko** — D. Sci. (Med.), Professor, Director, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8586-7946>

**Alexander L. Gintsburg** — D. Sci. (Biol.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director, N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1769-5059>

**Author contribution:** Voronina O.L. — methodology and design of genomic research, bioinformatic analysis, writing and editing the manuscript; Kunda M.S., Ryzhova N.N., Aksenova E.I. — genomic studies, bioinformatics and statistical analysis, visualization, manuscript writing; Sadeeva Z.Z., Novikova I.E., Lazareva A.V. — isolation of microorganism cultures and phenotypic study, participation in the preparation of the manuscript; Karaseva O.V. — organization of the collection and processing of clinical material; Fisenko A.P. — conceptualization of research at the National Medical Research Center for Children's Health; Gintsburg A.L. — conceptualization and coordination of the study. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 06.09.2023;  
accepted for publication 15.11.2023;  
published 28.12.2023

Оригинальное исследование  
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-427>



## Результаты скрининга на антитела к вирусу ветряной оспы у медицинских работников многопрофильного стационара Москвы

Афони́на Н.М.<sup>1</sup>, Михеева И.В.<sup>1✉</sup>, Корабельникова М.И.<sup>1</sup>, Родионова З.С.<sup>1</sup>, Сницарь А.В.<sup>2,3</sup>, Переходов С.Н.<sup>3</sup>, Сметанина С.В.<sup>2</sup>, Тутельян А.В.<sup>1</sup>, Кузин С.Н.<sup>1</sup>, Акимкин В.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия;

<sup>2</sup>Городская клиническая больница имени В.П. Демикова, Москва, Россия;

<sup>3</sup>Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова, Москва, Россия

### Аннотация

**Введение.** В условиях неблагоприятной эпидемической ситуации по ветряной оспе и опоясывающему лишая в России в медицинских организациях существует высокий риск заноса вируса и его распространения, в том числе среди неиммунного к вирусу ветряной оспы (VZV) медицинского персонала.

**Цель исследования** — оценка иммуноструктуры работников многопрофильного стационара Москвы к VZV.

**Материалы и методы.** Проведено выборочное скрининговое исследование. Материалами для исследования методом твёрдофазного иммуноферментного анализа с выявлением специфических антител к антигенам VZV IgG с использованием коммерческой иммуноферментной тест-системы «Векто VZV-IgG» являлись образцы сыворотки венозной крови 1546 работников многопрофильного стационара Москвы. Проведено анкетирование всех сотрудников для получения информации об инфекционном и вакцинальном анамнезе в отношении VZV.

**Результаты и обсуждение.** Скрининг на антитела к VZV у медицинских работников многопрофильного стационара выявил наличие 6,3% неиммунных к вирусу ветряной оспы. В возрастной группе до 29 лет включительно удельный вес серонегативных лиц был наибольшим ( $12,6 \pm 2,4\%$ ). Серонегативные к VZV медработники выявлены в отделениях разного профиля, однако эпидемиологическую настороженность вызывает наличие неиммунных лиц среди сотрудников акушерско-гинекологических отделений (6,5%). Результаты опроса показали, что документально не подтверждённые данные инфекционного и прививочного анамнеза не могут быть использованы при оценке защищённости медицинских работников от VZV-инфекции.

**Заключение.** Результаты серологического скрининга на антитела к VZV позволили выявить значительное число восприимчивых к инфекции сотрудников многопрофильного стационара. Для предотвращения формирования множественных эпидемических очагов ветряной оспы в медицинских организациях целесообразно внесение в государственные программы профилактики тестирования на анти-VZV медицинского персонала с последующей вакцинацией неиммунных лиц.

**Ключевые слова:** ветряная оспа, вирус ветряной оспы, иммунитет, медицинские работники, серомониторинг, вакцинопрофилактика

**Этическое утверждение.** Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (протокол № 114 от 22.04.2021).

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Для цитирования:** Афони́на Н.М., Михеева И.В., Корабельникова М.И., Родионова З.С., Сницарь А.В., Переходов С.Н., Сметанина С.В., Тутельян А.В., Кузин С.Н., Акимкин В.Г. Результаты скрининга на антитела к вирусу ветряной оспы у медицинских работников многопрофильного стационара Москвы. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2023;100(6):410–419.  
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-427>

EDN: <https://www.elibrary.ru/vfdotz>

# Results of screening for antibodies to varicella-zoster virus in healthcare workers of a multidisciplinary hospital in Moscow

Nataliya M. Afonina<sup>1</sup>, Irina V. Mikheeva<sup>1✉</sup>, Marina I. Korabelnikova<sup>1</sup>,  
Zinaida S. Rodionova<sup>1</sup>, Artem V. Snitsar<sup>2,3</sup>, Sergey N. Perekhodov<sup>3</sup>,  
Svetlana V. Smetanina<sup>2</sup>, Alexey V. Tutelyan<sup>1</sup>, Stanislav N. Kuzin<sup>1</sup>, Vasily G. Akimkin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>City Clinical Hospital named after V.P. Demikhov, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

## Abstract

**Introduction.** Given the unfavorable epidemic situation with chickenpox and shingles in Russia, there is a high risk of virus introduction and spread in healthcare settings, including among medical staff who are not immune to varicella zoster virus (VZV).

**The objective of this study** is to assess the immunity of employees of a multidisciplinary hospital in Moscow to VZV.

**Materials and methods.** A selective screening study was carried out. Venous blood serum samples were taken from 1546 hospital employees as material for detection of IgG antibodies to VZV antigens using a commercial solid-phase enzyme immunoassay (ELISA) test system "Vecto VZV-IgG". All employees were questioned to obtain information about their infectious and vaccine history in relation to VZV.

**Results and discussion.** Screening for antibodies to VZV in the hospital workers revealed that 6.3% of those workers are not immune to VZV. The proportion of seronegative individuals was the highest ( $12.6 \pm 2.4\%$ ) in the age group of 29 years and younger. VZV seronegative healthcare workers were found in various departments, but the presence of non-immune individuals among the staff of the obstetrics and gynecology departments (6.5%) is of epidemiologic concern. The results of the survey showed that documented data on infection and vaccination history cannot be used to assess the protection of healthcare workers against VZV infection.

**Conclusion.** The results of serologic screening for antibodies to VZV made it possible to identify a significant number of susceptible employees of the multidisciplinary hospital. In order to prevent the formation of multiple epidemic foci of varicella in medical organizations, it is advisable to include anti-VZV testing of medical staff in the state prevention programs with subsequent vaccination of non-immune individuals.

**Keywords:** varicella, chickenpox, immunity, healthcare workers, serosurveillance, preventive vaccination

**Ethics approval.** The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Central Research Institute of Epidemiology (protocol No. 114, April 22, 2021).

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**For citation:** Afonina N.M., Mikheeva I.V., Korabelnikova M.I., Rodionova Z.S., Snitsar A.V., Perekhodov S.N., Smetanina S.V., Tutelyan A.V., Kuzin S.N., Akimkin V.G. Results of screening for antibodies to varicella-zoster virus in healthcare workers of a multidisciplinary hospital in Moscow. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology.* 2023;100(6):410–419.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-427>

EDN: <https://www.elibrary.ru/vfdotz>

## Введение

Несмотря на значительные успехи в области инфекционного контроля в медицинских организациях (МО) благодаря широкому спектру санитарно-противоэпидемических мер и профилактической вакцинации, инфекционные заболевания по-прежнему представляют серьёзную угрозу для пациентов и медицинского персонала. В этой связи в МО пристального внимания заслуживают

сотрудники, не переболевшие ранее вакциноуправляемыми инфекциями и не вакцинированные перед поступлением на работу, т.к. они подвержены риску заражения, а в последующем риску стать источником возбудителя инфекции для восприимчивых серонегативных больных [1].

В России наиболее широко распространёнными инфекционными заболеваниями (помимо острых респираторных вирусных инфекций) являются

болезни, обусловленные вирусом *Varicella zoster* (*VZV*), — ветряная оспа (ВО) и опоясывающий лишай (ОЛ). Так, в 2022 г. в стране было зарегистрировано более 648 тыс. случаев заболевания ВО и 16 680 случаев заболевания ОЛ. Основное число заболевших ВО составляют дети (95,6%), а в возрастной структуре больных ОЛ 91,5% приходится на взрослых [2].

В текущей эпидемической ситуации в МО существует высокий риск заноса *VZV* и его распространения, в том числе среди неиммунного к *VZV* медицинского персонала.

Точные статистические данные о частоте госпитализации больных ВО и ОЛ в России отсутствуют. Вместе с тем при изучении частоты госпитализации пациентов с герпесвирусной инфекцией в ИКБ № 1 г. Москвы за 2010–2021 гг. установлено преобладание в структуре госпитализированных взрослых с *VZV*-инфекцией: за изученный период было госпитализировано 5162 взрослых с *VZV* (4705 — с диагнозом ОЛ и 357 — с диагнозом ВО) [3] и 226 детей (196 — с диагнозом ВО и 30 — с диагнозом ОЛ) [4].

В зарубежной литературе опубликованы данные о том, что циркуляция *VZV* в МО для детей уменьшается из-за редкой госпитализации детей по поводу ВО благодаря плановой вакцинопрофилактике ВО среди детского населения [5]. При этом в МО для взрослых *VZV* циркулирует активно, а источником возбудителя для медицинского персонала и пациентов в подавляющем большинстве случаев являются больные ОЛ [6–9]. Из-за ошибочных стереотипных представлений о том, что ВО является преимущественно детским заболеванием и заражение происходит только от больных ВО, из поля зрения выпадают пациенты с ОЛ, которые являются источниками *VZV*. По этой причине недооценены риски заражения и распространения ВО в МО для взрослых.

ВО у пациентов в условиях внутрибольничного инфицирования отличается высокой интенсивностью распространения, утяжелением течения и развитием осложнений [10]. Зарубежные авторы отмечают, что очаги ВО в МО связаны не только с тяжёлыми последствиями для пациентов, но и со значительным финансовым бременем для МО, а также судебными исками от подвергшихся рискам заражения пациентов [11, 12].

В связи с этим представляется крайне важным исключение возможности распространения ВО среди неиммунного к *VZV* медицинского персонала, для чего в ряде стран регламентирована иммунизация против ВО серонегативных к вирусу сотрудников [13, 14].

В России в условиях неблагоприятной эпидемической обстановки по ВО и ОЛ медицинские работники не проходят обязательное серологическое

тестирование на антитела к *VZV* с последующей вакцинацией неиммунных, а данные об иммуноструктуре по отношению к возбудителю ВО этой профессиональной группы лиц с повышенным риском заражения отсутствуют.

При этом Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) рекомендует иммунизацию против ВО неиммунных к *VZV* медицинских работников [15].

С учетом актуальности проблемы было проведено исследование, целью которого являлась оценка иммуноструктуры работников многопрофильного стационара Москвы к *VZV*.

## Материалы и методы

Проведено выборочное скрининговое исследование. Материалом для исследования являлись образцы сыворотки венозной крови 1546 работников одного из многопрофильных стационаров Москвы, собранные в 2021 г. Всеми сотрудниками было оформлено добровольное информированное письменное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (протокол № 114 от 22.04.2021). Социально-демографическая характеристика изучаемой группы представлена в табл. 1.

Серологические исследования выполняли методом твёрдофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с выявлением специфических антител к антигенам *VZV* иммуноглобулинов класса G (IgG) (качественным) с использованием коммерческой ИФА-тест-системы «Векто VZV-IgG». Исследование проводили по методу скрининга в одном разведении (1 : 100). В соответствии с инструкцией к

**Таблица 1.** Характеристика изучаемой группы ( $n = 1546$ )

**Table 1.** Characteristics of the studied group ( $n = 1546$ )

Показатель   Parameter		Число респондентов Number of respondents	
		абс.   abs.	%
Пол   Sex	женщины   women	1338	86,5
	мужчины   men	208	13,5
Возраст, лет Age, years	≤ 29	190	12,3
	30–39	350	22,6
	40–49	413	26,7
	50–59	372	24,1
	> 60	221	14,3
Стаж работы, годы Work experience, years	< 10	454	29,3
	10–20	360	23,4
	20–30	309	19,9
	> 30	304	19,7
	не указали not indicated	119	7,7

тест-системе полученные результаты трактовались как положительные или отрицательные при соотношении результатов определения требованиям стандартной панели предприятия, содержащей и не содержащей IgG к VZV.

В рамках исследования также было проведено анкетирование всех сотрудников для получения информации об инфекционном и вакцинальном анамнезе в отношении VZV.

Для оценки статистической значимости различий относительных показателей рассчитаны доверительные интервалы с уровнем значимости 95%. Графическая обработка данных выполнена с помощью программы «MS Excel».

### Результаты

Среди персонала многопрофильного стационара г. Москвы выявлено 1448 (93,4%) сотрудников, иммунных к VZV, и 98 (6,3%) сотрудников, не имеющих антител к VZV.

Удельный вес серонегативных лиц среди женщин и мужчин оказался практически одинаковым: среди женщин —  $6,7 \pm 1,4\%$  ( $n = 89$ ), среди мужчин —  $4,3 \pm 0,7\%$  ( $n = 9$ ), разность показателей статистически недостоверна ( $t = 1,6; p \leq 0,05$ ).

Изучение уровня иммунитета к VZV в возрастном разрезе показало, что в группе до 29 лет каждый 8-й сотрудник стационара не имел антител к VZV (24 из 190), в возрастной группе старше 30 лет — каждый 18-й сотрудник (74 из 1356).

Удельный вес серопозитивных к VZV медицинских работников в возрастной группе 30 лет и старше составил  $94,5 \pm 0,6\%$ , что достоверно выше показателя в группе медицинских работников моло-

дого возраста до 29 лет включительно ( $87,4 \pm 2,4\%$ ;  $t = 2,7; p \leq 0,05$ ). Внутри возрастной группы 30 лет и старше показатели серопозитивности не имели статистически достоверных различий (рис. 1).

Полученные результаты исследования указывают на более высокую вероятность заболевания ВО сотрудников из числа молодых специалистов по сравнению с медицинскими работниками более старших возрастных групп.

С целью оценки риска инфицирования серонегативных лиц в период работы в МО была проведена оценка иммуноструктуры по группам сотрудников в зависимости от стажа работы по специальности.

В группах персонала больницы со стажем работы в МО менее 10 лет и 10–20 лет доля лиц, не имеющих антител к VZV, оказалась выше, чем среди сотрудников со стажем 20–30 лет и более 30 лет:  $6,4 \pm 1,1$  и  $8,3 \pm 1,5\%$  против  $3,9 \pm 1,1$  и  $4,3 \pm 1,2\%$  соответственно ( $p \leq 0,05$ ; рис. 2).

Медицинские работники, серонегативные к вирусу ВО, выявлены во всех отделениях стационара. Иммунная прослойка к вирусу ВО в отделениях разного профиля варьировала от 92,7% в хирургических отделениях до 95,0% в амбулаторно-поликлиническом центре и в прочих отделениях. Статистическая обработка результатов показала, что достоверная разница между долей серонегативных/серопозитивных среди работников разных отделений стационара отсутствует ( $p \leq 0,05$ ; табл. 2; рис. 3).

В рамках настоящего исследования был изучен инфекционный анамнез медицинских работников в отношении заболевания ВО и вакцинальный анамнез относительно прививки против ВО. Вследствие отсутствия документов, подтверждающих факт за-

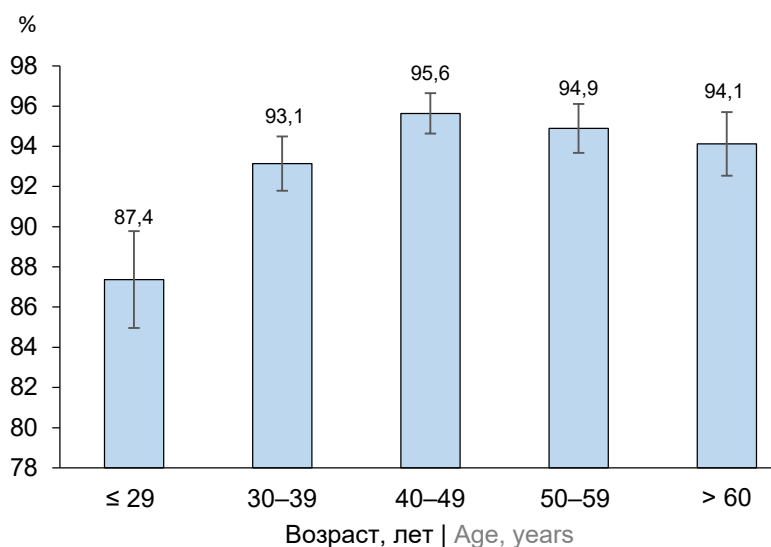
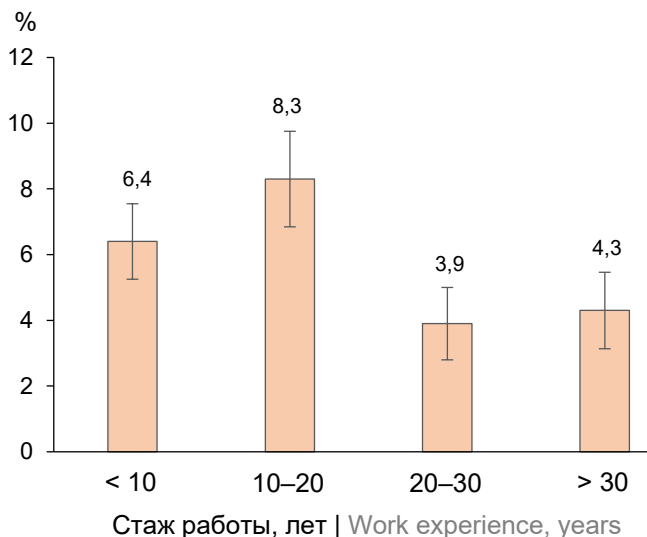


Рис. 1. Удельный вес серопозитивных к VZV в разных возрастных группах медицинских работников многопрофильного стационара Москвы.

Fig. 1. The proportion of VZV seropositive cases in different age groups of healthcare workers of a multidisciplinary hospital in Moscow.



**Рис. 2.** Удельный вес серонегативных к VZV медицинских работников многопрофильного стационара Москвы в зависимости от стажа работы.

**Fig. 2.** The proportion of VZV seronegative healthcare workers of a multidisciplinary hospital in Moscow, depending on the years of service.

болевания либо прививки (справка о перенесённой ВО и прививочный сертификат), оценка осуществлялась на основании анкетирования медицинских работников (1546 респондентов).

Около 40% медицинских работников (604 респондента) сообщили, что переболели ВО ранее, 42% (666 респондентов) не знали о своём инфекционном и прививочном анамнезе, 18% (276) считали себя вакцинированными против ВО. Сотрудники терапевтических и акушерско-гинекологических

отделений в значительно меньшей доле случаев считали себя привитыми (7,0 и 4,8% соответственно) по сравнению с работниками остальных отделений (19,3% — в хирургических отделениях, 42,9% — в диагностических, 33% — в административно-хозяйственных, 41,6% — в прочих), различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ). С учётом отсутствия вакцинации против ВО в Национальном календаре профилактических прививок России, а также незначительных объёмов вакцинации против этой инфекции по эпидемическим показаниям, адекватность полученных результатов анкетирования сотрудников относительно предшествующей вакцинации против ВО вызывает сомнение. Недостоверность прививочного анамнеза косвенно подтвердила практически одинаковая доля серонегативных лиц среди якобы вакцинированных и лиц с неизвестным анамнезом:  $8,7 \pm 1,7$  и  $9,9 \pm 1,2\%$  соответственно ( $t = 0,6$ ;  $p \leq 0,05$ ).

Сопоставление данных анкетирования с результатами серологического скрининга показало, что среди медицинских работников, которые считают себя переболевшими ВО, выявлено  $1,3 \pm 0,5\%$  лиц без антител к VZV, а среди сотрудников, сообщивших о вакцинации против ВО, серонегативных оказалось в 6,5 раза больше ( $8,7 \pm 1,7\%$ ;  $t = 4,1$ ;  $p \leq 0,05$ ; табл. 3).

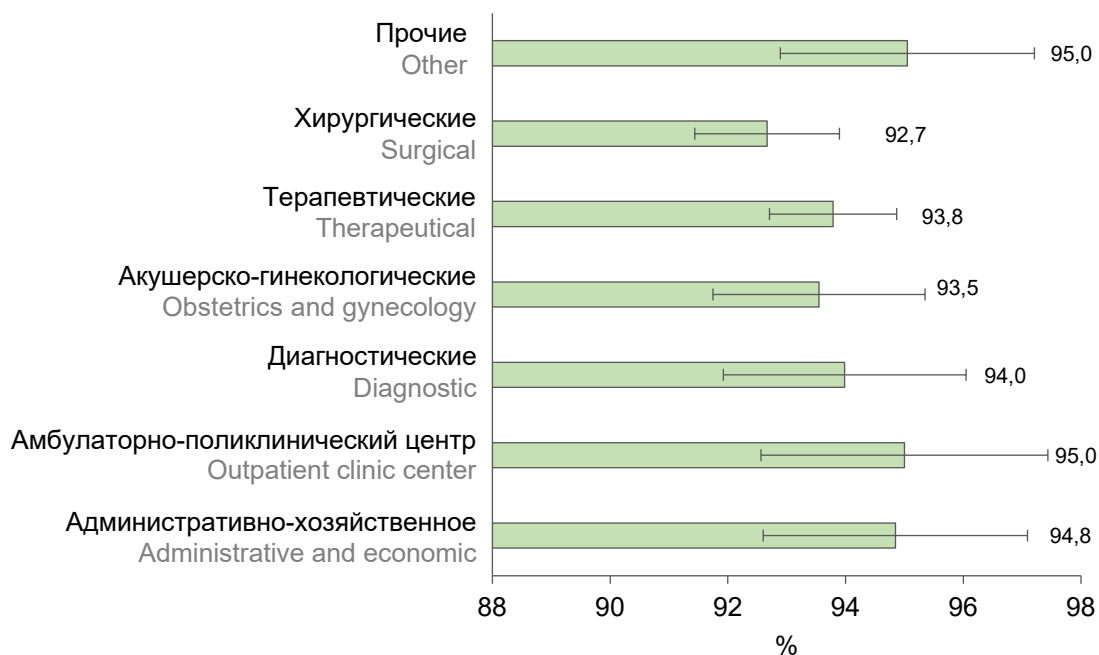
### Обсуждение

Скрининг на антитела к VZV у медицинских работников многопрофильного стационара выявил высокую долю серопозитивных лиц (93,7%). С учетом того, что в исследовании принимали участие лица определённой уязвимой декретированной

**Таблица 2.** Результаты серологического обследования на антитела к VZV медицинских работников различных отделений многопрофильного стационара в Москве

**Table 2.** Results of serological testing for antibodies to VZV of healthcare workers in various departments of a multidisciplinary hospital in Moscow

Отделения   Department profile	Число обследованных лиц   Number of examined persons				
	всего   total	из них серонегативных of which seronegative		из них серопозитивных of which seropositive	
		абс.   abs.	% (P ± mp)	абс.   abs.	% (P ± mp)
Хирургические   Surgical	450	33	7,3 ± 1,2	417	92,7 ± 1,2
Акушерско-гинекологические Obstetrics and gynecology	186	12	6,5 ± 1,8	174	93,5 ± 1,8
Терапевтические   Therapeutical	499	31	6,2 ± 1,1	468	93,8 ± 1,1
Диагностические   Diagnostic	133	8	6,0 ± 2,1	125	94,0 ± 2,1
Административно-хозяйственное Administrative and economic	97	5	5,2 ± 2,2	92	94,8 ± 2,2
Амбулаторно-поликлинический центр Outpatient clinic center	80	4	5,0 ± 2,4	86	95,0 ± 2,4
Прочие (приёмное, наркологическое и т.д.) Other (reception, narcological, etc.)	101	5	5,0 ± 2,2	96	95,0 ± 2,2
Всего   Total	1546	98	6,3	1448	93,4



**Рис. 3.** Удельный вес серопозитивных к VZV медицинских работников различных отделений многопрофильного стационара Москвы.

**Fig. 3.** The proportion of VZV seropositive healthcare workers in various departments of a multidisciplinary hospital in Moscow.

группы населения (работники МО), экстраполяция результатов проведённого скрининга на взрослое население страны нами не проводилась. Вместе с тем полученный результат сравним с данными популяционных исследований по оценке иммунитета к VZV населения в европейских странах, свидетельствующих о том, что более 90% взрослых в большинстве из них серопозитивны к VZV. При этом уровень серопозитивности взрослых выше, чем в большинстве стран Азии с более тёплым климатом (Индия — 68,2%, Турция — 77,8%, Тайланд — 61,4%, Иран — 78,5% и др.) [16].

Несмотря на полученный в ходе исследования высокий уровень коллективного иммунитета к VZV медицинского персонала многопрофильного стационара, показана вероятность заражения меди-

цинских работников в случае заноса возбудителя инфекции: 98 медицинских работников стационара не имели иммунитета к VZV. При этом в случае заражения ВО медицинский персонал может стать источником возбудителя инфекции для ослабленных пациентов стационара, ВО у которых протекает крайне тяжело.

Вероятность распространения VZV-инфекции и формирования множественных очагов ВО среди сотрудников и пациентов многопрофильных стационаров доказывают результаты оценки внутрибольничной заболеваемости ВО в МО Москвы [17, 18].

О риске заноса VZV в неинфекционные стационары для взрослых свидетельствуют данные по изучению частоты госпитализации пациентов с ОЛ, которые являются источниками возбудителя ВО.

**Таблица 3.** Результаты серологического скрининга медицинских работников с различным инфекционным и вакцинальным анамнезом относительно ВО по результатам анкетирования

**Table 3.** Results of serological screening of medical workers with various infectious and vaccine histories regarding chickenpox based on the results of a questionnaire

Анамнез по результатам анкетирования Anamnesis based on the results of the questionnaire	Число респондентов   Number of respondents		
	всего   total	из них серонегативных   of which seronegative	
		абс.   abs.	% (P ± mp)
Болели ВО ранее   Have had chickenpox before	604	8	1,3 ± 0,5
Считают себя вакцинированными против ВО Consider themselves vaccinated against chickenpox	276	24	8,7 ± 1,7
Не имеют сведений   Have no information	666	66	9,9 ± 1,2
Всего   Total	1546	98	6,3



В частности, в проведённом нами ранее эпидемиологическом исследовании показано, что в Москве 30% всех заболевших ОЛ (более 300 человек ежегодно) направлялись на госпитализацию, причём в подавляющем большинстве случаев — в отделения неинфекционного профиля [17].

Полученные результаты, продемонстрировавшие отсутствие статистически достоверной разницы по долевого распределению серонегативных/серопозитивных лиц среди женщин и мужчин в обследованной когорте, согласуются с данными литературы о том, что ВО встречается с одинаковой частотой у лиц мужского и женского пола [19], а также с результатами серологических исследований, указывающих на отсутствие разницы в долях серопозитивных к *VZV* среди лиц разного пола [16].

Изучение иммуноструктуры по возрастным группам, показавшее, что в возрастной группе до 29 лет включительно доля серопозитивных к *VZV* достоверно ниже, чем среди медицинского персонала 30 лет и старше ( $87,4 \pm 2,7\%$  против  $94,5 \pm 0,6\%$ ), подтвердило опубликованные ранее данные популяционных серологических исследований об увеличении с возрастом доли серопозитивных к *VZV* лиц [16, 20]. Сопоставимые результаты также были получены в 2014 г. при изучении иммуноструктуры населения Москвы к *VZV*: среди взрослых детородного возраста в возрасте 20–29 лет удельный вес серопозитивных лиц составил  $88,2 \pm 5,5\%$  [21].

Полученные данные объективно свидетельствуют о наличии более высокой вероятности заболевания ВО молодых сотрудников стационаров по сравнению с медицинскими работниками из более старших возрастных групп. Однако учитывая возрастную структуру кадрового состава стационара, в которой удельный вес работников в возрасте 30 лет и старше составил более 87% (табл. 1), число лиц без определяемых антител к *VZV* среди группы зрелого возраста составило в абсолютном выражении значительную величину: 74 из 98 всех выявленных неиммунных сотрудников. Поэтому при проведении противоэпидемических мероприятий в случае заноса возбудителя ВО в стационар из групп риска развития заболевания нельзя исключить медицинских работников более старших возрастных групп.

Работа в МО неинфекционного профиля сама по себе является фактором повышенного риска контакта с больным инаппарантной, или стёртой, формой *VZV*-инфекции. Однако в ходе проведённого исследования показано, что большой стаж работы в МО не является однозначным свидетельством наличия постинфекционного иммунитета к ВО, поскольку среди сотрудников со стажем работы более 20 лет были выявлены лица без антител к возбудителю ВО.

При изучении иммуноструктуры медицинских работников разных отделений многопрофильного стационара установлен примерно одинаковый уровень иммунной прослойки к *VZV*. Вместе с тем известно, что вероятность заноса *VZV* выше в тех отделениях многопрофильного стационара, куда госпитализируют больных с клиническими проявлениями, характерными для ОЛ. Наиболее частыми осложнениями ОЛ, требующими госпитализации пациентов, являются постгерпетическая невралгия, бактериальные инфекции, поражение глаз, неврологические осложнения и генерализация инфекции. При этом среди пожилых лиц с ОЛ частота госпитализаций ежегодно увеличивается [20]. Таким образом, риски заражения *VZV* выше в отделениях, где высока доля пожилых пациентов (терапевтические и неврологические), а также в отделениях и стационарах с длительным пребыванием ослабленных пациентов (психиатрические, фтизиатрические отделения).

Особую эпидемиологическую настороженность должно вызывать наличие неиммунных сотрудников в акушерско-гинекологическом отделении (12 человек; 6,5%), где риски возникновения вспышек ВО сопряжены с риском заражения беременных женщин и новорождённых.

В исследовании, проведённом в Польше, которое включало анкетирование и серологическое обследование на IgG к *VZV* 524 врачей, акушеров и медицинских сестёр родильных, неонатальных и педиатрических отделений, выявлено 14,7% потенциально серонегативных медицинских работников, что вдвое выше, чем в нашем исследовании [22]. Мы предполагаем, что это связано с различными методиками оценки состояния гуморального иммунитета: в нашем исследовании проводилась только качественная оценка (IgG к *VZV*+ / IgG к *VZV*-) и не учитывалась напряжённость иммунитета, тогда как в вышеописанном исследовании проводилась количественная оценка и к серопозитивными лицам были отнесены сотрудники с уровнем специфических антител IgG  $\geq 5$  МЕ/мл [22]. Таким образом, следует принимать во внимание влияние на результаты серологического скрининга выбранной методики определения антител и чувствительности используемых тест-систем ИФА.

Сопоставление данных анкетирования медицинского персонала, проведённого в рамках настоящего исследования, с результатами серологического скрининга свидетельствует о недостоверности документально не подтверждённых анамнестических данных. Это демонстрирует как практически одинаковый процент серонегативных лиц среди якобы вакцинированных и лиц с неизвестным анамнезом, так и выявление серонегативных лиц в группе переболевших.

Полагаем, что сведения относительно предшествующей вакцинации против ВО, полученные при

анкетировании сотрудников, не отображают реальной картины, т.к. Национальный календарь профилактических прививок России не предусматривает плановую вакцинацию против ВО, а прививки против этой инфекции осуществляются с 2013 г. крайне ограниченному контингенту из групп риска, не включающих медицинских работников. Вероятно, некоторые сотрудники, не имея документального подтверждения своих профилактических прививок, могут ошибочно полагать, что привиты против ВО. Вместе с тем это косвенно может свидетельствовать о недостаточной компетенции специалистов здравоохранения в области иммунопрофилактики инфекционных болезней.

В ранее проведенных исследованиях было показано, что вследствие вероятности инapparантного течения ВО отсутствие заболевания ВО в анамнезе не обязательно ассоциировано с отсутствием IgG к *VZV* [21], а наличие этой инфекции в анамнезе не гарантирует наличие антител из-за возможных ошибок клинической диагностики в отсутствие лабораторного подтверждения диагноза [21, 22].

Таким образом, в ходе анкетирования продемонстрировано, что медицинские работники не всегда могут представить свой достоверный инфекционный и прививочный анамнез, а его объективное подтверждение позволяет получить только тестирование на антитела к *VZV*.

В отсутствие плановой вакцинопрофилактики ВО для предотвращения внутрибольничного распространения инфекции представляется целесообразной организация серологического мониторинга иммунитета к *VZV* путём однократного тестирования (скрининга) всех сотрудников, а в дальнейшем на регулярной основе проведение серологического обследования только лиц, вновь принимаемых на работу в МО. Выявленных серонегативных лиц следует вакцинировать против ВО независимо от возраста. Подобный подход позволит существенно снизить затраты при проведении противоэпидемических мероприятий при заносе *VZV* в МО, а также снизить риск заноса возбудителя инфекции вследствие заболевания сотрудников.

Иммунизация против ВО, рекомендованная ВОЗ с 1990-х гг., является «золотым стандартом» профилактики ВО. В настоящее время ВОЗ рекомендует иммунизацию против ВО всех медицинских работников, неиммунных к *VZV*, но при отсутствии экономической возможности допускается вакцинация только сотрудников отделений акушерства и гинекологии, т.к. ВО представляет серьёзную угрозу здоровью матери, плода и новорождённого, а также из-за невозможности постконтактной иммунизации беременных женщин [15].

В европейском регионе 13 стран рекомендуют иммунизацию против ВО медицинских работников,

у которых при серологическом обследовании не обнаружены антитела к *VZV*<sup>1</sup>.

В США весь медицинский персонал должен иметь документально подтверждённый иммунитет к *VZV*, о котором свидетельствует либо двукратная вакцинация против ВО, либо наличие антител к *VZV*, либо подтверждённый врачом случай заболевания ВО или ОЛ в анамнезе [14].

Отечественные авторы также указывали на целесообразность проведения вакцинации против ВО медицинских работников, ранее не болевших ВО [10]. Однако вопросы лабораторного подтверждения наличия иммунитета к *VZV* в практике здравоохранения России по-прежнему не решены.

В условиях трудностей с закупками зарубежных вакцин для профилактики ВО и тест-систем для определения уровня иммунитета к *VZV* для реализации подобной инициативы крайне важны разработка и внедрение в практику здравоохранения отечественных тест-систем и отечественных вакцин против ВО.

## Выводы

1. Серологический скрининг на антитела к *VZV* показал как высокий уровень коллективного иммунитета (93,7%) медицинского персонала одного из многопрофильных стационаров Москвы, так и наличие серонегативных лиц, восприимчивых к ВО, среди сотрудников отделений различного профиля, всех возрастных групп и с разным стажем работы.

2. Среди сотрудников в возрасте до 29 лет включительно выявлено значительно больше серонегативных к *VZV* лиц, чем среди медицинских работников старших возрастных групп и с большим стажем работы.

3. Установлен примерно одинаковый уровень иммунной прослойки к *VZV* среди медицинских работников разных отделений многопрофильного стационара.

4. В ходе анкетирования продемонстрировано, что медицинские работники не могут представить свой достоверный инфекционный и прививочный анамнез в отношении ВО, а его объективное подтверждение позволяет получить только тестирование на антитела к *VZV*.

5. Показаны необходимость внедрения вакцинопрофилактики ВО, в том числе у медицинских работников, а также актуальность создания системы серологического мониторинга иммунитета к *VZV* у сотрудников МО с целью профилактики заноса воз-

<sup>1</sup> European Centre for Disease Prevention and Control, Varicella vaccination in the European Union. Stockholm ECDC. 2015. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/en/publications/Publications/Varicella-Guidance-2015.pdf> (дата обращения: 13.05.2023).

будителя и оптимизации противоэпидемических мероприятий при возникновении очага инфекции.

### Заключение

Результаты серологического скрининга на антитела к *VZV* позволили выявить наличие восприимчивых к инфекции лиц среди сотрудников многопрофильного стационара, что свидетельствует о наличии условий для заноса возбудителя с заболевшими из числа медицинского персонала и формирования эпидемических очагов ВО в МО неинфекционного профиля.

Учитывая полученные результаты, представляются необходимыми разработка и внедрение в практику отечественных вакцин против ВО, а также отечественных тест-систем для серомониторинга *VZV*-инфекции. На начальном этапе внедрения вакцинопрофилактики ВО целесообразно провести серологическое тестирование на анти-*VZV* медицинского персонала с последующей вакцинацией неиммунных лиц.

В условиях планирования включения прививок против ВО в Национальный календарь профилактических прививок России полученные данные представляют интерес относительно применения серологических методов для оценки распространённости *VZV*-инфекции с целью получения данных о группах риска заболевания и совершенствования мер противодействия инфекции.

### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

- Sydnor E., Perl T.M. Healthcare providers as sources of vaccine-preventable diseases. *Vaccine*. 2014;32(38):4814–22. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.03.097>
- Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия в Российской Федерации в 2022 году». М.; 2023.
- Орадовская И.В., Викулов Г.Х., Колобухина Л.В. и др. Герпесвирусные инфекции у взрослых жителей г. Москвы: заболеваемость, распространенность, нозологические формы и алгоритм ведения. *Инфекционные болезни*. 2022;20(4):125–42. Oradovskaya I.V., Vikulov G.Kh., Kolobukhina L.V., et al. Herpesvirus infections in adult residents of Moscow: incidence, prevalence, nosological forms and algorithm of management. *Infectious Diseases*. 2022;20(4):125–42. DOI: <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2022-4-125-142>
- Викулов Г.Х., Орадовская И.В., Колобухина Л.В. Герпесвирусные инфекции у детей: распространенность, заболеваемость, клинические формы и алгоритмы ведения. *Вопросы практической педиатрии*. 2022;17(6):125–142. Vikulov G.Kh., Oradovskaya I.V., Kolobukhina L.V. Herpesvirus infections in children: prevalence, incidence, clinical forms, and management algorithm. *Clinical Practice in Pediatrics*. 2022;17(6):125–142. DOI: <https://doi.org/10.20953/1817-7646-2022-6-126-140>
- Helmuth I.G., Poulsen A., Suppli C.H., Mølbak K. Affiliations expand Varicella in Europe—A review of the epidemiology and experience with vaccination. *Vaccine*. 2015;33(21):2406–13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.03.055>
- Breuer J. Herpes zoster: new insights provide an important wake-up call for management of nosocomial transmission. *J. Infect. Dis.* 2008;197(5):635–7. DOI: <https://doi.org/10.1086/527421>
- Johnson J.A., Bloch K.C., Dang B.N. Varicella reinfection in a seropositive physician following occupational exposure to localized zoster. *Clin. Infect. Dis.* 2011;52(7):907–9. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/cir033>
- Lopez A.S., Burnett-Hartman A., Nambiar R. Transmission of a newly characterized strain of varicella-zoster virus from a patient with herpes zoster in a long-term-care facility, West Virginia, 2004. *J. Infect. Dis.* 2008;197(5):646–53. DOI: <https://doi.org/10.1086/527419>
- Saidel-Odes L., Borer A., Reisenberg K., et al. An outbreak of varicella in staff nurses exposed to a patient with localized herpes zoster. *Scand. J. Infect. Dis.* 2010;42(8):620–2. DOI: <https://doi.org/10.3109/00365541003754436>
- Литяева Л.А., Тен М.Б., Ковалева О.В., Закопаева Е.С. Особенности течения ветряной оспы у детей с иммунодефицитными состояниями. *Детские инфекции*. 2015;14(4):50–2. Lityaeva L.A., Ten M.B., Kovaleva O.V., Zakopaeva E.S. Peculiarities of varicella in children with immunodeficiency. *Children Infections*. 2015;14(4):50–2. DOI: <https://doi.org/10.22627/2072-8107-2015-14-4-50-52> EDN: <https://elibrary.ru/uxqebp>
- Daley A.J., Thorpe S., Garland S.M. Varicella and the pregnant woman: prevention and management. *Aust. N.Z. J. Obstet. Gynaecol.* 2008;48(1):26–33. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1479-828X.2007.00797.x>
- Sarit S., Shrutti S., Deepinder C., Chhina R.S. Chicken pox outbreak in the Intensive Care Unit of a tertiary care hospital: lessons learnt the hard way. *Indian J. Crit. Care Med.* 2015;19(12):723–5. DOI: <https://doi.org/10.4103/0972-5229.171397>
- Talebi-Taher M., Noori M., Shamshiri A.R., Barati M. Varicella Zoster antibodies among health care workers in a university hospital, Teheran, Iran. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health*. 2010;23(1):27–32. DOI: <https://doi.org/10.2478/v10001-010-0011-x>
- Centers for Disease Control and Prevention. Immunization of health care personnel: recommendation of the Advisory Committee on Immunization Practices (AICP). *MMWR Recomm. Rep.* 2011;60(RR-7):1–45.
- WHO. Varicella and herpes zoster vaccines: WHO position paper; 2014. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/who-wer-8925-265-288>
- Amjadi O., Rafiei A., Haghshenas M., et al. A systematic review and meta-analysis of seroprevalence of varicella zoster virus: A nationwide population-based study. *J. Clin. Virol.* 2017;87:49–59. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.12.001>
- Афонина Н.М. Эпидемиологическая характеристика и меры профилактики инфекции, вызванной вирусом *Varicella zoster*: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.; 2019. Afonina N.M. *Epidemiological characteristics and measures of prevention of infection caused by the Varicella zoster virus*: Diss. Moscow; 2019.
- Афонина Н.М., Михеева И.В., Михеева М.А. Ветряная оспа в медицинских организациях Москвы. В кн.: *Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы: сборник трудов XV Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского*. М.; 2023. Afonina N.M., Mikheeva I.V., Mikheeva M.A. Chicken pox in medical organizations in Moscow. In: *Infectious Diseases in the Modern World: Evolution, Current and Future Threats: Proceedings of the XV Annual All-Russian Congress on Infectious Diseases named after Academician V.I. Pokrovsky*. Moscow; 2023. EDN: <https://elibrary.ru/ovafvr>
- Национальное научное общество инфекционистов. Клинические рекомендации «Ветряная оспа у взрослых»; 2014.
- Koshy E., Mengting L., Kumar H., Jianbo W. Epidemiology, treatment and prevention of herpes zoster: A comprehensive review. *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.* 2018;84(3):251–62. DOI: [https://doi.org/10.4103/ijdv.IJDVL\\_1021\\_16](https://doi.org/10.4103/ijdv.IJDVL_1021_16)

21. Ермоленко М.В. *Серологический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за ветряной оспой*: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.; 2014. Ermolenko M.V. *Serological monitoring in the system of epidemiological surveillance of chickenpox*: Diss. Moscow; 2014.

#### Информация об авторах

*Афонина Наталья Михайловна* — к.м.н., н.с. лаб. иммунопрофилактики ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3205-4025>

*Михеева Ирина Викторовна* — д.м.н., профессор, зав. лаб. иммунопрофилактики ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, [irina\\_mikheeva@mail.ru](mailto:irina_mikheeva@mail.ru); <https://orcid.org/0000-0001-8736-4007>

*Корабельникова Марина Игоревна* — н.с. лаб. вирусных гепатитов ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2575-8569>

*Родионова Зинаида Сергеевна* — н.с. лаб. вирусных гепатитов ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0401-279X>

*Сницарь Артем Владимирович* — зам. главного врача по медицинской части ГКБ им. В.П. Демикова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6053-4651>

*Переходов Сергей Николаевич* — д.м.н., профессор, зав. каф. госпитальной хирургии МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6192-2581>

*Сметанина Светлана Васильевна* — к.м.н., главный врач ГКБ им. В.П. Демикова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3763-697X>

*Тутельян Алексей Викторович* — д.м.н., член-корреспондент РАН, рук. лаб. инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2706-6689>

*Кузин Станислав Николаевич* — д.м.н., профессор, зав. лаб. вирусных гепатитов ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0616-9777>

*Акимкин Василий Геннадьевич* — д.м.н., профессор, академик РАН, директор ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8139-0247>

**Вклад авторов:** *Афонина Н.М.* — сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста; *Корабельникова М.И., Родионова З.С., Сницарь А.В., Переходов С.Н., Сметанина С.В.* — организация сбора и обработки клинического материала; *Михеева И.В., Акимкин В.Г.* — концепция и дизайн исследования, редактирование; *Кузин С.Н., Тутельян А.В.* — обработка материала, статистическая обработка. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 17.08.2023;  
принята к публикации 10.10.2023;  
опубликована 28.12.2023

22. Biskupska M., Malecka I., Stryczyńska-Kazubska J., Wysoki J. Varicella — a potential threat to maternal and fetal health. *Ginekol. Pol.* 2017;88(1):13–9.

DOI: <https://doi.org/10.5603/gp.a2017.0003>

#### Information about the authors

*Nataliya M. Afonina* — Cand. Sci. (Med.), researcher, Laboratory of immunization, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3205-4025>

*Irina V. Mikheeva* — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Laboratory of immunoprophylaxis, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, [irina\\_mikheeva@mail.ru](mailto:irina_mikheeva@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-8736-4007>

*Marina I. Korabelnikova* — researcher, Laboratory of viral hepatitis, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2575-8569>

*Zinaida S. Rodionova* — researcher, Laboratory of viral hepatitis, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0401-279X>

*Artem V. Snitsar* — deputy chief physician, City Clinical Hospital named after V.P. Demikhov, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6053-4651>

*Sergey N. Perekhodov* — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of hospital surgery, A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6192-2581>

*Svetlana V. Smetanina* — Cand. Sci. (Med.), Chief doctor, City Clinical Hospital named after V.P. Demikhov, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3763-697X>

*Alexey V. Tutelyan* — D. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory for healthcare-related infections, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2706-6689>

*Stanislav N. Kuzin* — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Viral hepatitis laboratory, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0616-9777>

*Vasily G. Akimkin* — D. Sci. (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8139-0247>

**Author contribution:** *Afonina N.M.* — collection and processing of material, statistical processing, writing the text; *Korabelnikova M.I., Rodionova Z.S., Snitsar A.V., Perekhodov S.N., Smetanina S.V.* — organization of the collection and processing of clinical material; *Mikheeva I.V., Akimkin V.G.* — concept and design of the study, editing; *Kuzin S.N., Tutelyan A.V.* — material processing, statistical processing. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 17.08.2023;  
accepted for publication 10.10.2023;  
published 28.12.2023

Оригинальное исследование  
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-437>



## Генетические маркеры возбудителей острых кишечных инфекций у ВИЧ-инфицированных пациентов в Чеченской Республике

Муртазалиев Х.Х.<sup>1</sup>, Макарова М.А.<sup>2,3✉</sup>, Кафтырева Л.А.<sup>2,3</sup>, Алиева Е.В.<sup>4</sup>,  
Ошаева А.В.<sup>1</sup>, Жамборова М.Х.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Республиканский клинический центр инфекционных болезней, Грозный, Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup>Северо-Западная медицинская академия имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>4</sup>Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия

### Аннотация

**Актуальность.** Диарейный синдром — наиболее характерное проявление ВИЧ-инфекции, который наблюдается у 70% больных и часто становится причиной летального исхода. Степень выраженности диарейного синдрома, независимо от иммунного статуса, как правило, обусловлена конкретными микроорганизмами, колонизирующими желудочно-кишечный тракт.

**Цель** — изучить распространённость классических возбудителей острых кишечных инфекций (ОКИ) при диарейном синдроме у ВИЧ-инфицированных жителей Чеченской Республики (г. Грозный).

**Материалы и методы.** Пробы испражнений ( $n = 191$ ) ВИЧ-инфицированных пациентов с диарейным синдромом в анамнезе изучали методом ПЦР в реальном времени с двумя наборами реагентов: «АмплиСенс ОКИ скрин-FL» для выявления ДНК/РНК микроорганизмов *Shigella* spp./EIEC, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Adenovirus*, *Rotavirus*, *Norovirus* и *Astrovirus*; «АмплиСенс Эшерихиозы-FL» для выявления ДНК диареегенных *Escherichia coli* (DEC) патогрупп EPEC, EHEC, ETEC, EIEC и EAgEC.

**Результаты.** Генетические маркеры возбудителей ОКИ были выявлены у 21,9% обследованных лиц. У пациентов возрастных групп 0–7 и 18–24 лет ДНК/РНК искомым возбудителей не были обнаружены. На долю ДНК бактериальных патогенов приходилось 93,9%, РНК вирусных патогенов — 6,1%. Этиологическая структура бактериальных ОКИ была представлена значимым преобладанием DEC (84,8%) по сравнению с 10,9% *Campylobacter* spp. и 4,4% *Salmonella* spp. Структура вирусных ОКИ включала 66,7% *Rotavirus* и 33,3% *Norovirus*. Генетические маркеры *Adenovirus* и *Astrovirus* не выявлены. У 77,5% ВИЧ-инфицированных диарейный синдром был обусловлен одним возбудителем ОКИ (моноинфекция) у 9 (22,5%) обследованных — сочетанной этиологией.

**Заключение.** Этиология ОКИ у ВИЧ-инфицированных пациентов Чеченской Республики включает бактериальные и вирусные возбудители, у каждого пятого причиной диарейного заболевания являлись DEC. Учитывая тот факт, что диарея ВИЧ-инфицированных — это полиэтиологичное заболевание, необходимо внедрять комплексный, быстрый, надёжный и доступный метод идентификации широкого спектра возбудителей, вызывающих вторичные инфекции.

**Ключевые слова:** ВИЧ, ВИЧ-инфекция, диарея, острые кишечные инфекции, генетические маркеры (детерминанты)

**Этическое утверждение.** Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (протокол № 81 от 22.11.2022).

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Для цитирования:** Муртазалиев Х.Х., Макарова М.А., Кафтырева Л.А., Алиева Е.В., Ошаева А.В., Жамборова М.Х. Генетические маркеры возбудителей острых кишечных инфекций у ВИЧ-инфицированных пациентов в Чеченской Республике. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(6):420–427.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-437>

EDN: <https://www.elibrary.ru/uwnpgo>

# Molecular markers of acute intestinal infections in HIV-infected patients in the Chechen Republic

Khamzat Kh. Murtazaliev<sup>1</sup>, Maria A. Makarova<sup>2,3</sup>, Lidiya A. Kaftyreva<sup>2,3</sup>,  
Elena V. Alieva<sup>4</sup>, Aza V. Oshaeva<sup>1</sup>, Marina Kh. Zhamborova<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Republican Clinical Center for Infectious Diseases, Grozny, Russia;

<sup>2</sup>Saint-Peterburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia;

<sup>3</sup>North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia;

<sup>4</sup>Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

## Abstract

**Introduction.** Diarrheal syndrome is the most characteristic symptom of HIV infection, which occurs in 70% of patients and is often fatal. The severity of diarrheal syndrome, irrespective of immune status, is usually determined by specific microorganisms colonising the gastrointestinal tract.

**The objective** of this study is to assess the prevalence of classical pathogens of acute intestinal infections in diarrheal syndrome in HIV-infected residents of the Chechen Republic (Grozny).

**Materials and methods.** Stool samples ( $n = 191$ ) of HIV-infected patients with a history of diarrheal syndrome were studied by real-time PCR with two kits of reagents: "AmpliSens OKI screen-FL" for the detection of DNA/RNA of *Shigella* spp./EIEC, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Adenovirus*, *Rotavirus*, *Norovirus* and *Astrovirus*; "AmpliSens Escherichiosis-FL" for the detection of diarrheagenic *E. coli* (DEC) DNA of five pathogroups: EPEC, EHEC, ETEC, EIEC, EAgEC.

**Results.** Genetic markers of the acute intestinal infection pathogens were detected in 20.9% of the examined individuals. In patients aged 0–7 years and 18–24 years, DNA/RNA of the tested pathogens were not detected. DNA of bacterial pathogens accounted for 93.9%, RNA of viral pathogens — 6.1%. The etiological structure of bacterial infections was represented by a significant predominance of DEC (84.8%) compared to 10.9% of *Campylobacter* spp. and 4.4% of *Salmonella* spp. The structure of viral infections included 66.7% *Rotavirus* and 33.3% *Norovirus*. Genetic markers of *Adenovirus* and *Astrovirus* have not been identified. In 77.5% of HIV-infected patients, diarrheal syndrome was caused by one pathogen (mono-infection), but in nine examined patients (22.5%) it had a combined etiology.

**Conclusion.** The etiology of acute intestinal infections in HIV-infected patients of the Chechen Republic includes bacterial and viral pathogens, in every fifth the cause of diarrheal disease was DEC. Due to diarrhea in HIV-infected people being a polyetiological disease, it is necessary to introduce a comprehensive, fast, reliable, and affordable method for identifying a wide range of pathogens that cause secondary infections.

**Keywords:** HIV, HIV-infection, diarrhea, acute intestinal infections, genetic markers (determinants)

**Ethics approval.** The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Saint-Peterburg Pasteur Institute (protocol No.81, November 22, 2022).

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**For citation:** Murtazaliev Kh.Kh., Makarova M.A., Kaftyreva L.A., Alieva E.V., Oshaeva A.V., Zhamborova M.Kh. Molecular markers of acute intestinal infections in HIV-infected patients in the Chechen Republic. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2023;100(6):420–427.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-437>

EDN: <https://www.elibrary.ru/uwnpgo>

## Введение

Проблеме ВИЧ-инфекции в мире и в России уделяется первостепенное значение ввиду её пандемической распространённости и темпов прироста первичной заболеваемости [1, 2]. Эта нозология является одной из причин смерти пациентов молодого возраста, в связи с чем рассматривается как глобальная угроза демографии и социально-экономическо-

му прогрессу человечества [3]. В России вследствие увеличения числа ВИЧ-инфицированных возрастает число регистрации оппортунистических заболеваний и, как следствие, летальных случаев по причине вторичных инфекций [4].

Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) является одним из органов-мишеней при ВИЧ-инфекции и вовлекается в патологический процесс в разные

сроки заболевания [5]. ВИЧ вызывает лейкоцитарную инфильтрацию слизистой оболочки, дегенеративные изменения кишечных крипт и атрофию микроворсинок, что приводит к нарушению пристеночного пищеварения и всасывания, снижению колонизационной резистентности кишечника, развитию дисбиоза и инфекционного процесса, склонного к упорному течению и рецидивированию. По мере прогрессирования симптомов заболевания и проявлений морфофункциональных изменений в слизистой кишечника у ВИЧ-инфицированных часто возникают диарея и кишечные инфекции, которые являются ключевой причиной заболеваемости и смертности на более поздних стадиях, независимо от проводимой антиретровирусной терапии [6]. Диарейный синдром (ДС) — наиболее характерное проявление ВИЧ-инфекции, которое наблюдается у 70% больных и часто становится причиной летального исхода. В развивающихся странах ДС встречается у более 90% ВИЧ-инфицированных, в экономически развитых странах — у 50–60%. Базовый сценарий Всемирной организации здравоохранения на 2030 г. предусматривает, что смертность от ВИЧ/СПИДа и диарейных заболеваний в развивающихся странах останется на уровне около 1,7/1,5 млн. Существует множество причин ДС ВИЧ-инфицированных, наиболее распространённые связаны с прямым воздействием вируса, возбудителями оппортунистических инфекций, длительным приёмом лекарственных препаратов и/или опухолями ЖКТ [7].

Любой возбудитель, поражающий иммунокомпетентных людей, может вызвать заболевание и у ВИЧ-инфицированных. Степень выраженности ДС, независимо от иммунного статуса, как правило, зависит от конкретных микроорганизмов, колонизирующих ЖКТ. В то же время *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp. и *Rotavirus* могут вызвать особенно тяжёлые или длительные заболевания при ВИЧ-инфекции. По данным ряда исследователей, у ВИЧ-инфицированного взрослого населения показатели заболеваемости бактериальными кишечными инфекциями в 10 раз выше, чем среди населения в целом. ВИЧ-инфицированные подвергаются 20–100-кратному повышенному риску сальмонеллёза, связанной с ним бактериемии в более чем 40% случаев и смертности в 7 раз. Средняя заболеваемость кампилобактериозом среди больных СПИДом в 40 раз выше, чем у не ВИЧ-инфицированных лиц [8–10].

Существующие данные, касающиеся заболеваемости острыми кишечными инфекциями (ОКИ) среди иммунокомпрометированных пациентов, скудны, в результате отсутствуют чёткие и определённые знания об этиологии ДС ВИЧ-инфицированных.

**Целью** настоящего исследования было изучение распространённости классических возбудите-

лей ОКИ при ДС у ВИЧ-инфицированных жителей Чеченской Республики (г. Грозный).

## Материалы и методы

Пробы испражнений 191 пациента (124 женщин и 67 мужчин), состоящего на диспансерном учёте в ГБУ «Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИД», с ДС в анамнезе, исследовали на базе ГБУ «Республиканский клинический центр инфекционных болезней» Министерства здравоохранения Чеченской Республики. Состав возрастных групп пациентов: 0–17 лет — 1 (0,5%) пациент, 18–24 года — 4 (2,1%), 25–34 года — 10 (5,2%), 35–44 года — 58 (30,4%), 45–54 года — 68 (35,6%), старше 55 лет — 50 (26,2%) Когортную группу формировали методом случайной выборки. Все пациенты были проинформированы об участии в исследовании и дали свое добровольное согласие. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Этическим комитетом Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (протокол № 81 от 22.11.2022).

Использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией с применением амплификатора детектирующего «ДТ ПРАЙМ 5» («ДНК-технология») и двумя наборами реагентов: «АмплиСенс ОКИ скрин-FL» (Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора) для выявления и дифференциации ДНК/РНК микроорганизмов рода *Shigella* spp./EIEC, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. (термофильных), *Adenovirus* (группы F/grF), *Rotavirus* (группы A/grA), *Norovirus* (2-го генотипа/G II) и *Astrovirus*; «АмплиСенс Эшерихиозы-FL» (Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора) для выявления диареогенных *E. coli* (DEC) патогрупп EPEC, EHEC, ETEC, EIEC и EAgrEC. Результаты интерпретировали на основании уровня флуоресцентных сигналов соответствующих каналов HEX, FAM или ROX. Принадлежность штаммов к патогруппам EPEC, ETEC, EIEC, EAgrEC устанавливали согласно инструкциям и методическим рекомендациям производителя. Штаммы, у которых были выявлены уровни флуоресценции выше порогового значения по каналу HEX в ПЦР-смеси-1, расценивали как шигатоксин-продуцирующие (STEC); штаммы, у которых были выявлены уровни флуоресценции выше порогового значения по каналу HEX в ПЦР-смеси-1 и ПЦР-смеси-2, расценивали как энтерогеморрагические (EHEC).

Полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы «Microsoft Office Excel». Для оценки статистической значимости различий средних величин применяли точный критерий Фишера. Статистически значимыми считали различия при доверительном интервале 95% ( $p < 0,05$ ).

## Результаты

Генетические маркеры исследуемых возбудителей ОКИ выявлены в пробах фекалий 40 (20,9%) обследованных, из них без значимых статистических различий ( $p > 0,05$ ) у 26 (21,0%) женщин и 14 (21,0%) мужчин (табл. 1). У пациентов в возрасте 0–17 лет и 18–24 года ДНК/РНК искомым возбудителей не были обнаружены. Достоверных различий в частоте детекции генетических маркеров возбудителей ОКИ в пробах испражнений пациентов других возрастных групп не установлено ( $p > 0,05$ ).

Результаты молекулярного исследования представлены в табл. 2. В 40 положительных пробах были выявлены 49 генетических маркеров возбудителей ОКИ, из них на долю ДНК бактериальных патогенов приходилось 93,9% ( $n = 46$ ), РНК вирусных патогенов — 6,1% ( $n = 3$ ). Различия статистически значимы,  $p < 0,05$ . Этиологическая структура бактериальных ОКИ была представлена значимым преобладанием DEC 84,8% ( $n = 39$ ) из них: EPEC — 48,7% ( $n = 19$ ), STEC — 20,5% ( $n = 8$ ), EIEC — 17,9% ( $n = 7$ ), EAgEC — 7,7%

**Таблица 1.** Частота выявления генетических детерминант ОКИ у ВИЧ-инфицированных с ДС разных возрастов в Чеченской Республике

**Table 1.** Detection rates of molecular markers of acute intestinal infections in HIV-infected patients with diarrheal syndrome of different age in the Chechen Republic

Характеристика обследованных лиц Characteristic of examined persons	Число проб Number of samples	Генетические детерминанты ОКИ Positive for molecular markers		95% ДИ   CI
		<i>n</i>	%	
0–17 лет   years old	1	0	0	0–0,8
18–24 года   years old	4	0	0	0–0,5
25–34 года   years old	10	2	20,0	5,7–51,0
35–44 года   years old	58	12	20,7	12,3–32,8
45–54 года   years old	68	18	26,5	17,5–38,0
55 лет и старше   55 years and older	50	8	16,0	8,3–28,5
Женщины   Women	124	26	21,0	14,73–28,95
Мужчины   Men	67	14	21,0	12,9–32,1
Всего   Total	191	40	20,9	15,8–27,3

**Таблица 2.** Частота выделения ДНК/РНК возбудителей ОКИ у ВИЧ-инфицированных жителей Чеченской Республики

**Table 2.** Detection rates of DNA/RNA of causative agents of acute intestinal infections in HIV-infected residents of the Chechen Republic

Возбудитель   Pathogen	Всего   Total		Моноинфекция Monoinfection		Сочетанные инфекции Combined infections	
	<i>n</i> (%)	95% ДИ   CI	<i>n</i> (%)	95% ДИ   CI	<i>n</i> (%)	95% ДИ   CI
<b>Бактериальные   Bacterial</b>						
<i>Campylobacter</i> spp.	5 (10,9)	4,7–23,0	2 (6,5)	1,8–20,7	3 (20,0)	7,1–45,2
<i>Salmonella</i> spp.	2 (4,4)	1,2–14,5	2 (6,5)	1,8–20,8	0 (0)	0–20,4
Диареегенные <i>E. coli</i> , в том числе: Diarrheagenic <i>E. coli</i> , including:	39 (84,8)	71,8–92,4	27 (87,1)	71,2–94,9	12 (80,0)	54,8–92,9
EAgEC	3 (7,7)	2,6–20,3	2 (7,4)	2,1–23,4	1 (8,3)	1,5–35,4
EIEC	7 (17,9)	9,0–32,7	4 (14,8)	5,9–32,5	3 (25,0)	8,9–53,2
ETEC	2 (5,1)	1,4–16,9	1 (3,7)	0,7–18,3	1 (8,3)	1,5–35,4
EPEC	19 (48,7)	33,9–63,8	14 (51,8)	33,9–69,3	5 (41,7)	19,3–68,1
STEC	8 (20,5)	10,8–35,3	6 (22,2)	10,6–40,7	2 (16,7)	4,7–44,8
Всего бактериальных   Total bacterial	46 (93,9)	83,5–97,9	31 (67,4)	52,9–79,1	15 (32,6)	20,9–47,0
<b>Вирусные   Viral</b>						
<i>Norovirus</i> GII	1 (33,3)	6,2–79,2	0 (0)	0–65,8	1 (100)	20,7–100
<i>Rotavirus</i> grA	2 (66,6)	20,8–93,9	1 (50,0)	9,5–90,6	1 (50,0)	9,5–90,6
Всего вирусных   Total viral	3 (6,1)	2,1–16,5	1 (2,0)	0,4–12,2	2 (4,1)	1,1–13,7
Всего   Total	49 (100)	92,7–100	32 (65,30)	51,3–77,1	17 (34,7)	22,9–49,7



( $n = 3$ ), ETEC — 5,1% ( $n = 2$ ) по сравнению с 10,9% ( $n = 5$ ) термофильных *Campylobacter* spp. и 4,4% ( $n = 2$ ) *Salmonella* spp. ( $p < 0,05$ ). Структура вирусных ОКИ включала 66,7% ( $n = 2$ ) *Rotavirus* (группы А) и 33,3% ( $n = 1$ ) *Norovirus* 2-го генотипа. Генетические маркеры *Adenovirus* grF и *Astrovirus* не выявлены.

У 31 (77,5%) ВИЧ-инфицированных ДС был обусловлен одним возбудителем ОКИ (моноинфекция), у 9 (22,5%) — несколькими. Значимо чаще причиной моноинфекции были возбудители бактериальной природы: 67,4% по сравнению с вирусной — 2,0 ( $p < 0,05$ ). Анализ сочетанных инфекций

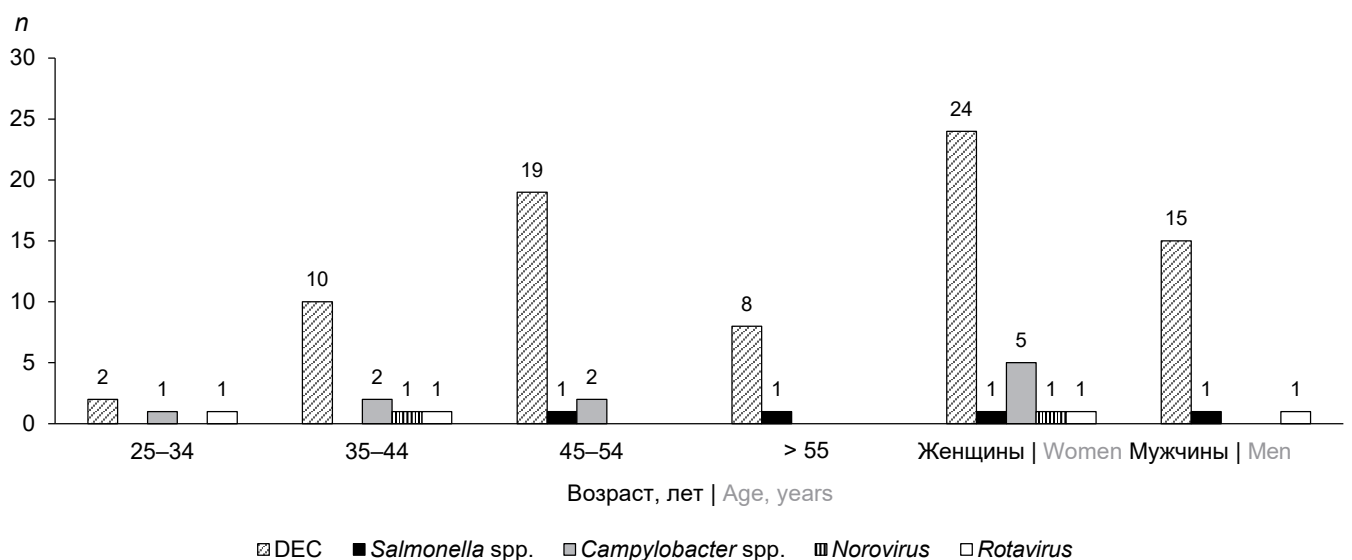
показал превалирование бактериально-бактериальных (77,8%) по сравнению с вирусно-бактериальными (22,2%; табл. 3). Во всех случаях сочетанных ОКИ присутствовали генетические детерминанты DEC.

При анализе половозрастного распределения обследованных лиц выявлены значимые отличия (рисунок). Основными возбудителями ОКИ у ВИЧ-инфицированных мужчин и женщин были DEC. Термофильные *Campylobacter* spp. были идентифицированы только у женщин, в отношении других изученных возбудителей ОКИ бактериальной и вирусной природы значимых различий не вы-

**Таблица 3.** Характеристика ОКИ сочетанной этиологии ВИЧ-инфицированных в Чеченской Республике

**Table 3.** Characteristics of acute intestinal infections of combined etiology in HIV-infected patients in the Chechen Republic

Этиологический агент   Etiological agent	Количество случаев   Number of cases			
	<i>n</i>	%	95% ДИ   CI	<i>p</i>
<b>Бактериальные   Bacterial</b>				
<i>Campylobacter</i> spp. + EPEC	1	11,1	2,0–43,5	> 0,05
<i>Campylobacter</i> spp. + STEC	1	11,1	2,0–43,5	> 0,05
EPEC + EIEC	1	11,1	2,0–43,5	> 0,05
EPEC + EAgEC	1	11,1	2,0–43,5	> 0,05
EPEC + ETEC	1	11,1	2,0–43,5	> 0,05
STEC + EIEC	1	11,1	1,99–43,5	> 0,05
Всего бактериально-бактериальных   Total bacterial-bacterial	7	77,8	45,3–93,7	< 0,05
<b>Вирусно-бактериальные   Viral-bacterial</b>				
<i>Rotavirus</i> grA + EIEC	1	11,1	2,0–43,5	> 0,05
<i>Norovirus</i> GII + <i>Campylobacter</i> spp. + EPEC	1	11,1	2,0–43,5	> 0,05
Всего вирусно-бактериальных   Total viral-bacterial	2	22,2	6,3–41,7	> 0,05
Всего комбинированных инфекций   Total combined infections	9	100,0	70,1–100	



Половозрастная структура ВИЧ-инфицированных пациентов с ДС в Чеченской Республике.  
Distribution by sex and age of HIV-infected patients with diarrheal syndrome in the Chechen Republic.

явлено. Возбудители бактериальных инфекций были установлены во всех возрастных группах, вирусных — только в группах обследованных в возрасте 25–34 и 35–44 лет. В возрастной категории 25–34 года ДС был обусловлен бактериальной и вирусной этиологией без доминирования конкретного возбудителя. В категории 35–44, 45–54 года и 55 лет и старше значимо чаще возбудителями ОКИ были DEC ( $p < 0,05$ ), другие бактериальные и вирусные инфекции выявляли без значимых различий ( $p > 0,05$ ).

### Обсуждение

Инфекционные диарейные заболевания являются актуальной проблемой ВИЧ-инфицированных в Чеченской Республике. Общий уровень кишечных инфекций составил 20,94%. Статистических различий по половой принадлежности среди ВИЧ-инфицированного населения Республики не выявлено. У обследованных пациентов в возрасте 0–7 и 18–24 лет было статистически значимо меньше присутствие генетических детерминант классических возбудителей ОКИ, что может быть связано со своевременным назначением и более ответственным приёмом антиретровирусных и профилактических противомикробных препаратов у этих пациентов, что способствует ингибированию потенциальных кишечных патогенов [11, 12].

Основными возбудителями диарейных заболеваний не только в бактериальной, но и в этиологической структуре ОКИ были DEC (84,8%), большая часть которых была представлена возбудителями антропонозных инфекций (74,4%): ЕРЕС (48,7%), ЕІЕС (17,9%) и ЕАгЕС (7,7%). Полученные результаты подтверждают, что DEC являются наиболее распространёнными микроорганизмами, ассоциируемыми с диареей при ВИЧ-инфекции. Наиболее частой патогруппой были ЕРЕС, которые широко распространены при ВИЧ с ДС [13, 14]. Генетические маркеры возбудителей, передающихся, как правило, с пищевыми продуктами: *Salmonella*, *Campylobacter* и STEC, были выявлены в 4,4, 10,9 и 25,5% случаев [15]. Исследования, проведённые в Австрии, Нидерландах и Германии, также показали, что эти бактериальные патогены составляют наименьшее число случаев острого гастроэнтерита у ВИЧ-инфицированных [16].

Rotavirus группы А был выявлен только у 2 взрослых пациентов, хотя, по данным В.П. Бондарева и соавт. [17], этот возбудитель является наиболее частой причиной тяжёлого гастроэнтерита у детей во многих странах, составляя 30–72% госпитализированных пациентов и 4–24% пациентов при остром гастроэнтерите лёгкой степени, не требующем госпитализации. Согласно данным формы 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за 2019–2022 и Государственного доклада «О состоянии санитарно-эпидемиологического

благополучия населения в Российской Федерации в 2022 году», случаи заболеваний ротавирусной инфекцией не были зарегистрированы в Республике Ингушетия и Чеченской Республике. Отсутствие показателей заболеваемости может быть связано с недостаточными объёмами внедрения молекулярно-биологических методов в лабораторную диагностику ОКИ. В то же время в данном исследовании отсутствие *Rotavirus* может быть обусловлено отсутствием в группе обследованных детей раннего и младшего возраста, а также проведением исследований в весенне-летний период. *Adenovirus* и *Astrovirus* в нашем исследовании не были обнаружены, хотя, по данным L. Seid и соавт. [18], они относятся к потенциальным оппортунистическим патогенам.

В 31 (77,5%) пробе испражнений выявлены генетические детерминанты одного возбудителя ОКИ, и по результатам лабораторного исследования ДС был идентифицирован как моноинфекция. У 9 (22,5%) обследованных образцы содержали гены нескольких энтеропатогенов (сочетанная ОКИ): у 8 (20,0%) пациентов были выявлены маркеры 2 возбудителей ОКИ, у 1 (2,5%) — 3. Высокая распространённость сочетанных ОКИ (25–53%) описана среди ВИЧ-инфицированных в развивающихся странах [14, 19]. Во всех сочетанных инфекциях преобладала DEC, что согласуется с данными литературы [20].

В эпоху эффективной антиретровирусной терапии клиническая картина ОКИ у людей, живущих с ВИЧ, может быть не сопоставима с их классическими проявлениями. Использование комплексного мультиплексного формата при лабораторной диагностике ДС ВИЧ-инфицированных является единственным высокочувствительным методом, позволяющими установить этиологию ОКИ не только в остром периоде заболевания, но и при бессимптомном бактерионосительстве. Широкомасштабное исследование, проведённое в Эфиопии с использованием современных методов лабораторной диагностики, показало, что в 56,3% случаях ДС ВИЧ-инфицированных обусловлен возбудителями ОКИ бактериальной, вирусной и/или паразитарной природы и, что немаловажно, позволило выявить сочетанные инфекции в 35% случаев [14, 18, 21].

### Заключение

Этиология возбудителей ОКИ у ВИЧ-инфицированных пациентов Чеченской Республики включает в себя бактериальные и вирусные возбудители. Проведённое исследование показало, что практически у каждого пятого ВИЧ-инфицированного причиной ДС являлись DEC, что подтвердило их актуальность в структуре ОКИ. Лабораторная диагностика этих возбудителей возможна только с ис-

пользованием молекулярно-генетических методов. Для снижения бремени диарейных заболеваний у ВИЧ-инфицированных в Чеченской Республике необходимо проведение целенаправленных эпидемиологических и микробиологических исследований по выявлению ДЭС, изучению контаминации объектов окружающей среды, в том числе воды и пищевых продуктов, определению факторов риска. Учитывая, что ДС ВИЧ-инфицированных — это полиэтиологичное заболевание, необходимо внедрять комплексный, быстрый, надёжный и доступный метод идентификации широкого спектра возбудителей, вызывающих вторичные инфекции.

Важно отметить, что это первое исследование, проведённое в Чеченской Республике, и полученные результаты могут быть использованы при создании протоколов профилактики и лечения ДС у ВИЧ-инфицированных на региональном и республиканском уровнях.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Радзиховская М.В., Москвичева М.Г., Брылина Н.Ю. Глобальные тенденции в развитии распространения ВИЧ-инфекции. *Вестник совета молодых ученых и специалистов Челябинской области*. 2018;2(2):3–12. Radzikhovskaya M.V., Moskvicheva M.G., Brylina N.Y. Global trends in the development of HIV infection. *Bulletin of the Council of Young Scientists and Specialists of the Chelyabinsk Region*. 2018;2(2):3–12. EDN: <https://elibrary.ru/xoxqdb>
2. Афтаева Л.Н., Мельников В.Л., Вотолкина С.В. и др. Особенности ВИЧ-инфекции у взрослых. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020;40(4):86–90. Aftaeva L.N., Mel'nikov V.L., Votolkina S.V., et al. Features of HIV infection in adults. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2020;40(4):86–90. DOI: <https://doi.org/10.15372/SSMJ20200412> EDN: <https://elibrary.ru/cbyvae>
3. Хаирова Я.Р., Скороделова М.И., Никольская М.В. Оппортунистические инфекции при ВИЧ-инфекции. *Вестник Пензенского государственного университета*. 2021;2(2):69–72. Khairova Ya.R., Skorodelova M.I., Nikolskaya M.V. Opportunistic infections in HIV infection. *Vestnik of Penza State University*. 2021;2(2):69–72. EDN: <https://elibrary.ru/dlpqvc>
4. Покровская А.В., Самотолкина Е.А., Матосова С.В. и др. Клинико-лабораторные особенности и прогностические факторы исхода прогрессирующей многоочаговой лейкоэнцефалопатии у ВИЧ-инфицированных пациентов. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2023;15(1):50–9. Pokrovskaya A.V., Samotolkina E.A., Matosova S.V., et al. Clinical and laboratory features and prognostic factors for outcome of progressive multifocal leukoencephalopathy in HIV-infected patients. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2023;15(1):50–9. DOI: <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2023-15-1-50-59> EDN: <https://elibrary.ru/xcrnme>
5. Al Anazi A.R. Gastrointestinal opportunistic infections in human immunodeficiency virus disease. *Saudi J. Gastroenterol*. 2009;15(2):95–9. DOI: <https://doi.org/10.4103/1319-3767.48965>
6. Хасанова Г.М., Урунова Д.М., Ахмеджанова З.И. и др. Поражение желудочно-кишечного тракта при ВИЧ-инфекции. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2019;3(3):24–8. Khasanova G.M., Urunova D.M., Akhmedzhanova Z.I., et al. Defeat of the gastrointestinal tract in HIV infection. *Pacific Medical Journal*. 2019;3(3):24–8. DOI: <https://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2019.3.24-28> EDN: <https://elibrary.ru/agtdtdy>
7. Hall V.P. Common gastrointestinal complications associated with human immunodeficiency virus/AIDS: An overview. *Crit. Care Nurs. Clin. North Am.* 2018;30(1):101–7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cnc.2017.10.009>
8. Тимченко В.Н., Архипова Ю.А. Поражение желудочно-кишечного тракта при ВИЧ-инфекции у детей. *Детские инфекции*. 2010;9(3):22–6. Timchenko V.N., Arkhipova Yu.A. Gastrointestinal manifestations of pediatric HIV-infection. *Children Infections*. 2010;9(3):22–6. EDN: <https://elibrary.ru/musaep>
9. Shah S., Kongre V., Kumar V., Bharadwaj R. A study of parasitic and bacterial pathogens associated with diarrhea in HIV-positive patients. *Cureus*. 2016;8(9):e807. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.807>
10. Belay A., Ashagrie M., Seyoum B., et al. Prevalence of enteric pathogens, intestinal parasites and resistance profile of bacterial isolates among HIV infected and non-infected diarrheic patients in Dessie Town, Northeast Ethiopia. *PLoS One*. 2020;15(12):e0243479. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243479>
11. Carlucci J.G., Liu Y., Clouse K., Vermund S.H. Attrition of HIV-positive children from HIV services in low and middle-income countries. *AIDS*. 2019;33(15):2375–86. DOI: <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000002366>
12. Adetokunboh O.O., Uthman O.A., Wiysonge C.S. Non-specific effects of childhood vaccines on acute childhood morbidity among HIV-exposed children in sub-Saharan Africa: a multilevel analysis. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2018;14(10):2382–90. DOI: <https://doi.org/10.1080/21645515.2018.1516490>
13. Basile F.W., Fedele M.C., Lo Vecchio A. Gastrointestinal diseases in children living with HIV. *Microorganisms*. 2021;9(8):1572. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081572>
14. Montalvo-Otivo R., Vilcapoma P., Murillo A., et al. Evaluation of chronic diarrhea in patients newly diagnosed with HIV infection through the FilmArray® gastrointestinal panel. *Rev. Gastroenterol. Mex. (Engl. Ed.)*. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rgmex.2023.02.002>
15. Feasey N.A., Healey P., Gordon M.A. Review article: the aetiology, investigation and management of diarrhoea in the HIV-positive patient. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2011;34(6):587–603. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2011.04781.x>
16. Newman K.L., Newman G.S., Cybulski R.J., Fang F.C. Gastroenteritis in men who have sex with men in Seattle, Washington, 2017–2018. *Clin. Infect. Dis.* 2020;71(1):109–15. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciz783>
17. Бондарев В.П., Шевцов В.А., Индикова И.Н. и др. Эпидемиология ротавирусной инфекции и тактика вакцинопрофилактики. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019;19(2):81–7. Bondarev V.P., Shevtsov V.A., Indikova I.N., et al. Rotavirus Epidemiology and Vaccination Tactics. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2019;19(2):81–7. DOI: <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-2-81-87> EDN: <https://elibrary.ru/wgiruv>
18. Seid L., Stokes W., Bayih A.G., et al. Molecular detection of Enteropathogens from diarrheic stool of HIV positive patients in Gondar, Ethiopia. *BMC Infect. Dis.* 2018;18(1):354. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3265-8>
19. Bejide O.S., Odebode M.A., Ogunbosi B.O., et al. Diarrhoeal pathogens in the stools of children living with HIV in Ibadan, Nigeria. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2023;13:1108923. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1108923>
20. Masiga F., Kigozi E., Najjuka C.F., et al. Diarrhoeagenic *Escherichia coli* isolated from children with acute diarrhoea at Rakai

- hospital, Southern Uganda. *Afr. Health Sci.* 2022;22(1):581–8.  
DOI: <https://doi.org/10.4314/ahs.v22i1.67>
21. Ayele A.A., Tadesse D., Manilal A., et al. Prevalence of enteric bacteria and enteroparasites in human immunodeficiency vi-

rus-infected individuals with diarrhoea attending antiretroviral treatment clinic, Arba Minch General Hospital, southern Ethiopia. *New Microbes New Infect.* 2020;38:100789.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2020.100789>

#### Информация об авторах

*Муртазалиев Хамзат Хусейнович* — главный внештатный специалист Министерства здравоохранения Чеченской Республики по проблемам диагностики и лечения ВИЧ-инфекции, Грозный, Россия; главный врач Республиканского клинического центра инфекционных болезней, Грозный, Россия, <https://orcid.org/0009-0003-4524-5730>

*Макарова Мария Александровна*<sup>✉</sup> — д.м.н., в.н.с. лаб. кишечных инфекций НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия; доцент каф. медицинской микробиологии Северо-Западной медицинской академии им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия, [makmaria@mail.ru](mailto:makmaria@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0003-3600-2377>

*Кафтырева Лидия Алексеевна* — д.м.н., зав. лаб. кишечных инфекций Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия; профессор каф. медицинской микробиологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0989-1404>

*Алиева Елена Васильевна* — д.м.н., доцент, профессор каф. клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии Ставропольского государственного медицинского университета, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0009-0007-1349-9882>

*Ошаева Аза Вахаевна* — главный внештатный специалист по медицинской микробиологии министерства здравоохранения Чеченской Республики, Грозный, Россия; зав. бактериологической лабораторией Республиканского клинического центра инфекционных болезней, Грозный, Россия, <https://orcid.org/0009-0002-0771-755X>

*Жамборова Марина Хасанбиевна* — лаборант-исследователь лаб. кишечных инфекций Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0009-0009-9620-9784>

**Участие авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ИСМЖЕ, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 28.08.2023;  
принята к публикации 10.11.2023;  
опубликована 28.12.2023

#### Information about the authors

*Khamzat Kh. Murtazaliev* — Chief freelance specialist, Ministry of Health of the Chechen Republic on the problems of diagnosing and treating HIV infection; chief physician, Republican Clinical Center for Infectious Diseases, Grozny, Russia, <https://orcid.org/0009-0003-4524-5730>

*Maria A. Makarova*<sup>✉</sup> — D. Sci. (Med), senior researcher, Laboratory of enteric infection, Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia; assistant professor, Department of medical microbiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia, [makmaria@mail.ru](mailto:makmaria@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0003-3600-2377>

*Lidiya A. Kaftyreva* — D. Sci. (Med.), Head, Laboratory of enteric infection, Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia; assistant professor, Department of medical microbiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0989-1404>

*Elena V. Alieva* — D. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor, Department of clinical laboratory diagnostics with a course of bacteriology, Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0009-0007-1349-9882>

*Aza V. Oshaeva* — chief freelance specialist in medical microbiology, Ministry of Health of the Chechen Republic, Grozny, Russia; Head, Bacteriological laboratory, Republican Clinical Center for Infectious Diseases, Grozny, Russia, <https://orcid.org/0009-0002-0771-755X>

*Marina Kh. Zhamborova* — laboratory researcher, Laboratory of enteric infection, Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0009-0009-9620-9784>

**Author contribution.** All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 28.08.2023;  
accepted for publication 10.11.2023;  
published 28.12.2023

Оригинальная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-449>

# Генетическая структура и лекарственная устойчивость популяции *Mycobacterium tuberculosis* в Кемеровской области — Кузбассе

Лебедева И.Б.<sup>1✉</sup>, Жданова С.Н.<sup>2</sup>, Кондратов И.Г.<sup>2</sup>, Сибиль К.В.<sup>3</sup>,  
Огарков О.Б.<sup>2</sup>, Брусина Е.Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Кемеровский государственный медицинский университет, Кемерово, Россия;

<sup>2</sup>Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Россия;

<sup>3</sup>Кузбасский клинический фтизиопульмонологический медицинский центр им. И.Ф. Копыловой, Кемерово, Россия

## Аннотация

**Введение.** В Кемеровской области — Кузбассе сохраняется сложная эпидемиологическая ситуация по туберкулёзу (ТБ) с уровнями заболеваемости, превышающими среднероссийский уровень. Эпидемиологический процесс ТБ в значительной степени определяется циркулирующими вариантами *Mycobacterium tuberculosis*. Скрининг эпидемиологически значимых вариантов возбудителя на территориях с высоким бременем ТБ лежит в основе эпидемиологической диагностики и необходим для разработки эффективных мер профилактики, однако популяционная структура *M. tuberculosis* в Кемеровской области — Кузбассе мало изучена.

**Цель** исследования: изучить генетический полиморфизм и фенотипическую устойчивость к противотуберкулёзным препаратам штаммов *M. tuberculosis* в Кемеровской области — Кузбассе.

**Материалы и методы.** Проведено MIRU-VNTR-генотипирование 163 изолятов *M. tuberculosis*, выделенных от больных ТБ жителей Кемеровской области в марте–октябре 2022 г. Культивирование *M. tuberculosis*, определение лекарственной чувствительности, выделение геномной ДНК осуществляли стандартными методами. Генотипическую идентификацию проводили с помощью 24 локусного MIRU-VNTR-типирования. Параллельно проведено экспресс-генотипирование: выявление изолятов генотипа Beijing (по RD105/207) и non-Beijing; субтипирование Beijing в полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) на выявление Central Asian Russian и B0/W148; идентификацию группы non-Beijing — ПЦР-РВ-тестами на LAM, S, Ural.

**Результаты.** Установлено доминирование изолятов группы Beijing (67,5%) как среди впервые выявленных (64,4%), так и среди ранее леченных больных ТБ (88,5%). MIRU-VNTR-типирование обнаружило 75 профилей, из них 94-32 (35,3%) и 100-32 (15,7%) были самыми многочисленными и принадлежали генотипу Beijing. В целом 39,9 и 20,9% изолятов отнесено к эпидемиологическим кластерам Beijing Central Asian Russian и B0/W148 соответственно, которые значимо отличались по уровням множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) — 50,8 и 85,3% соответственно ( $p = 0,005$ ). Вторыми по распространённости были штаммы генетического семейства евро-американской линии (31,9%): LAM (6,7%), Ural (7,4%), Haarlem (4,9%) и L4-unclassified (12,9%). МЛУ среди этих минорных генотипов была значительно ниже, чем среди Beijing, и составляла 11,5% ( $p < 0,001$ ). Штаммы от больных ТБ с ВИЧ-инфекцией (56,4% общей выборки) чаще имели МЛУ-профиль (54,8%), чем в случаях ТБ без ВИЧ-инфекции (35,2%;  $p = 0,005$ ), что может быть связано с более высокими уровнями Beijing в группе больных ТБ с ВИЧ-инфекцией (75,0% против 57,7%;  $p = 0,026$ ). Показана полная сопоставимость разработанных нами тестов однонуклеотидного полиморфизма для выявления основных генотипов и эпидемиологически значимых субтипов Beijing, позволивших охарактеризовать 75,5% выборки экспресс-методом.

**Заключение.** Молекулярно-генетический скрининг в Кемеровской области выявил гетерогенность популяции *M. tuberculosis*, в которой доминировали штаммы генотипа Beijing, по частоте субтипов, сравнимой с другими территориями Сибирского федерального округа.

**Ключевые слова:** *Mycobacterium tuberculosis*, молекулярная эпидемиология, генотипы, лекарственная устойчивость

**Этическое утверждение.** Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Кемеровского государственного медицинского университета (протокол № 255/к от 11.11.2020) и Этическим комитетом Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (протокол № 4 от 12.04.2023).

**Источник финансирования.** Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 23-15-00280).

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Для цитирования:** Лебедева И.Б., Жданова С.Н., Кондратов И.Г., Сибиль К.В., Огарков О.Б., Брусина Е.Б. Генетическая структура и лекарственная устойчивость популяции *Mycobacterium tuberculosis* в Кемеровской области — Кузбассе. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(6):428–441.  
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-449>  
EDN: <https://www.elibrary.ru/uwbzwm>

Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-449>

## Genetic structure and drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* strains in the Kemerovo Region — Kuzbass

Irina B. Lebedeva<sup>1</sup>✉, Svetlana N. Zhdanova<sup>2</sup>, Ilya G. Kondratov<sup>2</sup>,  
Kirill V. Sybil<sup>3</sup>, Oleg B. Ogarkov<sup>2</sup>, Elena B. Brusina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia;

<sup>2</sup>Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia;

<sup>3</sup>Kuzbass Clinical Phthisiopulmonological Medical Center named after I.F. Kopylova, Kemerovo, Russia

### Abstract

**Background.** Kemerovo Region has a high burden of tuberculosis (TB) with incidence rates twice the national average. The circulating variants of *Mycobacterium tuberculosis* significantly influence the TB epidemic process. Screening of epidemically significant variants of the pathogen in areas with a high burden of TB underlies epidemiological diagnosis and is necessary for the development of effective prevention measures. However, the population structure of *M. tuberculosis* in the Kemerovo Region — Kuzbass is poorly understood.

**Aims:** to study genetic heterogeneity and phenotypic resistance to anti-tuberculosis drugs of *M. tuberculosis* strains in the Kemerovo Region.

**Materials and methods.** The MIRU-VNTR genotyping of 163 *M. tuberculosis* strains isolated from TB patients in the Kemerovo Region in March–October 2022 was carried out. Cultivation of *M. tuberculosis*, drug susceptibility testing, and isolation of genomic DNA were carried out by standard methods. Genotypic identification was performed using MIRU-VNTR (24 loci) typing. In parallel, express genotyping was carried out: identification of isolates of the Beijing genotype (by RD105/207) and non-Beijing; subtyping Beijing using real-time PCR tests for detection of Central Asian Russian and B0/W148; identification of the non-Beijing group by real-time PCR RT tests for LAM, S, Ural.

**Results.** The isolates of the Beijing genotype (67.5%) were found to dominate both among newly diagnosed (64.4%) and previously treated patients (88.5%). MIRU-VNTR typing revealed 75 profiles, of which 94-32 (35.3%) and 100-32 (15.7%) were the most abundant and belonged to the Beijing genotype. Overall, 39.9% and 20.9% of isolates, respectively, were assigned to the Beijing Central Asian Russian and B0/W148 epidemic clusters, which differed significantly in MDR levels (50.8% and 85.3%, respectively;  $p = 0.005$ ). The second most common were strains of the genetic family of the Euro-American lineage (L4) (31.9%): LAM (6.7%) Ural (7.4%) Haarlem (4.9%) and L4-unclassified (12.9%), MDR among of these minor genotypes was significantly lower than among Beijing genotype strains, and amounted to 11.5% ( $p < 0.001$ ). Strains from HIV-TB patients (56.4% of the total sample) carried an MDR profile more often (54.8%) compared to TB cases without HIV infection (35.2%) ( $p = 0.005$ ), which may be due to higher proportion of Beijing genotype strains in the HIV-TB group (75.0% vs. 57.7%;  $p = 0.026$ ). Complete comparability of the SNP analysis (in-house tests) to identify the main genotypes and epidemically significant Beijing subtypes was shown, which made it possible to characterize 75.5% of the sample by the express method.

**Conclusions.** The molecular genetic screening carried out in the Kemerovo Region revealed the heterogeneity of the *M. tuberculosis* population, which was dominated by strains of the Beijing genotype, with the frequency of subtypes comparable with other territories of the Siberian Federal District.

**Keywords:** *Mycobacterium tuberculosis*, molecular epidemiology, genotypes, drug resistance

**Ethics approval.** The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Kemerovo State Medical University (protocol No. 255/к, November 11, 2020) and by the Ethics Committee of the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (protocol No. 4, April 12, 2023).

**Funding source.** The study was carried out with financial support from a grant from the Russian Science Foundation (project No. 23-15-00280).

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**For citation:** Lebedeva I.B., Zhdanova S.N., Kondratov I.G., Sybil K.V., Ogarkov O.B., Brusina E.B. Genetic structure and drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* strains in the Kemerovo Region — Kuzbass. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2023;100(6):428–441.  
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-449>  
EDN: <https://www.elibrary.ru/uwbzwm>

## Введение

Несмотря на то что заболеваемость туберкулезом (ТБ) на территории Кемеровской области — Кузбасса, как и в целом по России, за последние годы снизилась [1], Кузбасс сохраняет позиции региона с высоким бременем этой инфекции [2]. В 2021 г. заболеваемость ТБ составила 70,3 на 100 тыс. населения, что более чем в 2 раза выше среднероссийского уровня (31,1 на 100 тыс. населения).

Среди причин сохранения неблагоприятной эпидемиологической обстановки по ТБ отмечают рост числа случаев ТБ с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) и распространение сочетанной инфекции ВИЧ и ТБ. Кемеровская область по уровням МЛУ-ТБ и ВИЧ-ТБ входит в группу лидеров не только в Сибирском федеральном округе, но и в России [2]. Распространение МЛУ-ТБ в России связывают с широкой циркуляцией штаммов *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) генотипа Beijing, его основных субтипов — Beijing Central Asian Russian (Центральноазиатский российский) и Beijing B0/W148 [3, 4]. В азиатских регионах России

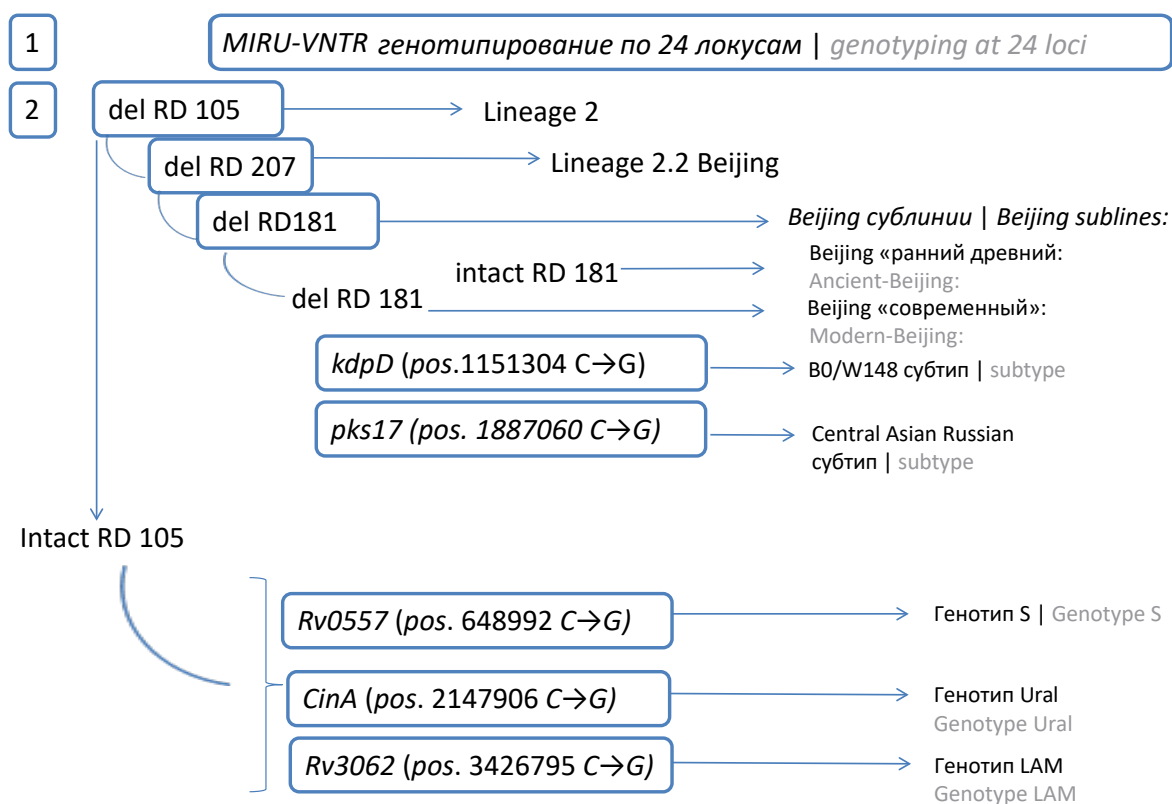
доля генотипа Beijing варьирует от 45 до 70% [5–9]. По Кемеровской области системная информация о популяционной структуре возбудителя ТБ практически отсутствует, поскольку ранее проводимые в Западной Сибири скрининговые исследования МБТ включали лишь небольшое количество штаммов из этого региона [9, 10].

**Цель исследования:** изучить генетический полиморфизм и фенотипическую устойчивость к противотуберкулезным препаратам (ПТП) штаммов МБТ в Кемеровской области — Кузбассе.

## Материалы и методы

### Дизайн исследования

Выполнено MIRU-VNTR-генотипирование МБТ, схема которого представлена на **рис. 1**. Объект исследования — клинические культуры МБТ, полученные от больных ТБ, проживающих в Кемеровской области — Кузбассе и госпитализированных в Кузбасский клинический фтизиопульмонологический медицинский центр. Исследуемая кол-



**Рис. 1.** Схема генотипирования МБТ.

**Fig. 1.** *M. tuberculosis* genotyping scheme.

лекция включала сплошную выборку образцов (по одному от пациента) клинических культур МБТ среды Левенштейна–Йенсена, собранных в марте–октябре 2022 г.

Определение лекарственной чувствительности изолятов МБТ к ПТП проводили методом абсолютных концентраций на плотной питательной среде Левенштейна–Йенсена (в концентрациях для стрептомицина — 10 мкг/мл; изониазида — 1 мкг/мл; рифампицина — 40 мкг/мл; этамбутола — 2 мкг/мл; офлоксацина — 2 мкг/мл; канамицина — 30 мкг/мл; капреомицина — 30 мкг/мл; протионамида — 30 мкг/мл) и модифицированным методом пропорций на жидкой питательной среде Мидделбрука 7Н9 с применением бактериологического анализатора с автоматизированной детекцией роста «Bactec MGIT 960» («Becton Dickinson») (в концентрациях для стрептомицина — 1,0 мкг/мл; изониазида — 0,1 мкг/мл; рифампицина — 0,5 мкг/мл; этамбутола — 5,0 мкг/мл; пиразинамида — 100 мкг/мл; амикацина — 1,0 мкг/мл; капреомицина — 2,5 мкг/мл; бедаквилина — 1,0 мкг/мл; протионамида — 2,5 мкг/мл; левофлоксацина — 1 мкг/мл; моксифлоксацина — 0,25 и 1 мкг/мл; линезолида — 1,0 мкг/мл) согласно Приказу МЗ РФ № 951 от 29.12.2014 и Клиническим рекомендациям «Туберкулез у взрослых, 2022».

Экстракцию ДНК штаммов МБТ проводили из инактивированных кипячением культур МБТ. Перед выделением образцы центрифугировали, ДНК выделяли из осадка набором ДНК-сорб В («Интерлабсервис»). Генотипирование осуществляли по 24 локусам MIRU-VNTR (Mycobacterial Interspersed Repetitive Units — Variable Number of Tandem Repeats)<sup>1</sup>. Идентификацию и классификацию по MLVA MtbC 15-9 полученных по MIRU-VNTR-24-профилей проводили с помощью онлайн-инструментов MIRU-VNTRplus<sup>2</sup>.

Последовательность тестов включала делеционный анализ по RD в реакциях полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией и анализ однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) (рис. 1): RD 105 и RD 207 с на выявление Линии 2, Линии 2.2 (Beijing) и группы non-Beijing согласно Reed [11]; дифференциацию генотипа Beijing на современную и раннедревнюю сублинии путём определения делеции RD181 согласно M.V. Reed [11]; осуществление двух ПЦР-РВ для всех представителей Beijing на выявление специфической динуклеотидной делеции в гене *kdpD*<sup>3</sup> и специфического SNP в гене

*pks17* [12] для идентификации российского эпидемического субтипа Beijing B0/W148 и Beijing Central Asian Russian субтипа; выполнение трех ПЦР-РВ для всей группы non-Beijing штаммов с целью установления принадлежности к генотипам евро-американской линии (для генотипа S — в *Rv0557* [13, 14]; генотипа LAM в — *Rv3062* [15]; Ural — в гене *CinA* [13]). Праймеры и зонды представлены в табл. 1.

Условия для проведения ПЦР: в течение 45 циклов с реактивами AmpliTaq Gold 360 Master Mix («Applied Biosystems») в присутствии 1× раствора энхансера из того же набора на амплификаторе «CFX-96 Touch» («BioRad»). Режимы ПЦР-РВ: 95°C — 10 мин, активация полимеразы; 95°C — 15 с; отжиг 60–64°C (в зависимости от теста) — 10 с; 72°C — 20 с. При отсутствии маркеров, использованных в SNP-анализе, штаммы считали как «Beijing другие» и «non-Beijing другие». Для сопоставления результатов типирования (MIRU-VNTR-24 и SNP-анализ) профили соотносили по базам данных генотипов Beijing [16], LAM [17], Ural [18], S [19], Lineage 4 [20].

#### Критерии соответствия

Критериями включения в коллекцию штаммов были деперсонализированные данные о больных ТБ: проживание в Кемеровской области, лечение в противотуберкулезных диспансерах, возраст старше 18 лет.

Критерии исключения: возраст менее 18 лет, отсутствие бактериовыделения.

#### Этическая экспертиза

Исследование одобрено Этическим комитетом Кемеровского государственного медицинского университета (протокол № 255/к от 11.11.2020) и Этическим комитетом Научного центра здоровья семьи и репродукции человека (протокол № 4 от 12.04.2023). Вся информация об образцах МБТ, использованных в этом ретроспективном исследовании, исключала личную информацию о пациентах.

#### Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили в редакторе электронных таблиц «MS Excel 14.0» и в программе «GraphPad Prism 7». После проведения теста на нормальность с помощью теста Шапиро–Уилка количественные показатели представляли в виде медианы (Me) и интерквартильного диапазона [IQR]. Номинальные данные описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей. Критерий  $\chi^2$  был использован для обнаружения значимых

<sup>1</sup> URL: <http://www.miru-vntrplus.org/MIRU/miruinfo.faces;jsessionid=89112F274226E781C7B0B0D9118FDD70>

<sup>2</sup> URL: <http://www.miru-vntrplus.org>

<sup>3</sup> Eurasian Patent № 032489. Oligonucleotide primers, fluorescent DNA probes and a method for detecting *Mycobacterium tuberculosis* clonal complex 2 — W148 of the Beijing genotype



**Таблица 1.** Структуры праймеров и зондов, разработанные для индикации субтипов генотипа Beijing и генотипов евро-американской линии (LAM, S, Ural)**Table 1.** Primers and probes designed to identify Beijing genotype subtypes and Euro-American line genotypes (LAM, S, Ural)

Генотип, субтип (ген), позиция Genotype, subtype (gene) position	Праймеры Primers	ДНК-зонды DNA-probes	Температура отжига, °C Annealing temperature, °C	Источник структуры праймеров и зондов Source of primer and probe sequences
Beijing, B0/W148 ( <i>kdpD</i> ) 1151304	F 5'-GGCGGCACGATTTTCG GCTAC-3' R 5'-TCGTCGTCGAATCACCAAGACGA-3'	5'-FAM-GGCGGGCTCA[LNA-C]AG[LNA-T]GGTGATC-3'-RTQ1) 5'-R6G-GGCGGG CTCA[LNA-G]TGGTGATCG[LNA-A]T-3'-BHQ2	64	Eurasian Patent N 032489
Beijing, Central Asian Russian ( <i>pkS17</i> ) 1887060	F 5'-AGGTTCGATGGGGCCTGGAATT-3', R 5'-GAAAACAACACAAACGCTGACAC-3'	5'-FAM-ATGAGCTCAC(G-LNA)CGGC(A-LNA)CCTG-3'-RTQ1; 5'-R6G-ATGAGCTCAC(C-LNA)CGGC(A-LNA)CCTG-3'-BHQ2)	62	[23]
S ( <i>Rv0557</i> ) 648992	F 5'-GCATTCCGATGACAGCAGC R 5'- GATTCCATTGTCGCTGTGGA	5'-FAM-GGTTCCGCCACTTGCATCG (G-LNA)CT -BHQ1; 5'-R6G-GGTTCCGCCACTTGCATCG (C-LNA)CT -BHQ1	60	Настоящее исследование This study
Ural ( <i>CinA</i> ) 2147906	F 5'-GACCTGATCGTCACCAGCG R 5'-CGTCCAGCACCAGCTCGC	5'-FAM-GACCGCCGACGATATGA [T-LNA]CG-BHQ1; 5'-R6G-GACCGCCGACGATATGA [C-LNA]CG-BHQ1	62	Настоящее исследование This study
LAM ( <i>Rv3062</i> ) 3426795	F 5'-TGGTGCTCGCGGTGGAATGG R 5'-CATCACGAATCCACCGGTAG	5'-FAM-CGCGGCAAGCTCTC [C-LNA]AATAT- BHQ1; 5'-R6G -CGCGGCAAGCTCTC [G-LNA]AATAT- BHQ1	62	Настоящее исследование This study

различий между двумя группами. Скорректированные поправкой Йейтса значения  $\chi^2$  и  $p$  были рассчитаны с 95% доверительным интервалом. Различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

## Результаты

### Участники исследования

В исследование были включены 163 клинических изолята, взятых от больных (126 мужчин и 47 женщин) ТБ, преимущественно впервые выявленных (83,9%). От пациентов с ВИЧ-инфекцией получены 84 (52,8%) образца. Клиническими формами ТБ были инфильтративный (38,5%), диссеминированный (41,6%), фиброзно-кавернозный (5,0%), казеозная пневмония (6,8%), туберкулёмы (4,3%) лёгких, 4 (2,5%) случая внелёгочных форм ТБ. Основная клиническая информация о пациентах, от которых получены исследуемые изоляты, представлена в **табл. 2**.

Для определения генотипической структуры популяции МБТ использовали комбинацию молекулярных методов развёрнутой схемы генотипирования и экспресс-методы SNP-анализа — выявление маркеров генотипов по специфическим для них SNP. Первым этапом был проведён делеционный анализ по регионам различия RD 105 и 207 всех образцов, который разделил выборку на 2 группы,

из них 110 (67,5%) из 163 изолятов принадлежали к Beijing-генотипу, остальные 52 определены как non-Beijing и 1 смешанный образец (Beijing/non-Beijing — mix). Все Beijing-штаммы имели делецию в регионе различий RD 181, они отнесены к современной подлинии этого генотипа.

### Результаты MIRU-VNTR-типирования

MIRU-VNTR-24-локусное типирование 163 штаммов выявило 75 профилей, классифицированных по MLVA MtbC15-9 схеме (**рис. 2**), 29 из которых принадлежали Beijing и 46 — non-Beijing. По результатам генотипирования, кроме Beijing, были идентифицированы генотипы евро-американской генетической линии (L4): LAM (6,7%; 11/163), Ural (7,4%; 12/163), Haarlem (4,9%; 8/163) и группа штаммов, относящихся к L4, но не дающих однозначной принадлежности к определённому генотипу по 24-локусному профилю и условно называемая L4-unclassified (12,9%; 21/163) [20]. Смешанный образец нёс профили генотипов Beijing и Ural. К генотипу Beijing принадлежали 85 кластеризованных изолятов: типы 100-32 (29 изолятов) и 94-32 (50 изолятов), а также по 3 штамма с профилями 1065-32 и 1068-32. Группа non-Beijing имела 5 кластеров, каждый из которых содержал 2–3 изолята (LAM-генотипа — 121-496 и 1119-52; Ural — 163-15; и 4 профили, принадлежащих L4 unclassified).

**Таблица 2.** Общая характеристика исследуемой выборки штаммов *M. tuberculosis*

**Table 2.** General characteristics of the studied sample of *M. tuberculosis* strains

Показатели Characteristics	Впервые выявленные случаи ТБ <sup>a</sup> Newly identified cases of TB <sup>a</sup>	Ранее леченные случаи ТБ <sup>b</sup> Previously treated TB cases <sup>b</sup>
Мужчины, %; <i>n</i> (ДИ)   Men, %; <i>n</i> (CI)	97; 71,9 (63,7–78,8)	18; 69,2 (44,0–77,4)
Позитивный ВИЧ-статус <sup>c</sup> , %; <i>n</i> (ДИ) Positive HIV status <sup>c</sup> , %; <i>n</i> (CI)	75; 56,4 (47,9–64,5)	9; 40,9 (23,2–61,3)
Средний возраст на момент выявления ТБ, Ме [IQR]: Mean age at TB detection, Me [IQR]:		
мужчины   men	41,3 (29,4–53,2)	38,5 (28,1–48,9)
женщины   women	44,5 (31,1–57,9)	40,0 (28,2–51,8)
Клинические формы ТБ лёгких, %; <i>n</i> (ДИ): TB clinical forms, %; <i>n</i> (CI):		
инфильтративный   infiltrative	58; 43,0 (34,9–51,4)	4; 15,4 (5,5–31,1)
диссеминированный   disseminate	58; 43,0 (34,9–51,4)	9; 34,6 (19,3–53,9)
фиброзно-кавернозный   fibrous-cavernous	5; 3,7 (1,4–8,6)	3; 11,5 (3,2–29,8)
очаговый   focal	2; 1,5 (0,7–5,6)	0
туберкулемы   tuberculoma	2; 1,5 (0,7–5,6)	5; 19,2 (8,1–38,3)
казеозная пневмония   caseosis pneumonia	6; 4,4 (1,9–9,6)	5; 19,2 (8,1–38,3)
Другие локализации ТБ, %; <i>n</i> (ДИ): Other TB locations, %; <i>n</i> (CI):		
ТБ внутригрудных лимфоузлов   TB of intrathoracic lymph nodes	3; 2,2 (0,5–6,6)	0
ТБ менингит   TB meningitis	1; 0,7 (0,1–4,5)	0
Лекарственная устойчивость <sup>c</sup> , %; <i>n</i> (ДИ): Drug resistance <sup>c</sup> , %; <i>n</i> (CI):		
чувствительные   sensitive	54; 40,0 (32,6–49,1)	4; 15,4 (5,5–34,1)
монорезистентные   monoresistant	10; 7,4 (4,0–13,4)	1; 3,8 (0–20,5)
полирезистентные   polyresistant	19; 14,1 (9,3–21,3)	0
МЛУ   multidrug-resistant TB:	52; 38,5 (31,2–47,6)	21; 80,8 (61,7–92,0)
из них пре-ШЛУ <sup>d</sup>   of them pre-extensively drug-resistant <sup>d</sup>	9; 17,3 (9,1–30,0)	4; 19,0 (7,0–40,6)

**Примечание.** <sup>a</sup>Информация о группе диспансерного учёта, сведения о клинических формах ТБ была доступна для 161 пациента (135 впервые выявленных и 26 ранее леченных больных); данные ВИЧ-статуса — для 155 пациентов (соответственно для 133 и 22 больных); данные о лекарственной устойчивости изолятов МБТ — для 159 пациентов (соответственно 133 и 26 больных).

<sup>b</sup>Ранее леченные случаи включали рецидив ТБ, лечение после неэффективного курса химиотерапии, лечение после прерывания курса химиотерапии, переведённый для продолжения лечения.

<sup>c</sup>Распределение изолятов по лекарственной устойчивости имело значимые отличия среди впервые выявленных и ранее леченных случаев ТБ ( $\chi^2$ ; *df* = 3; *p* = 0,002).

<sup>d</sup>Расчет произведён к общему количеству штаммов в МЛУ и пре-ШЛУ.

**Note.** <sup>a</sup>Information on the dispensary group, data on clinical forms of TB was available for 161 patients (135 newly identified and 26 previously treated patients); HIV status data — for 155 patients (respectively for 133 and 22 patients); data on drug resistance of MBT isolates — for 159 patients (133 and 26 patients, respectively).

<sup>b</sup>Previously treated cases included: relapse of tuberculosis, treatment after an ineffective course of chemotherapy, treatment after interruption of the course of chemotherapy, transferred to continue treatment.

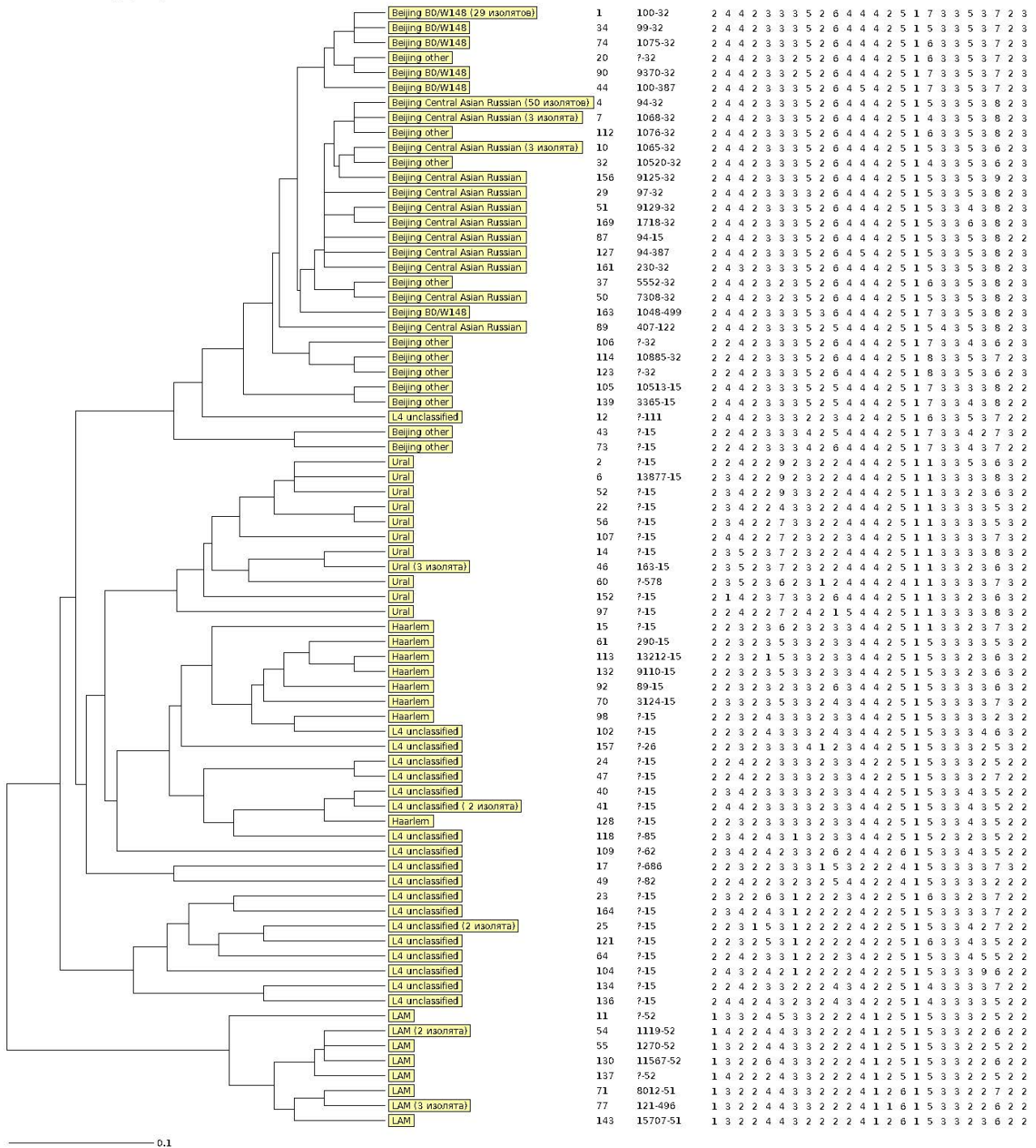
<sup>c</sup>The distribution of isolates by drug resistance had significant differences among newly identified and previously treated TB cases ( $\chi^2$ ; *df* = 3; *p* = 0.002).

<sup>d</sup>Calculation was made for the total number of strains in MDR and pre-XDR.

### Результаты SNP-анализа и сопоставление с данными MIRU-VNTR-типирования

Штаммы Beijing были протестированы на наличие маркеров основных российских субтипов. Beijing Central Asian Russian выявлен в 39,9% (65/163) случаев общей выборки, Beijing B0/W148 — в 20,9% (34/163). Остальные 11 штаммов не имели SNP, специфических для вышеперечисленных субтипов. Beijing B0/W148, определяемый по наличию делеции в гене *kdpD*, состоял в боль-

шинстве случаев из штаммов 100-32 (85,3% — 29/34), а также разнообразной группы с профилями 100-387, 1048-499, 1075-32, 99-32, 9370-32. Субтип Central Asian Russian наиболее часто был представлен профилем 94-32 (76,9% 50/65), а также разнообразной группой индивидуальных профилей и 2 кластеризованных (1065-32 и 1068-32). Среди 52 non-Beijing-изолятов и 1 mix в тестировании на генотипы евро-американской линии были обнаружены представители LAM (6,7%; 11/163), Ural



**Рис. 2.** UPGMA-дендрограмма MIRU-VNTR-профилей 163 штаммов *M. tuberculosis* из Кемеровской области.

Каждая строка содержит данные изолята с идентифицированным генотипом в жёлтом блоке с указанием количества в случае выявления идентичных профилей; идентификационного номера изолята; MLVA MtbC15-9 типа; числа повторов в каждом из 24 локусов.

**Fig. 2.** UPGMA dendrogram of MIRU-VNTR profiles of 163 *M. tuberculosis* strains from the Kemerovo Region.

Each line contains isolate data with an identified genotype in a yellow block indicating the number of isolates if identical profiles are detected; isolate identification number; MLVA type MtbC15-9; number of repeats at each of the 24 loci.

(7,4%; 12/163) и группа из 29 штаммов без специфических маркеров. В смешанном образце выявлен только маркер генотипа Ural.

Генотипы МБТ и их субтипы, классифицированные по MIRU-VNTR-24-профилям, полностью

совпадали с результатами SNP-анализа (табл. 3). Beijing Central Asian Russian и Beijing B0/W148 включали изоляты с профилями, принадлежащими только к этим субтипам, согласно наиболее полному каталогу [16]. Группа «Beijing другие» не имела

**Таблица 3.** Сопоставление результатов MIRU-VNTR- и SNP-типирования

**Table 3.** Comparison of MIRU-VNTR results and SNP typing

Генотип, субтип (выявленные штаммы в SNP-анализе) Genotype, Subtype (strains identified in SNP analysis)	MIRU-VNTR-24-генотипирование   MIRU-VNTR 24 genotyping	
	число выявленных штаммов identified strains	MLVA MtbC15-9 тип* (n) MLVA MtbC15-9 type * (n)
Beijing Central Asian Russian (65)	65	94-32 (50); 94-15 (1); 94-387 (1); 97-32 (1); 230-32 (1); 407-32 (1); 1065-32 (3); 1068-32 (3); 1718-32 (1); 7308-32 (1); 9125-32 (1); 9129-32 (1)
Beijing B0/W148 (34)	34	100-32 (29); 100-387 (1); 99-32 (1); 1048-439 (1); 1075-32 (1); 9370-32 (1)
Beijing, другие other Beijing (11)	11	1076-32 (1); 3365-15 (1); 5552-32 (1); 10520-32 (1); 10885-32 (1); 10513-32 (1); ?-15 (2); ?-32 (3)
LAM (11)	11	121-496 (3); 1119-52 (1); 1270-52 (1); 8012-51 (1); 11567-52 (1); 15707-51 (1); ?-52 (2)
Ural (12)	12	163-15 (3); 13877-15 (1); ?-15 (7); ?-578 (1)
S (0)	0	Отсутствовали   Absent
non-Beijing другие (29) other non-Beijing	29, в том числе   including Haarlem (8)	89-15 (1); 290-15 (1); 3124-15 (1); 9110-15 (1); 13212-15 (1); ?-15 (18); ?-26 (1); ?-62 (1); ?-82 (1); ?-85 (1); ?-111 (1); ?-686 (1)

**Примечание.** «?» — неклассифицированные по MLVA MtbC типы.  
**Note.** «?» indicates the types unclassified by MLVA MtbC.

маркеров вышеперечисленных субтипов и характерных для них профилей.

Изолятам с наличием маркеров LAM и Ural соответствовали профили этих же генотипов, охарактеризованных ранее [17, 18]. Ни один штамм из группы non-Beijing не имел профилей генотипа S [19] и его специфического маркера. У оставшихся 29 изолятов «non-Beijing другие» не было тестируемых замен, они относились к генотипу Haarlem и L4 unclassified по MIRU-VNTR-24.

#### Лекарственная устойчивость *M. tuberculosis*

Тестирование МБТ показало, что только 55 (34,6%) сохранили лекарственную чувствительность, в большей степени за счёт впервые выявленных случаев (40,0% против 15,4% ранее леченных). Остальные были устойчивы к препаратам 1-го ряда в различных комбинациях, таким как изониазид (59,1%), рифампицин (46,5%), стрептомицин (58,5%) и этамбутол (43,4%), и к препаратам 2-го ряда, включая этионамид (6,9%), офлоксацин (8,2%), канамицин (5,0%), капреомицин (3,1%), парааминосалициловую кислоту (1,9%). Учитывая недавние изменения в определении широкой лекарственной устойчивости (ШЛУ) и пре-ШЛУ, структура лекарственно-устойчивых штаммов представлена в табл. 1 и табл. 4. МЛУ, определяемая как одновременная устойчивость к рифампицину и изониазиду, выявлена у 74 (46,5%) изолятов (в том числе у 46 из 84 штаммов, выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов), из них 13 — пре-ШЛУ (МЛУ с дополнительной устойчивостью к одному из фторхинолонов<sup>4</sup>). ШЛУ — МЛУ с резистентностью к любому

фторхинолону и как минимум к одному дополнительному препарату 2-го ряда (бедаквилину и/или линезолиду) — не была выявлена ни в одном случае. В целом устойчивость к бедаквилину была определена у 3,1% (5/161) штаммов: 2 монорезистентных, 2 полирезистентных и 1 МЛУ-штамма. Присутствие фенотипической устойчивости к бедаквилину может быть связано с естественной резистентностью [21, 22], нельзя исключить и возможность технических ошибок. Ожидается, что в спектре лекарственной устойчивости *M. tuberculosis* от больных, ранее получавших ПТП, значимо чаще встречались случаи МЛУ ( $p = 0,004$ ). Вместе с тем частоты выявления пре-ШЛУ-штаммов не имели значимых различий у пациентов с историей лечения и новых случаев ТБ ( $p = 0,283$ ). Штаммы от ВИЧ-инфицированных с большей частотой показывали МЛУ-профиль (54,8%), чем МБТ от больных с ТБ без ВИЧ-инфекции (35,2%;  $p = 0,005$ ).

#### Основные клинико-диагностические характеристики ТБ, вызванного различными генотипами и субтипами *M. tuberculosis*

Стратификация основных характеристик ТБ в соответствии с генотипом МБТ показала ряд закономерностей (табл. 5). Сходное распределение изолятов отмечается при различных клинических формах ТБ, которое отвечает общей генотипической структуре изучаемой выборки. Однако среди ранее леченных случаев ТБ частота генотипа Beijing вы-

<sup>4</sup> WHO. World Health Organization (2021). Meeting report of

the WHO expert consultation on the definition of extensively drug-resistant tuberculosis, 27–29 October 2020. World Health Organization. 02.05.2023.  
URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/338776>

**Таблица 4.** Лекарственная устойчивость штаммов *M. tuberculosis* от больных ТБ с различным ВИЧ-статусом**Table 4.** Drug resistance of *M. tuberculosis* strains from TB patients with different HIV status

Показатели лекарственной устойчивости Drug resistance	ВИЧ-положительные пациенты HIV positive patients (n = 84)		ВИЧ-негативные пациенты HIV negative patients (n = 71)		Общая выборка Total sample (n = 159)	
	абс.   abs.	% (ДИ   CI)	абс.   abs.	% (ДИ   CI)	абс.   abs.	% (ДИ   CI)
Чувствительные   Sensitive	23	27,4 (18,9–37,8)	31	43,7 (32,7–55,2)	55	34,6 (27,6–42,3)
Монорезистентные Monoresistant	6	7,1 (3,0–15,1)	5	7,0 (2,7–15,8)	11	6,9 (3,8–12,1)
Полирезистентные Polyresistant	9	10,7 (5,5–19,3)	10	14,1 (7,6–24,2)	19	11,9 (7,7–18,0)
МЛУ   MDR	46	54,8 (44,1–65,0)	25	35,2 (25,1–46,8)	73	46,5 (38,4–53,7)
из них, пре-ШЛУ of them pre-XDR	9	10,7 (5,5–19,3)	4	5,6 (1,8–14,0)	13	8,2 (4,7–13,6)

**Примечание.** Данные ВИЧ-статуса были доступны для 155 случаев; данные о лекарственной устойчивости — для 159.

**Note.** HIV status data were available for 155 cases; data on drug resistance — for 159.

**Таблица 5.** Клинические характеристики, вызванные разными генотипами**Table 5.** Clinical characteristics depending on different genotypes

Клинические характеристики/генотипы Clinical characteristics/genotypes	n	Beijing B0/W148 (n = 32)		Beijing Central Asian Russian (n = 65)		Beijing, общее   total (n = 110)		Non-Beijing, общее   total (n = 52)	
		абс.   abs.	% (ДИ   CI)	абс.   abs.	% (ДИ   CI)	абс.   abs.	% (ДИ   CI)	абс.   abs.	% (ДИ   CI)
Основные клинические формы ТБ лёгких: Major clinical forms of pulmonary TB:									
инфильтративный   infiltrative	62	12	19,4 (11,3–31,0)	25	40,3 (29,0–52,8)	42	67,7 (55,3–78,1)	20	32,3 (21,9–44,7)
диссеминированный   disseminate	67	11	16,4 (9,3–27,2)	29	43,3 (32,1–55,2)	44	65,7 (53,7–75,9)	22	32,8 (22,8–44,8)
фиброзно-кавернозный   fibrous-cavernous	8	2	25,0 (6,3–59,9)	2	25,0 (6,3–59,9)	4	50,0 (21,5–78,5)	4	50,0 (21,5–78,5)
КП   caseosis pneumonia	11	2	18,2 (4,0–48,9)	3	27,3 (9,2–57,1)	6	54,5 (28,0–78,8)	5	45,5 (21,3–72,0)
Группа диспансерного учёта: Dispensary group:									
впервые выявленные newly identified TB cases	135	24	17,8 (12,2–25,2)	55	40,7 (32,8–49,2)	87	64,4 (56,1–72,0)	47	34,8 (27,3–43,3)
ранее леченные previously treated TB cases	26	10	38,5 (22,4–57,5)	10	38,5 (22,4–57,5)	23	88,5 (70,2–96,8)	5	19,2 (8,1–38,3)
ВИЧ-статус:   HIV status:									
положительный   positive	84	22	26,4 (16,9–35,6)	36	42,9 (32,8–53,5)	63	75,0 (64,7–83,1)	20	23,8 (15,9–34,0)
негативный   negative	71	10	14,1 (7,6–24,2)	26	36,6 (26,4–48,3)	41	57,7 (46,1–68,6)	30	42,3 (31,5–53,9)

**Примечание.** % рассчитан на n штаммов в строке характеристики.

**Note.** % is calculated for n strains in the characteristic line.

ше, чем среди впервые выявленных (23/26 против 87/135;  $p = 0,029$ ). Такое же значимое превышение обнаружено в случаях ТБ, вызванного Beijing B0/W148 (38,5% против 17,8%;  $p = 0,035$ ) на фоне сравнимых уровней других субтипов Beijing (для Beijing Central Asian Russian: 38,5% против 40,7%;  $p = 0,828$ ; Beijing другие: 11,5% против 5,9%;  $p = 0,539$ ). ВИЧ-положительные случаи ТБ чаще были

вызваны штаммами генотипа Beijing (75,0% против 57,7%;  $p = 0,026$ ), чем ТБ у ВИЧ-негативных больных, без значимой ассоциации с Beijing эпидемическими субтипами (для B0/W148: 26,2% против 14,1%;  $p = 0,063$ ; для Beijing Central Asian Russian: 42,9% против 36,6%;  $p = 0,429$ ).

Распределение генотипов с зависимости от статуса лекарственной устойчивости также имело

## Обсуждение

свои особенности (табл. 6). Из 74 МЛУ-изолятов 68 принадлежали к Beijing-генотипу и 7 — к генетической евро-американской линии (L4), в том числе в смешанном образце. Уровень МЛУ среди генотипов Beijing (61,8%; 68/110) и non-Beijing (11,5%; 6/52) отличался ( $p < 0,001$ ). Эпидемический субтип Beijing B0/W148 был в 85,3% случаев с МЛУ + пре-ШЛУ, при этом изоляты с профилем 100-32 типа, как и остальные варианты B0/W148, имели близкие частоты (82,8 и 100% соответственно;  $p = 0,748$ ). В штаммах субтипов Beijing Central Asian Russian МЛУ + пре-ШЛУ определена в 50,8% (33/65) случаев. Наиболее распространённый вариант этого субтипа — Beijing 94-32 типа — значимо чаще нёс МЛУ + пре-ШЛУ (62,0%), чем остальные его варианты (13,3%;  $p = 0,003$ ). Изоляты non-Beijing были в основном лекарственно-чувствительными (59,6%; 31/52). Выявленные 6 случаев МЛУ среди non-Beijing включали представителей Haarlem, Ural и LAM. В разнообразной группе L4 unclassified присутствовали только чувствительные, моно- и полирезистентные штаммы.

В условиях ограниченных ресурсов наиболее перспективно направление приоритетного мониторинга штаммов МБТ высокого риска передачи в целевой популяции. Обязательным этапом такого динамического наблюдения является первичный скрининг циркулирующей популяции МБТ в конкретных условиях, что и было выполнено нами в настоящем исследовании на ранее малоизученной территории Кемеровской области. Совершенствование методологии мониторинга возбудителя ТБ путём комплексного использования классических методов типирования и легко воспроизводимых молекулярных тестов SNP-анализа обеспечивает преимущество результатов первичного и динамического наблюдения конкретных штаммов МБТ, ответственных за наиболее актуальные проблемы передачи возбудителя ТБ. Именно такой подход был реализован в настоящем исследовании, где, кроме развёрнутой схемы MIRU-VNTR-типирования, были применены уже ранее успешно используемые тесты на Beijing B0/W148 и Beijing Central Asian

**Таблица 6.** Генотипы и лекарственная устойчивость изолятов *M. tuberculosis* из Кемеровской области, % (ДИ)  
**Table 6.** Genotypes and drug resistance of *M. tuberculosis* isolates from the Kemerovo Region, % (CI)

Генотип/субтип Genotype/Subtype	Чувствительные Sensitive	Монорезистентные Monoresistant	Полирезистентные Polyresistant	МЛУ MDR	Пре-ШЛУ Pre-XDR	Общая выборка General sample
<i>n</i>	58	11	19	60	13	163
Beijing общее Beijing total	44,8 (32,8–57,6)	36,4 (15,0–64,8)	57,9 (36,2–76,9)	91,7 (81,5–96,8)	92,3 (64,6–100,0)	67,5 (60,0–74,2)
Beijing B0/W148*	44,8 (0–10,3)	9,1 (0–40,0)	5,3 (0–26,5)	40,0 (28,6–52,7)	40,0 (28,6–52,7)	20,9 (15,3–27,8)
Beijing Central Asian Russian	39,7 (28,1–52,5)	18,2 (4,0–48,9)	36,8 (19,1–59,1)	43,3 (31,6–55,9)	53,9 (29,1–76,8)	39,9 (32,7–47,6)
Beijing другие Beijing other	3,5 (0,2–12,4)	9,1 (0–40,0)	15,8 (4,7–38,4)	8,3 (3,2–18,5)	0	6,8 (3,7–11,8)
Non-Beijing общее Non-Beijing total	53,5 (40,8–65,7)	63,6 (35,2–85,0)	42,1 (23,1–63,8)	8,3 (3,2–18,5)	7,7 (0–35,4)	31,9 (25,2–39,4)
LAM	6,9 (2,2–16,9)	27,3 (9,2–57,1)	15,8 (4,7–38,4)	0	7,7 (0–35,4)	6,8 (3,7–11,8)
Ural	8,6 (3,3–19,1)	9,1 (0–40,0)	15,8 (4,7–38,4)	5,0 (1,2–14,3)	0	7,4 (4,2–12,5)
Haarlem	6,9 (2,2–16,9)	9,1 (0–40,0)	5,3 (0–26,5)	3,3 (1,2–14,3)	0	4,9 (2,4–9,5)
L4 inclassified	31,0 (20,6–43,9)	18,2 (4,0–48,9)	5,3 (0–26,5)	0	0	12,9 (8,5–19,0)
Mix (Beijing/Ural)	1,8 (0–10,3)	0	0	0	0	0,6 (0–3,7)

**Примечание.** Чувствительные — лекарственная чувствительность сохранена ко всем ПТП; монорезистентные — к 1 ПТП; полирезистентные — к 2 и более ПТП, но не к рифампицину и изониазиду; МЛУ (не ШЛУ) — к рифампицину и изониазиду и другим ПТП, но не к фторхинолонам и бедаквилину и линезолиду. Beijing другие — изоляты генотипа Beijing, не имеющие маркеров B0/W148 и Central Asian Russian кластеров.

\*Данные о лекарственной устойчивости доступны для 32 из 34 идентифицированных Beijing B0/W148.

**Note.** Sensitive — drug sensitivity is maintained to all anti-tuberculosis drugs; mono-resistant — drug sensitivity to one anti-tuberculosis drug; polyresistant — drug sensitivity to 2 or more anti-tuberculosis drugs, but not to rifampicin and isoniazid; MDR (not XDR) — drug sensitivity to rifampicin and isoniazid and other anti-tuberculosis drug, but not to fluoroquinolones and bedaquiline and linezolid. Beijing, other — isolates of the Beijing genotype that do not have markers of B0/W148 and Central Asian Russian clusters.

\*Drug resistance data are available for 32 of the 34 identified Beijing B0/W148 strains.

Russian [23–25] и апробированные впервые способы детекции генотипов S, LAM и Ural в формате ПЦР-РВ.

Результаты молекулярно-генетического скрининга популяции МБТ в Кемеровской области, показали, что, как и на многих территориях азиатской части России, преобладают штаммы генотипов Beijing (67,5%) и его эпидемически значимые кластеры Central Asian Russian (39,9%) и B0/W148 (20,9%) [3, 6, 7, 26]. Частоты обнаружения основных субтипов Beijing близки ранее опубликованным данным по Западной Сибири (Новосибирская, Томская и Омская области) [10, 20], однако значительно отличаются от представленных в недавнем исследовании [9], где доля Beijing составила 95% выборки, а доля B0/W148 превышала обнаруживаемые в Сибири частоты в 2 раза (46,4%). При этом количество включённых штаммов из Кемеровской области в этом исследовании не приведено и предполагать о каких-либо изменениях в динамике структуры пока не представляется возможным.

В настоящем исследовании группа non-Beijing также состояла из наиболее часто встречаемых генотипов LAM (6,7%), Ural (7,4%), Haarlem (4,9%) и L4-unclassified (12,9%). По частоте встречаемости LAM занимает 2-е место в большинстве азиатских регионов России (от 12,0 до 19,5%) [6–10]. Распространённость LAM в европейской части России и ряде стран бывшего СССР варьирует от 13,3% в Калининграде до 29,4% в Карелии [17]. Немаловажную роль среди non-Beijing-генотипов играет Ural, ранее считавшийся маловирулентным и лекарственно-чувствительным [18, 26], однако получившие недавно распространение новые его эпидемические кластеры с МЛУ [27] определяют актуальность его отслеживания в современной популяции МБТ. Штаммы Haarlem, обнаруженные в 4,9% случаев в сибирских регионах, являются минорными и по отношению к другим представителям евро-американской линии и часто являются лекарственно-чувствительными, в то время как в Южной Америке этот генотип сопровождается МЛУ в половине случаев (43,6%) [28]. Изоляты генотипа S не встречались в изучаемой выборке, что может быть естественным в ограниченных условиях проведения скрининга и при незначительной циркуляции этого генотипа в Сибири и на Дальнем Востоке (2–7% случаев), за исключением его эндемического распространения в Республике Саха (Якутии) [6, 10, 25, 26, 29].

Кемеровская область — Кузбасс имеет один из самых высоких уровней первичной МЛУ (35,0%) в Сибирском федеральном округе после Республики Тывы и Новосибирской области [30]. Поэтому важным результатом этого исследования является обнаружение факта, что стабильно высокий уровень МЛУ в популяционной структуре (46,5%) обеспечивается преимущественно штаммами geno-

типа Beijing (61,8%). Его эпидемический субтип — Beijing B0/W148 — был в 85,3% случаев с МЛУ и представлял пятую часть проанализированной нами выборки (20,9%). При этом штаммы Beijing B0/W148 с разными профилями MIRU-VNTR имели МЛУ со сходной частотой. Предыдущие исследования в Западной Сибири показали, что генотип Beijing также чаще встречался в образцах МЛУ-ТБ (71%) по сравнению с общими данными по ТБ (47%) [7, 10]. Сохранение стабильно высокого уровня МЛУ у гетерогенной группы Beijing B0/W148 также показано на других территориях, в частности в Восточной Сибири [6].

Напротив, в неоднородной группе Central Asian Russian кластера общий показатель МЛУ был ниже, чем у B0/W148 (50,8 и 85,3% соответственно), но штаммы одного профиля — 94-32 — имели значимо большую долю МЛУ (62,0%) по сравнению с остальными профилями (13,3%). Это может быть связано с присутствием среди группы 94-32 штаммов Central Asia Outbreak, которые характеризуются тем же профилем, но несут значимо чаще МЛУ [31]. Учитывая близость к Кемеровской области Казахстана, где наблюдается градиент распространённости Central Asia Outbreak в Центральной Азии, а также обнаружение штаммов этого субтипа в соседних областях (Новосибирской, Томской), высока вероятность связи МЛУ именно с этим вариантом возбудителя ТБ. Однако на данном этапе скрининга выявленный факт только нацеливает на более углублённое исследование Central Asian Russian кластера в дальнейшем мониторинге Кемеровской области.

Высокий уровень коинфекции ВИЧ-ТБ в Кемеровской области [30] нашёл отражение в скрининговой выборке. Более половины образцов составили штаммы МБТ, полученные от больных ВИЧ-ТБ (56,4%). При этом ВИЧ-позитивные случаи ТБ чаще были вызваны штаммами генотипа Beijing (75,0% против 57,7%) и МЛУ (54,8% против 35,2%), чем ТБ у ВИЧ-негативных больных, без значимой ассоциации с Beijing эпидемическими кластерами. По данным других российских исследователей азиатской части России, ассоциация сочетанной ВИЧ-ТБ-инфекции с МЛУ является устойчивой, однако связь с отдельными генотипами и субтипами Beijing носит неоднозначный характер [10, 32, 33]. Для выяснения роли основных кластеров в развитии сочетанной ВИЧ-ТБ-инфекции на территории Кемеровской области необходимы динамические и более масштабные исследования репрезентативной выборки этой группы пациентов.

Результаты использования в настоящем исследовании комплексного подхода молекулярного анализа циркулирующих в Кемеровской области МБТ также показали, что расширенное генотипирование MIRU-VNTR-24 с набором разработанных нами ПЦР-РВ-тестов имеет полную идентификационную

совместимость. Такой набор следует дополнить тестами на ещё один значимый кластер генотипа Beijing — Central Asia Outbreak — и ряд минорных генотипов евро-американской линии (Haarlem, T) и эндемичных субтипов генотипа Beijing (в частности, 1071-32 и 14717-15), чтобы охватить более 95% популяции МБТ, характерной для азиатских территорий России. В представленном наборе тесты могут быть уже рекомендованы для быстрого скрининга ретроспективных коллекций и для проспективного мониторинга штаммов МБТ.

**Ограничения исследования.** Настоящее исследование было ограничено выборкой штаммов МБТ, выявленных у больных, получавших преимущественно стационарное лечение в противотуберкулёзных диспансерах Кемеровской области, что отразилось в более высокой доле лекарственно-устойчивых изолятов МБТ по сравнению с популяционными исследованиями. Кроме того, мы не смогли использовать типирование MIRU-VNTR по 24 локусам для определения генотипа 21 изолятов, отнесённых к non-Beijing и сгруппированных в группу L4 unclassified.

### Заключение

Выявлено доминирование изолятов группы Beijing (67,5%) и его эпидемических кластеров Beijing Central Asian Russian и B0/W148 (39,9 и 20,9% соответственно), которые значимо отличались по уровням МЛУ (50,8 и 85,3% соответственно;  $p = 0,005$ ). Вторыми по распространённости были штаммы евро-американской линии (31,9%): LAM (6,7%), Ural (7,4%), Haarlem (4,9%) и L4-unclassified (12,9%). МЛУ среди этих минорных генотипов была значительно ниже, чем среди Beijing, и составляла 11,5% ( $p < 0,001$ ). Штаммы от больных ВИЧ-ТБ (56,4% общей выборки) несли чаще МЛУ-профиль (54,8%), чем в случаях ТБ без ВИЧ-инфекции (35,2%;  $p = 0,005$ ), что может быть связано с более высокими уровнями Beijing в группе больных ВИЧ-ТБ (75,0% против 57,7%;  $p = 0,026$ ). Показана полная сопоставимость разработанных нами тестов SNP-анализа для выявления основных генотипов и эпидемически значимых субтипов Beijing, позволивших охарактеризовать 75,5% выборки экспресс-методом.

Использование 24-локусного VNTR-типирования и экспресс-методов позволило определить структуру различных генетических линий МБТ, включая доминирующий Beijing и его эпидемически значимые субтипы Central Asian Russian и B0/W148, генотипы LAM, Ural и Haarlem, распространённость которых в основном совпадает с другими регионами Западной и Восточной Сибири. Особенностью популяции МБТ на территории Кемеровской области является значительное распространение штаммов генотипа Beijing, обладающих МЛУ.

### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Васильева И.А., Тестов В.В., Стерликов С.А. Эпидемическая ситуация по туберкулезу в годы пандемии COVID-19 — 2020–2021 гг. *Туберкулёз и болезни лёгких*. 2022;100(3):6–12. Vasilyeva I.A., Testov V.V., Sterlikov S.A. Tuberculosis situation in the years of the COVID-19 pandemic – 2020–2021. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2022;100(3):6–12. DOI: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2022-100-3-6-12> EDN: <https://elibrary.ru/dpmdcf>
2. Ревякина О.В., Филиппова О.П., Фелькер И.Г. и др. *Туберкулёз в Сибирском и Дальневосточном федеральных округах: информационно-аналитический обзор*. Новосибирск;2020. Revyakina O.V., Filippova O.P., Felker I.G., et al. *Tuberculosis in the Siberian and Far Eastern federal Districts: Information and Analytical Review*. Novosibirsk;2020. DOI: <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.36433.56169> EDN: <https://elibrary.ru/cfghih>
3. Mokrousov I., Narvskaya O., Vyazovaya A., et al. Russian 'successful' clone B0/W148 of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: multiplex PCR assay for rapid detection and global screening. *J. Clin. Microbiol.* 2012;50(11):3757–9. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.02001-12>
4. Mokrousov I., Chernyaeva E., Vyazovaya A., et al. Rapid assay for detection of the epidemiologically important central Asian/Russian strain of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype. *J. Clin. Microbiol.* 2018;56(2):e01551-17. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.01551-17>
5. Mokrousov I. Insights into the origin, emergence, and current spread of a successful Russian clone of *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin. Microbiol. Rev.* 2013;26(2):342–60. DOI: <https://doi.org/10.1128/CMR.00087-12>
6. Zhdanova S., Mokrousov I., Orlova E., et al. Transborder molecular analysis of drug-resistant tuberculosis in Mongolia and Eastern Siberia, Russia. *Transbound. Emerg. Dis.* 2022;69(5):e1800–14. DOI: <https://doi.org/10.1111/tbed.14515>
7. Dymova M.A., Cherednichenko A.G., Alkhovik O.I., et al. Characterization of extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates circulating in Siberia. *BMC Infect. Dis.* 2014;14:478. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-478>
8. Umpeleva T., Belousova K., Golubeva L., et al. Molecular characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* in the "closed" Russian town with limited population migration. *Infect. Genet. Evol.* 2020;79:104174. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104174>
9. Vyazovaya A., Felker I., Schwartz Y., Mokrousov I. Population structure of *Mycobacterium tuberculosis* from referral clinics in Western Siberia, Russia: Before and during the COVID-19 pandemic. *Infect. Genet. Evol.* 2022;103:105343. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2022.105343>
10. Dymova M.A., Kinsht V.N., Cherednichenko A.G., et al. Highest prevalence of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype isolates in patients newly diagnosed with tuberculosis in the Novosibirsk oblast, Russian Federation. *J. Med. Microbiol.* 2011;60(Pt. 7):1003–9. DOI: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.027995-0>
11. Reed M.B., Pichler V.K., McIntosh F., et al. Major *Mycobacterium tuberculosis* lineages associate with patient country of origin. *J. Clin. Microbiol.* 2009;47(4):1119–28. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.02142-08>
12. Shitikov E., Kolchenko S., Mokrousov I., et al. Evolutionary pathway analysis and unified classification of East Asian lineage



- of *Mycobacterium tuberculosis*. *Sci. Rep.* 2017;7(1):9227.  
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10018-5>
13. Homolka S., Projahn M., Feuerriegel S., et al. High resolution discrimination of clinical *Mycobacterium tuberculosis* complex strains based on single nucleotide polymorphisms. *PLoS One*. 2012;7(7):e39855.  
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039855>
  14. Mulholland C.V., Shockey A.C., Aung H.L., et al. Dispersal of *Mycobacterium tuberculosis* driven by historical european trade in the South Pacific. *Front. Microbiol.* 2019;10:2778.  
DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02778>
  15. Mokrousov I., Vyazovaya A., Narvskaya O. *Mycobacterium tuberculosis* Latin American-Mediterranean family and its sublineages in the light of robust evolutionary markers. *J. Bacteriol.* 2014;196(10):1833–41. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.01485-13>
  16. Merker M., Blin C., Mona S., et al. Evolutionary history and global spread of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage. *Nat. Genet.* 2015;47(3):242–9.  
DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.3195>
  17. Mokrousov I., Vyazovaya A., Iwamoto T., et al. Latin-American-Mediterranean lineage of *Mycobacterium tuberculosis*: Human traces across pathogen's phylogeography. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2016;99:133–43.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.03.020>
  18. Mokrousov I. *Mycobacterium tuberculosis* phylogeography in the context of human migration and pathogen's pathobiology: Insights from Beijing and Ural families. *Tuberculosis (Edinb.)*. 2015;95(Suppl. 1):S167–76.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tube.2015.02.031>
  19. Жданова С.Н., Огарков О.Б., Алексеева Г.И. и др. Генетическое разнообразие изолятов микобактерий туберкулеза из Республики Саха (Якутия), Россия. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2016;34(2):43–8.  
DOI: <https://doi.org/10.18821/0208-0613-2016-34-2-43-48>  
EDN: <https://elibrary.ru/vzydoh>  
Zhdanova S.N., Ogarkov O.B., Sinkov V.V., et al. Genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in the republic of Sakha (Yakutia), Russia. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2016;31(2):51–7.  
DOI: <https://doi.org/10.3103/S0891416816020105>  
EDN: <https://elibrary.ru/xfjfst>
  20. Mokrousov I. Ubiquitous and multifaceted: SIT<sub>53</sub> spoligotype does not correlate with any particular family of *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis (Edinb.)*. 2021;126:102024.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tube.2020.102024>
  21. Villellas C., Coeck N., Meehan C.J., et al. Unexpected high prevalence of resistance-associated Rv0678 variants in MDR-TB patients without documented prior use of clofazimine or bedaquiline. *J. Antimicrob. Chemother.* 2017;72(3):684–90.  
DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dkw502>
  22. Peretokina I.V., Krylova L.Y., Antonova O.V., et al. Reduced susceptibility and resistance to bedaquiline in clinical *M. tuberculosis* isolates. *J. Infect.* 2020;80(5):527–35.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.01.007>
  23. Хромова П.А., Огарков О.Б., Жданова С.Н. и др. Выявление высокотрансмиссивных генотипов возбудителя в клиническом материале для прогноза неблагоприятного течения туберкулеза. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017;62(10):622–7. Khromova P.A., Ogarkov O.B., Zhdanova S.N., et al. The detection of highly-transmissible genotypes of agent in clinical samples for prognosis of unfavorable course of tuberculosis. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2017;62(10):622–7.  
DOI: <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-10-622-627>  
EDN: <https://elibrary.ru/zoladv>
  24. Жданова С.Н., Огарков О.Б., Савилов Е.Д., Кондратов И.Г. Применение молекулярно-генетических инструментов для оценки трансграничной передачи туберкулеза в Иркутской области. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2022; 21(2):59–65. Zhdanova S.N., Ogarkov O.B., Savilov E.D., Kondratov I.G. Application of new molecular genetic strategies for transborder transmission analysis of tuberculosis in Irkutsk region. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022;21(2):59–65.  
DOI: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-2-59-65>  
EDN: <https://elibrary.ru/yimgdfc>
  25. Pasechnik O., Dymova M.A., Stasenko V.L., et al. Molecular & genetic characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* strains circulating in the southern part of West Siberia. *Indian J. Med. Res.* 2017;146(1):49–55.  
DOI: [https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR\\_162\\_16](https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_162_16)
  26. Умпелева Т.В., Кравченко М.А., Еремеева Н.И. и др. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих на территории уральского региона России. *Инфекция и иммунитет*. 2013;3(1):21–8. Umpeleva T.V., Kravchenko M.A., Eremeeva N.I., et al. Molecular characterization of *Mycobacterium tuberculosis* strains circulating in the Ural region, Russia. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2013;3(1):21–8.  
DOI: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2013-1-21-28>  
EDN: <https://elibrary.ru/qcubwd>
  27. Sinkov V., Ogarkov O., Mokrousov I., et al. New epidemic cluster of pre-extensively drug resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis* Ural family emerging in Eastern Europe. *BMC Genomics*. 2018;19(1):762.  
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5162-3>
  28. Tarashi S., Fateh A., Jamnani F.R., et al. Prevalence of Beijing and Haarlem genotypes among multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Iran: systematic review and meta-analysis. *Tuberculosis (Edinb.)*. 2017;107:31–7.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tube.2017.03.005>
  29. Zhdanova S., Heysell S.K., Ogarkov O., et al. Primary multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in 2 regions, Eastern Siberia, Russian Federation. *Emerg. Infect. Dis.* 2013;19(10):1649–52.  
DOI: <https://doi.org/10.3201/eid1910.121108>
  30. Лебедева И.Б., Осинцева И.Ю., Бондаренко Т.Е. и др. COVID-19 в популяции больных туберкулёзом: эпидемиологическая и клиническая характеристика. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2021;6(3): 71–84. Lebedeva I.B., Osintseva I.Yu., Bondarenko T.E., et al. COVID-19 in patients with tuberculosis: epidemiological and clinical features. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2021;6(3):71–84.  
DOI: <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2021-6-3-71-84>  
EDN: <https://elibrary.ru/twfkna>
  31. Филиппова О.П., Павленок И.В., Гордеева Е.И. и др. Основные показатели противотуберкулёзной деятельности в Сибирском и Дальневосточном федеральных округах: статистические материалы. Новосибирск;2021. Filippova O.P., Pavlenok I.V., Gordeeva E.I., et al. *The main indicators of anti-tuberculosis activity in the Siberian and Far Eastern Federal Districts: statistical Materials*. Novosibirsk;2021.  
EDN: <https://elibrary.ru/fsxdks>
  32. Микова О.Е., Жданова С.Н., Сергеевнин В.И. и др. Высокая распространённость генотипа В0/W148 *Mycobacterium tuberculosis* у больных ВИЧ-инфекцией, сочетанной с туберкулёзом, в Пермском крае и Иркутской области. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской Академии медицинских наук*. 2016;1(5):142–5. Mikova O.E., Zhdanova S.N., Sergevnin V.I.,

et al. High prevalence of genotype B0/W148 of *Mycobacterium tuberculosis* among HIV-TB patients in Perm Krai and Irkutsk region. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2016;1(5):142–5. DOI: <https://doi.org/10.12737/23412>  
EDN: <https://elibrary.ru/wxbrvf>

33. Вязовая А.А., Пасечник О.А., Герасимова А.А., Мокроусов И.В. Структура популяции генетического семейства

Beijing *Mycobacterium tuberculosis* на территории Западной Сибири. *Туберкулез и болезни легких*. 2020;98(5):32–6. Vyazovaya A.A., Pasechnik O.A., Gerasimova A.A., Mokrousov I.V. The population structure of Beijing family of *Mycobacterium tuberculosis* in Western Siberia. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2020;98(5):32–6.

DOI: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2020-98-5-32-36>  
EDN: <https://elibrary.ru/mmedwz>

#### Информация об авторах

**Лебедева Ирина Борисовна**<sup>✉</sup> — аспирант каф. эпидемиологии, инфекционных болезней и дерматовенерологии Кемеровского государственного медицинского университета, Кемерово, Россия, [lib\\_2008@mail.ru](mailto:lib_2008@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-3848-9206>

**Жданова Светлана Николаевна** — д.м.н., в.н.с. Института эпидемиологии и микробиологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7160-9700>

**Кондратов Илья Геннадьевич** — к.б.н., н.с. Института эпидемиологии и микробиологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

**Сибиль Кирилл Валерьевич** — к.м.н., главный врач Кузбасского клинического фтизиопульмонологического медицинского центра им. И.Ф. Копыловой, Кемерово, Россия, <https://orcid.org/0009-0003-1993-3249>

**Огарков Олег Борисович** — д.м.н., г.н.с., директор Института эпидемиологии и микробиологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>

**Брусина Елена Борисовна** — д.м.н., профессор, зав. каф. эпидемиологии, инфекционных болезней и дерматовенерологии Кемеровского государственного медицинского университета, Кемерово, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8616-3227>

**Участие авторов:** *Лебедева И.Б.* — валидация результатов и написание статьи; *Жданова С.Н.* — концептуализация, методология и написание статьи; *Кондратов И.Г.* — валидация результатов и написание статьи; *Сибиль К.В.* — администрирование и редакция статьи; *Огарков О.Б.* — концептуализация и редакция статьи; *Брусина Е.Б.* — методология и редакция статьи.

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 23.09.2023;  
принята к публикации 17.11.2023;  
опубликована 06.12.2023

#### Information about the authors

**Irina B. Lebedeva**<sup>✉</sup> — postgraduate Student, Department of epidemiology, infectious diseases and dermatovenerology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia, [lib\\_2008@mail.ru](mailto:lib_2008@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-3848-9206>

**Svetlana N. Zhdanova** — D. Sci. (Med.), leading researcher, Department of epidemiology and microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7160-9700>

**Ilya G. Kondratov** — Cand. Sci. (Biol.), researcher, Department of epidemiology and microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

**Cyril V. Sibil** — Cand. Sci. (Med.), Chief doctor, Kuzbass Clinical Phthisiopulmonological Medical Center named after I.F. Kopylova, Kemerovo, Russia, <https://orcid.org/0009-0003-1993-3249>

**Oleg B. Ogarkov** — D. Sci. (Med.), Head, Department of epidemiology and microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>

**Elena B. Brusina** — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of epidemiology, infectious diseases and dermatovenerology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8616-3227>

**Author contribution.** *Lebedeva I.B.* — validation of results and writing of the article; *Zhdanova S.N.* — conceptualization, methodology and writing of the article; *Kondratov I.G.* — validation of results and writing of the article; *Sibil C.V.* — administration and revision of the article; *Ogarkov O.B.* — conceptualization and revision of the article; *Brusina E.B.* — methodology and revision of the article.

All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 23.09.2023;  
accepted for publication 17.11.2023;  
published 06.12.2023

Оригинальная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-395>

## Потенциал адаптации к млекопитающим вирусам гриппа птиц H7N2 североамериканской линии

Ляшко А.В.<sup>1</sup>, Руднева И.А.<sup>1</sup>, Щербинин Д.Н.<sup>1</sup>, Ломакина Н.Ф.<sup>1</sup>, Трещалина А.А.<sup>2</sup>,  
Куприянова И.М.<sup>1</sup>, Гамбарян А.С.<sup>2</sup>, Тимофеева Е.Б.<sup>1</sup>, Шилов А.А.<sup>1</sup>, Садыкова Г.К.<sup>1</sup>,  
Прилипов А.Г.<sup>1</sup>, Тимофеев Б.И.<sup>1</sup>, Шмаров М.М.<sup>1,3</sup>, Рязанова Е.Л.<sup>3</sup>, Тимофеева Т.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия;

<sup>2</sup>Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия;

<sup>3</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

### Аннотация

**Введение.** Вирусы гриппа птиц подтипа H7 вызывают тяжёлые эпизоотии среди птиц и филогенетически различаются в Восточном и Западном полушарии. Многочисленные случаи заражения людей этими вирусами в Восточном полушарии указывают на то, что вирусы H7 могут преодолевать межвидовой барьер и представляют потенциальную угрозу новой пандемии. Вирусы H7N2 с делецией аминокислот 221–228 (в нумерации H3) в гемагглютинине (HA) циркулировали среди домашней птицы в Западном полушарии в 1996–2006 гг. и вновь были обнаружены в 2016 г. в приюте для животных, где вызвали заболевание кошек.

**Цель** работы — выяснить механизм адаптации к млекопитающим вирусам гриппа североамериканской линии H7N2 с делецией в HA.

**Материалы и методы.** Вирус A/chicken/New Jersey/294598-12/2004 (H7N2) был адаптирован к мышам пассированием через лёгкие. Проведён анализ полных геномов исходного и адаптированного к мышам вариантов вируса. Определены специфичность вирусов к аналогам клеточных рецепторов, термостабильность HA, значение pH активации HA, вирулентность для мышей.

**Результаты.** Непатогенный птичий вирус гриппа H7N2 после 10 пассажей на мышах стал патогенным. В 5 вирусных белках произошли аминокислотные замены: по 1 в PB2 (E627K), NA (K127N), NP (E14Q), 4 в HA, 6 в NS1. Мутации в HA слабо повлияли на рецепторную специфичность, но способствовали возрастанию значения pH активации HA на 0,4 единицы. Наибольшим изменениям подвергся белок NS1 в позициях N73T, S114G, K118R, G171A, F214L и G224R, где в исходном варианте наблюдался полиморфизм, а в адаптированном варианте сохранились только минорные альтернативные аминокислоты.

**Заключение.** Из результатов следует, что вирусы H7N2 обладают потенциалом адаптации к млекопитающим. Возрастание вирулентности, скорее всего, обусловлено адаптационной мутацией E627K в PB2 и, возможно, мутациями в HA.

**Ключевые слова:** вирус гриппа подтипа H7N2, адаптация к млекопитающим, адаптационные мутации

**Этическое утверждение.** Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23.07.2010). Протокол исследования одобрен Комитетом по этике Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи (протокол № 12 от 28.06.2021).

**Благодарность.** Авторы благодарят сотрудников лаборатории анализа геномов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи О.Л. Воронину, Е.И. Аксенову, М.С. Кунда, Н.Н. Рыжову за полногеномное секвенирование вирусов на платформе «Illumina».

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Для цитирования:** Ляшко А.В., Руднева И.А., Щербинин Д.Н., Ломакина Н.Ф., Трещалина А.А., Куприянова И.М., Гамбарян А.С., Тимофеева Е.Б., Шилов А.А., Садыкова Г.К., Прилипов А.Г., Тимофеев Б.И., Шмаров М.М., Рязанова Е.Л., Тимофеева Т.А. Потенциал адаптации к млекопитающим вирусам гриппа птиц H7N2 североамериканской линии. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(6):442–453. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-395>  
EDN: <https://www.elibrary.ru/vfdotz>

# The adaptive potential of North American subtype H7N2 avian influenza viruses to mammals

Aleksandr V. Lyashko<sup>1</sup>, Irina A. Rudneva<sup>1</sup>, Dmitrii N. Shcherbinin<sup>1</sup>, Natalia F. Lomakina<sup>1✉</sup>, Anastasia A. Treshchalina<sup>2</sup>, Irina M. Kupriyanova<sup>1</sup>, Alexandra S. Gambaryan<sup>2</sup>, Elena B. Timofeeva<sup>1</sup>, Aleksandr A. Shilov<sup>1</sup>, Galina K. Sadykova<sup>1</sup>, Alexey G. Prilipov<sup>1</sup>, Boris I. Timofeev<sup>1</sup>, Maxim M. Shmarov<sup>1,3</sup>, Elena L. Ryazanova<sup>3</sup>, Tatiana A. Timofeeva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune and Biological Products, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

## Abstract

**Introduction.** H7 subtype avian influenza viruses causing severe epizootics among birds are phylogenetically different in the Eastern and Western hemispheres. Numerous human infections caused by these viruses in the Eastern hemisphere indicate that H7 viruses can overcome the interspecies barrier and pose a potential threat of a new pandemic. The H7N2 viruses with deletion of amino acids 221–228 (H3 numbering) in hemagglutinin (HA) had been circulating among poultry in the Western Hemisphere during 1996–2006, and had once again been detected in 2016 in an animal shelter, where they caused cat diseases.

**The objective of this study** is to elucidate the mechanism of adaptation to mammals of North American H7N2 influenza viruses with deletion in HA.

**Materials and methods.** The A/chicken/New Jersey/294598-12/2004 (H7N2) virus was adapted to mice by the lung passages. Complete genomes of original and mouse-adapted viruses were analyzed. The receptor specificity and thermostability of viruses, HA activation pH and virulence for mice were determined.

**Results.** The non-pathogenic H7N2 avian influenza virus became pathogenic after 10 passages in mice. Amino acid substitutions occurred in five viral proteins: one in PB2 (*E627K*), NA (*K127N*), NEP (*E14Q*), four in HA and six in NS1. Mutations in HA slightly changed receptor specificity but increased the pH of HA activation by 0.4 units. The NS1 protein undergone the greatest changes in the positions (*N73T*, *S114G*, *K118R*, *G171A*, *F214L* and *G224R*), where amino acid polymorphisms were observed in the original virus, but only minor amino acid variants have been preserved in the mouse adapted variant.

**Conclusion.** The results show that H7N2 viruses have the potential to adapt to mammals. The increase in virulence is most likely due to the adaptive *E627K* mutation in PB2 and possibly in HA.

**Keywords:** *H7N2 influenza virus; adaptation to mammals; adaptive mutations*

**Ethics approval.** Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23 July 2010). The research protocol was approved by the Ethics Committee of the D.I. Ivanovsky Institute of Virology of the National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya (protocol No. 12, 28 June, 2021).

**Acknowledgement.** The authors thank the staff of the Genome Analysis Laboratory of the N.F. Gamaleya Federal State Budgetary Institution of the Russian Ministry of Health O.L. Voronina, E.I. Aksenova, M.S. Kunda and N.N. Ryzhova for the complete genome sequencing of viruses on the Illumina platform.

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**For citation:** Lyashko A.V., Rudneva I.A., Shcherbinin D.N., Lomakina N.F., Treshchalina A.A., Kupriyanova I.M., Gambaryan A.S., Timofeeva E.B., Shilov A.A., Sadykova G.K., Prilipov A.G., Timofeev B.I., Shmarov M.M., Ryazanova E.L., Timofeeva T.A. The adaptive potential of North American subtype H7N2 avian influenza viruses to mammals. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2023;100(6):442–453.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-395>

EDN: <https://www.elibrary.ru/>

## Введение

Вирусы гриппа А подтипа Н7 ассоциируются с тяжёлыми эпизоотиями птичьего гриппа среди домашней птицы, преимущественно отряда курообраз-

ных. По вирулентным свойствам вирусы гриппа Н7 подразделяются на низкопатогенные (апатогенные) и высокопатогенные [1]. Низкопатогенные вирусы бессимптомно циркулируют среди домашних и диких

птиц околоводного комплекса [2, 3]. Высокопатогенные вирусы главным образом выделяют от домашних птиц, у которых они вызывают заболевание с характерными признаками и летальным исходом [4]. В период эпизоотий в неблагополучных районах высокопатогенные вирусы H7 были также обнаружены у разных видов синантропных и диких птиц [5, 6].

Случаи заражения людей вирусом H7 были зафиксированы в XX в. у лиц, тесно контактировавших с больной птицей. В 2003 г. первые массовые заражения наблюдали у 82 работников птицефермы во время эпизоотии высокопатогенного гриппа H7N7 в Нидерландах. Инфекция проявлялась в виде конъюнктивита и/или гриппоподобного заболевания в лёгкой форме, в 1 случае болезнь привела к летальному исходу [7].

В 2013–2017 гг. 5 волн эпидемии гриппа H7N9 поразили Китай. Возбудителем эпидемий оказались как низко- так и высокопатогенные вирусы гриппа птиц. За весь период было зарегистрировано 1568 заболевших, из которых 616 скончались. Источником заражения людей стали рынки живой птицы и дворовые хозяйства домашней птицы, где низкопатогенные вирусы H7 бессимптомно присутствовали с 2013 г. [3, 6]. В 2016 г. на юге Китая (провинция Гуандун) появился высокопатогенный вирус H7, который резко отличался по свойствам и клиническим проявлениям от присутствовавших ранее и эволюционировал из предшественника одной из многочисленных линий низкопатогенного вируса H7, циркулировавших в Китае с 2013 г. [6, 8–10].

Заболевания людей в тяжёлой лёгочной форме со смертельным исходом вызвали озабоченность ВОЗ в связи с потенциальной угрозой возникновения нового пандемического вируса подтипа H7. Была разработана программа по противодействию возможной пандемии<sup>1</sup>, что послужило стимулом для учёных разных стран к изучению особенностей вирусов гриппа птиц подтипа H7.

Филогенетически все вирусы подтипа H7 разделяют на вирусы Западного полушария, Восточного полушария и линию вирусов гриппа лошадей. Среди вирусов Восточного полушария обособленно выделяется Австралийская линия вирусов. Остальные изоляты принадлежат хорошо изученной Евразийской линии и образуют многочисленные ветви на эволюционном дереве, отражающие их географическое распределение [11]. Вирусы H7 Западного полушария по HA разделяют на три больших кластера и несколько клад [12]. Исследуемый в настоящей работе вирус принадлежит кладе П-2 северноамериканской линии.

Низкопатогенные вирусы H7 вызывают бессимптомную инфекцию у диких водоплавающих птиц. Их занос в популяцию домашних птиц долгое время может оставаться незамеченным, если вирус не вызывает клинических проявлений [2, 4, 10]. Циркуляция среди домашних птиц (отряд курообразных) способствует накоплению мутаций, которые приводят к изменению вирулентности и формированию высокопатогенных вирусов [4, 8, 10, 13].

За 1959–2019 гг. в разных частях мира наблюдали 27 независимых событий происхождения высокопатогенных вирусов гриппа H7 из низкопатогенного предшественника [13].

Ведущую роль в эволюции и изменении патогенности вирусов гриппа H7 играет поверхностный белок гемагглютинин (HA), в котором находятся главные антигенные детерминанты вируса. На стадии проникновения вируса в клетку HA обеспечивает связь с клеточными рецепторами [14] и опосредует слияние вирусной и клеточной мембран [15]. Детерминантой патогенности вирусов H7 является структура сайта протеолитического расщепления предшественника HA: в апатогенных штаммах присутствует один аминокислотный остаток аргинина (R), в высокопатогенных — вставка из нескольких аминокислот с основными свойствами [1, 13].

Специфичность вирусов гриппа относительно круга хозяев определяется их способностью распознавать рецепторы, характерные для определённого вида хозяина. Рецепторы птиц представляют собой сиалогликозиды с типом связи alpha2-3, а рецепторы человека (возможно, и других млекопитающих) — сиалогликозиды с типом связи alpha2-6. Структуру рецептор-связывающего кармана HA всех вирусов гриппа формируют три составляющих элемента (в нумерации H3): петля-130 (а.к. 134–138), петля-190 (а.к. 188–194) и петля-220 (а.к. 221–228). Мутации в этих участках HA приводят к адаптации вирусов к человеку и формированию пандемических штаммов подтипов H1N1 (*E190D/G225D*) и H2N2/H3N2 (*Q226L* и *G228S*) [14, 16].

Для межвидовой смены хозяина вирусы гриппа должны обладать способностью распознавать рецепторы нового хозяина и приспособиться к использованию клеточных факторов хозяина, которые необходимы вирусу для успешной репродукции. Мутации, способствующие адаптации к новому хозяину, в первую очередь затрагивают поверхностные белки HA и нейраминидазу (NA), белки полимеразного комплекса, а также неструктурный белок NS1. Белок NS1 ингибирует передачу сигналов противовирусной защиты хозяина и подавляет экспрессию его белков. Множественные функции NS1 осуществляет благодаря взаимодействию с белками, РНК и другими факторами хозяйской клетки, которые отличаются у разных хозяев. Отличия в первичной структуре NS1 специализированных ви-

<sup>1</sup> The PIP Framework's Partnership Contribution (PC) High-Level Implementation Plan II 2018–2023 (HLIP-II).  
URL: <https://www.who.int/publications/i/item/pip-pc-preparedness-high-level-implementation-plan-ii-2018-2023>

русов разной хозяйской принадлежности отражают высокую пластичность этого белка, которому отводится важная роль в преодолении межвидового барьера и адаптации вируса к новому хозяину [17, 18]. Адаптированный к новым условиям вирус должен не только размножаться в новом организме, но и передаваться от одного индивидуума другому, т.е. обладать достаточно высокой контагиозностью. До сих пор не зафиксированы доказанные случаи передачи вирусов H7Nx от человека к человеку<sup>2</sup>, заражение происходило при тесном контакте с источником инфекции — в основном с больной птицей.

В 1996 г. на рынках живой птицы на северо-востоке США были обнаружены низкопатогенные вирусы H7 с делецией из 8 аминокислот (п. 221–228 в нумерации по H3) в HA — у них отсутствовала петля-220 в области рецепторсвязывающего сайта [2]. Североамериканская линия вирусов с делецией (клада II-2) циркулировала на северо-востоке США с 1996 по 2006 г. среди домашней птицы [12]. Вирусы имели сайт расщепления HA слабовирулентного фенотипа [2] и обладали двойственной специфичностью взаимодействия с рецепторами, т.е. наряду с высокой аффинностью к рецепторам «птичьего» типа ( $\alpha$ 2-3) они проявляли умеренное связывание с рецепторами, характерными для человека ( $\alpha$ 2-6) [11, 16, 19]. Существенную роль в сохранении третичной структуры HA и обеспечении двойственной рецепторной специфичности играют два аргинина — R220 и R229, оказавшиеся рядом из-за делеции п. 221–228 (в нумерации H3), как показало исследование вируса A/New York/107/2004 (H7N2) североамериканской линии (клада II-2), изолированного от человека [16].

Способность вирусов H7N2 распознавать рецепторы человеческого типа указывает на повышенный потенциал преодоления межвидового барьера и адаптацию к человеку или другим видам млекопитающих.

За время циркуляции вирусов подтипа H7N2 (1994–2006 гг.) на северо-востоке США были зафиксированы 2 лабораторно подтверждённых случая инфицирования людей этими вирусами. Позднее, с декабря 2016 г. по февраль 2017 г., в приютах для животных в Нью-Йорке наблюдали вспышку респираторной инфекции среди домашних кошек. Причиной заболевания около 500 кошек оказался низкопатогенный вирус гриппа H7N2 с делецией в HA. У ветеринара, тесно контактировавшего с больной кошкой, наблюдалась гриппоподобная инфекция. Секвенирование 6 изолятов от кошек и 1 изолята от человека показало, что все 8 сегментов кошачьих вирусов филогенетически были близки

низкопатогенным вирусам кур, циркулировавшим в Нью-Йорке в конце 1990-х и начале 2000-х гг. Вирусы от кошек и человека были почти идентичны, и у них отсутствовали адаптационные мутации для млекопитающих [20, 21].

Возможность преодоления межвидового барьера вирусами H7N2 с делецией петли-220 в HA побудила нас к исследованию механизма адаптации этих вирусов к млекопитающим на примере одного из представителей этой линии — вируса A/chicken/New Jersey/294598-12/2004.

**Цель работы** — выяснить механизм адаптации к млекопитающим вирусам гриппа североамериканской линии H7N2 с делецией в HA.

## Материалы и методы

Вирус A/chicken/NJ/294508-12/2004 (H7N2) (GenBank EU743253-EU743260), который поддерживался в куриных эмбрионах (КЭ), был любезно предоставлен доктором А.И. Климовым, CDC USA (CDC-2004708596). В результате клонирования вируса методом предельных разведений в КЭ был получен вариант A/chicken/New Jersey/294598-12/2004 (ch/NJ), который использовали в настоящей работе в качестве исходного вируса.

Адаптация вируса к размножению в лёгких белых беспородных мышей проведена, как описано ранее [25]. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23.07.2010). Исследования на животных одобрены Комитетом по этике Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи (протокол № 12 от 28.06.2021).

Реакция гемагглютинации (РГА) проводилась по общепринятой методике [1]. 50% эмбриональную инфекционную дозу (ЭИД<sub>50</sub>/мл) вирусов гриппа определяли, как описано в работе [25], каждым разведением вируса заражали 5 КЭ. Среднее значение ЭИД<sub>50</sub>/мл для каждого вируса вычисляли методом L.J. Reed и H. Muench [22].

Определение 50% летальной дозы (ЛД<sub>50</sub>) вируса гриппа проводили на мышах линии BALB/c согласно [25], для каждого разведения вируса использовали по 6 мышей в группе. Значение ЛД<sub>50</sub>/мл вычисляли по методу Кербера в редакции Ашмарина [23].

Секвенирование на платформе «MiSeq» («Illumina») выполнено сотрудниками лаборатории анализа геномов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи О.Л. Ворониной, Е.И. Аксеновой, М.С. Кунда, Н.Н. Рыжовой (GenBank, MN400380-MN400395). Библиотеки готовили согласно [24], секвенирование выполняли на платформе «MiSeq» («Illumina») с использованием картриджа 600-cycle «MiSeq Reagent Kit v3».

<sup>2</sup> Avian influenza A (H7N9) virus outbreak.  
URL: [https://www.who.int/emergencies/situations/avian-influenza-a-\(h7n9\)-virus-outbreak](https://www.who.int/emergencies/situations/avian-influenza-a-(h7n9)-virus-outbreak)

**Таблица 1.** Фенотипические свойства исходного вируса A/chicken/NJ/294598-12/2004 (H7N2) (ch/NJ) и его адаптированного к мышам варианта (MA/NJ)**Table 1.** Phenotypic properties of the original (ch/NJ) and mouse-adapted (MA/NJ) variants of the virus A/chicken/NJ/294598-12/2004 (H7N2)

Вирус Virus	Вирулентность* Virulence*	Термо- стабильность, °C Thermostability, °C	Значение pH активации HA# HA activation pH values#	Сродство к аналогам рецепторов, $K_{diss}$ , nM SA** Affinity for cell receptor analogues, $K_{diss}$ , nM SA**		
				Fet-HRP	3'SLN	6'SLN#
ch/NJ	> 9,6 авирулентный avirulent	62,3 ± 0,2	5,2 ± 0,1	200 ± 100	100 ± 50	200 ± 50
MA/NJ	4,0 ± 0,2	62,3 ± 0,2	5,6 ± 0,1	200 ± 100	100 ± 50	500 ± 50

**Примечание.** Для каждого метода исследования приведены средние значения 3 независимых экспериментов.

\*Вирулентность представлена как  $\lg$  ЭИД<sub>50</sub> в единице ЛД<sub>50</sub>.

\*\*Результаты титрования с фетуиновым конъюгатом (Fet-HRP) и биотинилированными полимерами 3'SLN и 6'SLN представлены в виде константы диссоциации, выраженной в наномолях сиаловой кислоты. Более высокое значение соответствует меньшему сродству к рецепторным аналогам.

# $p \leq 0,05$  по критерию Стьюдента.

**Note.** The average values of three independent experiments are presented.

\* Virulence for mice is represented as  $\log_{10}$  of EID<sub>50</sub> in one unit of LD<sub>50</sub>. A lower value corresponds to a higher pathogenicity.

\*\* The results of titration with peroxidase-labeled fetuin conjugate (Fet-HRP) and biotinylated polymers 3'SLN (Neu5Acα2-3Galβ1-4GlcNAcβ) and 6'SLN (6'SLN — Neu5Acα2-6Galβ1-4GlcNAcβ) are presented as a dissociation constant expressed in nanomoles of sialic acid. A higher value corresponds to a lower affinity for cellular receptor analogues.

#Significant differences according to the Student's criterion ( $p \leq 0.05$ ).

Сборку геномов *de novo* и по референсу A/chicken/NJ/294508-12/2004(H7N2) (EU743253-EU743260, GenBank) проводили в программе «CLC Genomics Workbench 10.0».

Секвенирование методом Сэнгера проведено, как описано ранее [25]. Для структурно-функционального анализа нуклеотидных и аминокислотных последовательностей использовали биоинформационные ресурсы The National Center for Biotechnology Information<sup>3</sup> и Influenza Research Database<sup>4</sup> (IRD).

Термостабильность HA вирусов гриппа определяли, как описано ранее [25]. Температурой инактивации считалась та, при которой после 40 мин инкубации вируса титр в РГА снижался на 6  $\log_2$ .

Значение pH активации HA определяли методом гемолиза эритроцитов [25], который основан на способности HA агглютинировать эритроциты при нейтральных значениях pH и вызывать их гемолиз при низких значениях вследствие конформационного изменения HA.

Сродство вирусов к аналогам клеточных рецепторов определяли по взаимодействию с сиалоолигосахаридами, конъюгированными с высокомолекулярным полиакриламидом, меченным биотином [14]. Использовали сиалоолигосахариды Neu5Acα2-3Galβ1-4GlcNAcβ (3'SLN) и Neu5Acα2-6Galβ1-4GlcNAcβ (6'SLN). Результаты выражали в виде константы диссоциации, рассчитанной по сиаловой кислоте ( $K_{diss}$ , nM SA).

Статистическая обработка данных выполнена с применением параметрического t-теста Стьюдента (pH активации и термостабильность HA), не-

параметрического критерия Фридмана (ANOVA) и Манна–Уитни (титр вирусов) при критическом уровне значимости  $p \leq 0,05$ . Для проведения соответствующих расчётов использовали программы «MS Office Excel 2016» и «Statistica 8.0». Полученные результаты представлены как среднеарифметическое (pH активации и термостабильность HA) или среднегеометрическое (титр вирусов) значение со стандартным отклонением.

## Результаты

### Адаптация к мышам

Адаптацию вируса гриппа птиц A/chicken/NJ/294598-12/2004 (ch/NJ) к размножению в лёгких мышей проводили последовательными пассажами через лёгкие. После 10 пассажей получили вариант, который вызывал гибель мышей с обширными геморрагическими поражениями лёгких. Полученный вариант был однократно клонирован методом предельных разведений в КЭ для получения однородной вирусной популяции, назван A/chicken/NJ/294598-12MA/2004 (MA/NJ) и депонирован в Государственную коллекцию вирусов (подразделение Института вирусологии им. Д.И. Ивановского НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи) под номером 2890.

### Фенотипические свойства вирусов

Исходный клонированный вариант ch/NJ наплавался в КЭ в титре 9,6  $\lg$  ЭИД<sub>50</sub>, близкий титр накопления (9,7  $\lg$  ЭИД<sub>50</sub>) был у адаптированного к мышам варианта MA/NJ.

Исходный ch/NJ и адаптированный к мышам MA/NJ-вариант были исследованы на патогенность для мышей, рецепторную специфичность, термо-

<sup>3</sup> URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>

<sup>4</sup> URL: <https://www.bv-brc.org>

стабильность вируса и значение рН активации НА (табл. 1).

Исходный вирус обладал авирулентным фенотипом для мышей: мыши оставались живы после интраназального инфицирования предельно высокими дозами вируса (8,6 и 9,6 Ig ЭИД<sub>50</sub> на мышь). Напротив, адаптированный вариант MA/NJ в меньших дозах (4,7 Ig ЭИД<sub>50</sub> на мышь) вызывал гибель 100% животных с характерными изменениями в лёгких.

Возрастание вирулентности MA/NJ сопровождалось увеличением значения рН активации НА на 0,4 ед. по сравнению с исходным вирусом ch/NJ (табл. 1).

При определении рецепторной специфичности оба варианта вируса связывались с фетуином, что характерно для всех вирусов гриппа. Сродство к аналогу рецепторов птиц 3'SLN у них было немного выше, чем к аналогу человеческих рецепторов 6'SLN; у адаптированного варианта MA/NJ сродство к человеческому рецептору понизилось в большей степени, чем у исходного вируса ch/NJ.

#### Секвенирование

При секвенировании на платформе «Illumina» для некоторых позиций в сегментах 4 и 8 получены неоднозначные результаты, поэтому было проведено дополнительное секвенирование методом Сэнгера. Результаты секвенирования разными методами совпали (табл. 2). Установлено, что исходный вирус ch/NJ представлял собой гетерогенную популяцию с полиморфизмом в сегментах 4 и 8. Последовательные пассажи в лёгких мышей позволили получить гомогенную популяцию вируса с закреплением аминокислот, которые в исходном вирусе присутствовали в качестве минорных. Исключение составила п. 125/133 в НА, где наблюдали гетерогенность (F < L) в MA/NJ-варианте, отсутствующую в исходном вирусе. В адаптанте MA/NJ были обнаружены аминокислотные замены в 5 белках: по 1 в PB2, NA, NEP, 4 в НА, 6 в NS1.

#### Обсуждение

##### Анализ аминокислотных замен в вирусных белках

В белке **PB2** полимеразы замена E627K считается адаптационной к млекопитающим. Она повышает полимеразную активность вирусной полимеразы и увеличивает патогенность вируса для млекопитающих [26–28]. Можно предположить, что возрастание вирулентности для мышей варианта MA/NJ обусловлено именно этой мутацией.

**Нейраминидаза** обоих вариантов имеет делецию 16 аминокислот (п. 56–71)<sup>5</sup> в стеблевой ча-

**Таблица 2.** Аминокислотные различия в исходном (ch/NJ) и адаптированном к мышам (MA/NJ) вариантах вируса A/chicken/New Jersey/294598-12C/2004 (H7N2)

**Table 2.** Amino acid differences in the original (ch/NJ) and mouse-adapted (MA/NJ) variants of the A/chicken/New Jersey/294598-12/2004 (H7N2) virus

Белок Protein	Позиция аминокислоты Amino acid position	ch/NJ <sup>2</sup>	MA/NJ
PB2	627	E	K
HA <sup>1</sup>	125/133	F	L > F
HA	156/164	<b>D</b> > N	N
HA	198/207	G	E
HA	328/330	K	T
NA	127	K	N
NS1	73	<b>N</b> > T	T
NS1	114	<b>S</b> > G	G
NS1	118	<b>K</b> > R	R
NS1	171	<b>G</b> > A	A
NS1	214	<b>F</b> > L	L
NS1	224	R = G	R
NEP	14	<b>E</b> > Q	Q

**Примечание.** <sup>1</sup>Нумерация НА соответствует H3/H7. Приведена нумерация по зрелому белку HA/H3 штамма A/Aichi/2/68, для HA/H7 — по последовательности ACF25499 (GenBank).

<sup>2</sup>Преобладающая аминокислота выделена жирным шрифтом.

**Note.** <sup>1</sup>The numbering of HA corresponds to H3/H7. Numbering is given for the mature HA/H3 protein of strain A/Aichi/2/68, and for HA/H7 according to the sequence ACF25499 (GenBank).

<sup>2</sup>The ratio of alternative amino acids. The predominant amino acid is in bold font.

сти молекулы. Замена K127N (143) (нумерация по QEL43992, GenBank) в NA подтипа N2 находится в головной части молекулы, выступающей на поверхности вириона, входит в состав экспериментально установленных эпитопов и отличается полиморфизмом (по данным IRD). Аминокислота 127K (143K) контактирует с аминокислотой 450F (466F) соседней цепи гомотетрамера NA. Замена аминокислоты 127K с протяжённой боковой цепью на 127N с короткой боковой цепью теоретически может повлиять на контакт соседних цепей. Для североамериканских вирусов H7N2 эта замена уникальная. Однако 127N в разные годы присутствовала в 146 природных изолятах исключительно вирусов птиц (преимущественно кур) других подтипов — H9N2 и H6N2 в Китае, непатогенных вирусах H5N2 в США и Мексике.

В **НА**, принадлежащем кладе II-2 североамериканской линии вирусов с делецией, в результате адаптации к мышам произошли 4 замены: F125/133L, D156/164N, G198/207E, K328/330T (табл. 2, табл. 3), которые слабо повлияли на рецепторную специфичность адаптанта MA/NJ (табл. 1) и не изменили термостабильность НА.

В MA/NJ наблюдается мутация K328/330T, расположенная в сайте расщепления НА в пози-

<sup>5</sup> В данном подразделе в круглых скобках приведена нумерация по NA референтного штамма A/Tokyo/3/1967(H2N2), AAO46245, GenBank; PDB: 1INH.



**Таблица 3.** Мутации в HA/H7 в адаптированном к мышам вирусе и альтернативные аминокислоты в данной позиции в природных изолятах, выделенных в Северной Америке в 1996–2022 гг.

**Table 3.** Mutations in HA/H7 of a mouse-adapted virus and alternative amino acids in these positions in natural isolates isolated in North America in 1996–2022

Позиция H3/H7 Position H3/H7	Аминокислота, вариант вируса Amino acid, virus variant		Количество вирусов H7 с указанной аминокислотой The number of H7 viruses with the indicated amino acid		Функциональный домен Functional domain	Источник Reference	
	ch/NJ	MA/NJ	вирусы всех хозяев viruses of different hosts, <i>n</i> = 1107				
			HA с делецией петли-220 HA with 220 loop deletion, <i>n</i> = 230*				
125/133	F	F/L	L = 3, F = 1104		F = 230	Антигенный сайт Antigenic site	[9]
156/164	N/D	N	N = 1094, D = 4, K = 1, S = 8		N = 227, S = 3	Антигенный сайт Antigenic site	[9]
198/207	G	E	E = 5, G = 1102		E = 1, G = 229	Антигенный сайт Antigenic site	[9]
328/330	K	T	A = 8, K = 47, P = 211, T = 824		K = 46, P = 184	Сайт расщепления Cleavage site	[2]

**Примечание.** \*В выборку не вошли штаммы, полученные в результате лабораторных манипуляций, например эскейп-мутанты.  
**Note.** \*The sampling did not include laboratory obtained strains, for example, escape mutants.

ции –2. Структура сайта расщепления вирусов ch/NJ и MA/NJ — ЕКРКК $\downarrow$ R и ЕКРКТ $\downarrow$ R — соответствует апатогенному фенотипу. По данным IRD, обе структуры встречаются у вирусов H7 разных видов птиц на североамериканском континенте.

В базе данных IRD имеются 1107 полных последовательностей HA вирусов подтипа H7, выделенных в Северной Америке в 1996–2022 гг., среди них 230, которые имеют делецию петли 220 в HA (табл. 3). Вирусы с делецией петли-220 представлены изолятами 1996–2006 и 2016 гг. Вирусы были выделены из окружающей среды, от кур, некоторых видов домашней птицы, дикой утки, 2 штамма изолированы от людей — один в 2003 г., а другой в 2016 г., когда были выделены 6 штаммов от кошек. Мы проанализировали вариабельность аминокислот в позициях, в которых в MA/NJ-вирусе были обнаружены замены. Из табл. 3 следует, что в адаптированном к мышам варианте заслуживают внимания только 2 замены — полиморфизм F/L с преобладанием L в позициях F125/133L и G198/207E, поскольку две другие позиции (156/164 и 328/330) представляют одну из альтернативных аминокислот, присутствующих в природных изолятах.

В исходном вирусе в позиции 125/133 находится F, как и в природных вирусах H7. В MA/NJ наблюдается полиморфизм F/L с преобладанием L. Присутствие L в этой позиции — очень редкое явление. Среди природных вирусов H7 с такой заменой обнаружены 13 изолятов в разных частях мира, среди которых только 2 — в США (A/chicken/New York/Sg-00307/1998, H7N2 и A/American green-winged teal/Illinois/10OS4014/2010, H7N3). Такая редкая встречаемость свидетельствует о низкой конкурентной приспособленности HA с такой мутацией среди вирусов гриппа птиц.

Анализ вирусов H7N2 североамериканской линии, выделенных в 1999–2006 гг., указывает на то, что все эти вирусы имеют N в позиции 156/164. Наблюдаемый полиморфизм в исходном варианте ch/NJ с преобладанием в этой позиции D, скорее всего, частный случай.

Мутация D156/164N в адаптированном к мышам вирусе заменяет отрицательно заряженную аминокислоту на нейтральную. Замена G198/207E со сдвигом заряда в отрицательную сторону также относится к разряду редких среди исследованной группы вирусов. Не исключено, что две мутации со сменой заряда в позициях D156/164N и G198/207E, расположенных на поверхности HA, могут повлиять на его конформацию в зависимости от pH среды.

#### Изменения в белках NS1 и NEP

В процессе адаптации вируса кур ch/NJ к организму млекопитающих наибольшим изменениям подвергся сегмент 8, в котором изначально наблюдался полиморфизм 9 позиций нуклеотидной последовательности. В адаптированном варианте закрепились нуклеотиды, присутствовавшие в исходном варианте в меньшей доле. Из них 6 нуклеотидов привели к замене 6 аминокислот в белке NS1 и 1 замене в NEP (табл. 2, табл. 4).

Следует заметить, что в природных вирусах ген NS представлен двумя аллелями: аллель A присутствует у всех вирусов гриппа млекопитающих и некоторых вирусов гриппа птиц, а аллель B характерен исключительно для вирусов гриппа птиц [29]. Исследуемый нами вирус A/chicken/New Jersey/294598-12/2004(H7N2) обладает аллелем B. Возможно, этим объясняется высокая изменчивость гена NS адаптированного к мышам варианта MA/NJ.

Линия североамериканских вирусов подтипа H7 с делецией петли-220 в HA, к которой принад-

**Таблица 4.** Замены в NS1 в адаптированном к мышам варианте MA/NJ и их варибельность среди североамериканских вирусов гриппа птиц H7

**Table 4.** NS1 substitutions in the mouse-adapted MA/NJ variant, and their variability among North American avian H7 viruses

Замена <sup>1</sup> Mutation <sup>1</sup>	Варианты аминокислот в выборке вирусов Amino acid variability		Домен Domain	Локализация Location	Функция <sup>2</sup> Function <sup>2</sup>
	H7N2, 1994–2007 (n = 263)	H7Nx, 1994–2022 (n = 908)			
<i>N73T</i>	N = 47, S = 7, T = 138	A = 1, N = 23, F = 1, P = 1, S = 656, T = 226	Домен взаимодей- ствия с РНК RNA binding domain	1–73	Взаимодействие с РНК, включая двухцепочеч- ные; с клеточными белками RIG-I, PABPI и импортином-альфа Binding with several RNA species, including dsRNA. Interactions with host proteins RIG-I, PABPI, and importin-alpha
<i>S114G</i>	G = 44, P = 1, S = 123	G = 133, P = 1, S = 774	Эффекторный домен Effector domain	87–203	Опосредованное взаимодействие с рядом клеточных белков хозяина; ядерно-цитоплаз- матический транспорт зрелых мРНК. Стабилизирует N-концевой домен (1–73) взаимодействия с РНК Mediated interaction with several host cellular proteins; nuclear-cytoplasmic transport of mature mRNAs; stabilization of the N-terminal domain (1–73) due to RNA interaction
<i>K118R</i>	R = 7, K = 161	R = 658, K = 250			
<i>G171A</i>	A = 60, R = 5, D = 7, G = 85, T = 11	A = 61, R = 5, N = 2, D = 648, G = 92, T = 100			
<i>F214L</i>	I = 1, L = 75, F = 91, X = 1	I = 1, L = 790, F = 116, X = 1	C-концевой домен C-terminal domain	204–230	Содержит сигнальные мотивы для фосфо- рирования CDK/ERK, связывания Crk/CrkL SH3, PDZ-лиганда, NoLS/NLS2 Contains signaling motifs for phosphorylation (CDK/ERK), Crk/CrkL SH3 binding, PDZ ligand and NoLS/NLS2
<i>G224R</i>	R = 77, G = 90	R = 807, G = 94, K = 5, S = 1			

**Примечание.** <sup>1</sup>Мутация в адаптированном к мышам варианте (исходный/адаптированный вариант).

<sup>2</sup>На основе данных работ [17, 18].

**Note.** <sup>1</sup>Mutation in the mouse-adapted variant (original/adapted variant). <sup>2</sup>Based on data from [17, 18].

лежат исследуемый нами вирус ch/NJ, представле- на вирусами гриппа, изолированными от домашней птицы. Среди них, по данным GenBank, находится только один вирус, изолированный от человека, — A/New York/107/2003(H7N2), который, по сути, является вирусом «птичьего» происхождения. Сравнение последовательностей белков NA и NS1 этого вируса с исследованными нами вариантами ch/NJ и MA/NJ не обнаружило совпадающих мутаций в NA, в то время как в NS1 присутствуют три мутации — *N73T*, *G171A*, *F214L*, идентичные адаптированному к мышам варианту.

Мы провели анализ варибельности белка NS1 среди вирусов гриппа H7 всех подтипов по NA (H7Nx), которые присутствовали среди птиц в Северной Америке в 1994–2022 гг., а также для ви- русов подтипа H7N2 за 1994–2007 гг., включающие годы циркулирования линии вирусов с делецией в NA и их предшественников (табл. 4; **рисунок**, см. приложение в дополнительных файлах к статье на сайте журнала: DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-395-1>).

В позициях 73, 114, 118, 171, 214 и 224, где произошли замены в варианте MA/NJ, между этими выборками нет существенных различий по набору варьирующих аминокислот, различается только процентное соотношение конкретных аминокислот (**рисунок**, см. приложение на сайте журнала). На-

блюдаемое различие в распределении аминокислот в NS1 между двумя выборками вирусов гриппа птиц подтипа H7, отличающихся подтипом NA, может свидетельствовать об обособленности вирусов H7N2, циркулировавших в 1994–2007 гг., и существованием у них некоторой взаимосвязи (сцепленности) между сегментами 4, 6 и 8, кодирующими белки NA, NA и NS.

Во всех позициях NS1, которые подверглись заменам в варианте MA/NJ, наблюдается полиморфизм (табл. 4). Как в исходном ch/NJ, так и в MA/NJ-варианте в этих позициях присутствует одна из альтернативных аминокислот. Обнаруженные замены, по данным IRD, входят в состав экспериментально установленных коротких линейных эпитопов и в то же время находятся в структурно-функциональных доменах, которые осуществляют множественные контакты с факторами организма хозяина [17, 18].

В белке NEP в адаптированном к мышам варианте произошла одна замена *E14Q*, расположенная в сигнальной области NES (позиция 12–21, nuclear export signal), которая связывается с клеточным транспортным белком CRM1 и при его участии обеспечивает выход из ядра вирусных нуклеопротеиновых комплексов [30]. Сигнальная последовательность NES имеет гидрофобный характер (участок, богатый лейцинами или метионинами),

в котором замена 14М существенно не нарушает структуру сигнальной области. Тем не менее в вирусе WSN замена аминокислоты в этой позиции *M14Y* приводила к задержке экспорта вирусных рибонуклеинопротеиновых комплексов (vRNP) из ядра, снижению ростовых свойств вируса и его аттенуации для мышей [30]. Структура NES в исследованных нами вирусах отличается всего одной позицией от вируса WSN: *M14E* — в исходном вирусе ch/NJ, *M14Q* — в MA/NJ. В нашем случае замена аминокислоты со сменой заряда (*E14Q*) — кислая на нейтральную полярную гидрофильную — гипотетически может оказать влияние на функционирование сигнала NES.

#### Адаптационный потенциал

Известно всего 8 выделенных от млекопитающих вирусов гриппа H7N2 клады П-2, для которых была определена структура полного генома: это 2 изолята от людей (A/NY/107/2003 и A/NY/108/2016) и 6 — от кошек [20, 21, 31]. Геном вируса A/NY/108/2016, выделенного от человека в 2016 г., почти полностью совпал с геномом вируса, выделенного от кошки, с которой контактировал заболевший [20]. Мы сравнили белки HA и NS этих вирусов, а также вируса MA/NJ с их близкородственным вирусом кур A/chicken/NJ/294508-12/2004 с целью найти общие отличия в изолятах от млекопитающих. В HA между MA/NJ и вирусами млекопитающих нет совпадающих замен относительно куриного вируса. Для белка HA сходство (дивергенция) с куриным вирусом для MA/NJ составило 99,5% (0,5%), для вируса человека A/NY/107/2003 — 96,6% (3,5%), для вирусов кошек и человека A/NY/108/2016 — 94% (6,2%).

Для белка NS1 сходство (дивергенция) с куриным вирусом для MA/NJ составило 97,4% (2,7%), для вируса человека NY/107/2003 — 97,8% (2,2%), для 5 вирусов кошек (WDL) одного приюта — 92,6% (7,3%), для вируса кошки A/feline/New York/16-040082-1/2016 и контактирующего с ней человека (A/NY/108/2016) — 92,2% (7,8%). В NS1 среди замен относительно куриного вируса ch/NJ 5 (*N73T*, *S114G*, *G171A*, *F214L* и *G224R*) совпали у адаптированных к мышам MA/NJ и кошачьих вирусов, из которых 3 (*N73T*, *G171A*, *F214L*) идентичны заменам в вирусе от человека A/New York/107/2003(H7N2).

В NEP присутствует только одна совпадающая замена *E14Q*. В кошачьих вирусах, кроме неё, имеются ещё 4 отличия от куриного вируса.

Что касается идентичных мутаций в вирусах H7N2 млекопитающих (в NS1 — *N73T*, *G171A*, *F214L*, в NEP — *E14Q*), то замена произошла на преобладающую или менее распространённую аминокислоту из числа альтернативных, присутствующих в природных «птичьих» изолятах. Это не позволяет

признать их адаптационными без дополнительных исследований.

Примечательно, что в вирусах H7N2, изолированных от людей и кошек, отсутствовала мутация *E627K* в PB2 [20, 21], которую считают адаптационной к млекопитающим [26–28]. По данным разных авторов, появление мутации *E627K* при адаптации вирусов гриппа птиц к мышам сопровождалось усилением вирулентности вируса [27, 28], как и в нашем случае с MA/NJ. Помимо мутации в PB2, на изменение вирулентности MA/NJ могли повлиять замены в HA, которые способствовали возрастанию значения pH активации HA [10, 25].

#### Заключение

Проведённые нами исследования по адаптации к мышам низкопатогенного вируса гриппа кур H7N2, а также сведения о том, что вирусы этой линии смогли преодолеть видовой барьер и вызвать вспышку респираторной инфекции у кошек спустя 10 лет с момента их последнего обнаружения в природных условиях [20, 21], свидетельствуют о наличии адаптационного потенциала к млекопитающим у вирусов H7N2 североамериканской линии с делецией петли-220 в HA. Адаптация этих вирусов к разным видам млекопитающих, по-видимому, имеет свои особенности, и требуется некоторое время циркуляции в новом хозяине, чтобы вирус приобрёл мутации, способные вызвать клиническое проявление инфекции. Поскольку источник инфицирования кошек не установлен, то остаётся открытым вопрос, как вирусам H7N2 удавалось оставаться незамеченными и не попасть в поле зрения ветеринарных служб на протяжении более 10 лет.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

- World Organization for Animal Health (WOAH). Avian influenza (including infection with high pathogenicity avian influenza viruses). Chapter 3.3.4. In: *OIE Terrestrial Manual*. Paris;2021.
- Suarez D.L., Garcia M., Latimer J., et al. Phylogenetic analysis of H7 avian influenza viruses isolated from the live bird markets of the Northeast United States. *J. Virol.* 1999;73(5):3567–73. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.73.5.3567-3573.1999>
- Shi J., Deng G., Ma S., et al. Rapid evolution of H7N9 highly pathogenic viruses that emerged in China in 2017. *Cell Host Microbe.* 2018;24(4):558–68.e7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.08.006>
- Capua I., Cattoli G., Terregino C., Marangon S. Avian influenza in Italy 1997–2006. In: Klenk H.D., Matrosovich M.N., Stech J., eds. *Avian Influenza. Monographs in Virology. Volume 27*. Basel;2008:59–70. DOI: <https://doi.org/10.1159/000151608>
- Yao Y., Zhang T., Yang W., et al. Avian influenza A (H7N9) virus in a wild land bird in central China, late 2015. *Virol Sin.* 2018;33(1):96–9. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12250-018-0001-x>
- Li C., Chen H. H7N9 influenza virus in China. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2021;11(8):a038349. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a038349>

7. Fouchier R.A., Schneeberger P.M., Rozendaal F.W., et al. Avian influenza A virus (H7N7) associated with human conjunctivitis and a fatal case of acute respiratory distress syndrome. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004;101(5):1356–61. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0308352100>
8. Lu J., Raghwan J., Pryce R., et al. Molecular evolution, diversity, and adaptation of influenza A(H7N9) viruses in China. *Emerg. Infect. Dis*. 2018;24(10):1795–805. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2410.171063>
9. Yang H., Carney P.J., Chang J.C., et al. Structural and molecular characterization of the hemagglutinin from the fifth-epidemic-wave A(H7N9) influenza viruses. *J. Virol*. 2018; 92(16):e00375-18. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.00375-18>
10. Shi J., Deng G., Kong H., et al. H7N9 virulent mutants detected in chickens in China pose an increased threat to humans. *Cell Res*. 2017;27(12):1409–21. DOI: <https://doi.org/10.1038/cr.2017.129>
11. Gambaryan A.S., Matrosovich T.Y., Philipp J., et al. Receptor-binding Profiles of H7 subtype influenza viruses in different host species. *J. Virol*. 2012;86(8):4370–9. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.06959-11>
12. Xu Y., Bailey E., Spackman E., et al. Limited antigenic diversity in contemporary H7 avian-origin influenza A viruses from North America. *Sci. Rep*. 2016;6:20688. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep20688>
13. Lee D.H., Criado M.F., Swayne D.E. Pathobiological origins and evolutionary history of highly pathogenic avian influenza viruses. *Cold Spring Harb. Perspect. Med*. 2020;11(2):a038679. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a038679>
14. Matrosovich M., Tuzikov A., Bovin N., et al. Early alterations of the receptor-binding properties of H1, H2, and H3 avian influenza virus hemagglutinins after their introduction into mammals. *J. Virol*. 2000;74(18):8502–12. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.74.18.8502-8512.2000>
15. Hamilton B.S., Whittaker G.R., Daniel S. Influenza virus-mediated membrane fusion: determinants of hemagglutinin fusogenic activity and experimental approaches for assessing virus fusion. *Viruses*. 2012;4(7):1144–68. DOI: <https://doi.org/10.3390/v4071144>
16. Yang H., Chen L.M., Carney P.J., et al. Structures of receptor complexes of a North American H7N2 influenza hemagglutinin with a loop deletion in the receptor binding site. *PLoS Pathog*. 2010;6(9):e1001081. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001081>
17. Васин А.В., Петрова-Бродская А.В., Плотникова М.А. и др. Эволюционная динамика структурных и функциональных доменов белка NS1 вирусов гриппа А человека. *Вопросы вирусологии*. 2017;62(6):246–58. Vasin A.V., Petrova-Brodskaya A.V., Plotnikova M.A., et al. Evolutionary dynamics of structural and functional domains of influenza A virus NS1 protein. *Problems of Virology*. 2017;62(6):246–58. DOI: <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-6-246-258> EDN: <https://elibrary.ru/zucqetp>
18. Evseev D., Magor K.E. Molecular evolution of the influenza A virus non-structural protein 1 in interspecies transmission and adaptation. *Front. Microbiol*. 2021;12:693204. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.693204>
19. Gambaryan A.S., Tuzikov A.B., Pazynina G.V., et al. 6-sulfo sialyl Lewis X is the common receptor determinant recognized by H5, H6, H7 and H9 influenza viruses of terrestrial poultry. *Virol. J*. 2008;5:85. DOI: <https://doi.org/10.1186/1743-422X-5-85>
20. Marinova-Petkova A., Laplante J., Jang Y., et al. Avian influenza A(H7N2) virus in human exposed to sick cats, New York, USA, 2016. *Emerg. Infect. Dis*. 2017;23(12):2046–9. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2312.170798>
21. Hatta M., Zhong G., Gao Y., et al. Characterization of a feline influenza A(H7N2) virus. *Emerg. Infect. Dis*. 2018;24(1):75–86. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2401.171240>
22. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am. J. Epidemiol*. 1938;27(3):493–7.
23. Ашмарин И.П. Вычисление LD50 при малом числе подопытных животных. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1959;30(2):102–8. Ashmarin I.P. Calculation of LD50 with a small number of experimental animals. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1959;30(2):102–8.
24. Voronina O.L., Ryzhova N.N., Aksenova E.I., et al. Genetic features of highly pathogenic avian influenza viruses A(H5N8), isolated from the European part of the Russian Federation. *Infect. Genet. Evol*. 2018;63:144–50. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.05.022>
25. Тимофеева Т.А., Руднева И.А., Ломакина Н.Ф. и др. Мутации в геноме вируса гриппа птиц подтипов H1 и H5, ответственные за адаптацию к млекопитающим. *Независимые микробиологические исследования*. 2021;8(1):50–61. Timofeeva T.A., Rudneva I.A., Lomakina N.F., et al. Mutations in the genome of avian influenza viruses of the H1 and H5 subtypes responsible for adaptation to mammals. *Microbiology Independent Research Journal*. 2021;8(1):50–61. DOI: <https://doi.org/10.18527/2500-2236-2021-8-1-50-61> EDN: <https://elibrary.ru/vsvzqt>
26. Subbarao E.K., London W., Murphy B.R. A single amino acid in the PB2 gene of influenza A virus is a determinant of host range. *J. Virol*. 1993;67(4):1761–4. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.67.4.1761-1764.1993>
27. Hatta M., Gao P., Halfmann P., Kawaoka Y. Molecular basis for high virulence of Hong Kong H5N1 influenza A viruses. *Science*. 2001;293(5536):1840–2. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1062882>
28. Zhang H., Li X., Guo J., et al. The PB2 E627K mutation contributes to the high polymerase activity and enhanced replication of H7N9 influenza virus. *J. Gen. Virol*. 2014;95 (Pt. 4):779–86. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1062882>
29. Suarez D.L., Perdue M.L. Multiple alignment comparison of the non-structural genes of influenza A viruses. *Virus Res*. 1998;54(1):59–69. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0168-1702\(98\)00011-2](https://doi.org/10.1016/s0168-1702(98)00011-2)
30. Iwatsuki-Horimoto K., Horimoto T., Fujii Y., Kawaoka Y. Generation of influenza A virus NS2 (NEP) mutants with an altered nuclear export signal sequence. *J. Virol*. 2004;78(18):10149–55. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.78.18.10149-10155.2004>
31. Ostrowsky B., Huang A., Terry W., et al. Low pathogenic avian influenza A(H7N2) virus infection in immunocompromised adult, New York, USA, 2003. *Emerg. Infect. Dis*. 2012;18(7):1128–31. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid1807.111913>

**Информация об авторах**

*Ляшко Александр Викторович* — м.н.с. лаб. физиологии вирусов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5714-9461>

*Руднева Ирина Александровна* — к.б.н., в.н.с. лаб. физиологии вирусов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5000-2547>

*Щербинин Дмитрий Николаевич* — к.б.н., н.с. лаб. молекулярной биотехнологии НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8518-1669>

*Ломакина Наталья Фёдоровна*<sup>✉</sup> — к.б.н., с.н.с. лаб. физиологии вирусов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, [nflomakina@yandex.ru](mailto:nflomakina@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0003-2638-4244>

*Трещалина Анастасия Андреевна* — м.н.с. лаб. молекулярной биологии вирусов ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3801-2413>

*Куприянова Ирина Михайловна* — лаборант-исследователь лаб. физиологии вирусов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7301-388X>

*Гамбарян Александра Сергеевна* — д.б.н., в.н.с. лаб. молекулярной биологии вирусов ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1892-0548>

*Тимофеева Елена Борисовна* — инженер-исследователь лаб. клеточной микробиологии НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7352-9808>

*Шилов Александр Александрович* — д.б.н., в.н.с. лаб. физиологии вирусов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6338-4473>

*Садькова Галина Кадымовна* — к.б.н., с.н.с. лаб. молекулярной генетики НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2729-6767>

*Прилипов Алексей Геннадьевич* — д.б.н., в.н.с., зав. лаб. молекулярной генетики НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8755-1419>

*Тимофеев Борис Игоревич* — к.ф.-м.н., с.н.с. лаб. физиологии вирусов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7425-0457>

*Шмаров Максим Михайлович* — д.б.н., в.н.с., зав. лаб. молекулярной биотехнологии НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия; доцент каф. инфектологии и вирусологии ПМГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5268-1296>

*Рязанова Елена Леонтьевна* — к.п.н., доцент каф. медицинской и биологической физики ПМГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1375-3373>

*Тимофеева Татьяна Анатольевна* — к.б.н., в.н.с., зав. лаб. физиологии вирусов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8991-8525>

**Участие авторов:** *Ляшко А.В.* — эксперименты на животных, вирусологические и серологические исследования, подбор и анализ литературы, написание статьи; *Руднева И.А.* — идея, концепция и дизайн исследования, эксперименты на животных, вирусологические и серологические исследования; *Щербинин Д.Н.* — геномный и протеомный анализ; *Ломакина Н.Ф.* — секвенирование, геномный и протеомный анализ, подбор и анализ литературы, написание статьи, подготовка рукописи к публикации; *Трещалина А.А.* — рецепторная специфичность; *Куприянова И.М.* — эксперименты на животных, вирусологические и серологические исследования; *Гамбарян А.С.* — рецепторная специфичность, критический анализ текста; *Тимофеева Е.Б.* — работа с базами данных и статистическая обработка; *Шилов А.А.* — геномный и протеомный анализ; *Садькова Г.К.* — секвенирование; *Прилипов А.Г.* — секвенирование; *Тимофеев Б.И.* — анализ третичной структуры белков; *Шмаров М.М.* — эксперименты на животных; *Рязанова Е.Л.* — подбор и анализ литературы; *Тимофеева Т.А.* — идея, концепция и дизайн исследования, эксперименты на животных, вирусологические и серологические исследования, написание статьи. Все авторы

**Information about the authors**

*Aleksandr V. Lyashko* — junior researcher, Laboratory of virus physiology, Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5714-9461>

*Irina A. Rudneva* — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of virus physiology, Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5000-2547>

*Dmitrii N. Shcherbinin* — Cand. Sci. (Biol.), researcher, Laboratory of molecular biotechnology, Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8518-1669>

*Natalia F. Lomakina*<sup>✉</sup> — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of virus physiology, Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, [nflomakina@yandex.ru](mailto:nflomakina@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0003-2638-4244>

*Anastasia A. Treshchalina* — junior researcher, Laboratory of molecular biology of viruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune and Biological Products, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3801-2413>

*Irina M. Kupriyanova* — laboratory researcher, Laboratory of virus physiology, Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7301-388X>

*Alexandra S. Gambaryan* — D. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of molecular biology of viruses, Chumakov Federal Scientific Center for the Research and Development of Immune and Biological Products, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1892-0548>

*Elena B. Timofeeva* — research engineer, Laboratory of cellular microbiology, Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7352-9808>

*Aleksandr A. Shilov* — D. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of virus physiology, Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6338-4473>

*Galina K. Sadykova* — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of molecular genetics, Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2729-6767>

*Alexey G. Prilipov* — D. Sci. (Biol.), leading researcher, Head, Laboratory of molecular genetics, Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8755-1419>

*Boris I. Timofeev* — Cand. Sci. (Phys.-Math.), senior researcher, Laboratory of virus physiology, Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7425-0457>

*Maxim M. Shmarov* — D. Sci. (Biol.), leading researcher, Head, Laboratory of molecular biotechnology, Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia; Assistant professor, Department of infectology and virology, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5268-1296>

*Elena L. Ryzanova* — Cand. Sci. (Pedagogy), Assistant professor, Department of medical and biological physics, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1375-3373>

*Tatiana A. Timofeeva* — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Head, Laboratory of virus physiology, Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8991-8525>

**Author contribution:** *Lyashko A.V.* — animal experiments, virological and serological studies, collection and analysis of literature, writing an article; *Rudneva I.A.* — idea, concept and design of research, animal experiments, virological and serological studies; *Shcherbinin D.N.* — genomic and proteomic analysis; *Lomakina N.F.* — sequencing, genomic and proteomic analysis, collection and analysis of literature, writing an article, preparation of the manuscript for

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 28.09.2023;  
принята к публикации 18.11.2023;  
опубликована 28.12.2023

publication; *Treshchalina A.A.* — receptor specificity; *Kupriyanova I.M.* — animal experiments, virological and serological studies; *Gambaryan A.S.* — receptor specificity, critical analysis of the text; *Timofeeva E.B.* — working with databases and statistical processing; *Shilov A.A.* — genomic and proteomic analysis; *Sadykova G.K.* — sequencing; *Prilipov A.G.* — sequencing; *Timofeev B.I.* — analysis of the tertiary structure of proteins; *Shmarov M.M.* — animal experiments; *Ryazanova E.L.* — collection and analysis of literature; *Timofeeva T.A.* — idea, concept and design of research, animal experiments, virological and serological studies, writing an article. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 28.09.2023;  
accepted for publication 18.11.2023;  
published 28.12.2023

Оригинальное исследование  
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-382>



## Рост заболеваемости сифилисом в Российской Федерации: иностранные граждане-мигранты как группа риска распространения заболевания

Рахматулина М.Р.<sup>1</sup>, Брико Н.И.<sup>2</sup>, Новоселова Е.Ю.<sup>1</sup>, Лопухов П.Д.<sup>2✉</sup>

<sup>1</sup>Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии, Москва, Россия;

<sup>2</sup>Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

### Аннотация

**Актуальность.** Заболеваемость инфекциями, передаваемыми половым путём (ИППП), оказывает серьёзное влияние на здоровье и жизни детей, подростков и взрослого населения. Сифилис, как и большинство ИППП, относится к социально значимым заболеваниям, при этом среди факторов, влияющих на распространение данной инфекции, особое место занимают миграционные процессы, в том числе трудовая миграция.

**Цель** — изучить заболеваемость сифилисом у иностранных граждан-мигрантов в Российской Федерации и отдельных субъектах государства за последние годы.

**Материалы и методы.** Выполнен ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости сифилисом среди населения России и иностранных граждан-мигрантов. Использовались данные официальной статистики по материалам форм федерального статистического наблюдения № 9 и № 34 в Российской Федерации и на отдельных территориях за 2011–2022 гг.

**Результаты.** Среди иностранных граждан-мигрантов уровни заболеваемости были выше, чем в целом по России: до 2020 г. — в 1,5–2,0 раза, а в 2021 и 2022 гг. — в 4 раза. Доля зарегистрированных случаев сифилиса у иностранных граждан в 2021–2022 гг. составила 36,4 и 46,0%, значительно превысив данный показатель не только в 2020 г. (18,2%), но и в предыдущие годы (16,7–21,2%). Рост числа заболевших сифилисом иностранных граждан в 2021 г. наблюдался во всех федеральных округах Российской Федерации, при этом количество выявленных случаев сифилиса у данного контингента лиц значительно варьировало в субъектах РФ. Основную долю (98,1%) в структуре сифилиса, выявленного у иностранных граждан, составили скрытые формы заболевания.

**Заключение.** Высокий уровень выявляемости сифилиса у иностранных граждан-мигрантов и преобладание в его структуре скрытых форм заболевания представляют потенциальную эпидемиологическую опасность распространения инфекции. В связи со сложившейся ситуацией представляются необходимыми разработка и внедрение постоянно действующих и контролируемых алгоритмов мониторинга ИППП в группах риска, в том числе среди иностранных граждан-мигрантов.

**Ключевые слова:** сифилис, заболеваемость, мигранты, инфекции, передаваемые половым путём

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Для цитирования:** Рахматулина М.Р., Брико Н.И., Новоселова Е.Ю., Лопухов П.Д. Рост заболеваемости сифилисом в Российской Федерации: иностранные граждане-мигранты как группа риска распространения заболевания. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(6):454–461.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-382>

EDN: <https://www.elibrary.ru/vzxxvg>

Original Study Article  
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-382>

## The increase in the incidence of syphilis in the Russian Federation: foreign migrant citizens as a risk group for the spread of the disease

Margarita R. Rakhmatulina<sup>1</sup>, Nikolay I. Briko<sup>2</sup>, Elena Yu. Novoselova<sup>1</sup>, Platon D. Lopukhov<sup>2✉</sup>

<sup>1</sup>State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

#### Abstract

**Relevance.** The incidence of sexually transmitted infections (STIs) has a serious impact on the health and lives of children, adolescents and adults. Syphilis, like most STIs, is a socially significant disease, while among the factors influencing the spread of this infection, migration processes, including labor migration, occupy a special place.

**Aims.** To study syphilis in foreign migrants in the Russian Federation and individual subjects of the state in recent years.

**Material and methods.** A retrospective epidemiological analysis of the incidence of syphilis among the population of the Russian Federation and foreign migrants was performed. The data from Federal Statistical Monitoring Form No. 9 and No. 34 was used with reference to STIs incidence in 2011–2022 in Russia and in its regions.

**Results.** Among foreign migrant citizens, the incidence rates were higher than the Russian average: 1.5–2.0 times before 2020, and 4 times in 2021 and 2022. The proportion of registered cases of syphilis among foreign citizens in 2021 was 36.4%, significantly exceeding this figure not only in 2020 (18.2%), but also in previous years (16.7–21.2%). An increase in the number of foreign citizens with syphilis was observed in 2021 in all federal districts of the Russian Federation, while the number of syphilis cases detected in this contingent of people varied significantly between different regions of the Russian Federation. The main share (98.1%) in the structure of syphilis detected in foreign citizens was latent forms of the disease.

**Conclusions.** The high level of detection of syphilis in foreign migrant citizens and the predominance of latent forms of the disease in this population represent a potential epidemiological danger of the spread of infection. In connection with the current situation, it seems necessary to develop and implement permanent and controlled algorithms for monitoring STIs in risk groups, including foreign migrant citizens.

**Keywords:** *syphilis, morbidity, migrants, sexually transmitted infections, STIs*

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**For citation:** Rakhmatulina M.R., Briko N.I., Novoselova E.Yu., Lopukhov P.D. The increase in the incidence of syphilis in the Russian Federation: foreign migrant citizens as a risk group for the spread of the disease. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2023;100(6):454–461.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-382>

EDN: <https://www.elibrary.ru/vzvxvxg>

## Введение

Согласно оценкам Всемирной организации здравоохранения, ежегодно 374 млн людей в возрасте 15–49 лет заболевают четырьмя излечимыми инфекциями, передаваемыми половым путём (ИППП): сифилисом, хламидийной и гонококковой инфекциями, уrogenитальным трихомониазом. Столь же высокую распространённость имеют ИППП вирусного происхождения: 500 млн человек инфицированы вирусом простого герпеса 2-го типа, а около 300 млн женщин — вирусом папилломы человека<sup>1</sup>.

Заболееваемость ИППП оказывает серьёзное влияние на здоровье и жизнь детей, подростков и взрослого населения: сифилис во время беременности ежегодно становится причиной более чем 300 тыс. случаев смерти плода и новорождённых; гонококковая инфекция и хламидиоз могут приводить к развитию бесплодия; инфицирование ИППП

значительно повышает риск заражения ВИЧ-инфекцией (для некоторых групп — в 2–3 раза); рак шейки матки, ассоциированный с вирусом папилломы человека, ежегодно приводит к 342 тыс. случаев летального исхода<sup>2</sup>.

На протяжении предыдущего столетия в России регистрировалось несколько «эпидемических волн» заболеваемости ИППП и, по данным официального статистического наблюдения, последний пик заболеваемости ИППП наблюдался в 1990–2000-х гг., когда её показатели достигали 1361,2 случая на 100 тыс. населения, а показатель заболеваемости сифилисом — 277,3 случая на 100 тыс. населения. С 1999 по 2020 г. регистрировалось стабильное ежегодное снижение заболеваемости ИППП. Так, в 2020 г. снижение показателя заболеваемости сифилисом по отношению к показателю 2015 г. составило 55,7% [1, 2].

В период каждой «эпидемической волны» ИППП отмечалось формирование определённых

<sup>1</sup> WHO. Sexually transmitted infections (STIs). URL: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis)) (дата обращения: 21.02.2023).

<sup>2</sup> WHO. Cervical cancer. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cervical-cancer> (дата обращения: 21.02.2023).



субпопуляций лиц — «ядерных» групп, представляющих социально уязвимые контингенты населения, склонные к рискованному поведению, но не желающие или не имеющие возможности снизить риск инфицирования: потребители инъекционных наркотиков, работники коммерческого секса, трудовые мигранты, заключённые, лица без определённого места жительства, беспризорные дети, подростки и др. Представители именно этих групп с высоким уровнем заражаемости сифилисом и другими ИППП в условиях периодически ухудшающихся социально-экономических условий становились источником очередного подъёма заболеваемости.

Сифилис, как и большинство ИППП, относится к социально значимым заболеваниям, при этом среди факторов, влияющих на распространение данной инфекции, особое место занимают миграционные процессы, в том числе трудовая миграция [3]. В России, и это характерно не только для нашей страны, число международных мигрантов за последние десятилетия постепенно увеличивалось [4]. По данным Главного управления по миграции МВД России, число прибывших в страну мигрантов за 2016–2022 гг. увеличилось на 17,5%, а число трудовых мигрантов за этот же период времени возросло практически в 3 раза (с 4,2 до 11,8 млн человек)<sup>3</sup>.

В связи с этим было проведено исследование, целью которого являлось изучение заболеваемости сифилисом у иностранных граждан-мигрантов в России и отдельных регионах государства за последние годы.

### Материалы и методы

Для ретроспективного анализа заболеваемости ИППП использовали данные официальной статистики по материалам форм федерального статистического наблюдения № 9 «Сведения о заболевании инфекциями, передаваемыми половым путём, и заразными кожными болезнями» и № 34 «Сведения о больных заболеваниями, передаваемыми преимущественно половым путём, грибковыми кожными болезнями и чесоткой» в России и на отдельных территориях за 2011–2022 гг. Для расчёта показателя заболеваемости сифилисом среди иностранных граждан-мигрантов использовали официальные статистические сведения Главного управления по миграции МВД России<sup>4</sup> с 2015 по 2022 г., при этом за основу принимались сведения о количестве фактов постановки на миграционный учёт иностранных граждан за каждый рассматриваемый год. Из 17 субъектов РФ были получены сведения о выяв-

ленных формах заболевания сифилисом среди иностранных граждан-мигрантов за 2021 г.

Выполнен ретроспективный анализ заболеваемости во времени и пространстве — в разрезе федеральных округов (ФО) и субъектов РФ. Описательный этап исследования включал расчёт интенсивных и экстенсивных показателей заболеваемости.

Оценка многолетних тенденций динамики заболеваемости выполнена методом наименьших квадратов. Для статистической обработки полученных результатов использовали программу «IBM SPSS V26.0», для визуализации данных — «Microsoft Excel 2016». Характер распределения признаков оценивали с помощью  $W$ -критерия Шапиро–Уилка. Поскольку распределение признаков имело ненормальный характер, далее использовали непараметрический критерий  $\chi^2$  с поправкой Йейтса на непрерывность вариации. Проведены расчёты 95% доверительных интервалов (95% ДИ) показателей заболеваемости. Критический уровень значимости принимался  $p < 0,05$ .

### Результаты

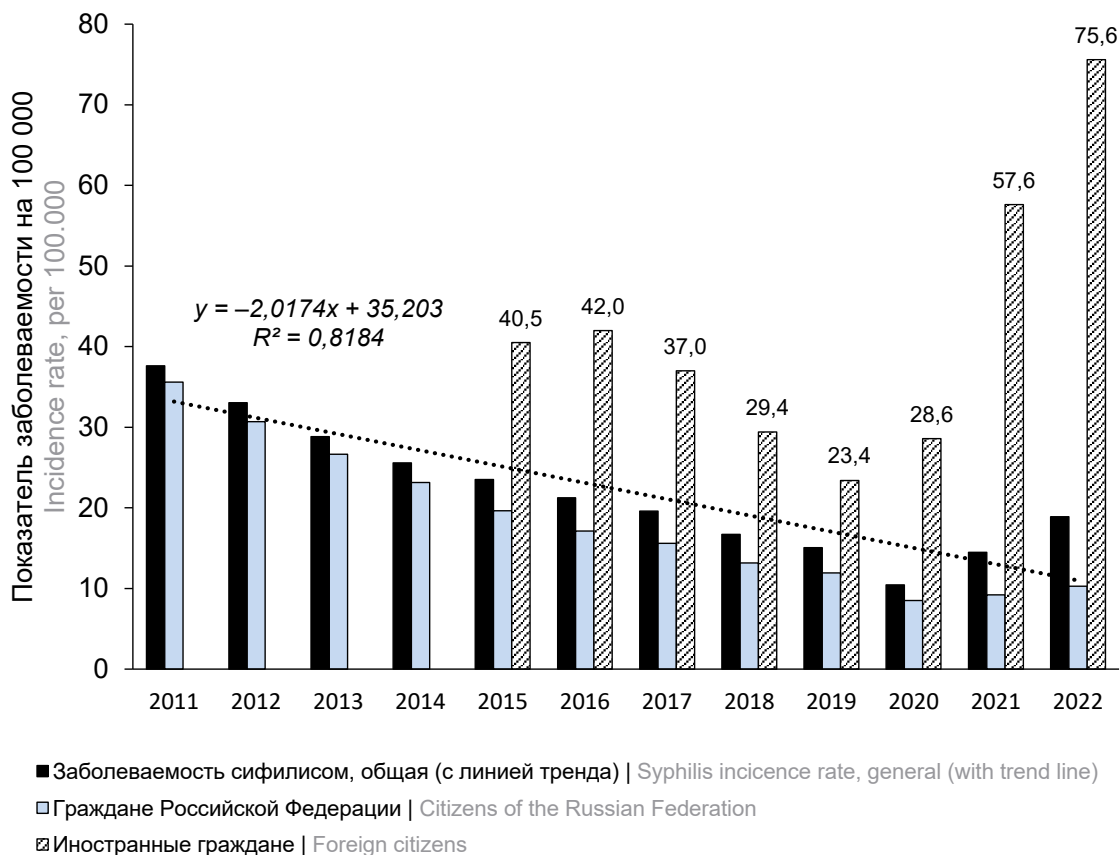
В 2021 г. в России впервые за последние годы отмечен рост заболеваемости сифилисом (на 39,4% по сравнению с 2020 г.), который продолжился и в 2022 г. В 2011–2019 гг. заболеваемость снижалась с 37,6 (95% ДИ 37,3–38,0) до 15,1 (95% ДИ 14,8–15,3) на 100 тыс. населения. В 2020 г. снижение было более выражено, показатель составил 10,4 (95% ДИ 10,3–10,6) на 100 тыс. населения (**рис. 1**). При этом среди иностранных граждан-мигрантов уровни заболеваемости были выше, чем в целом по РФ: до 2020 г. — в 1,5–2,0 раза, а в 2021 и 2022 гг. — в 4 раза ( $p < 0,0001$ ).

При анализе структуры заболеваемости сифилисом установлено, что увеличение числа случаев сифилиса в 2021 и 2022 гг. было во многом обусловлено ростом данного значения среди иностранных граждан: с 2801 случая в 2020 г. до 7710 и 12 748 случаев в 2021 и 2022 гг. соответственно. Доля зарегистрированных случаев сифилиса у иностранных граждан в 2021 г. составила 36,4% от общего числа, значительно превысив данный показатель не только в 2020 г. (18,2%), но и в предыдущие годы (16,7–21,2%). В целом можно констатировать, что число случаев сифилиса, зарегистрированных у иностранных граждан, и его доля в общей структуре заболевания в 2021–2022 гг. значительно превысили данные показатели последних 10 лет (**рис. 2**).

Увеличение числа выявленных случаев сифилиса у иностранных граждан наблюдалось во всех ФО РФ: в Центральном — в 3,0 раза, в Северо-Западном — в 2,7 раза, в Южном — в 1,8 раза, в Северо-Кавказском — в 3,4 раза, в Приволжском — в 1,5 раза, в Уральском — в 3,1 раза, в Сибирском — в 2,4 раза, в Дальневосточном — в 2,3 раза.

<sup>3</sup> Министерство внутренних дел Российской Федерации. Статистические сведения по миграционной ситуации.  
URL: <https://мвд.рф/dejatelnost/statistics/migracionnaya> (дата обращения: 21.02.2023).

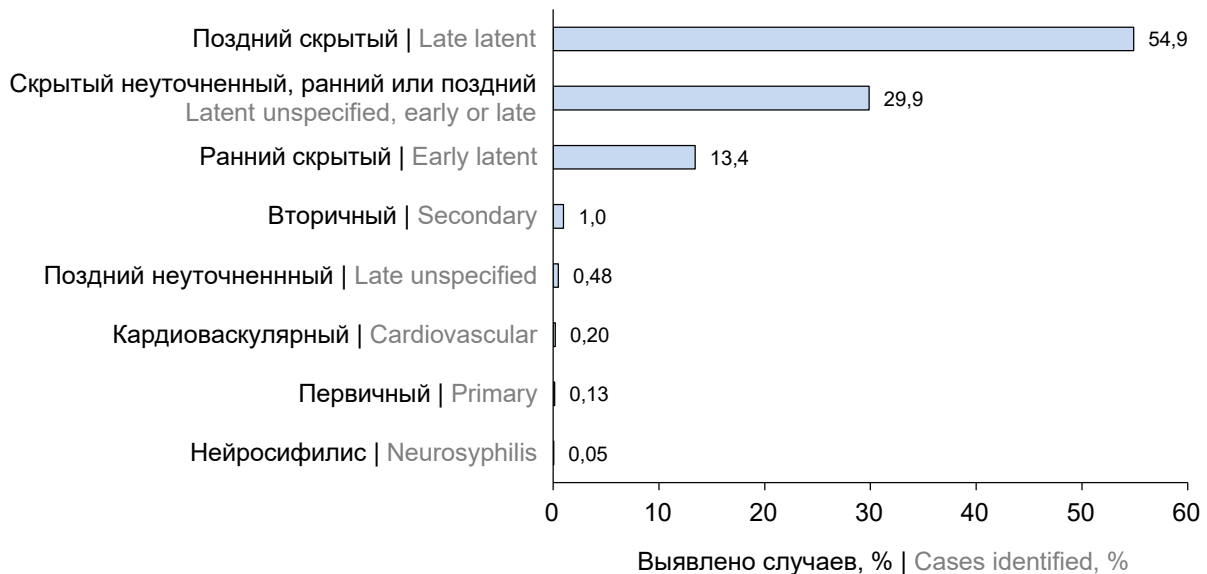
<sup>4</sup> Там же.



**Рис. 1.** Заболеваемость сифилисом в России в 2011–2022 гг.  
**Fig. 1.** Syphilis incidence rates in the Russian Federation, 2011–2022.



**Рис. 2.** Число случаев сифилиса, зарегистрированных среди граждан Российской Федерации и иностранных граждан-мигрантов (абс.), и их доля в общей структуре заболевания (%) в 2011–2022 гг.  
**Fig. 2.** The number of cases of syphilis registered among citizens of the Russian Federation and foreign migrant citizens (absolute numbers) and their share in the overall disease burden (%), 2011–2022.



**Рис. 3.** Формы сифилиса, выявленные у иностранных граждан-мигрантов в 2021 г. (выявлено случаев, %).

**Fig. 3.** Forms of syphilis detected in foreign migrant citizens in 2021 (cases identified, %).

При этом количество выявленных случаев сифилиса у данного контингента лиц значительно варьировало в субъектах РФ.

При анализе данных, полученных из медицинских организаций дерматовенерологического профиля 17 субъектов РФ в 2021 г., установлено, что ранние формы сифилиса были выявлены у 878 (14,5%) из 6049 иностранных граждан, поздние формы — у 3365 (55,6%) иностранных граждан; у 1806 (29,9%) граждан был диагностирован сифилис скрытый неуточнённый, ранний или поздний. Значительная часть неуточнённых форм сифилиса объясняется отсутствием готовности данной категории лиц нести дополнительную финансовую нагрузку, необходимую для обследования в медицинских организациях дерматовенерологического профиля. Формы сифилиса с клиническими проявлениями (первичный, вторичный, кардиоваскулярный, поздний неуточнённый сифилис, нейросифилис) были выявлены у 114 (1,9%) обследованных лиц. Таким образом, основную долю (98,1%) в структуре сифилиса, выявленного у иностранных граждан, составили скрытые формы заболевания (5935 случаев) (рис. 3).

После установления диагноза 1341 (22,2%) иностранным гражданам было проведено лечение сифилиса в медицинских организациях дерматовенерологического профиля, 259 (4,3%) граждан отказались от лечения, их документы были направлены в Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на депортацию, а 4449 (73,5%) граждан были направлены на лечение по месту регистрации (при этом в медицинских организациях дерматовенерологического профиля отсутствует информация о проведённом лечении).

## Обсуждение

Одной из эпидемиологически значимых в отношении ИППП «ядерных» групп являются иностранные граждане — мигранты. Рабочая сила во все времена и во всех государствах является тем институтом, за счёт которого развиваются экономическая, политическая и социальные сферы общества, и в силу различного рода факторов количество мигрантов с каждым годом постоянно увеличивается. Основные причины широкого распространения трудовой миграции: сложная политическая обстановка в родной стране, плохая экономика, в том числе низкий уровень заработных плат, социальных выплат, высокая инфляция, высокая стоимость товаров и продуктов первой необходимости, межнациональные конфликты, гонения, перенаселение государства и др. [5].

По итогам 2021 г., несмотря на связанные с пандемией ограничения на передвижение, число мигрантов и беженцев в мире достигло рекордной отметки. В целом за 50 лет число международных мигрантов увеличилось более чем в 3 раза; с 84 млн человек в 1970 г. до 153 млн человек в 1990 г., 221 млн человек в 2010 г., 281 млн человек в 2020 г. [6].

Россия входит в пятёрку мировых лидеров как по числу мигрантов, так и по числу граждан страны, проживающих за рубежом<sup>5</sup>. По данным Главного управления по миграции Министерства внутренних дел России, за 2016–2021 гг. количество трудовых мигрантов увеличилось более чем в 2 раза, а доля трудовых мигрантов за 2016–2019 гг. находилась в

<sup>5</sup> Тюрюканова Е.В. Трудовая миграция в Россию. Электронная версия бюллетеня «Население и общество». URL: <https://polit.ru/article/2008/01/21/demoscope315/> (дата обращения: 21.02.2023).

пределах 28–31% от общего числа прибывших иностранных граждан. В 2021 г. поток трудовых мигрантов вырос более чем в 2 раза и составил 71% от общего числа поставленных на миграционный учёт иностранных граждан. За 2021 г. на миграционный учёт было поставлено свыше 13 млн иностранных граждан и лиц без гражданства, а поскольку граждане стран Евразийского экономического союза — Армении, Белоруссии, Казахстана и Киргизии — могут работать в России без оформления разрешений на работу или патентов, а некоторые иностранные граждане работают без оформления разрешительных документов, то общая численность международных трудовых мигрантов в России существенно выше, чем показывают данные текущего учёта.

Среди иностранных работников, прибывших в Россию в 2016–2021 гг., преобладали выходцы из Узбекистана, Таджикистана и Киргизии. Из общего числа лиц, поставленных на миграционный учёт по месту пребывания, 74% въехали в Россию с целью работы, 5% — с целью учёбы, 2% — с целью туризма, 19% — с частными или иными целями. Российскими регионами, наиболее привлекавшими мигрантов в период 2016–2021 гг., являлись Центральный и Северо-Западный ФО, куда мигрировали более 60% иностранных граждан.

На современном этапе миграционные потоки носят временный трудовой характер с преобладанием в их структуре выходцев из малых городов и сел, которые до выезда на работу в Россию не имели стабильной занятости на родине, а половина из них относились к группе крайне бедных, что оказывает влияние в том числе на их поведенческие особенности<sup>6</sup>.

Большинство исследователей едины во мнении, что иностранные граждане — трудовые мигранты являются составляющей частью так называемой «ядерной» группы, которая поддерживает высокий уровень заболеваемости ИППП, в том числе сифилисом [7]. Высокая заболеваемость сифилисом среди мигрантов обусловлена повышенным уровнем рискованного сексуального поведения, низким уровнем информированности об ИППП, ограничением доступа к медицинским услугам и профилактическим программам на бесплатной основе [8]. Данная проблема изучена недостаточно, однако опыт подобных исследований имеется. Так, Н.Я. Щербак и соавт., проанализировав опыт г. Санкт-Петербурга в отношении медицинского освидетельствования иностранных граждан и лиц без гражданства в 2010–2013 гг., отметили, что показатели заболеваемости ВИЧ-инфекцией, туберкулёзом и ИППП (в основном сифилисом) у ино-

странных граждан в 1,5 раза превышают таковые у жителей города [9].

Анализ результатов исследований (в основном зарубежных), посвящённых заболеваемости социальными инфекциями, в том числе ИППП, в различных странах мира, также подтверждает, что частота выявляемости данных заболеваний у мигрантов выше, чем у местных жителей: интенсивные показатели заболеваемости сифилисом мигрантов в 2–29 раз превышают общую заболеваемость и находятся в диапазоне от 243 до 1877 случаев на 100 тыс. обследуемых. Кроме того, исследователи обращают внимание на высокий удельный вес поздних форм сифилиса среди данного контингента лиц [10, 11].

Основные принципы российской миграционной политики закреплены в Указе Президента РФ «О концепции государственной миграционной политики Российской Федерации на 2019–2025 годы». Прежде всего миграционная политика страны ориентирована на повышение качества жизни граждан и обеспечение безопасности государства. Согласно этому документу миграция является дополнительным способом решения демографических и экономических проблем. При этом актуальным остаётся вопрос, связанный с медицинским обеспечением мигрантов. Контроль за влиянием миграционных потоков на эпидемиологическую ситуацию по социально значимым заболеваниям возложен законодательством на различные службы и ведомства в субъектах РФ. Однако разработка медико-организационной технологии, способствующей эффективному взаимодействию заинтересованных служб и ведомств с целью оперативного реагирования и принятия управленческих решений, способствующих снижению заболеваемости, в том числе сифилисом, остаётся актуальной [12].

К основным факторам повышенного риска заражения ИППП среди мигрантов можно отнести оторванность от привычного социума, уклада жизни и семьи и, как следствие, — состояние длительного стресса, неустойчивость правового положения в стране пребывания, практика употребления инъекционных наркотиков, промискуитетное поведение, низкий уровень знаний об ИППП. Высокая заболеваемость сифилисом среди трудовых мигрантов в числе прочих обусловлена ограничением доступа к медицинским услугам и профилактическим программам на бесплатной основе. Полученные нами данные указывают на значительный риск распространения сифилиса и других ИППП у данной категории лиц. Высокий процент поздних и неуточнённых форм заболевания (85,5%) свидетельствует о том, что мигранты приезжают в страну, уже инфицированными сифилисом. При этом основную долю (98,1%) в структуре сифилиса, выявленного у иностранных граждан, составляют скрытые формы за-

<sup>6</sup> International Organization for Migration. World migration report 2022. P. 2. URL: <https://publications.iom.int/books/worldmigration-report-2022> (дата обращения: 21.02.2023).

болевания, что представляет собой потенциальную эпидемиологическую опасность его распространения. Обращает на себя внимание и отсутствие информации о проведенном лечении у 73,5% больных сифилисом, что также может негативно сказываться на распространении заболевания.

### Заключение

Высокий уровень заболеваемости сифилисом у иностранных граждан-мигрантов и преобладание в его структуре скрытых форм заболевания представляют потенциальную эпидемиологическую опасность распространения инфекции. Уровни заболеваемости сифилисом среди иностранных граждан-мигрантов в последние 2 года в 4 раза превосходят аналогичные показатели среди граждан РФ. В связи со сложившейся ситуацией представляются необходимыми разработка и внедрение постоянно действующих и контролируемых алгоритмов мониторинга сифилиса и других ИППП в «ядерных» группах, в том числе среди иностранных граждан-мигрантов. Они должны объединяться с программами по другим социально значимым заболеваниям (ВИЧ, туберкулез и др.) и интегрироваться в общую систему здравоохранения.

### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

- Кубанова А.А., Кубанов А.А., Мелехина Л.Е. Динамика изменений интенсивных показателей заболеваемости инфекций, передаваемым половым путем, в оценке эпидемиологического процесса и состояния здоровья населения Российской Федерации за 2006–2016 годы. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2018;94(1):27–37. Kubanova A.A., Kubanov A.A., Melekhina L.E., et al. Dynamics of incidence of sexually transmitted infections in the evaluation of the epidemiological process and state of health of the Russian Federation population in 2006–2016. *Vestnik Dermatologii i Venerologii*. 2018;94(1):27–37. DOI: <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2018-94-1-27-37> EDN: <https://elibrary.ru/orkhqk>
- Какорина Е.П., Залевская О.В., Голубева Н.А., Огрызко Е.В. Динамика инфекционной заболеваемости в Российской Федерации за 2000–2020гг. *Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики*. 2022;(5):65–93. Kakorina E.P., Zalevskaya O.V., Golubev N.A., Ogryzko E.V. Dynamics of infectious morbidity in the Russian Federation for 2000-2020. *Current Problems of Health Care and Medical Statistics*. 2022;(5):65–93. DOI: <https://doi.org/10.24412/2312-2935-2022-5-65-93>
- Лифшиц М.Л., Неклюдова Н.П. Влияние международной и внутренней миграции на распространение некоторых инфекционных заболеваний и наркомании в регионах РФ. *Экономика региона*. 2019;15(4):1184–98. Lifshits M.L., Neklyudova N.P. The impact of the external and internal migration on the prevalence of some infectious diseases and drug addiction in the Russian regions. *Economy of Regions*. 2019;15(4):1184–98. DOI: <https://doi.org/10.17059/2019-4-17> EDN: <https://elibrary.ru/soхунw>
- Аббосхонова Н.А. Новые тенденции в миграционных процессах в условиях глобализации. *Международный журнал гуманитарных и естественных наук*. 2022;(2-1):132–34. Abboskhonova N.A. New trends in migration processes in the conditions of globalization. *International Journal of Humanities and Natural Sciences*. 2022;(2-1):132–34. DOI: <https://doi.org/10.24412/2500-1000-2022-2-2-132-134> EDN: <https://elibrary.ru/yexapf>
- Фадеева А.В., Шереметьева А.К. Особенности трудовой деятельности на территории РФ мигрантов. *Право и государство: теория и практика*. 2022;(5):84–8. Fadeeva A.V., Sheremetyeva A.K. Features of labor activity in the territory of the Russian Federation of migrants. 2022;(5):84–8. DOI: [https://doi.org/10.47643/1815-1337\\_2022\\_5\\_84](https://doi.org/10.47643/1815-1337_2022_5_84) EDN: <https://elibrary.ru/tmzbgz>
- Андриченко Л.В., Масловская Т.С., Плюгина И.В. Государственное управление в сфере миграции: опыт Российской Федерации и Республики Беларусь. *Журнал зарубежного законодательства и сравнительного правоведения*. 2022;18(2):53–68. Andrichenko L.V., Maslovskaya T.S., Plyugina I.V. State administration of migration sphere: the experience of the Russian Federation and the Republic of Belarus. *Journal of Foreign Legislation and Comparative Law*. 2022;18(2):53–68. DOI: <https://doi.org/10.12737/jflcl.2022.023> EDN: <https://elibrary.ru/tihqz>
- Кунгуров Н.В., Уфимцева М.А., Шакуров И.Г. и др. Эпидемиологические и социальные аспекты заболеваемости сифилисом, приоритетные задачи по предотвращению дальнейшего распространения инфекции. Екатеринбург; 2008. Kungurov N.V., Ufimceva M.A., Shakurov I.G., et al. *Epidemiological and Social Aspects of the Incidence of Syphilis, Priority Tasks to Prevent Further Spread of Infection*. Ekaterinburg; 2008. EDN: <https://elibrary.ru/vyequt>
- Уфимцева М.А., Малишевская Н.П., Сырнева Т.А. Клинико-эпидемиологические особенности сифилиса на территориях Урала, Сибири и Дальнего Востока. *Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии*. 2009;2(2):68–73. Ufimtseva M.A., Malishevskaya N.P., Syrneva T.A. Clinicoepidemiological features of syphilis in Ural, Siberia and Far East regions. *Modern Problems of Dermatovenerology, Immunology and Medical Cosmetology*. 2009;2(2):68–73. EDN: <https://elibrary.ru/mwсxmn>
- Щербак Н.Я., Улюкин И.М. Опыт организации медицинского освидетельствования иностранных граждан и лиц без гражданства в условиях мегаполиса. *Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения*. 2014;9(2):481–8. Shcherbak N.Ya., Ulyukin I.M. Experience of medical examination' management of foreign citizens and stateless persons in the megapolis. *Health – the Base of Human Potential: Problems and Ways to Solve Them*. 2014;9(2):481–8. EDN: <https://elibrary.ru/vqdjaf>
- Струин Н.Л., Шубина А.С. Социальные инфекции у мигрантов, факторы, способствующие заболеваемости: обзор литературы. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015;(11-5):676–9. Struin N.L., Shubina A.S. Social infection of migrants, factors contributing to morbidity: a review. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2015;(11-5):676–9. EDN: <https://elibrary.ru/uzmssv>
- Таишева Л.А. *Медико-организационные технологии профилактики ВИЧ-инфекции среди уязвимых групп населения*: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. М.; 2009. Taisheva L.A. *Medical and organizational technologies of HIV infection prevention among vulnerable groups of the population*: Diss. Moscow; 2009.
- Куртева Е.Е. Заболеваемость социальными инфекциями мигрантов: правовое регулирование. *Международный журнал экспериментального образования*. 2016;(11-2):29–33. Kurteva E.E. The incidence of social infections of migrants: the legal regulation. *International Journal of Experimental Education*. 2016;(11-2):29–33. EDN: <https://elibrary.ru/wwvkhk>

### Информация об авторах

*Рахматулина Маргарита Рафиковна* — д.м.н., профессор, зам. директора Государственного научного центра дерматовенерологии и косметологии по организационно-аналитической работе, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3039-7769>

*Брико Николай Иванович* — д.м.н., профессор, академик РАН, директор Института общественного здоровья им. Ф.Ф. Эрисмана, Москва, Россия; зав. каф. эпидемиологии и доказательной медицины ПМГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6446-2744>

*Новоселова Елена Юрьевна* — врач-методист научно-организационного отдела Государственного научного центра дерматовенерологии и косметологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1907-2592>

*Лопухов Платон Дмитриевич*<sup>✉</sup> — к.м.н., доцент каф. эпидемиологии и доказательной медицины ПМГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия, [lopukhov\\_p\\_d@staff.sechenov.ru](mailto:lopukhov_p_d@staff.sechenov.ru), <https://orcid.org/0000-0002-0872-2214>

**Вклад авторов:** *Рахматулина М.Р.* — концепция и дизайн исследования, организация сбора и обработки материала, редактирование; *Брико Н.И.* — концепция и дизайн исследования, редактирование; *Новоселова Е.Ю.* — сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста; *Лопухов П.Д.* — обработка материала, статистическая обработка, редактирование. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 11.09.2023;  
принята к публикации 25.11.2023;  
опубликована 28.12.2023

### Information about the authors

*Margarita R. Rakhmatulina* — D. Sci. (Med.), Professor, Deputy Director for organizational and analytical work, State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3039-7769>

*Nikolay I. Briko* — D. Sci. (Med.), Professor, Academician of the RAS, Director, F. Erisman Institute of Public Health, Moscow, Russia; Head, Department of epidemiology and evidence-based medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6446-2744>

*Elena Yu. Novoselova* — methodologist, Scientific and organizational department, State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1907-2592>

*Platon D. Lopukhov*<sup>✉</sup> — Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of epidemiology and evidence-based medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia, [lopukhov\\_p\\_d@staff.sechenov.ru](mailto:lopukhov_p_d@staff.sechenov.ru), <https://orcid.org/0000-0002-0872-2214>

**Author contribution:** *Rakhmatulina M.R.* — concept and design of the study, organization of the collection and processing of material, editing; *Briko N.I.* — concept and design of the study, editing; *Novoselova E.Yu.* — collection and processing of material, statistical processing, writing the text; *Lopukhov P.D.* — material processing, statistical processing, editing. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 11.09.2023;  
accepted for publication 25.11.2023;  
published 28.12.2023

Оригинальное исследование  
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-388>



# Молекулярно-генетический мониторинг возбудителей холеры

Водопьянов А.С.<sup>✉</sup>, Водопьянов С.О., Писанов Р.В., Олейников И.П., Носков А.К.

Ростовский-на-Дону противочумный институт, Ростов-на-Дону, Россия

## Аннотация

**Актуальность.** Продолжающаяся пандемия холеры определяет актуальность разработки и совершенствования методик анализа данных полногеномного секвенирования (WGS) возбудителя холеры. Особую значимость это приобретает в свете стоящих задач по импортозамещению зарубежной продукции, в том числе программного обеспечения.

**Цель** исследования состояла в разработке методики молекулярно-генетического мониторинга возбудителей холеры с использованием онлайн-геоинформационной системы (ГИС) и анализе с её помощью штаммов, выделенных на территории России ранее.

**Материалы и методы.** В работе использованы данные WGS 2598 токсигенных (ctxAB<sup>+</sup>tcpA<sup>+</sup>) штаммов *Vibrio cholerae* O1 El Tor, полученные непосредственно авторами на платформе «MiSeq» («Illumina»), и из базы данных NCBI. Программное обеспечение для анализа однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphism, SNP) разрабатывали на языках программирования Java и Python. Для визуализации дендрограммы использовали программу «Cytoscape». Разработку онлайн-ГИС осуществляли с использованием языков программирования HTML, JavaScript и PHP. В качестве ядра использовали свободно распространяемую библиотеку Leaflet, написанную на языке JavaScript. В качестве картографических данных использовали карты, полученные от сообщества OpenStreetmap.

**Результаты и обсуждение.** Созданы универсальный набор SNP и программное обеспечение для анализа данных WGS штаммов холерных вибрионов. Показано, что большинство штаммов распределяются между несколькими большими кластерами. Установлены наиболее близкородственные штаммы холерных вибрионов, изолированные на территории России с 2001 г. Создана онлайн-ГИС «Молекулярно-генетический мониторинг *V. cholerae*», позволяющая проводить выборку близкородственных штаммов непосредственно на электронной карте.

**Заключение.** Разработанная методика SNP-типирования и построенная на её основе ГИС являются полезными инструментами для анализа филогенетических связей между штаммами холерных вибрионов.

**Ключевые слова:** *Vibrio cholerae*, холера, однонуклеотидный полиморфизм, генотипирование, геоинформационная система, полногеномное секвенирование, разработка программного обеспечения

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Для цитирования:** Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Писанов Р.В., Олейников И.П., Носков А.К. Молекулярно-генетический мониторинг возбудителей холеры. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(6):462–471.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-388>

EDN: <https://www.elibrary.ru/vofcpd>

Original Study Article  
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-388>

## Development of a methodology for molecular genetic monitoring for the cholera causative agent

Alexey S. Vodopyanov<sup>✉</sup>, Sergey O. Vodopyanov, Ruslan V. Pisanov, Igor P. Oleinikov, Aleksey K. Noskov

Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

### Abstract

**Background.** The ongoing cholera pandemic determines the relevance of the development and improvement of methods for analysis of data on genome-wide sequencing of the cholera pathogen. This is of particular importance in the light of the challenges of import substitution of foreign products, including software.

**The aim** of the study was to develop a methodology for molecular genetic monitoring for the cholera causative agent using online geographic information system (GIS) and analysis with its help of strains isolated in Russia earlier.

**Materials and methods.** Data from genome-wide sequencing of 2598 toxigenic (ctxAB+tcpA+) strains of *V. cholerae* O1 El Tor, both obtained by the authors on the MiSeq (Illumina) platform, and retrieved from the NCBI database were used in the study. The SNP analysis software was developed in the Java and Python programming languages. Cytoscape program was used to visualize the dendrogram. The development of online GIS was carried out using the programming languages HTML, JavaScript and PHP. The freely distributed Leaflet library written in JavaScript was used as the core. Maps obtained from the OpenStreetMap community were used as cartographic data.

**Results and discussion.** A universal set of SNPs and software have been developed to analyze the data of genome-wide sequencing of cholera vibrio strains. It was shown that the majority of strains were distributed among several large clusters. The most closely related strains for cholera vibrios isolated in Russia since 2001 have been identified. An online GIS "Molecular genetic monitoring for *V. cholerae*" has been created, which allows the recognition of closely related strains directly on an electronic map.

**Keywords:** *Vibrio cholerae*, cholera, SNP, genotyping, GIS, genome-wide sequencing, software development

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**For citation:** Vodopyanov A.S., Vodopyanov S.O., Pisanov R.V., Oleinikov I.P., Noskov A.K. Development of a methodology for molecular genetic monitoring for the cholera causative agent. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2023;100(6):462–471.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-388>

EDN: <https://www.elibrary.ru/vofcpcd>

## Введение

Седьмая пандемия холеры, вызванная эпидемиологически значимыми штаммами *Vibrio cholerae* O1 El Tor, началась в 1961 г. и продолжается до сих пор, её эндемичные очаги сформированы на территории многих стран Азии и Африки. Индийский субконтинент является местом формирования нескольких вариантов *V. cholerae*, впоследствии распространившихся по всему миру. Территория России не является эндемичной по холере, все зарегистрированные случаи холеры имели завозное происхождение.

Геном возбудителя холеры чрезвычайно пластичен, что приводит к формированию штаммов с повышенной вирулентностью, где, помимо точечных мутаций в различных генах, отмечены различные виды делеций [1–3].

Интенсивное развитие молекулярно-генетических технологий значительно увеличило возможности секвенирования полных геномов бактериальных патогенов с параллельным созданием баз данных, в связи с чем филогенетический анализ является одним из часто используемых методов получения эпидемиологических интерпретаций на основе геномных данных патогенов [4]. Однако нет единого подхода к проведению анализа. Так, данные полногеномного секвенирования (WGS) были использованы при анализе крупной вспышки холеры в Йемене в 2016–2017 гг., что позволило отнести выделяемые штаммы к одной из подлиний

7-й пандемической линии 7PET, которая произошла из Южной Азии и первоначально вызвала вспышки в Восточной Африке [5].

В ряде случаев, несмотря на наличие полных геномов, для проведения анализа используется ограниченное число генов. Так, при изучении штаммов холерных вибрионов O1-серогруппы, циркулирующих в Таиланде, было проведено типирование по однонуклеотидным полиморфизмам (single nucleotide polymorphism, SNP) 7 генов «домашнего хозяйства» (*adk*, *gyrB*, *metE*, *mdh*, *pntA*, *purM* и *pyrC*), что позволило провести дифференциацию клинических и водных изолятов O1 и O139, а также выявить вибрионы, относящиеся к другим серологическим группам [6]. При изучении генетического профиля штаммов *V. cholerae* O1, выделенных от больных холерой в Дакке и Бангладеш, был проведен филогенетический анализ на основе 4141 SNP, который позволил выявить близкое родство с эпидемическими клонами *V. cholerae* O1, выделенными в 2010 г. от больных холерой в Пакистане [7]. Т. Ramamurthy и соавт. проведено исследование 136 штаммов *V. cholerae* El Tor, выделенных в различных регионах мира, по 20 тыс. SNP, что позволило показать существование 8 филогенетических линий [8]. Анализ данных WGS широко используется и отечественными исследователями для выявления клональных связей между различными штаммами *V. cholerae* [9–11].



Большое значение имеет набор SNP, используемых для анализа. Как правило, он составляется во время проведения исследования для определённой группы анализируемых изолятов *V. cholerae*. Так, большинство работ посвящено одномоментному изучению ограниченных наборов штаммов [6, 7, 9, 11]. Это, с одной стороны, может являться причиной расхождения результатов даже при изучении геномов одних и тех же штаммов, с другой стороны, такой подход ограничивает возможности проведения постоянного мониторинга с оперативным включением в анализ выделяемых штаммов *V. cholerae* [12]. На наш взгляд, это делает актуальным разработку методик, основанных на использовании единого перечня SNP, что позволит повысить оперативность проведения анализа при выделении свежих штаммов. Стоит отметить, что подобный подход, предусматривающий анализ по заранее определённому перечню SNP, уже с успехом реализован для возбудителя сибирской язвы [13–15] и туляремии [16, 17].

Одной из задач исследователей в нашей стране является импортозамещение, что предусматривает преодоление зависимости от импортных поставок программных средств и использование преимущественно отечественного программного обеспечения<sup>1</sup>. Это подчёркивает актуальность разработки отечественных программных продуктов. Не менее актуальными проблемами являются анализ и визуализация получаемых результатов. Одним из наиболее часто используемых методов анализа является построение дендрограммы, отражающей филогенетические связи между различными штаммами *V. cholerae*. Однако, чем больше штаммов взято в исследование, тем более громоздкой получается итоговая дендрограмма, что осложняет проведение её анализа. Вместе с тем одним из универсальных инструментов анализа являются геоинформационные системы (ГИС), позволяющие комбинировать пространственные, временные и эпидемиологические данные. В настоящее время широко распространение получили онлайн-ГИС и интерактивные базы данных, размещаемые в сети Интернет, что обеспечивает возможность работы с ними широкому кругу исследователей [18–21].

В связи с этим **цель** настоящего исследования состояла в разработке методики молекулярно-генетического мониторинга за возбудителем холеры с использованием онлайн-ГИС и анализе с её помощью штаммов, выделенных ранее на территории России.

## Материалы и методы

В работе использованы 220 токсигенных (*ctxAB<sup>+</sup>tcpA<sup>+</sup>*) штаммов *V. cholerae* O1 El Tor из коллекции Музея живых культур Ростовского-на-Дону противочумного института, секвенирование которых проведено на платформе «Illumina MiSeq». Для сравнительного анализа в работу были взяты 1848 геномов из базы данных NCBI и 530 геномов из базы ENA (European Nucleotide Archive), представленных в виде ридов, сборку которых проводили с использованием программы «Spades» [22].

Программное обеспечение для составления перечня SNP, проведения SNP-типирования и построения дендрограммы (минимальное остовное дерево) разрабатывали на языках программирования Java и Python.

Для визуализации дендрограммы использовали программу «Cytoscape» [23]. Геокодирование мест выделения штаммов проводили с использованием API-сервиса Nominatum. Разработку онлайн-ГИС осуществляли с использованием языков программирования HTML, JavaScript и PHP. В качестве ядра использовали свободно распространяемую библиотеку «Leaflet», написанную на языке JavaScript. В качестве картографических данных использовали карты, полученные от сообщества «OpenStreetmap».

## Результаты и обсуждение

Первый этап работы заключался в создании коллекции геномов токсигенных (*ctxAB<sup>+</sup>tcpA<sup>+</sup>*) штаммов *V. cholerae* O1 El Tor. Для этой цели все имеющиеся данные WGS были проверены на наличие генов *wbe (rbfN)*, *tcpA*, *ctxA*, *ctxB*, что позволило отобрать 2598 геномов, выделенных с 1941 по 2022 г. (см. приложение в дополнительных файлах к статье на сайте журнала: DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-388-1>). При этом некоторые геномы *V. cholerae* O1 были дублированы в случае проведения секвенирования разными авторами на разных технологических платформах. Существенной сложностью на данном этапе явилось отсутствие полноценных данных о месте выделения штаммов. Для дальнейшего анализа были оставлены штаммы, для которых указаны год и место выделения.

Следующий этап работы состоял в составлении универсального перечня SNP, позволяющего проводить анализ данных WGS штаммов возбудителя холеры. Одной из значимых проблем при проведении подобных исследований является существенное возрастание требований производительности вычислительной мощности при увеличении количества исследуемых штаммов. С этой целью нами ранее был разработан алгоритм последовательного анализа геномов, при котором перечень SNP изучаемого штамма сохраняется в отдельном файле [12]. Это обеспечивает линейную зависимость времени

<sup>1</sup> Указ Президента РФ от 13.05.2017 № 208 «О Стратегии экономической безопасности Российской Федерации на период до 2030 года» и Указ Президента РФ от 07.05.2018 № 204 «О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года»

работы от количества изучаемых штаммов, а также позволяет организовать многопоточность, т.е. проведение одновременного анализа сразу нескольких геномов. Помимо этого данный приём в совокупности с универсальным перечнем SNP даёт возможность экономить время при необходимости добавления новых штаммов в анализ.

Для составления перечня SNP в рамках настоящей работы был проведён анализ случайной выборки из 50 геномов *V. cholerae* из базы данных NCBI, выделенных в период с 2016 по 2020 г., что позволило составить единый перечень, включающий данные о 54 858 SNP.

Следующий этап заключался в построении матрицы различий, основанной на попарном сравнении изучаемых штаммов. При этом каждый вариант SNP учитывался для дальнейшего анализа только в случае наличия такого же аллеля как минимум у 3 штаммов, что позволяет исключать ошибки секвенирования. Сложностью данного этапа является квадратичная зависимость времени от количества штаммов. В зависимости от мощности используемого компьютера данный этап составлял 12–72 ч.

Для анализа полученной информации было построено минимальное остовное дерево, отражающее генетическую близость между различными группами штаммов (рис. 1). Для облегчения визуального анализа штаммы *V. cholerae* O1, изолированные в России, отмечены красным цветом, на Украине — зелёным.

Технологические платформы секвенирования различаются по характеру генерируемых ошибок. Например, при использовании технологии «MiSeq» («Illumina») ошибки секвенирования чаще всего проявляются в виде единичных нуклеотидных замен, в то время как для «Ion Torrent» больше были характерны делеции-вставки [24]. Это может являться существенной проблемой при сравнительном анализе данных, полученных разными авторами. Для решения этой проблемы ранее нами был предложен метод «контрольных геномов», заключающийся в добавлении в анализ одних и тех же штаммов, сиквенс которых проведён на различных типах секвенаторов [24]. В рамках настоящего исследования в анализ были включены пары геномов штаммов *V. cholerae* O1 El Tor № 81 и № 18899,

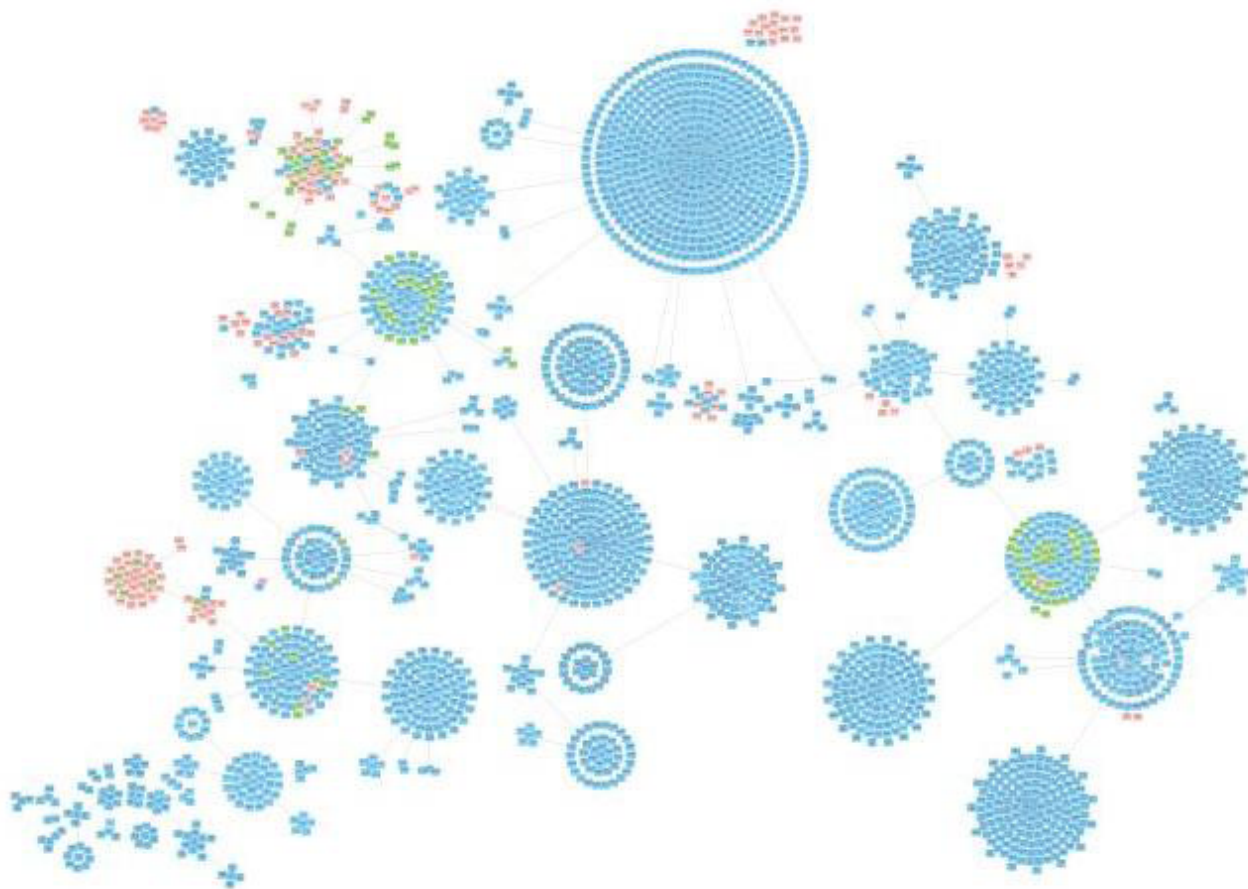
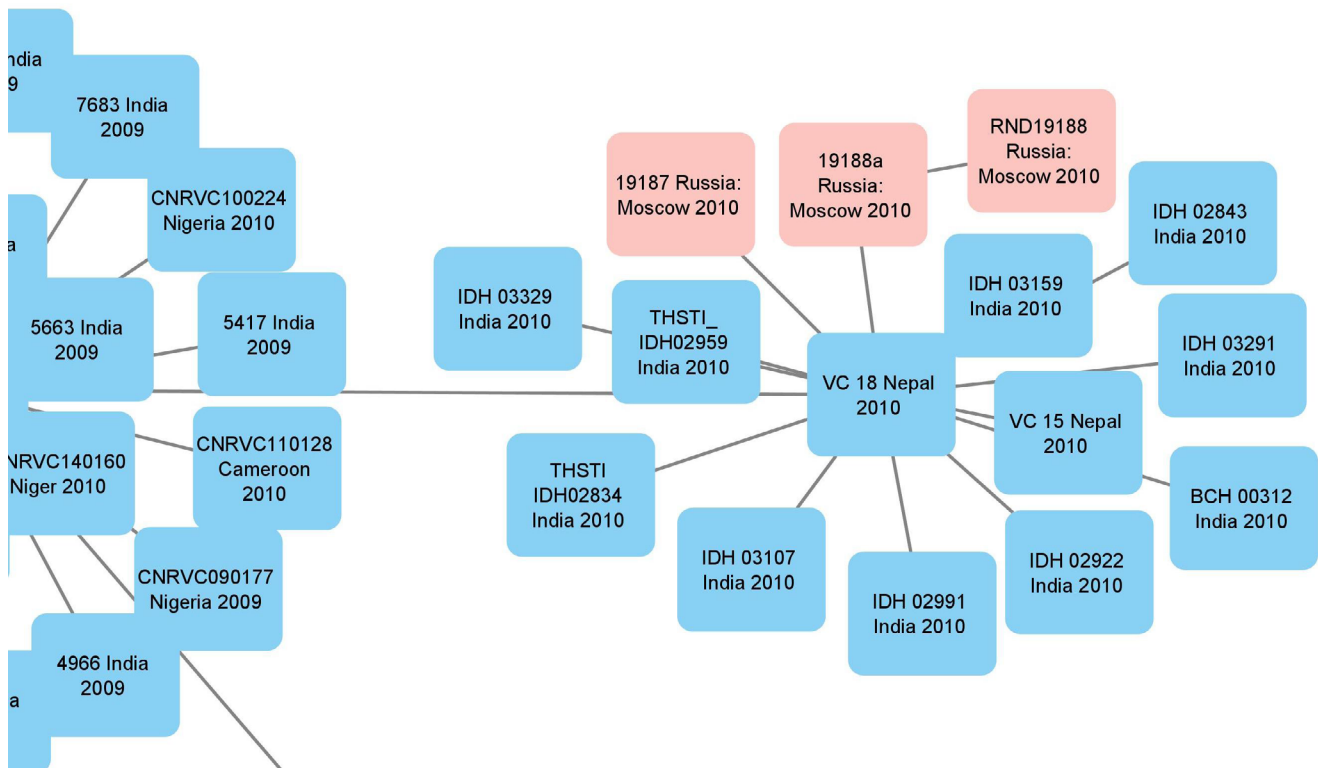


Рис. 1. Дендрограмма, отражающая генетическую близость между 2598 геномами токсигенных штаммов *V. cholerae* O1-серогруппы.

Fig. 1. Dendrogram reflecting the genetic affinity between 2598 genomes of toxigenic strains of *V. cholerae* O1 serogroup.



**Рис. 2.** Фрагмент дендрограммы, отражающей близость штаммов *V. cholerae*, выделенных в Москве, к штаммам из Индии и Непала. Для каждого штамма указаны номер штамма, место и год выделения.

**Fig. 2.** Fragment of a dendrogram reflecting the relatedness of *V. cholerae* strains isolated in Moscow to strains from India and Nepal. For each strain, the strain number, place and year of isolation are indicated.

секвенирование каждого из которых проведено на платформах «MiSeq» («Illumina») и «IonTorrent» («Thermo Fisher»). Парная группировка таких штаммов, на наш взгляд, доказывает корректность построенной дендрограммы.

Анализ дендрограммы показывает, что основная масса токсигенных изолятов *V. cholerae* распределяется между несколькими большими кластерами. Наибольший интерес, на наш взгляд, представляет анализ штаммов, изолированных в России. Геномы токсигенных штаммов *V. cholerae* № 19187, 19188 и 19188a, выделенные в Москве в 2010 г., оказались генетически близки штаммам, циркулировавшим в это же время в Индии и Непале (**рис. 2**). В то время как изоляты *V. cholerae* O1-серогруппы № 19191 и 19191a, также выделенные в Москве, оказались близки «гаитянской» группе штаммов, циркулировавших на о. Гаити в 2010 г., что согласуется с данными, полученными ранее [24].

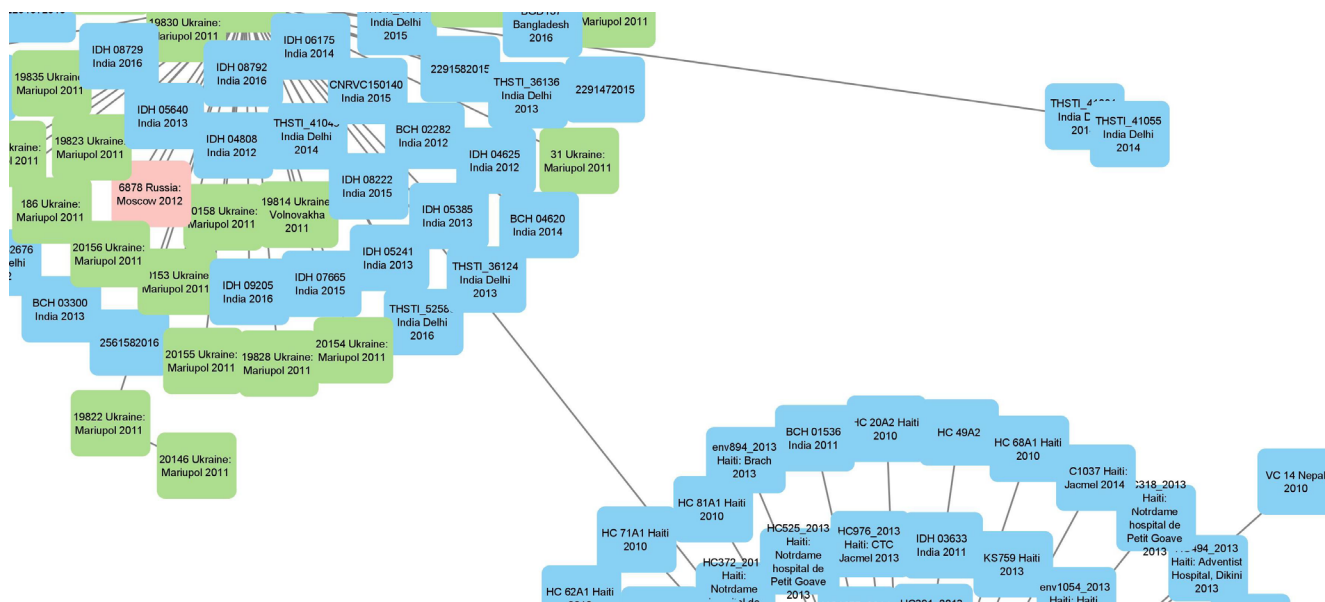
Особый интерес представляют штаммы *V. cholerae*, вызвавшие вспышку холеры на Украине в 2011 г. Данные штаммы имеют «гаитянский» тип гена *ctxB* (*ctxB-7* по классификации [25]) и, по мнению ряда авторов, образуют общий кластер со штаммами, вызвавшими вспышку холеры на о. Гаити в 2010 г. [26]. Однако, по данным настоящего исследования, «украинские» штаммы образовали

отдельный кластер со штаммами, изолированными в Индии в 2010–2016 гг. В этот же кластер попал изолят *V. cholerae* № 6878, выделенный в Москве в 2012 г. (**рис. 3**). Примечательно, что данный кластер является дочерним от кластера штаммов, выделенных непосредственно на о. Гаити в 2010–2013 гг., что согласуется с данными, полученными К.В. Kuleshov и соавт. [27]. Это позволяет сделать вывод о продолжающихся мутационных изменениях в данной группе штаммов.

Весьма интересным представлялось изучение токсигенных штаммов, выделенных в Ростовской области в 2011 и 2014 гг., ввиду того что ранее проведенное исследование не позволило выявить близкородственные геномы [24]. В рамках настоящего исследования данные изоляты попали в общий кластер со штаммами, циркулировавшими в Мозамбике на протяжении более 10 лет. Кроме того, в этот же кластер вошли штаммы, изолированные в 2005 г. в Твери и Москве (**рис. 4**).

В ходе эпидемиологического расследования вспышки холеры (52 больных и 18 вибрионосителей) в Казани в 2001 г. было высказано предположение о завозе возбудителя из-за рубежа [28]. В рамках настоящего исследования установлено, что штаммы *V. cholerae*, выделенные во время вспышки в 2001 г., оказались генетически близки

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

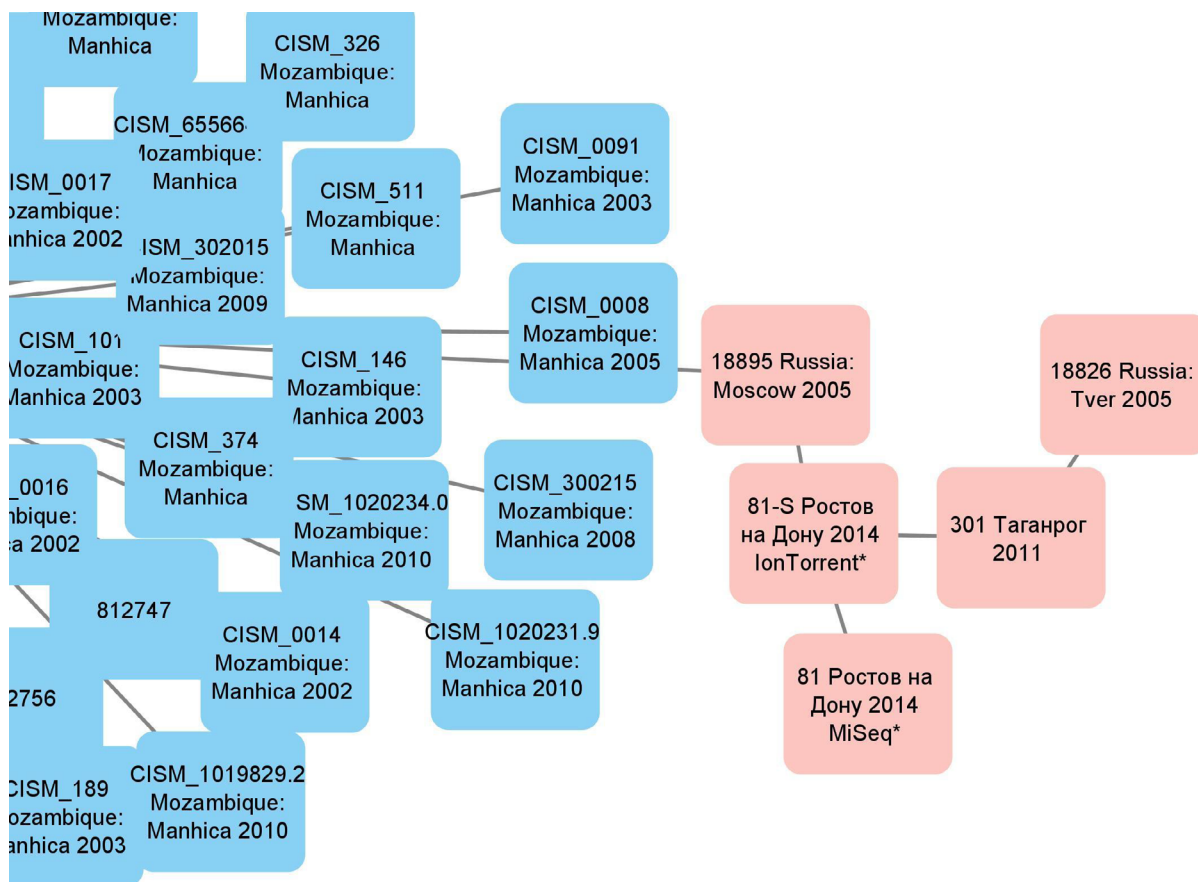


**Рис. 3.** Фрагмент дендрограммы, содержащий штаммы, изолированные во время вспышки холеры в Мариуполе в 2011 г.

Для каждого штамма указаны номер штамма, место и год выделения.

**Fig. 3.** A fragment of a dendrogram containing strains isolated during a cholera outbreak in Mariupol in 2011.

For each strain, the strain number, place and year of isolation are indicated.

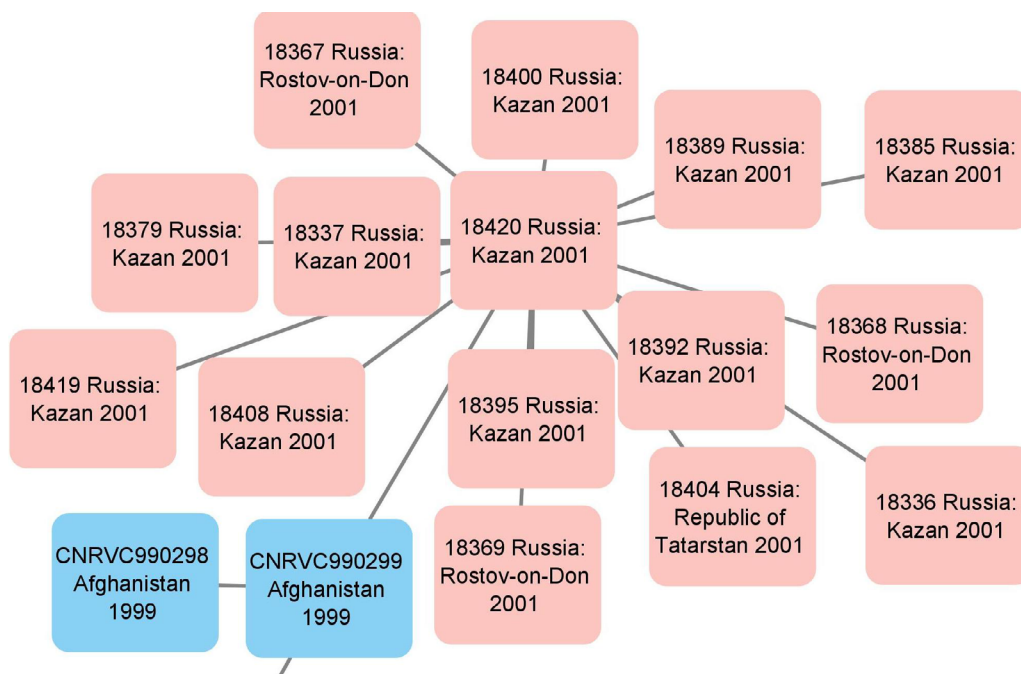


**Рис. 4.** Фрагмент дендрограммы, содержащий штаммы, изолированные в России в 2005–2014 гг.

Для каждого штамма указаны номер штамма, место и год выделения.

**Fig. 4.** A fragment of a dendrogram containing strains isolated in Russia in 2005–2014.

For each strain, the strain number, place and year of isolation are indicated.



**Рис. 5.** Фрагмент дендрограммы, содержащей штаммы, изолированные в России в 2001 г.

Для каждого штамма указаны номер штамма, место и год выделения.

**Fig. 5.** Fragment of a dendrogram containing strains isolated in Russia in 2001.

For each strain, the strain number, place and year of isolation are indicated.

изолятам из Афганистана (**рис. 5**), а также штаммам, изолированным в Ростове-на-Дону (2001 г.). Примечательно, что близость между штаммами из Ростова-на-Дону и Казани уже была показана ранее по итогам VNTR-анализа [29, 30]

Актуальным, на наш взгляд, является сопоставление результатов изучения геномов *V. cholerae*, полученных различными авторами. В этом плане весьма интересна работа F.X. Weill и соавт., посвящённая изучению геномов вибрионов, изолированных на африканском континенте [31]. На основе байесовского анализа авторы выделили 12 волн

распространения холеры в Африке. Нам удалось сопоставить данные о принадлежности штамма к той или иной волне для 237 изолятов, взятых в наше исследование. При этом каждая из волн занимает от 1 до 4 кластеров, при этом отсутствуют кластеры, в который попадали бы штаммы из разных волн. На наш взгляд, это может свидетельствовать о хорошей сходимости результатов, полученных различными методами.

Следующий этап работы состоял в разработке онлайн-ГИС, содержащей данные о геномах токсигенных штаммов *V. cholerae* O1. С этой целью на-



**Рис. 6.** Внешний вид разработанной ГИС «Молекулярно-генетический мониторинг за *V. cholerae*».

**Fig. 6.** The appearance of the developed GIS "Molecular genetic monitoring for *V. cholerae*".



**Рис. 7.** Фрагмент ГИС «Молекулярно-генетический мониторинг *V. cholerae*» — штаммы, генетически близкородственные штамму *V. cholerae* № I-1330.

**Fig. 7.** The fragment of GIS "Molecular genetic monitoring for *V. cholerae*" — strains genetically closely related to *V. cholerae* strain I-1330.

ми были отобраны геномы вибрионов, для которых имелась информация о месте и дате их выделения (2598 геномов). После геокодирования с использованием сервиса Nominatum данные были нанесены на электронную карту (рис. 6). В случае изоляции нескольких штаммов в одной точке они автоматически группируются в единый пространственный кластер с отображением их количества. При нажатии на него отображаются все штаммы, входящие в такой кластер. Для фильтрации по времени выделения штаммов предусмотрена кнопка «Выборка по годам», позволяющая указать необходимый временной диапазон.

Для выборки и фильтрации штаммов на основе их генетической близости был создан серверный программный модуль, позволяющий выявлять генетически близкие варианты с помощью матрицы, построенной на предыдущем этапе. При нажатии на маркер штамма отображается диалоговое окно, содержащее краткую информацию о геноме и кнопку «Найти похожие», позволяющую выбрать все геномы, отличающиеся не более чем на 5 SNP. Для облегчения визуального анализа размер маркера отражает генетическую близость. Например, результат поиска близкородственных геномов штамма *V. cholerae* № I-1330, выделенного во Владивостоке в 1999 г., представлен на рис. 7. Стоит отметить, что наиболее генетически близкими данному штамму являются изоляты, выделенные в Китае, Камбодже

и Лаосе, что, в свою очередь, коррелирует с данными, полученными другими авторами [32].

### Выводы

В ходе проведенного исследования отобраны 54 858 SNP, позволяющие дифференцировать эпидемиологически значимые штаммы, и создано программное обеспечение для проведения пакетного филогенетического анализа токсигенных штаммов *V. cholerae* на основе данных WGS.

Построена дендрограмма, отражающая филогенетические связи между 2598 геномами токсигенных изолятов *V. cholerae*. Показано, что большинство изолятов распределяются между несколькими большими кластерами. Установлено, что штаммы из Ростовской области (2011 и 2014 гг.) оказались близки к группе штаммов, длительно циркулировавших в Мозамбике. Изоляты *V. cholerae*, выделенные в Москве в 2010 г., представлены двумя разными кластерами, один из которых образован штаммами из Непала и Индии, в то время как второй представлен штаммами, вызвавшими вспышку холеры на о. Гаити в 2010 г. Установлено, что эпидемические осложнения вспышки холеры в г. Казани в 2001 г. вызваны штаммами, генетически близкородственными штаммам из Афганистана.

Создана онлайн-ГИС «Молекулярно-генетический мониторинг *V. cholerae*», позволяющая проводить выборку близкородственных штаммов непо-

средственно на электронной карте. ГИС расположена на сервере Ростовского-на-Дону противочумного института и доступна для работы сотрудникам учреждений Роспотребнадзора и других заинтересованных ведомств.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

- Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., et al. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature*. 2011;477(7365):462–5. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature10392>
- Смирнова Н.И., Агафонов Д.А., Кульшань Т.А. и др. Микроэволюция возбудителя холеры в современный период. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2014;69(7-8): 46–53. Smirnova N.I., Agafonov D.A., Kul'shan' T.A., et al. Microevolution of cholera agent in the modern period. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2014;69(7-8):46–53. DOI: <https://doi.org/10.15690/vramn.v69i7-8.1109> EDN: <https://elibrary.ru/snhyar>
- Monakhova E.V., Ghosh A., Mutreja A., et al. Endemic cholera in India and imported cholera in Russia: What is common? *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2020;(3):17–26. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-3-17-26> EDN: <https://elibrary.ru/sapflg>
- Didelot X., Siveroni I., Volz E.M. Additive uncorrelated relaxed clock models for the dating of genomic epidemiology phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 2021;38(1):307–17. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa193>
- Weill F.X., Domman D., Njamkepo E., et al. Genomic insights into the 2016–2017 cholera epidemic in Yemen. *Nature*. 2019;565(7738):230–3. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0818-3>
- Siriphap A., Leekitcharoenphon P., Kaas R.S., et al. Characterization and genetic variation of *Vibrio cholerae* isolated from clinical and environmental sources in Thailand. *PLoS One*. 2017;12(1):e0169324. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169324>
- Hossain Z.Z., Leekitcharoenphon P., Dalsgaard A., et al. Comparative genomics of *Vibrio cholerae* O1 isolated from cholera patients in Bangladesh. *Lett. Appl. Microbiol.* 2018;67(4):329–36. DOI: <https://doi.org/10.1111/lam.13046>
- Ramamurthy T., Mutreja A., Weill F.X., et al. Revisiting the global epidemiology of cholera in conjunction with the genomics of *Vibrio cholerae*. *Front. Public Health*. 2019;7:237. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.00203>
- Челдышова Н.Б., Смирнова Н.И., Заднова С.П. и др. Молекулярно-генетические свойства штаммов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор, циркулирующих на Африканском континенте. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2017;35(1):12–9. Cheldyshova N.B., Smirnova N.I., Zadnova S.P., et al. Molecular-genetic properties of *Vibrio cholerae* El Tor strains circulating in Africa. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2017;32(1):12–20. DOI: <https://doi.org/10.3103/S0891416817010025> EDN: <https://elibrary.ru/prqujn>
- Миронова Л.В., Балахонov С.В. Полногеномный анализ ононуклеотидных полиморфизмов в изучении молекулярной эпидемиологии холеры и эволюционной истории возбудителя. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2014;(4):10–8. Mironova L.V., Balakhonov S.V. Whole-genome analysis of single-nucleotide polymorphisms in study of cholera modular epidemiology and agent evolutionary history. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2014;(4):10–8. EDN: <https://elibrary.ru/sjwhdz>
- Kuleshov K.V., Vodop'ianov S.O., Dedkov V.G., et al. Travel-associated *Vibrio cholerae* O1 El Tor, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2016;22(11):2006–8. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2211.151727>
- Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Олейников И.П. Совершенствование методики SNP-типирования штаммов *Vibrio cholerae* на основе анализа первичных данных полногеномного секвенирования. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020;97(6):587–93. Vodopianov A.S., Pisanov R.V., Vodopianov S.O., Oleynikov I.P. Improvement of the technique of SNP-typing of *Vibrio cholerae* strains on the basis of the analysis of the primary data of whole genome sequencing. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2020;97(6):587–93. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-6-9> EDN: <https://elibrary.ru/ebllnh>
- Wang D., Wang B., Zhu L., et al. Genotyping and population diversity of *Bacillus anthracis* in China based on MLVA and canSNP analysis. *Microbiol. Res.* 2020;233:126414. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126414>
- Zhang E., Zhang H., He J., et al. Genetic diversity of *Bacillus anthracis* Ames lineage strains in China. *BMC Infect. Dis.* 2020;20(1):140. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-4867-5>
- Roonie A., Majumder S., Kingston J.J., Parida M. Molecular characterization of *B. anthracis* isolates from the anthrax outbreak among cattle in Karnataka, India. *BMC Microbiol.* 2020;20(1):232. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01917-1>
- Kevin M., Girault G., Caspar Y., et al. Phylogeography and genetic diversity of *Francisella tularensis* subsp. holarctica in France (1947–2018). *Front. Microbiol.* 2020;11:287. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00287>
- Schütz S.D., Liechti N., Altpeter E., et al. Phylogeography of *Francisella tularensis* subspecies holarctica and epidemiology of tularemia in Switzerland. *Front. Microbiol.* 2023;14:1151049. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1151049>
- Kamel Boulos M.N., Geraghty E.M. Geographical tracking and mapping of coronavirus disease COVID-19/severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) epidemic and associated events around the world: how 21<sup>st</sup> century GIS technologies are supporting the global fight against outbreaks and epidemics. *Int. J. Health Geogr.* 2020;19(1):8. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12942-020-00202-8>
- Clarkson M.D. Web-based COVID-19 dashboards and trackers in the United States: survey study. *JMIR Hum. Factors*. 2023;10:e43819. DOI: <https://doi.org/10.2196/43819>
- Schmidt F., Dröge-Rothaar A., Rienow A. Development of a Web GIS for small-scale detection and analysis of COVID-19 (SARS-CoV-2) cases based on volunteered geographic information for the city of Cologne, Germany, in July/August 2020. *Int. J. Health Geogr.* 2021;20(1):40. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12942-021-00290-0>
- Samany N.N., Liu H., Aghataher R., Bayat M. Ten GIS-based solutions for managing and controlling COVID-19 pandemic outbreak. *SN Comput. Sci.* 2022;3(4):269. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42979-022-01150-9>
- Bankevich A., Nurk S., Antipov D., et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012;19(5):455–77. DOI: <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
- Shannon P., Markiel A., Ozier O., et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res.* 2003;13(11):2498–504. DOI: <https://doi.org/10.1101/gr.1239303>
- Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О. и др. Молекулярная эпидемиология *Vibrio cholerae* — разработка алгоритма анализа данных полногеномного секвенирования. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2016;21(3):146–52.

- Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Vodopyanov S.O., et al. Molecular epidemiology of *Vibrio cholerae* — development of the algorithm for data analysis of whole genome sequencing. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2016;21(3):146–52. DOI: <https://doi.org/10.18821/1560-9529-2016-21-3-146-152> EDN: <https://elibrary.ru/wbgjid>
25. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends Microbiol.* 2010;18(1):46–54. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.10.003>
26. Ковалев Д.А., Шапаков Н.А., Писаренко С.В. и др. Генетическое типирование штаммов *Vibrio cholerae* биовара El Tor, выделенных на территории Кавказа в период 1970–1998 гг., с применением MLVA-5 и wgSNP. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(1):46–58. Kovalev D.A., Sharakov N.A., Pisarenko S.V., et al. Genetic typing of *Vibrio cholerae* strains biovar El Tor isolated from the Caucasus region during the 1970–1998 period using MLVA-5 and wgSNP. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021;98(1):46–58. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-29> EDN: <https://elibrary.ru/mlvbqj>
27. Kuleshov K.V., Kostikova A., Pisarenko S.V. et al. Comparative genomic analysis of two isolates of *Vibrio cholerae* O1 Ogawa El Tor isolated during outbreak in Mariupol in 2011. *Infect. Genet. Evol.* 2016;44:471–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.07.039>
28. Онищенко Г.Г., Морозов В.В., Трифонов В.А. и др. Мероприятия по локализации и ликвидации вспышки холеры в Республике Татарстан. *Казанский медицинский журнал*. 2002;83(5):390–3. Onishchenko G.G., Morozov V.V., Trifonov V.A., et al. Measures on localization and control of cholera outbreak in Tatarstan Republic. *Kazan Medical Journal*. 2002;83(5):390–3. EDN: <https://elibrary.ru/hrtzer>
29. Мишанькин Б.Н., Водопьянов А.С., Ломов Ю.М. и др. Мультилокусное VNTR-генотипирование культур холерных вибрионов, выделенных в г. Казань во время вспышки холеры летом 2001 г. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2003;(6):11–5. Mishankin B.N., Vodopyanov A.S., Lomov Yu.M., et al. Multilocus VNTR-genotyping of the cultures of *Vibrio cholerae* isolated in Kazan the outbreak of cholera in summer of 2001. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2003;(6):11–5. EDN: <https://elibrary.ru/wfngif>
30. Онищенко Г.Г., Москвитина Э.А., Водопьянов А.С. и др. Ретроспективный молекулярно-эпидемиологический анализ эпидемии холеры в Республике Дагестан в 1994 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016;(4):33–41. Onishchenko G.G., Moskvitina E.A., Vodopyanov A.S., et al. Retrospective molecular-epidemiological analysis of cholera epidemic in the Republic of Dagestan in 1994. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2016;(4):33–41. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2016-4-33-41> EDN: <https://elibrary.ru/xgxsxb>
31. Weill F.X., Domman D., Njamkepo E., et al. Genomic history of the seventh pandemic of cholera in Africa. *Science*. 2017;358(6364):785–9. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aad5901>
32. Mironova L.V., Gladkikh A.S., Ponomareva A.S., et al. Comparative genomics of *Vibrio cholerae* El Tor strains isolated at epidemic complications in Siberia and at the Far East. *Infect. Genet. Evol.* 2018;60:80–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.02.023>

#### Информация об авторах

**Водопьянов Алексей Сергеевич** — к.м.н., в.н.с. лаб. молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, [vodopyanov\\_as@antiplague.ru](mailto:vodopyanov_as@antiplague.ru), <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>

**Водопьянов Сергей Олегович** — д.м.н., г.н.с. лаб. микробиологии холеры Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4336-0439>

**Писанов Руслан Вячеславович** — к.б.н., зав. лаб. молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7178-8021>

**Олейников Игорь Павлович** — н.с. лаб. микробиологии холеры Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2390-9773>

**Носков Алексей Кимович** — к.м.н., директор Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

**Участие авторов:** Водопьянов А.С. — автор идеи, разработка методики анализа, биоинформационный анализ, написание текста статьи; Водопьянов С.О. — анализ литературы, написание текста статьи, редактирование; Писанов Р.В. — биоинформационный анализ, написание текста статьи; Олейников И.П., Носков А.К. — написание текста статьи, редактирование. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 01.10.2023;  
принята к публикации 12.11.2023;  
опубликована 28.12.2023

#### Information about the authors

**Alexey S. Vodopyanov** — Cand. Sci. (Med.), leading researcher, Laboratory of molecular biology of natural focal and zoonotic infections, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, [vodopyanov\\_as@antiplague.ru](mailto:vodopyanov_as@antiplague.ru), <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>

**Sergey O. Vodopyanov** — D. Sci. (Med.), main researcher, Laboratory of microbiology of cholera, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4336-0439>

**Ruslan V. Pisanov** — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of molecular biology of natural focal and zoonotic infections, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7178-8021>

**Igor P. Oleynikov** — researcher, Laboratory of microbiology of cholera, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2390-9773>

**Aleksey K. Noskov** — Cand. Sci. (Med.), Director, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

**Author contribution:** Vodopyanov A.S. — author of the idea, development of the analysis methodology, bioinformatic analysis, writing the text of the article; Vodopyanov S.O. — literature analysis, writing the text of the article, editing; Pisanov R.V. — bioinformatic analysis, writing the text of the article; Oleynikov I.P., Noskov A.K. — writing the text of the article, editing. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 01.10.2023;  
accepted for publication 12.11.2023;  
published 28.12.2023



Оригинальное исследование  
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-401>



# Оценка регистрируемого и скрытого эпидемического процесса клещевого энцефалита в Республике Карелия

Рубис Л.В.<sup>1</sup>, Чевская В.Е.<sup>2</sup>, Екимова О.В.<sup>2</sup>, Сафонова О.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

<sup>2</sup>Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Карелия, Петрозаводск, Россия

## Аннотация

**Введение.** Заболеваемость клещевым энцефалитом (КЭ) в России сохраняет актуальность. Оценка эпидемического процесса этой инфекции в Республике Карелия важна не только для понимания его общих закономерностей, но и в связи с ростом туристической посещаемости региона.

**Цель:** оценить современную эпидемическую ситуацию по КЭ в Республике Карелия, сопоставить характеристики регистрируемого и скрытого эпидемического процесса.

**Материалы и методы.** По данным учёта случаев обращения за медицинской помощью в связи с присасыванием клещей, результатов исследования заражённости клещей вирусом КЭ и эпидемиологического расследования случаев заболевания проанализированы риск заражения и заболеваемость в 1992–2022 гг. Клиническая, гендерная и возрастная структуры, территориальное распределение больных и пострадавших от клещей сопоставлены с результатами серологических исследований 2379 проб крови взрослого населения, проведённых в 2011–2022 гг.

**Результаты.** Заражённость клещей варьировала от 23,6–27,0% в 2002–2005 гг. до 1,0% в 2022 гг. В 2004 г. антиген вируса КЭ был выявлен в комарах. Территория риска — южная часть республики, но выявлен рост обращаемости в северных районах. Заболеваемость превышала среднефедеральные показатели, особенно в 2003–2004 гг. (15,3–11,6 на 100 тыс.). К 2021–2022 гг. она снизилась до 1,8–1,5 на 100 тыс. Динамика заболеваемости коррелировала с динамикой обращаемости и заражённости клещей ( $R = 0,92$  и  $0,73$ ). Регистрируемая заболеваемость ниже расчётного показателя риска заражения. Наиболее часто диагностировали менингеальные формы. Риск заболевания выше у лиц пожилого возраста и у мужчин, что определяется, по-видимому, условиями заражения. Антитела к вирусу выявлены у  $11,8 \pm 0,7\%$  обследованных.

**Заключение.** В Республике Карелия выявлено устойчивое снижение регистрируемой заболеваемости КЭ, связанное в основном с действием биологических и природных факторов. Оценка серопревалентности позволила выявить скрытую часть эпидемического процесса.

**Ключевые слова:** клещевой энцефалит, заболеваемость, вирусофорность, обращаемость, антитела

**Этическое утверждение.** Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом при Министерстве здравоохранения Республики Карелия и Петрозаводском государственном университете (протокол № 48 от 10.03.2023).

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Для цитирования:** Рубис Л.В., Чевская В.Е., Екимова О.В., Сафонова О.С. Оценка регистрируемого и скрытого эпидемического процесса клещевого энцефалита в Республике Карелия. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(6):472–484.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-401>

EDN: <https://www.elibrary.ru/wjaimw>

Original Study Article  
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-401>

## Assessment of registered and hidden epidemic process of tick-borne encephalitis in the Republic of Karelia

Lyudmila V. Rubis<sup>1</sup>, Victoriya E. Chevskaya<sup>2</sup>, Olga V. Ekimova<sup>2</sup>, Olga S. Safonova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia;

<sup>2</sup>Center for Hygiene and Epidemiology in the Republic of Karelia, Petrozavodsk, Russia

### Abstract

**Introduction.** The incidence of tick-borne encephalitis in the Russia remains relevant. The assessment of the epidemic process in the Republic of Karelia is important not only in terms of understanding its general patterns, but in connection with the growth of tourist attendance in the region.

**Aims:** To assess the current epidemic situation of tick-borne encephalitis in the Republic of Karelia, and to compare the characteristics of registered and hidden epidemic processes.

**Materials and methods.** The risk of infection and incidence were estimated based on the analysis of the registered cases of seeking medical help in connection with tick bites, the results of a study of tick-borne encephalitis virus (TBEV) infection rate in ticks, and the epidemiological investigation of cases of tick-borne encephalitis in 1992–2022. Clinical, gender and age structure, territorial distribution of patients and victims of the tick bites were compared with the results of serological studies of 2379 blood samples of the adult population, conducted in 2011–2022.

**Results.** Infection rates of ticks removed from humans ranged from 23.6–27.0% in 2002–2005 to 1.0% in 2022. In 2004, the TBEV antigen was detected in mosquitoes. The territory of risk is the southern part of Republic. However, the increase in number of cases of seeking medical help was observed in the northern part of Republic. The incidence rates exceeded the national average, especially in 2003–2004 (15.3–11.6 per 100 thousand). In 2021–2022, it decreased to 1.8–1.5 per 100,000. The dynamics of incidence had a high-degree correlation with the dynamics of seeking medical help and infection rates in ticks ( $R = 0.92$  and  $0.73$ ). The reported incidence was lower than the estimated risk of infection. The meningeal forms of infection were most often diagnosed. The risk of the disease was higher in the elderly and in men, which was determined by the conditions of infection. Antibodies to TBEV were detected in  $11.8 \pm 0.7\%$  of the examined persons.

**Conclusion.** A steady decrease in rates of registered tick-borne encephalitis incidence has been revealed in the Republic of Karelia, mainly due to the action of biological and natural factors. The assessment of seroprevalence made it possible to reveal the hidden part of the epidemic process.

**Keywords:** tick-borne encephalitis, morbidity, virus infection, seeking medical help, antibodies

**Ethics approval.** The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee under the Ministry of Health of the Republic of Karelia and Petrozavodsk State University (protocol No. 48, March 10, 2023).

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**For citation:** Rubis L.V., Chevskaya V.E., Ekimova O.V., Safonova O.S. Assessment of registered and hidden epidemic process of tick-borne encephalitis in the Republic of Karelia. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2023;100(6):472–484. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-401>. EDN: <https://www.elibrary.ru/wjaimw>

## Введение

Вирусный клещевой энцефалит (КЭ) в России, несмотря на снижающуюся на протяжении двух десятилетий заболеваемость, остаётся серьёзной проблемой для здравоохранения в силу тяжести болезни и её последствий, широкого ареала и среднего эпидемического потенциала возбудителя [1–3]. Снижение заболеваемости КЭ обусловлено комплексом биологических, природных и социальных факторов, одним из которых является наблюдаемое по крайней мере с 2015 г. сокращение доли инфицированных особей среди удалённых с людей клещей [1, 4, 5]. В то же время обращаемость за медицинской помощью по поводу присасывания клещей в 2014–2022 гг. не имела тенденции к снижению и в среднем составила 343,1 на 100 тыс. населения [6, 7]; как и в странах Европы, выявлено расширение ареала переносчиков вируса в северном и западном направлениях [8–12]. Рост заболеваемости в 2022 г. рассматривается как возможное начало очередного макроцикла [2]. Вместе с тем регистрируемая заболеваемость КЭ не от-

ражает в полной мере широту и интенсивность распространения возбудителя в связи со значительной частотой бессимптомных или остающихся недиагностированными лёгких форм инфекции [13, 14], формирующих «скрытую» часть эпидемического процесса, оценить которую позволяют сероэпидемиологические исследования [14, 15].

Одним из 48 эндемичных по КЭ субъектов страны является Республика Карелия (РК), по уровню заболеваемости отнесённая к территориям среднего эпидемиологического риска [11]. РК находится на северо-западе России между  $60^\circ$  и  $66^\circ$  с.ш., граничит с Мурманской, Архангельской, Вологодской и Ленинградской областями, на западе на всем протяжении — с Финляндией. Из 18 административных образований эндемичными по КЭ являются 13, находящихся южнее  $64,5^\circ$  с.ш.<sup>1</sup> Более двух третей

<sup>1</sup> Письмо Федеральной службы по надзору от 01.02.2023 № 02/1545-2023-32 «О перечне эндемичных территорий по клещевому вирусному энцефалиту в 2022 г.».

территории РК является местом обитания *Ixodes persulcatus* P. Sch., для которого установлено расширение границ в пределах эндемичных районов. В юго-западной части РК обитает *I. ricinus* L., ареал которого несколько сузился, а северная граница распространения не изменилась [16, 17].

Среди *I. persulcatus* в РК выявлена циркуляция вируса КЭ, принадлежащего к Балтийской группе Сибирского субтипа [18]. Вирусофорность клещей в 2000–2021 гг. варьировала от 23,6 до 1,3% [19], в *I. persulcatus* РНК вируса обнаруживали чаще, чем в *I. ricinus* [18]. Установлена сильная корреляция динамики заболеваемости КЭ в 2000–2021 гг. с обращаемостью по поводу присасывания клещей и их заражённостью [19, 20]. Антитела класса IgG к вирусу КЭ в разные годы были выявлены у 11,9–13,0% жителей РК [19, 21, 22]. Несмотря на то что вопросы КЭ и биологии его переносчиков в РК рассматриваются в ряде публикаций, представленные в них сведения позволяют лишь в общих чертах оценить эпидемическую ситуацию в РК, туристическая посещаемость которой в последние годы резко выросла. Более глубокий анализ данных, характеризующих предполагаемый и реальный риск заболевания КЭ в РК, важен не только для оценки локальной ситуации, но и для понимания общих для страны закономерностей эпидемического процесса и его прогнозирования.

**Цель** исследования — оценить современную эпидемическую ситуацию по КЭ в РК, сопоставить характеристики регистрируемого и скрытого эпидемического процесса.

## Материалы и методы

### Эпидемиологическое исследование

Исследование проведено с использованием описательного метода эпидемиологического анализа (ретроспективный анализ, корреляционный анализ). Многолетняя динамика обращаемости за медицинской помощью в связи с присасыванием клещей изучена по данным, представленным в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в РК» (ранее — Республиканский центр госсанэпиднадзора) медицинскими организациями г. Петрозаводска с 1992 по 2022 г. и медицинскими организациями всех административных образований РК с 2002 по 2022 г. По данным журналов учёта оказания помощи ГБУЗ «Больница скорой медицинской помощи» г. Петрозаводска проанализированы возрастная и гендерная структура взрослых лиц, обратившихся в учреждение в связи с присасыванием клещей. В анализ возрастной структуры включены данные о 8166 случаях обращений лиц в возрасте 20 лет и старше в 2001–2003, 2009–2010 и 2017–2019 гг., что составило 77,4% от 10 554 случаев обращений взрослого населения, зарегистрированных в городе

в эти годы. Гендерная структура проанализирована по данным о 1037 случаях обращений в 2017–2019 гг. (42,0% из 2471 случаев).

Многолетняя динамика заболеваемости КЭ в РК проанализирована за период с 1992 по 2022 г. Анализ заболеваемости по административным районам проведён по данным официальной статистики (1997–2022 гг.) и данным эпидемиологического расследования случаев заболеваний (2002–2017 гг.). По данным карт эпидемиологического расследования изучены клинические формы КЭ (1998–2022 гг.), возрастные (2001–2022 гг.) и гендерные (1992–2022 гг.) особенности заболеваемости у взрослых, условия заражения (2010–2022 гг.).

### Лабораторные исследования

Вирусофорность клещей проанализирована по данным вирусологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в РК» за 1992–2022 гг. Всего в лаборатории за этот период исследовано 77 296 клещей, в том числе 74 088 снятых с людей.

Исследования проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на наличие антигена вируса КЭ, с 2006 г. — ИФА и полимеразной цепной реакции (ПЦР). В 2006–2010 гг. методом ПЦР исследовали только клещей, собранных в природе. С 2011 г. использовали набор реагентов для выявления РНК/ДНК 4 возбудителей «Ампли-Сенс TBEV, B. burgdorferi sl, A. phagocytophilum, E. chaffeensis/E.muris-FL» (ФБУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора). Для ИФА использовали набор реагентов «ВектоВКЭ-антиген» («Вектор-Бест»). С 2011 г. исследовано 35 447 клещей, снятых с людей, в том числе 27 563 методом ПЦР и 7884 — методом ИФА, а также 2059 клещей, собранных в природе, методом ПЦР. В 2004 г. проведено исследование 13 пулов (по 10 штук) комаров, доставленных из 2 районов (8 пулов комаров рода *Aedes* и 5 пулов комаров рода *Anopheles*), с целью выявления антигена к вирусу КЭ.

С 2011 по 2022 г. ежегодно проводились исследования проб крови здоровых взрослых лиц на наличие антител к вирусу КЭ (от 93–95 проб в 2011 и 2018 гг. до 306–316 проб в 2012–2013 гг.). Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом при Министерстве здравоохранения Республики Карелия и Петрозаводском государственном университете (протокол № 48 от 10.03.2023).

Отбор и доставка проб осуществлялись медицинскими организациями на основании плана Управления Роспотребнадзора по РК. В каждом административном образовании пробы отбирали в течение 2–6 лет, у жителей Петрозаводска — ежегодно (за исключением 2016 г.). Общее число проб

у жителей Петрозаводска — 807, в остальных 17 административных образованиях — 40–172.

Исследования методом твердофазного ИФА проводили в лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в РК» с использованием наборов реагентов «ВектоВКЭ-IgG» («Вектор-Бест»), предназначенных для выявления и количественного определения иммуноглобулинов класса G (IgG) к вирусу КЭ. В данном исследовании иммуноглобулины только выявляли, без количественного определения их содержания в пробах (в 2012 г. у 53 человек указаны количественные показатели).

Ретроспективно проанализированы результаты исследований 2379 проб сывороток крови. С целью снижения влияния на результат случайных факторов (заражение за пределами места проживания) административные образования были объединены в 2 группы: группа эндемичных районов (11 районов и Петрозаводск — 2056 проб) и группа неэндемичных районов (4 района и Костомукша — 323 пробы).

#### Статистическая обработка

Статистическая обработка полученных результатов проведена с применением пакета программ «Microsoft Office Excel 2010». Показатели обращаемости и заболеваемости рассчитывали на основании данных государственной статистики по РК о численности населения<sup>2</sup>. Число лиц, подвергшихся риску инфицирования в результате присасывания клещей ( $X$ ), определяли по формуле:

$$X = \text{сумма} (A \times B) / 100,$$

где  $A$  — число лиц, обратившихся за помощью в связи с присасыванием клещей;  $B$  — показатель заражённости клещей, удалённых с людей (%).

С целью подтверждения статистической достоверности показателей применяли метод расчёта стандартной ошибки ( $m$ ) с уровнем доверительной вероятности 95% и выше ( $p < 0,05$ ).

### Результаты и обсуждение

#### Заражённость клещей вирусом КЭ

В 1992–2001 гг. ежегодно исследовали около 1 тыс. клещей, в 2002–2022 гг. — от 2 до 5 тыс. (в 2003 г. — 50 071 экземпляр). Всего за последние 20 лет исследовано 73,3% клещей, удалённых с людей, обратившихся в медицинские учреждения, в том числе в 2017–2022 гг. — 91,3%. Заражённость клещей, удалённых с людей, вирусом КЭ в 1992–2001 гг. варьировала от 2,2% (1998 г.) до 14,3% (2001 г.). В 2002–2005 гг. показатели вирусофорности выросли до 23,6–32,0%, после чего

постоянно снижались: с 9,9% в 2006 г. до 1,0% в 2022 гг. (рис. 1). Снижение показателей частично можно объяснить внедрением метода ПЦР, обладающего более высокой чувствительностью и специфичностью по сравнению с ИФА [23, 24]. Однако то, что снижение началось в 2006–2010 гг., когда ИФА оставался основным методом исследования, и продолжилось в годы, когда подавляющее большинство исследований проводилось с использованием одного и того же набора реагентов для ПЦР, свидетельствует об объективном характере этого явления. Частота обнаружения РНК вируса в клещах, собранных в природе ( $2,2 \pm 0,3\%$ ), и клещах, удалённых с людей ( $2,0 \pm 0,1\%$ ), в отдельные годы различалась, но в среднем за 2011–2022 гг. различие оказалось недостоверным.

В 2004 г. на фоне пика вирусофорности клещей антиген вируса КЭ был выявлен в 3 из 8 пулов комаров *Aedes* и во всех 5 пулах *Anopheles*, доставленных из эндемичного и наиболее южного из неэндемичных районов. Несмотря на то что производитель тест-систем указывает их 100% специфичность, установлено, что ИФА клещей с использованием набора «ВектоВКЭ-антиген» может давать перекрёстные реакции с вирусами серокомплекса КЭ и другими микроорганизмами, обитающими в иксодовых клещах. Более того, ложноположительные реакции с вирусами комплекса КЭ может давать и ПЦР [23, 24]. Это ставит под сомнение достоверность полученных результатов. Вместе с тем сообщение о неоднократном выделении штаммов вируса КЭ от комаров *Aedes vexans* в Хабаровском крае, у которых установлено сходство структур геномов с вирусами КЭ, выделенными из клещей *I. persulcatus* и из мозга погибших людей, проявляющих патогенность при пассировании на лабораторных мышах и цитопатическое действие *in vitro* [25], даёт основание задуматься о возможности участия комаров в циркуляции вируса. Других исследований, подтверждающих или опровергающих возможность сохранения и репродукции вируса КЭ в комарах, подобных тем, которые проводились в отношении разных видов клещей [26], найти не удалось. Отсутствие эпидемиологических наблюдений о заражении КЭ при укусах комаров не исключает такую возможность, т.к., во-первых, люди могут одновременно подвергаться нападению инфицированных клещей и комаров, во-вторых, количество вируса в комарах может быть недостаточно для развития клинически выраженного заболевания. В то же время для возбудителей природно-очаговых заболеваний поливекторность эволюционно оправдана и на сегодня доказано участие различных видов членистоногих в переносе возбудителей ряда болезней на разных территориях.

<sup>2</sup> Карелиястат. Численность и состав населения.  
URL: <https://krl.gks.ru/Nas>



**Рис. 1.** Число обращений за медицинской помощью в связи с присасыванием иксодовых клещей в Петрозаводске и РК, зараженность клещей, удалённых с людей, вирусом КЭ и расчётное число лиц, к которым произошло присасывание инфицированных клещей, в 1992–2022 гг.

**Fig. 1.** Number of cases seeking medical help in connection with the bites of ixodid ticks in Petrozavodsk and the Republic of Karelia, the number of ticks infected with tick-borne encephalitis virus removed from people, and the estimated number of people who were bitten by infected ticks in 1992–2022.

### Обращаемость по поводу присасывания клещей

Число обращений населения за медицинской помощью в связи с присасыванием клещей в г. Петрозаводске в период с 1992 по 2001 г. колебалось от 500 до 2005 человек. В медицинские организации РК с 2002 по 2022 г. обратились 81 809 человек. Резкий рост числа обращений зафиксирован в 2003–2004 гг. (6618 и 5707 случаев). В эти же годы наблюдался и рост численности клещей при стационарных наблюдениях [20]. В дальнейшем обращаемость имела тенденцию к снижению и в 2022 г. достигла минимального уровня — 2781 человек (рис. 1). В период с 2002 по 2022 г. на Петрозаводск пришлось 40,2% (от 33,6 до 52,5% в разные годы) от числа всех обращений в медицинские организации РК. Коэффициент линейной корреляции ( $R$ ) динамики обращаемости в Петрозаводске и РК составил 0,91. Используя его, мы рассчитали число обратившихся в целом по РК с 1992 по 2001 г. (на рис. 1 показано пунктиром).

Установлено, что некоторая часть обращений регистрировалась дважды: при обращении для удаления клеща и для введения иммуноглобулина по результатам его исследования. В то же время часть пострадавших, особенно проживающих в сельской местности, могла не обращаться за медицинской помощью. Установить реальное число лиц, подвергшихся нападению клещей, за все годы наблюдения не представляется возможным, но можно предполагать, что оно близко к регистрируемым показателям. Число лиц, подвергшихся риску инфицирования в результате присасывания заражённых клещей в РК в 1992–2022 гг., рассчитанное по формуле, указанной в разделе «Материалы и методы», составило 10 490 человек (в том числе в 1992–2001 гг. — 2780 человек, в 2002–2022 гг. — 7710 человек) — 1,7% от численности населения РК в 2022 г.

Около 90% обращений регистрировались в районах, расположенных в южной части РК, где были наиболее высокие показатели обращаемости

на 100 тыс. населения. Во всех 5 неэндемичных северных районах с 1990-х гг. начали регистрироваться отдельные случаи обращений, а в последние два десятилетия их количество значительно выросло. В 2004–2022 гг. суммарно в них зарегистрировано 615 обращений (0,9% от всех обращений по РК). Отсутствие информации о территориях, на которых происходило присасывание клещей, не позволяет проанализировать вовлечённость неэндемичных районов, однако столь значительное число обращений даёт основание предполагать, что на территориях, считавшихся свободными от клещей, в настоящее время случаи присасывания происходят нередко. Это ставит под сомнение ранее сделанный вывод о том, что находки клещей севернее границы его распространения в РК относятся к категории случайных заносов [17].

Из общего числа обратившихся в медицинские организации с 2002 по 2022 г. взрослые составили в РК 68,2%, в Петрозаводске — 80,0%. Анализ возрастной структуры взрослых, обратившихся в 2001–2003, 2009–2010 и 2017–2019 гг. в медицинские организации города, показал, что наиболее высокой (в среднем 52,8%) во все 3 периода была доля лиц в возрасте 50 лет и старше, а наиболее низкой — в группе 20–29 лет (13,4%). При пересчёте на численность населения каждой возрастной группы это соотношение сохранилось, кроме группы 20–29 лет в 2009–2010 гг., что может объясняться недостаточным числом наблюдений (табл. 1). Гендерная структура обращающихся взрослых в 2017–2019 гг. в Петрозаводске была практически постоянна и в среднем составила: мужчины —  $55,6 \pm 1,5\%$ , женщины —  $44,36 \pm 1,5\%$ , что согласуется с результатами эпидемиологического расследования, свидетельствующими о том, что наиболее частым местом заражения КЭ являются дачи, где его риск одинаков для мужчин и женщин. С про-

фессиональной деятельностью в природных очагах инфекции с 2010 г. связано лишь  $3,8 \pm 1,1\%$ .

Сокращение частоты обращений населения за медицинской помощью по поводу присасывания клещей может быть следствием снижения численности популяций последних на территориях, где наиболее часто реализуется их контакт с людьми, снижения настороженности населения или доступности медицинской помощи. Последний фактор мог играть определённую роль в период пандемии COVID-19, а в остальные годы в сельской местности, но не в районных центрах и Петрозаводске. Вряд ли можно говорить и о серьёзном снижении настороженности населения, т.к. высокая (около 30%) заражённость клещей возбудителем болезни Лайма требует обращения за медицинской помощью для организации её антибиотикопрофилактики, в связи с чем в РК проводится активная информационная работа. Более вероятно предполагать, что стабильное снижение обращаемости отражает процесс снижения численности клещей.

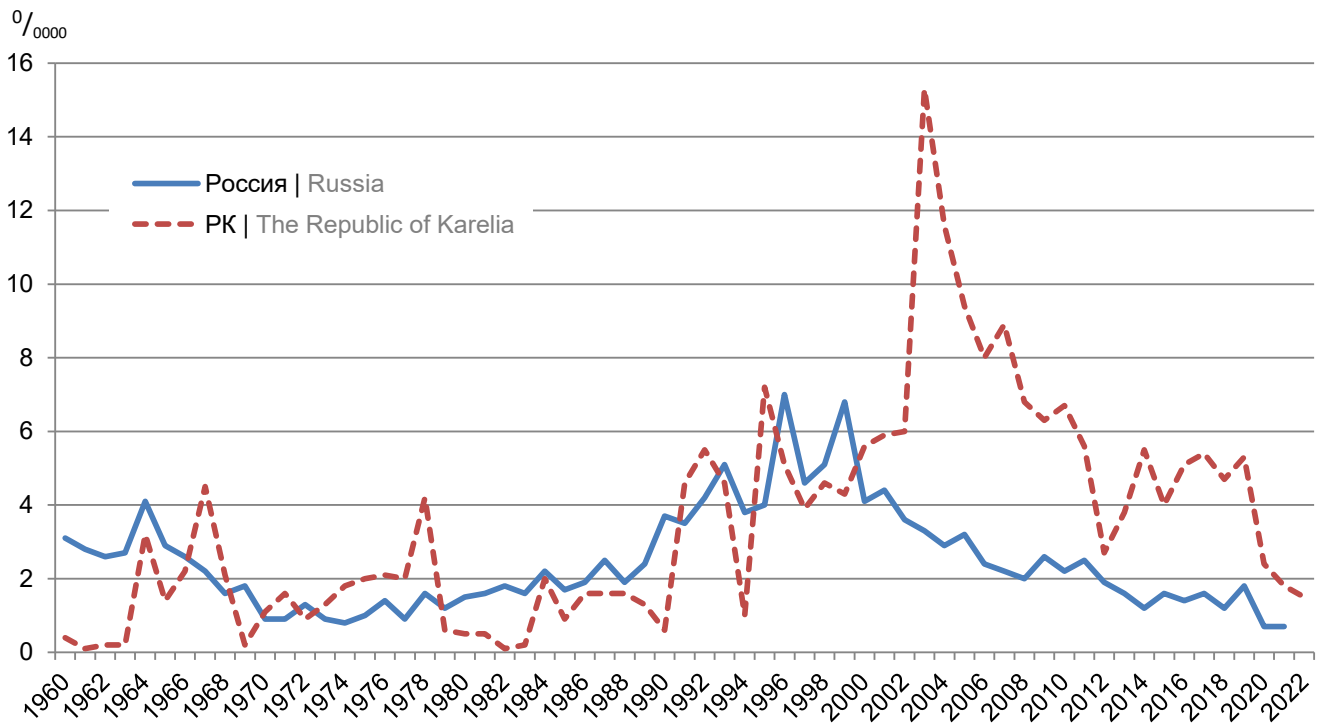
#### Заболееваемость КЭ

Всего в 1992–2022 гг. в РК зарегистрировано 1248 случаев КЭ. Многолетняя динамика заболеваемости за 31-летний период наблюдения, несмотря на циклические колебания показателей, характеризовалась их ростом с конца прошлого века, особенно выраженным в 2003 г. (15,3 на 100 тыс.), с 2004 г. сменившимся снижением, а с 2011 г. до настоящего времени — некоторой стабилизацией на уровне 3,8–5,6 на 100 тыс. (в 2012, 2021 и 2022 гг. — 1,5–2,7 на 100 тыс.). Уровень заболеваемости в ХХ в. был близок к среднефедеральному, но с начала ХХI в. ситуация в РК оказалась более неблагоприятной, и лишь в последние годы показатели вновь стали приближаться к средним по стране (рис. 2). Пик заболеваемости в 2003–2004 гг. (15,3–11,6 на

**Таблица 1.** Возрастная структура обращающихся за медицинской помощью в связи с присасыванием иксодовых клещей в Петрозаводске в 2001–2003, 2009–2010 и 2017–2019 гг.

**Table 1.** Age structure of those who seek medical help in connection with the bite of ixodid ticks in Petrozavodsk in 2001–2003, 2009–2010 and 2017–2019

Период Period	Показатель Indicator	Возраст, лет   Age, years				Всего Total
		20–29	30–39	40–49	> 50	
2001–2003	абс.   abs.	608	686	861	1925	4080
	%	14,9	16,8	21,1	47,2	100,0
	$\%_{0000}$	$1259,8 \pm 50,8$	$1594,7 \pm 60,4$	$1827,6 \pm 61,7$	$2530,5 \pm 56,9$	$1902,5 \pm 29,4$
2009–2010	абс.   abs.	253	251	245	899	1648
	%	15,4	15,2	14,9	54,6	100,0
	$\%_{0000}$	$539,0 \pm 33,8$	$571,8 \pm 36,0$	$576,2 \pm 36,7$	$1018,1 \pm 33,8$	$743,5 \pm 18,2$
2017–2019	абс.   abs.	234	379	336	1489	2438
	%	9,6	15,6	13,8	61,1	100,0
	$\%_{0000}$	$592,0 \pm 38,6$	$760,7 \pm 38,9$	$909,4 \pm 49,4$	$1632,0 \pm 41,9$	$1120,7 \pm 22,6$



**Рис. 2.** Заболеваемость КЭ населения России и РК в 1960–2022 гг. (на 100 тыс. населения).

**Fig. 2.** The incidence of tick-borne encephalitis in the population of the Russian Federation and the Republic of Karelia in 1960–2022 (per 100 thousand population).

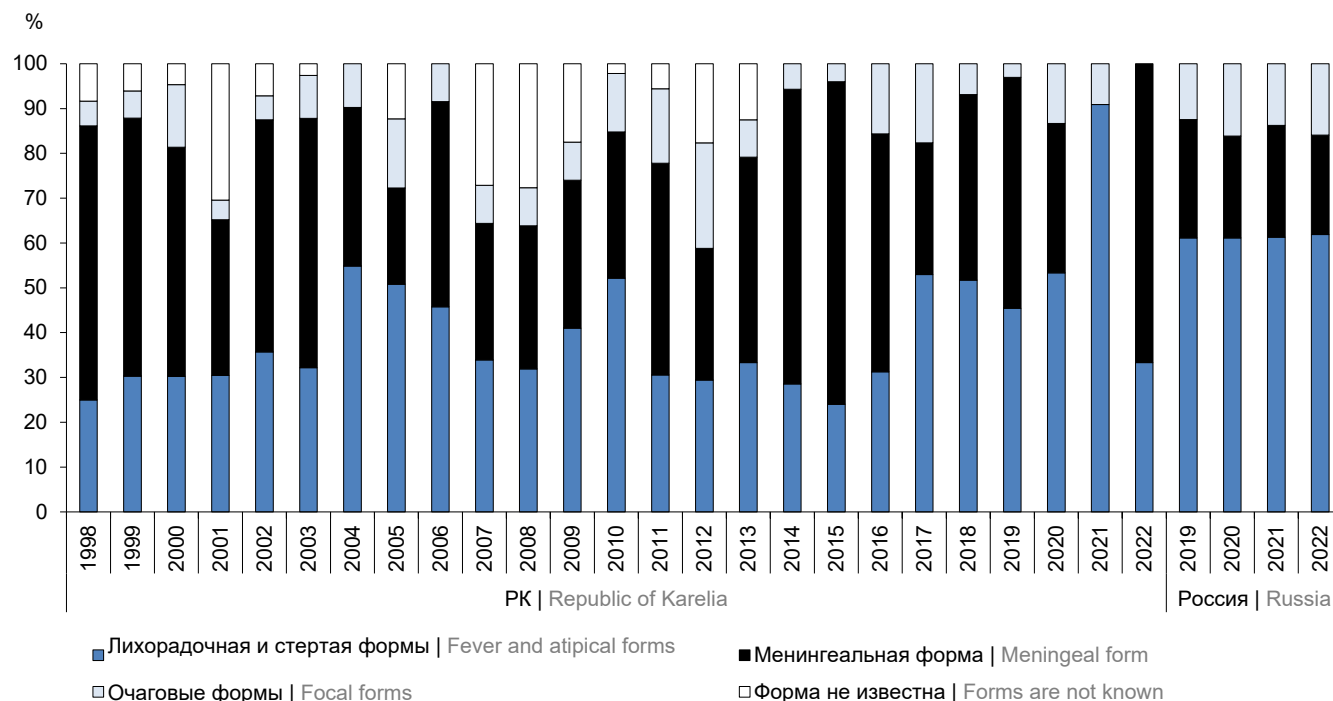
100 тыс.) соответствовал максимальным уровням обращаемости и вирусофорности клещей. В 2002–2022 гг. динамика заболеваемости КЭ имела корреляцию высокой степени с динамикой обращаемости населения, пострадавшего от клещей ( $R = 0,92$ ), и с их заражённостью вирусом КЭ ( $R = 0,79$ ). Устойчивая тенденция снижения заболеваемости, вирусофорности клещей и обращаемости населения по поводу присасывания клещей дают основание говорить о снижении интенсивности эпизоотического и, как следствие, эпидемического процесса КЭ в РК. До какого уровня и как долго может продолжаться снижение, сказать трудно, поскольку причины его, как и резко подъёма ранее, до конца не ясны.

Среднегодовые показатели заболеваемости в эндемичных районах в 1997–2021 гг. колебались от 0,4 до 13,2 на 100 тыс. Наиболее высокие показатели были в районах центральной и восточной части юга РК, где единственным или доминирующим видом иксодовых клещей является *I. persulcatus*. В то же время на юго-западе — зоне преобладания *I. ricinus* или симпатрии обоих видов — заболеваемость была значительно ниже, а в одном из районов, где находили только *I. ricinus*, случаи заболевания вообще не регистрировались. В 2003 г. в неэндемичном Кемском районе был выявлен случай заражения (зарегистрирован в другом районе), в двух других неэндемичных районах в 2009 и 2014 гг. регистрировались слу-

чай КЭ, однако, по данным эпидемиологического расследования, заражение происходило вне места проживания.

Число зарегистрированных случаев КЭ в РК в 1992–2022 гг. оказалось в 8,4 раза ниже расчётного числа лиц, подвергавшихся риску заражения в эти годы. Причин такого расхождения может быть несколько: ложноположительные результаты при выявлении антигена вируса в клещах [23, 24], содержание у части присосавшихся клещей вируса в количестве, недостаточном для того, чтобы вызвать клинически выраженную форму заболевания [14, 27], гиподиагностика заболевания, высокий уровень коллективного иммунитета и эффективность экстренной профилактики.

Наиболее частой формой КЭ в РК была менингеальная, доля которой варьировала от 21,5% в 2005 г. до 61,1–66,7% в 1998 и 2022 гг., в среднем составив 43,7% от всех случаев заболевания (рис. 3). Частота лихорадочных и стёртых форм варьировала в пределах 25,0–24,0% (1998, 2015 гг.) — 54,9% (2004 г.) — 90,9% (2021 г.), в среднем — 37,0%, а очаговых — 9,7% (от 3,0–4,4% в 2001 и 2019 гг. до 23,5% в 2012 г.). Необычными оказались 2021 г. (диагностированы только 10 лихорадочных и 1 очаговая форма) и 2022 г. (всего 9 случаев и ни одной очаговой формы), что, скорее всего, объясняется гиподиагностикой на фоне пандемии COVID-19. Клиническая структура КЭ несколько отличалась

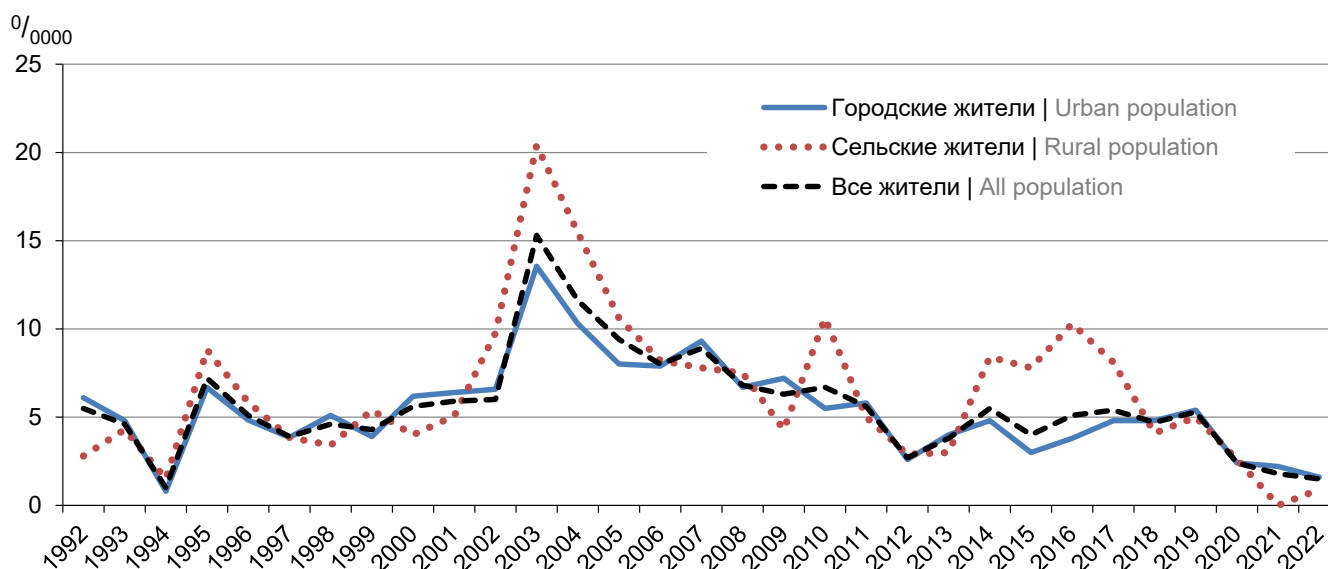


**Рис. 3.** Структура клинических форм КЭ в РК в 1998–2022 гг. и в России в 2019–2022 гг. (%).

**Fig. 3.** Structure of clinical forms of tick-borne encephalitis in the Republic of Karelia in 1998–2022 and in Russia in 2019–2022 (%).

от средних показателей по стране, где в 2019–2022 гг. преобладали лихорадочные формы [2, 11, 12, 28] (рис. 3), что вызывает вопросы, учитывая циркуляцию в РК наиболее распространённого в стране сибирского варианта вируса. Более низкая частота лихорадочных форм в РК частично объясняется их неполным выявлением в районах. Так, в 2014–2017 гг. доля лихорадочных и стёртых форм в Петрозавод-

ске составила 45,2%, а в остальных административных образованиях — 25,0%. В то же время нельзя полностью исключить и гипердиагностику лихорадочных форм как в РК, где в 2010–2022 гг. у 21,7% больных диагноз был поставлен только на основании клиники и факта присасывания клеща, так и на других территориях при не 100% верификации диагноза обнаружением антител класса IgM, т.к. по-



**Рис. 4.** Заболеваемость КЭ городского и сельского населения РК в 1992–2022 гг. (на 100 тыс.).

**Fig. 4.** The incidence of tick-borne encephalitis in the urban and rural population of the Republic of Karelia in 1992–2022 (per 100 thousand).



добную клинику могут давать и другие возбудители, передаваемые иксодовыми клещами.

Структуру клинических форм КЭ, как и другие характеристики заболеваемости, в РК определяли преобладавшие среди больных горожане, что характерно и для других регионов России [12]. Прямой зависимости между увеличением доли сельского населения среди заболевших (до 31,4–40,6% в 2003, 2010, 2014–2017 гг.) и сокращением частоты лихорадочных форм, которую можно было бы предполагать, не выявлено. Объяснением этому может быть то, что у части сельских жителей КЭ диагностировался в Петрозаводске. В то же время показатели заболеваемости сельских жителей в отдельные годы были выше, чем горожан (рис. 4), причём в современный период различие более выражено, чем в 1990-е гг., что говорит о сохранении для них высокого риска заражения. Низкая заболеваемость сельских жителей в 2021–2022 гг. может быть обусловлена снижением доступности медицинской помощи из-за пандемии.

Наибольшую долю среди заболевших, как и среди пострадавших от нападения клещей, составили лица старше 50 лет, что характерно и для России в целом [1]. В этой группе были и самые высокие показатели заболеваемости на 100 тыс., хотя они достоверно не отличались от минимальных показателей у лиц 20–29 лет (табл. 2). Как и в целом по стране [1], среди больных преобладали мужчины, но их доля снизилась с 86,4–87,5% в 1992–1994 гг. до 40,0–69,0% в 2018–2022 гг., хотя и оставалась более высокой, чем среди обращающихся за медицинской помощью по поводу присасывания клещей (в 2017–2019 г. в РК среди больных — 69,8%, в Петрозаводске среди обратившихся — 55,6%). При пересчёте на численность мужчин и женщин это оказалось результатом не только снижения заболеваемости первых, но и роста заболеваемости вторых (рис. 5). В качестве причин этих изменений можно рассматривать следующие: увеличение охвата вакцинацией групп профессионального риска, повышение значимости такого фактора риска зара-

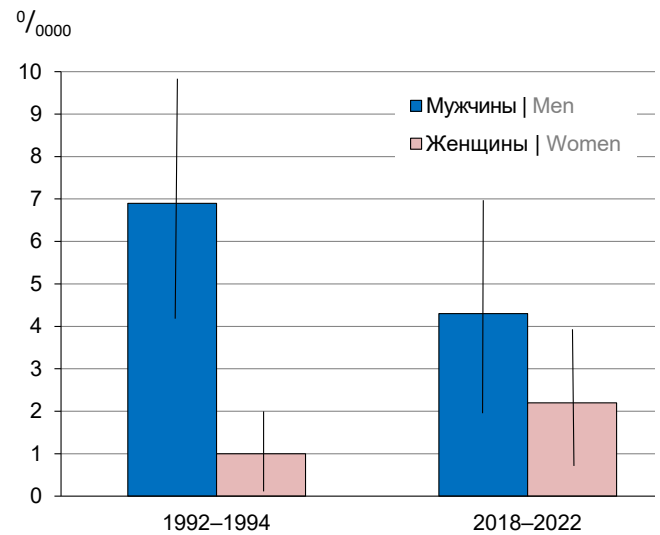


Рис. 5. Заболеваемость КЭ мужчин и женщин в РК в 1992–1994 и 2018–2022 гг.

Fig. 5. The incidence of tick-borne encephalitis in men and women in the Republic of Karelia in 1992–1994 and in 2018–2022.

жения, как отдых горожан на даче, и улучшение диагностики заболевания.

Специфический иммуноглобулин в РК более 20 лет ежегодно получали 12,4–44,8% от числа всех обратившихся за медицинской помощью по поводу присасывания клеща, в основном при положительном результате исследования клеща или при невозможности проведения исследования. Ежегодно в этот период вакцинировалось 3–7 тыс. человек (около 0,5–1,0% населения), ревакцинировалось 4–9 тыс. Среди обращающихся по поводу присасывания клещей в последнее десятилетие привиты были лишь около 4–5% детей и 6% взрослых, причём не всегда они имели своевременно выполненные ревакцинации. Таким образом, если проведение постконтактной профилактики могло оказать положительное влияние на уровень заболеваемости, то низкая прослойка людей, имеющих поствакцинальный иммунитет, существенно на него не влияла.

Таблица 2. Возрастная характеристика заболеваемости КЭ взрослого населения РК в 2001–2006 и 2017–2022 гг.

Table 2. Age characteristics of the incidence of tick-borne encephalitis in the adult population of the Republic of Karelia in 2001–2006 and 2017–2022

Период Period	Показатель Indicator	Возраст, лет   Age, years				Всего Total
		20–29	30–39	40–49	> 50	
2001–2006	абс.   abs.	48	56	68	155	327
	%	14,7	17,1	20,8	47,4	100,0
	‰ <sub>0000</sub>	16,0 ± 5,7	21,8 ± 7,2	23,8 ± 7,1	32,7 ± 6,4	24,9 ± 3,4
2017–2022	абс.   abs.	7	27	21	58	113
	%	6,2	23,9	18,6	51,3	100,0
	‰ <sub>0000</sub>	1,8 ± 1,7	4,6 ± 2,2	3,9 ± 2,1	4,2 ± 1,3	3,9 ± 0,9

В связи с этим важное значение приобретает оценка естественного «проэпидемичивания» населения.

### Оценка серопревалентности населения

При серологическом исследовании 2379 проб крови антитела класса IgG к вирусу КЭ выявлены в 281 (11,8 ± 0,7%) случае. Количественный анализ IgG у 53 человек в 2012 г. показал, что у 25 (47,2%) человек их титр составил 1 : 800–1 : 1600, у 12 (22,6%) — 1 : 400 и 16 (30,2%) — 1 : 100–1 : 200. Недостаточное количество исследований не позволяет сделать убедительных умозаключений, однако обнаружение у 69,8% обследованных антител на уровне выше порога защитного действия (1 : 800 согласно СанПиН 3.3.686-21) или обеспечивающего быструю элиминацию вируса 1 : 400 [27], даёт основание для гипотезы о том, что несоответствие регистрируемой заболеваемости расчётному показателю риска заражения в значительной степени обусловлено наличием коллективного иммунитета. Обязательным условием при сборе проб было отсутствие заболевания КЭ в анамнезе или вакцинации против него. При анализе результатов выяснилось, что в отдельных случаях это условие не соблюдалось, но в целом полученные данные характеризуют результат естественного «проэпидемичивания» населения.

Наши результаты практически совпали с данными других авторов, выявивших IgG к вирусу КЭ в 11,9% при исследовании в 1982–1984 гг. проб крови 3042 непривитых жителей 13 районов РК методом реакции непрямой гемагглютинации [21], 13% при исследовании в 2018–2019 гг. 292 проб методом ИФА в другой лаборатории [22]. При этом показатели регистрируемой заболеваемости в 2011–2022 гг. были существенно выше, чем в 1980–1984 гг., — 4,0 и 0,7 на 100 тыс. соответственно. По данным лите-

ратуры, IgG к вирусу КЭ в концентрации 1 : 100 не всегда удаётся обнаружить методом ИФА [29], следовательно, доля инфицированных могла быть даже несколько выше выявленной. Несмотря на вероятные различия информативности методов реакции непрямой гемагглютинации и ИФА, в целом можно сделать вывод о том, что число лиц, подвергавшихся риску заражения, значительно выше числа выявленных случаев заболевания.

Наиболее низкий показатель серопревалентности выявлен среди лиц 30–39 лет — 8,5 ± 1,1%. В остальных возрастных группах показатели не имели достоверных различий: 50 лет и старше — 13,8 ± 1,2%, 40–49 лет — 11,9 ± 1,2%. Самый высокий показатель оказался в группе 20–29 лет — 16,9 ± 9,5% (за счёт жителей Петрозаводска), но из-за малого числа исследованных проб результат в этой группе нельзя считать достоверным. Продолжительность сохранения гуморального постинфекционного иммунитета неизвестна, но можно предполагать, что без стимулирования бустерными дозами он, как и поствакцинальный, постепенно угасает, следовательно, выявленные различия подтвердили достоверно более высокую вероятность контакта с возбудителем у пожилых людей. Частота выявления антител у мужчин была несколько выше, чем у женщин: 14,3 ± 1,3 и 10,6 ± 0,8%, но различие показателей не было достоверным, что также согласуется с данными заболеваемости и обращаемости. Антитела к вирусу КЭ выявлялись как у жителей эндемичных территорий, так и территорий, не относимых к таковым (табл. 3), однако у последних они встречались в 5,3 раза реже: 13,3 ± 0,7 и 2,5 ± 0,9 соответственно. В первой группе частота обнаружения IgG в Петрозаводске составила 13,3 ± 1,2%, в остальных районах — от 6,2 ± 1,9 до 28,5%, в среднем 13,3 ± 1,0%. Более высокие показатели

**Таблица 3.** Результаты исследования проб крови населения РК на антитела к вирусу клещевого энцефалита в 2011–2022 гг.

**Table 3.** The results of the serosurvey assessing the prevalence of antibodies to the tick-borne encephalitis virus in the Republic of Karelia in 2011–2022

Группа Group	Эндемичные территории   Endemic areas			Неэндемичные территории   Non-endemic areas		
	исследовано проб number of tested samples	из них выявлены антитела к вирусу КЭ of which are positive for antibodies to TBEV		исследовано проб number of tested samples	из них выявлены антитела к вирусу КЭ of which are positive for antibodies to TBEV	
		абс.   abs.	абс.   abs.      %		абс.   abs.	абс.   abs.      %
Все   Total	2056	273	13,3 ± 0,7	323	8	2,5 ± 0,9
Мужчины   Men	672	107	15,9 ± 1,4	99	3	3,0 ± 1,7
Женщины   Women	1384	166	12,0 ± 0,9	224	5	2,2 ± 1,0
20–29 лет   years	148	25	16,89 ± 9,5	0	0	0
30–39 лет   years	542	51	9,4 ± 1,3	140	5	3,6 ± 1,6
40–49 лет   years	580	82	14,1 ± 1,4	112	2	1,8 ± 1,3
> 50 лет   years	786	117	14,9 ± 1,3	71	1	2,8 ± 1,9

выявлены в районах, где преимущественно обследовались лица пожилого возраста. Среди населения 5 неэндемичных территорий антитела не выявлены у жителей 2 районов (43 и 62 проб), ещё в 2 районах выявлено по одному серопозитивному из 90 и 46 обследованных лиц, среди жителей г. Костомукша антитела обнаружены у 6 из 80 обследованных. В 1980-гг., отмеченные довольно активной миграцией на север РК населения других регионов страны, частота обнаружения антител у населения неэндемичных районов составляла 8,1–17,1% [21]. Нельзя исключить возможность заражения за пределами места проживания и в нашем исследовании, но в сопоставлении с данными о числе обращений по поводу присасывания клещей можно предполагать и возможность заражения в неэндемичных районах. Возрастные и гендерные различия были характерны для обеих групп территорий, но в группе неэндемичных районов из-за недостаточного числа наблюдений достоверность показателей была низкой (табл. 3).

Результаты серологических исследований выявили более активный эпидемический процесс КЭ, чем можно было бы предполагать на основании только регистрируемой заболеваемости. Более того, доля серопозитивных среди обследованных оказалась в 6,9 раза выше, чем доля лиц, с которых были удалены инфицированные клещи, в 1992–2022 гг. Можно предполагать, что в ряде случаев встреча с клещом, особенно на стадии нимфы, осталась незамеченной его жертвой. Факт присасывания клеща не всегда устанавливался у заболевших, в Санкт-Петербурге доля таких случаев в 2006–2017 гг. составила 20,0–37,1% [30]. В отдельных случаях заражение могло происходить при употреблении сырого коровьего молока: в середине XX в. выявлена высокая (до 100%) заклещевлённость коров в южных районах РК [31]. Но к началу XXI в. животноводство в РК, в том числе в частных хозяйствах, было почти ликвидировано, поэтому алиментарный путь заражения КЭ можно рассматривать как уникальное явление. Результаты изучения эпидемического процесса КЭ, в том числе его скрытой от рутинного надзора части, ставят вопрос: а все ли мы знаем о циркуляции вируса КЭ в природе. И этот вопрос требует дальнейшего серьёзного изучения.

### Выводы

В РК выявлено устойчивое снижение регистрируемой заболеваемости КЭ после бурного подъёма в начале века, связанное более с действием биологических и природных, нежели социальных факторов. Характеристики эпидемического процесса в целом соответствуют наблюдаемым в других регионах страны, а его современные особенности должны быть учтены при организации диагностики и профилактики заболевания. Оценка серопре-

валентности, выявившая более широкий контакт населения с вирусом, чем можно было ожидать по данным регистрируемой заболеваемости, позволила более полно изучить эпидемический процесс.

### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Колясникова Н.М., Ишмухаметов А.А., Акимкин В.Г. Современное состояние проблемы клещевого энцефалита в России и мире. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2023;22(1):104–23. Kolyasnikova N.M., Ishmukhametov A.A., Akimkin V.G. The current state of the problem of tick-borne encephalitis in Russia and the world. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2023;22(1):104–23. DOI: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2023-22-1-104-123> EDN: <https://elibrary.ru/yeynhd>
2. Андаев Е.И., Никитин А.Я., Толмачёва М.И. и др. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации в 2022 г. и прогноз ее развития на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023;(1):6–16. Andaev E.I., Nikitin A.Ya., Tolmacheva M.I., et al. Epidemiological situation on tick-borne viral encephalitis in the Russian Federation in 2022 and forecast of its development for 2023. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2023;(1):6–16. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2023-1-6-16> EDN: <https://elibrary.ru/giaacs>
3. Сафонова М.В., Симонова Е.Г., Лопатин А.А. и др. Разработка критериев количественной оценки эпидемического потенциала природно-очаговых инфекций вирусной этиологии. *Инфекция и иммунитет*. 2022;12(4):745–54. Safonova M.V., Simonova E.G., Lopatin A.A., et al. Development of quantitative criteria for assessing epidemic potential of the natural-focal viral infections. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022;12(4):745–54. DOI: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-DOQ-192>
4. Никитин А.Я., Андаев Е.И., Толмачёва М.И. и др. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации за 2011–2021 гг. и краткосрочный прогноз ее развития. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022;(1):15–23. Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Tolmacheva M.I., et al. Epidemiological situation on tick-borne viral encephalitis in the Russian Federation in 2011–2021 and short-term forecast of its development. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2022;(1):15–23. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2022-1-15-23> EDN: <https://elibrary.ru/arpdz>
5. Андаев Е.И., Никитин А.Я., Яцменко Е.В. и др. Тенденции развития эпидемического процесса клещевого вирусного энцефалита в Российской Федерации, лабораторная диагностика, профилактика и прогноз за 2021 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021;(1):6–16. Andaev E.I., Nikitin A.Ya., Yatsmenko E.V., et al. Trends in epidemic process development of tick-borne encephalitis in the Russian Federation, laboratory diagnosis, prophylaxis and forecast for 2021. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2021;(1):6–16. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2021-1-6-16> EDN: <https://elibrary.ru/jewjur>
6. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия в Российской Федерации в 2021 г.». М.; 2022. State report «About the sanitary and epidemiological situation in the Russian Federation in 2021». Moscow; 2022.
7. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия в Российской Федерации в 2022 г.». М.; 2023. State report «About the sanitary and epidemiological situation in the Russian Federation in 2021». Moscow; 2022.

8. Токаревич Н.К., Тронин А.А., Бузинов Р.В. и др. Анализ риска заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом в районах с разными климатогеографическими условиями. *Анализ риска здоровью*. 2021;(4):127–35. Tokarevich N.K., Tronin A.A., Buzinov R.V., et al. Analyzing risks of incidence of tick-borne encephalitis in areas with different climatic and geographical conditions. *Health Risk Analysis*. 2021;(4):127–35. DOI: <https://doi.org/10.21668/health.risk/2021.4.14.eng> EDN: <https://elibrary.ru/ctemoe>
9. Гнатив Б.Р., Токаревич Н.К. Результаты многолетнего мониторинга клещевого вирусного энцефалита и клещевого боррелиоза в Республике Коми. *Инфекция и иммунитет*. 2021;11(4):707–22. Gnativ B.R., Tokarevich N.K. Long-term monitoring of tick-borne viral encephalitis and tick-borne borreliosis in the Komi Republic. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021;11(4):707–22. DOI: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-ROL-1299> EDN: <https://elibrary.ru/nxhtts>
10. Коренберг Э.И., Сироткин М.Б., Ковалевский Ю.В. Адаптивные черты биологии близких видов иксодовых клещей, определяющие их распространение (на примере таежного *Ixodes persulcatus* Sch. 1930 и европейского лесного *Ixodes ricinus* L. 1758). *Успехи современной биологии*. 2021;141(3):271–86. Korenberg E.I., Sirotkin M.B., Kovalevskiy Yu.V. Adaptive features of the biology of similar species of ixodes ticks that determine their distribution (on the example of the Taiga – *Ixodes persulcatus* Sch. 1930 and European forest — *Ixodes ricinus* L. 1758). *Advances of Modern Biology*. 2021;141(3):271–86. DOI: <https://doi.org/10.31857/S0042132421030078> EDN: <https://elibrary.ru/zgvvvr>
11. Uusitalo R., Siljander M., Lindén A., et al. Predicting habitat suitability for *Ixodes ricinus* and *Ixodes persulcatus* ticks in Finland. *Parasit. Vectors*. 2022;15(1):310. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05410-8>
12. Van Heuverswyn J., Hallmaier-Wacker L.K., Beauté J., et al. Spatiotemporal spread of tick-borne encephalitis in the EU/EEA, 2012 to 2020. *Euro. Surveill.* 2023;28(11):2200543. DOI: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2023.28.11.2200543>
13. Bogovic P., Strle F. Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical characteristics, and management. *World J. Clin. Cases*. 2015;3(5):430–41. DOI: <https://doi.org/10.12998/wjcc.v3.i5.430>
14. Нафеев А.А., Киселева Л.М., Мерцалова С.Л. Эпидемические признаки клещевых инфекций в Ульяновской области. *Ульяновский медико-биологический журнал*. 2011;(3):81–5. Nafeev A.A., Kiseleva L.M., Mertsalova S.L. Epidemic signs of tick-borne infections in the Ulyanovsk region. *Ulyanovsk Biomedical Journal*. 2011;(3):81–5. EDN: <https://elibrary.ru/oxefzd>
15. Нафеев А.А., Савельева Н.В., Сибяева Э.И. Иммунологический (серологический) мониторинг в системе эпидемиологического надзора за природно-очаговыми инфекциями. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2016;21(5):286–9. Nafeev A.A., Savel'eva N.V., Sibaeva E.I. Immunological (serological) monitoring in the epidemiological surveillance system of natural focal infections. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2016;21(5):286–9. DOI: <https://doi.org/10.18821/1560-9529-2016-21-5-286-289> EDN: <https://elibrary.ru/xbhqzq>
16. Беспятова Л.А., Бугмырин С.В., Кутенков С.А. и др. Численность иксодовых клещей (*Acari Ixodidae*) на мелких млекопитающих в лесных биотопах среднетаежной подзоны Карелии. *Паразитология*. 2019;53(6):463–73. Bespyatova L.A., Bugmyrin S.V., Kutenkov S.A., et al. Number of ixodid ticks (*Acari Ixodidae*) on small mammals in forest biotopes of the middle taiga subzone of Karelia. *Parasitology*. 2019;53(6):463–73. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0031184719060036> EDN: <https://elibrary.ru/hyjjyz>
17. Беспятова Л.А., Бугмырин С.В. О распространении европейского лесного клеща *Ixodes ricinus* (*Acarina, Ixodidae*) в Республике Карелия. *Зоологический журнал*. 2021;100(7):745–55. Bespyatova L.A., Bugmyrin S.V. On the distribution of the European forest tick *Ixodes ricinus* (*Acarina, Ixodidae*) in the Republic of Karelia. *Zoological Journal*. 2021;100(7):745–55. DOI: <https://doi.org/10.31857/S0044513421070035> EDN: <https://elibrary.ru/rljctp>
18. Bugmyrin S.V., Romanova L.Y., Belova O.A., et al. Pathogens in *Ixodes persulcatus* and *Ixodes ricinus* ticks (*Acari, Ixodidae*) in Karelia (Russia). *Ticks Tick Borne Dis.* 2022;13(6):102045. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2022.102045>
19. Рубис Л.В., Екимова О.В., Сафонова О.С. и др. Сходство и различия характеристик эпидемического процесса клещевого энцефалита и клещевого боррелиоза. *Журнал инфектологии*. 2023;15(2):139–47. Rubis L.V., Ekimova O.V., Safonova O.S., et al. Similarities and differences in the characteristics of the epidemical process tick-borne encephalitis and Lyme borreliosis. *Journal Infectiology*. 2023;15(2):139–47. DOI: <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2023-15-2-139-147> EDN: <https://elibrary.ru/tlsudf>
20. Беспятова Л.А., Бугмырин С.В. Видовой состав, распространение основных переносчиков и эпидемиологическая ситуация по клещевому энцефалиту в Республике Карелия. *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. 2017;(1):13–20. Bespyatova L.A., Bugmyrin S.V. Species composition, distribution of the disease vectors and epidemiology of tick-borne encephalitis in the Republic of Karelia. *Actual Questions of Veterinary Biology*. 2017;(1):13–20. EDN: <https://elibrary.ru/ygrorv>
21. Львов Д.К., Дерябин П.Г., Аристова В.А. и др. Атлас распространения возбудителей природно-очаговых вирусных инфекций на территории Российской Федерации, М.; 2001. L'vov D.K., Deryabin P.G., Aristova V.A., et al. *Atlas of Distribution of Natural Foci Virus Infections on the Territory of Russian Federation*. Moscow; 2001. EDN: <https://elibrary.ru/tzngoh>
22. Токаревич Н.К., Блинова О.В., Стоянова Н.А. и др. Серопревалентность клещевых заболеваний в Северо-Западном федеральном округе Российской Федерации. *Инфекция и иммунитет*. 2022;12(5):891–901. Tokarevich N.K., Blinova O.V., Stoyanova N.A., et al. Seroprevalence of tick-borne diseases in the Northwest Federal District of the Russian Federation. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022;12(5):891–901. DOI: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-SOT-1953> EDN: <https://elibrary.ru/qvyuuq>
23. Белова О.А., Буренкова Л.А., Карань Л.С. и др. Эффективность детекции вируса клещевого энцефалита в иксодовых клещах (*Acari: Ixodidae*) с помощью ИФА и ПЦР в реальном времени. *Вопросы вирусологии*. 2014;59(5):38–43. Belova O.A., Burenkova L.A., Karan' L.S., et al. Tickborne encephalitis virus detection efficiency in ixodid ticks (*Acari: Ixodidae*) with ELISA and real-time PCR. *Problems of Virology*. 2014;59(5):38–43. EDN: <https://elibrary.ru/snvrwn>
24. Холодилов И.С., Белова О.А., Мотузов О.В. и др. Оценка зараженности клещей вирусом клещевого энцефалита с использованием различных методов исследования. Неоднозначность трактовки результатов. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2014;(3):29–36. Kholodilov I.S., Belova O.A., Motuzov O.V., et al. Ambiguous interpretation of the results of TBEV prevalence in ticks evaluation using different methods. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2014;(3):29–36. EDN: <https://elibrary.ru/sghrht>

25. Пуховская Н.М., Морозова О.В., Белозерова Н.Б. и др. Сравнительный анализ геномов штаммов вируса клещевого энцефалита, выделенных от комаров и клещей. *Вопросы вирусологии*. 2017;62(1):30–5. Pukhovskaya N.M., Morozova O.V., Belozerova N.B. et al. Comparative analysis of genomes of tick-borne encephalitis virus strains isolated from mosquitoes and ticks. *Problems of Virology*. 2017;62(1):30–5. DOI: <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-1-30-35> EDN: <https://elibrary.ru/mctxpd>
26. Белова О.А., Холодильов И.С., Литов А.Г. и др. Способность иксодовых клещей (*Acari: Ixodidae*) разных видов поддерживать репродукцию вируса клещевого энцефалита. *Паразитология*. 2018;52(4):268–379. Belova O.A., Kholodilov I.S., Litov A.G., et al. Ability of ixodid ticks (*Acari: Ixodidae*) to support reproduction of the tick-borne encephalitis virus. *Parazitologia*. 2018;52(4):268–379. DOI: <https://doi.org/10.7868/S0031184718040029> EDN: <https://elibrary.ru/yymbmhj>
27. Леонова Г.Н., Майстровская О.С., Лубова В.А. и др. Комплексная оценка влияния специфических антител на инфекционную активность вируса клещевого энцефалита. *Инфекция и иммунитет*. 2019;9(3-4):559–67. Leonova G.N., Maistrovskaya O.S., Lubova V.A., et al. Comprehensive assessment of specific antibodies on infectious activity of tick-borne encephalitis virus. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2019;9(3-4):559–67. DOI: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2019-3-4-559-567> EDN: <https://elibrary.ru/tswwwzj>
28. Никитин А.Я., Андаев Е.И., Яценко Е.В. и др. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации в 2019 г. и прогноз на 2020 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020;(1):33–42. Nikitin A. Ya., Andaev E.I., Yatsmenko E.V., et al. Epidemiological situation on tick-borne viral encephalitis in the Russian Federation in 2019 and forecast for 2020. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2020;(1):33–42. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-1-33-42> EDN: <https://elibrary.ru/vlsxpd>
29. Чернохаева Л.Л., Майкова Г.Б., Рогова Ю.В. и др. Сопоставление результатов иммуноферментного анализа и реакции нейтрализации при оценке защищённости населения от клещевого энцефалита. *Вопросы вирусологии*. 2018;63(1):36–40. Chernokhaeva L.L., Maykova G.B., Rogova Yu.V., et al. Comparison of results obtained by ELISA and neutralization test in assessing the protection of population from tick-borne encephalitis. *Problems of Virology*. 2018;63(1):36–40. DOI: <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-1-36-40> EDN: <https://elibrary.ru/yoombm>
30. Нечаев В.В., Яковлев А.А., Усков А.Н. и др. Актуальные природно-очаговые инфекции, передаваемые клещами в Санкт-Петербурге. *Журнал инфектологии*. 2018;10(4):104–15. Nechaev V.V., Yakovlev A.A., Uskov A.N., et al. Urgent natural foci infections transmitted by ticks in Saint-Petersburg. *Journal of Infectology*. 2018;10(4):104–15. DOI: <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2018-10-4-104-115> EDN: <https://elibrary.ru/yynxzb>
31. Лутта А.С., Хейсин Е.М., Шульман Р.Е. К распространению иксодовых клещей в Карелии. В кн.: *Труды Карельского филиала академии наук СССР. Выпуск XIV. Вопросы паразитологии Карелии*. Петрозаводск; 1959:72–83. Lutta A.S., Kheysin E.M., Shul'man R.E. To the distribution of ixodid ticks in Karelia. In: *Proceedings of the Karelian Branch of the Academy of Sciences of the USSR. Issue XIV. Questions of parasitology of Karelia*. Petrozavodsk; 1959:72–83.

#### Информация об авторах

**Рубис Людмила Викторовна** — к.м.н., доцент, доцент каф. факультетской терапии, фтизиатрии, инфекционных болезней и эпидемиологии Петрозаводского государственного университета, Петрозаводск, Россия, [rublusja@mail.ru](mailto:rublusja@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-6602-9621>

**Чевская Виктория Евгеньевна** — зав. вирусологической лаб. Центра гигиены и эпидемиологии в Республике Карелия, Петрозаводск, Россия, <https://orcid.org/0009-0007-0924-3526>

**Екимова Ольга Викторовна** — зоолог Центра гигиены и эпидемиологии в Республике Карелия, Петрозаводск, Россия, <https://orcid.org/0009-0006-0442-8436>

**Сафонова Ольга Сергеевна** — энтомолог Центра гигиены и эпидемиологии в Республике Карелия, Петрозаводск, Россия, <https://orcid.org/0009-0004-3617-4616>

**Вклад авторов:** Чевская В.Е., Екимова О.В., Сафонова О.В. — сбор и обработка материала, проведение лабораторных исследований; Рубис Л.В. — концепция и дизайн исследования, организация сбора и обработки материала, сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста, редактирование. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ИСМЖЕ, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 01.09.2023;  
принята к публикации 15.11.2023;  
опубликована 28.12.2023

#### Information about the authors

**Lyudmila V. Rubis** — Cand. Sci. (Med.), associate professor, associate professor, Department of faculty therapy, phthisiology, infectious diseases and epidemiology, Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia, [rublusja@mail.ru](mailto:rublusja@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-6602-9621>

**Victoriya E. Chevskaya** — Head, Virology laboratory, Center for Hygiene and Epidemiology in the Republic of Karelia, Petrozavodsk, Russia, <https://orcid.org/0009-0007-0924-3526>

**Olga V. Ekimova** — zoologist, Center for Hygiene and Epidemiology in the Republic of Karelia, Petrozavodsk, Russia, <https://orcid.org/0009-0006-0442-8436>

**Olga S. Safonova** — entomologist, Center for Hygiene and Epidemiology in the Republic of Karelia, Petrozavodsk, Russia, <https://orcid.org/0009-0004-3617-4616>

**Author contribution:** Chevskaya V.E., Ekimova O. V., Safonova O.S. — collection and processing of material, laboratory researches; Rubis L.V. — concept and design of the study, organization of the collection and processing of material, collection and processing of material, statistical processing, writing the text, editing. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 01.09.2023;  
accepted for publication 15.11.2023;  
published 28.12.2023



## Бактерии рода *Filifactor* у больных пародонтитом и сахарным диабетом по данным метагеномного анализа микробиома пародонта

Царева Т.В., Янушевич О.О., Царев В.Н.✉, Балмасова И.П.

Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова, Москва, Россия

### Аннотация

**Введение.** Заболевания пародонта — распространённая патология, наиболее тяжёлой формой которой является хронический пародонтит. Проблема этого полимикробного заболевания в последние годы приобрела особое значение в связи с возможностью развития ассоциированных с ним системных эффектов. Довольно часто хронический пародонтит сочетается с сахарным диабетом 2-го типа (СД2). Основную роль в возникновении и развитии патологии пародонта играют бактерии, наименее изученным среди которых является относительно недавно открытый пародонтопатоген — *Filifactor alocis*.

**Целью** исследования являлось выявление бактерий рода *Filifactor* в составе микробиома пародонта при ассоциации хронического пародонтита и СД2 и уточнение механизмов их возможного влияния на ассоциированные метаболические процессы на основании сравнительного метагеномного анализа.

**Материалы и методы.** Проведено метагеномное исследование образцов микробиома пародонтальных карманов 28 пациентов с ассоциацией хронического пародонтита и СД2 и 22 пациентов с хроническим пародонтитом, а также микробиома зубодесневой борозды у 19 клинически здоровых людей. Для определения таксономического состава микробиома использовалось 16S-секвенирование гена рибосомальной РНК, проводилось прогнозирование метаболических путей с участием микробиома методом дробовика.

**Результаты.** Полученные результаты позволили установить, что только при ассоциации хронического пародонтита и СД2 одними из наиболее часто встречающихся микроорганизмов были бактерии рода *Filifactor*, процент регистрации которых коррелировал с низкими показателями метагеномного прогнозирования биосинтеза жирных кислот и метаболизма пиримидина в очагах поражения.

**Вывод.** Частота встречаемости бактерий рода *Filifactor* у пациентов с ассоциацией хронического пародонтита и СД2 отрицательно коррелирует с отдельными особенностями предполагаемых метаболических путей микробиома, в число которых входят биосинтез жирных кислот и метаболизм пиримидина.

**Ключевые слова:** бактерии рода *Filifactor*, субгингивальный микробиом, метаболизм, хронический пародонтит, сахарный диабет типа 2

**Этическое утверждение.** Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Межвузовским комитетом по этике г. Москвы (протокол № 06-22 от 16.06.2022).

**Благодарность.** В работе была использована инфраструктура Уникальной научной установки «Трансгенбанк» (НИИ биологии гена РАН).

**Источник финансирования.** Рукопись подготовлена за счёт финансирования по месту работы авторов (Государственное задание Минздрава России № 056-00035-21-00 от 17.12.2020).

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Для цитирования:** Царева Т.В., Янушевич О.О., Царев В.Н., Балмасова И.П. Бактерии рода *Filifactor* у больных пародонтитом и сахарным диабетом по данным метагеномного анализа микробиома пародонта. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(6):485–494.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-428>

EDN: <https://www.elibrary.ru/uwnpgo>

Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-428>

# Bacteria of genus *Filifactor* in patients with periodontitis and type 2 diabetes in accordance with metagenomic analysis of the periodontal microbiome

Tatyana V. Tsareva, Oleg O. Yanushevich, Viktor N. Tsarev<sup>✉</sup>, Irina P. Balmasova

Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov, Moscow, Russia

## Abstract

**Introduction.** Periodontal diseases are a common pathology with chronic periodontitis (CP) being the most severe form. This polymicrobial disease has become a problem of great importance in recent years due to the possibility of development of systemic effects associated with this condition. CP is often combined with type 2 diabetes (T2D). The main cause of the occurrence and development of periodontal pathology is played by the bacteria *Filifactor alocis*, the least studied and most recently discovered periodontal pathogen.

**The objective** of this study was to identify bacteria of genus *Filifactor* as part of the periodontal microbiome associated with CP and T2D and to clarify the mechanisms of their possible influence on associated metabolic processes according to comparative metagenomic analysis.

**Materials and methods.** A metagenomic study of the microbiome of periodontal pocket samples from 28 patients with CP associated with T2D and 22 patients with CP, as well as the microbiome of dental gingival sulcus samples from 19 clinically healthy individuals was performed. 16S-sequencing of the ribosomal RNA gene was used to determine the taxonomic composition of the microbiome. Prediction of metabolic pathways involving the microbiome was performed with the help of the shotgun method.

**Results.** *Filifactor* bacteria were the one of the most frequent microorganisms only in patients with CP associated with T2D. The rate of identification of these bacteria was correlated with low predicted metagenomic levels of fatty acid biosynthesis and pyrimidine metabolism in the affected area.

**Conclusion.** The detection frequency of *Filifactor* bacteria in patients associated with CP and T2D is negatively correlated with the selected features of putative metabolic pathways of the microbiome, which include fatty acid biosynthesis and pyrimidine metabolism.

**Keywords:** *Filifactor* bacteria, subgingival microbiome, metabolism, chronic periodontitis, type 2 diabetes

**Ethics approval.** The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Interuniversity Ethics Committee of Moscow (protocol No. 06-22, June 6, 2022).

**Acknowledgement.** The study was carried out using the unique scientific facility Transgenebank (Institute of Gens Biology of the Russian Academy of Sciences).

**Funding source.** The manuscript was prepared with funding from the authors' place of work (State assignment of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 056-00035-21-00, December 17, 2020).

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**For citation:** Tsareva T.V., Yanushevich O.O., Tsarev V.N., Balmasova I.P. Bacteria of genus *Filifactor* in patients with periodontitis and type 2 diabetes in accordance with metagenomic analysis of the periodontal microbiome. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2023;100(6):485–494.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-428>

EDN: <https://www.elibrary.ru/uwnpgo>

## Введение

Заболевания пародонта широко распространены среди взрослого населения нашей планеты. Так, около 740 млн человек в мире страдают тяжёлой формой пародонтита [1]. Актуальность этой проблемы ещё более возрастает в связи с тем, что между заболеваниями полости рта и соматическими заболеваниями установлена в последние годы не только патогенетическая, но и причинно-следственная связь [2]. В литературе широко обсуждается вопрос о связи между пародонтитом и такими систем-

ными патологическими состояниями, как сахарный диабет 2-го типа (СД2), ревматоидный артрит, атеросклероз, неблагоприятные исходы беременности и др. [3–5]. Особое значение придаётся устойчивой ассоциации СД2 и хронического пародонтита (ХП) как двух заболеваний, имеющих наиболее широкую распространённость во всём мире [6, 7].

По прогнозам Международной федерации диабета, частота встречаемости сахарного диабета долго будет неуклонно возрастать и число заболевших к 2030 г. превысит 500 млн человек [8, 9].

Среди больных сахарным диабетом около 90% составляют пациенты с СД2 — неинсулинозависимым диабетом, обусловленным сочетанием падения секреции инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы и ростом устойчивости клеток к инсулину [10]. Многие исследователи показывают, что изменения метаболизма, ассоциированные с сахарным диабетом, проявляются на системном уровне и способствуют поражению многих органов и тканей, в том числе развитию ХП [11, 12], хотя также не исключается взаимное влияние этих патологических процессов [3, 5].

ХП имеет полимикробную природу, вызывается совокупностью микроорганизмов со свойствами пародонтопатогенов, характеризуется необратимостью течения, сопровождается хроническим воспалением пародонтальных тканей, их деструкцией с нарушением костной структуры и зубоальвеолярного связочного аппарата, что в конечном итоге приводит к потере зубов. Все основные возбудители этого заболевания (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Filifactor alocis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* и др.), так называемые пародонтопатогены I и II порядка или, как их обозначали первоначально в зарубежной литературе, бактерии «красного» и «оранжевого» комплексов, находятся в сложнейших взаимодействиях между собой и с иммунной системой организма-хозяина, что провоцирует как развитие локальных изменений со стороны тканей пародонта, так и последствия этих воспалительно-дегенеративных изменений на системном уровне [3, 13, 14].

Благодаря развитию биотехнологий накопилось достаточно доказательств того, что именно микробиом ротовой полости при ХП служит основным фактором развития сахарного диабета [15], хотя в исследовании роли отдельных пародонтопатогенов в этом вопросе ещё существуют «белые пятна».

Большинство исследований взаимосвязи болезней пародонта с заболеваниями системного характера в первую очередь посвящены роли *P. gingivalis*, которая рассматривается как ключевой пародонтоген [3, 14]. В последние годы делается акцент на изучении других пародонтопатогенов I порядка («красного комплекса»). В дополнение к бактериям «красного комплекса» уделяется внимание значению других культивируемых бактерий (*P. intermedia*, *F. nucleatum*, *Eykinella corrodens*, *Eubacterium nodatum*, *Wolinella recta*), связанных с пародонтитом, а также некультивируемых (в условиях обычной клинической лаборатории) бактерий — *Selenomonas*, *Sinergistes*, *Desulfobulbus*, *TM7*, *F. alocis*, идентифицированных в качестве новых потенциальных патогенов или пародонтопатогенов II порядка [3, 13, 16, 17].

Один из представителей этих видов, *F. alocis*, является грамположительной спорообразующей палочкой с облигатно-анаэробным типом дыхания, формирующей нитевидные скопления в биоплёнке десны, которая чрезвычайно медленно растёт на питательных средах и обладает низкой способностью проявлять биохимическую активность, что затрудняет её идентификацию [18, 19]. *F. alocis* — асахаролитическая бактерия, использующая для своего роста определённые аминокислоты, включая аргинин [20].

Основным местом обитания *F. alocis* в организме человека являются десневая борозда и, вероятно, кишечник, при этом микробиом здорового человека ротовой полости, как правило, не содержит данный микроорганизм (за исключением курящих людей), в отличие от людей, страдающих заболеваниями пародонта [20]. Бактерии *F. alocis* обладают уникальными свойствами, такими как устойчивость к окислительному стрессу, способность к индукции системной потери костной массы, наличие генов, кодирующих хорошо развитый путь метаболизма аминокислот, что позволяет им колонизировать ткани пародонта, вызывать, подобно другим традиционным пародонтопатогенам, явления пародонтита в стрессовой среде формирующегося пародонтального кармана [21–23]. Эти особенности *F. alocis* в дополнение к способности взаимодействовать с другими видами микробов, формируя полимикробные синергетические отношения, могут усиливать инвазивные качества данных бактерий [24] и вызывать хроническое воспаление [25]. *F. alocis* может проникать внутрь эпителиальных клеток десны и индуцировать секрецию ими провоспалительных цитокинов, что способствует проявлениям патогенности этого микроба [26].

В совокупности все эти наблюдения указывают на специфическую роль *F. alocis* в полости рта, которая может иметь значение в патологическом процессе [27, 28]. Из-за отсутствия генетических инструментов для изучения этого микроорганизма долгое время было мало что известно о его способности влиять на микробный метаболизм в биоплёнке, о механизмах вирулентности и, особенно, роли в индукции системных эффектов [21].

В соответствии с этим целью настоящего исследования являлось выявление бактерий рода *Filifactor* в составе микробиома пародонта при ассоциации ХП и СД2 и уточнение механизмов их возможного влияния на ассоциированные метаболические процессы на основании метагеномного анализа.

## Материалы и методы

Под наблюдением находились 69 человек в возрасте 40–65 лет. Основная группа включала 28 пациентов с ассоциацией ХП и СД2; группа сравнения состояла из 22 пациентов с ХП без сопутствующей со-



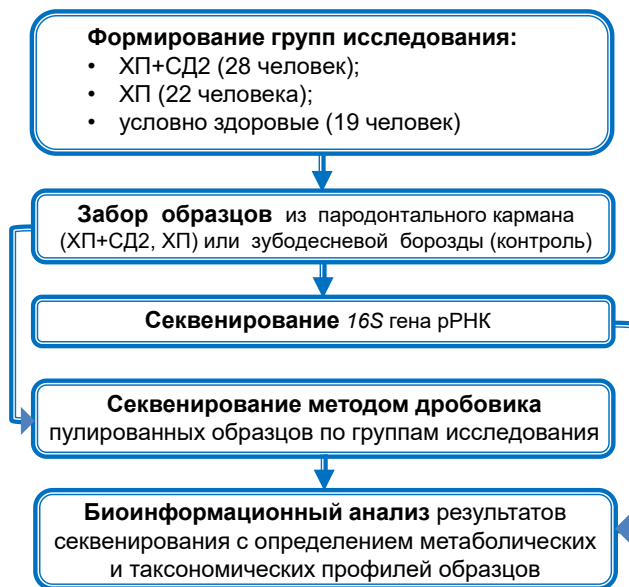


Рис. 1. Дизайн исследования.

Fig. 1. Study design.

матической патологии; в контрольную группу были включены 19 условно здоровых лиц с интактным пародонтом, без клинически выраженных проявлений соматической патологии, с нормальным уровнем сахара и гликированного гемоглобина в крови (рис. 1). Число женщин и мужчин в группах сравнения было сопоставимым: 13 (46,5%) и 15 (53,5%) — в группе ХП+СД2, 10 (45,4%) и 12 (54,6%) — в группе ХП, 9 (47,4%) и 10 (2,6%) — в контрольной группе.

В связи с необходимостью использования для метагеномных исследований пулированных (объединённых) образцов биологического материала требовалась максимальная однородность групп исследования, поэтому из исследования были исключены больные с лёгким и тяжёлым течением патологических процессов, т.е. все больные имели среднетяжёлое течение изучаемых заболеваний. Пациенты не получали лечения по поводу ХП в течение последних 6 мес. Среди больных СД2 11 человек получали инсулинотерапию, 13 человек — пероральные сахароснижающие препараты, 4 человека — комбинированную терапию, что учитывалось при распределении образцов для последующего пулирования.

ХП диагностировали на основе клинико-рентгенологических данных в соответствии с классификацией болезней пародонта 2018 г. [29]. Критерии включения этих пациентов в исследование: пародонтит средней степени тяжести с генерализованным поражением, значением потери прикрепления десны CAL 3–4 мм, глубиной карманов зондирования 4–6 мм, потерей костной ткани вокруг зубов не более 1/3 длины корня, отсутствием потери зубов, связанных с заболеванием. Для подтверждения диагноза проводили анализ данных анамнеза, опре-

деление РНР (Patient Hygiene Performance), ОНІ-S (упрощённый индекс гигиены полости рта), CAL (клинический уровень прикрепления), ММІ (индекс мобильности Миллера), РВІ (индекс папиллярного кровотечения), ТL (потеря зубов), данных ортопантомографии.

Диагноз СД2 устанавливался эндокринологом в соответствии с диагностическими критериями Всемирной организации здравоохранения 1999/2006/2011 [30] с учётом клинических, анамнестических и лабораторных данных. Критерии включения в исследование: длительность заболевания 3–7 лет; течение заболевания умеренно компенсированное; стадия ремиссии; уровень глюкозы крови менее 7,8 ммоль/л, уровень гликированного гемоглобина менее 8%.

Условно здоровые люди группы контроля включались в исследование только после консультации со стоматологом и эндокринологом.

Материалом для исследования служило содержимое пародонтальных карманов у больных с ХП и зубодесневой борозды у здоровых субъектов. Материал забирали из 4 участков в области зубодесневой борозды с помощью стерильных бумажных эндодонтических штифтов (№ 30), которые помещали в пробирку с 0,2 мл стерильного физиологического раствора и встряхивали. Образцы хранились при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Межвузовским комитетом по этике г. Москвы (протокол № 06-22 от 16.06.2022).

Тотальную ДНК экстрагировали из образцов с использованием набора «QIAamp DNA Investigator Kit» («Qiagen»), содержание геномной ДНК определяли на флуорометре «Qubit 2.0» («Invitrogen») в соответствии с инструкциями производителя. Обогащённую микробную ДНК (50–100 нг) фрагментировали с помощью системы «Covaris S220» («Covaris»). Конечный размер фрагмента определяли с использованием биоанализатора «Agilent 2100» («Agilent Technologies») в соответствии с инструкциями производителя. Выделенную ДНК амплифицировали с применением стандартных праймеров для гена *16S* рибосомальной РНК (рРНК), комплементарных области V3–V4 и содержащих адаптерные последовательности 5'-illumina.

Секвенирование библиотек и анализ полученных данных осуществляли с использованием генетического анализатора «MiSeq» («Illumina») и «MiSeq Reagent Kit v2» («Фарма»).

Для проведения таксономического анализа результатов секвенирования переменных участков гена *16S* рРНК были применены биоинформационная платформа микробиома QIIME2 (Quantitative Insights into Microbial Ecology) [31] и база данных SILVA [32]. Выявление различий на уровне так-

сономических композиций проводилось путём дисперсионного анализа данных на основе теста PERMANOVA для микробных сообществ из функционала QIIME2 [33]. Для прогнозирования метаболического профиля по данным сиквенса и профилирования гена *16S* рРНК был использован метод PICRUST2 (Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States) [34], а для выявления статистических различий между группами на уровне предсказанных метаболических путей применяли статистический анализ метаболических профилей STAMP [35]. Данные метагеномного анализа визуализировали с помощью программного обеспечения GNU/R и пакета Vegan [36].

## Результаты

На первом этапе проводили секвенирование гена *16S* малой субъединицы рРНК, которое позволило определить представительство различных таксономических категорий бактерий в составе образцов из содержимого зубодесневой борозды пациентов.

Проведённый биоинформационный анализ выявил довольно значимые и не отмеченные другими исследователями особенности микробного состава содержимого зубодесневой борозды при ХП, ассоциированном с СД2: значительное преобладание в составе микробиоты пациентов 5 таксономических групп бактерий — представителей родов *Filifactor* и *Mycoplasma*, семейств *Flavobacteriaceae* и *Porphyromonadaceae*, порядка *Bacillales* — и более низкой встречаемости 3 групп: *TM7* как ассоциантов актиноцитов, родов *Atopobium* и *Fusobacterium* (рис. 2).

Сравнительный анализ таксономического профиля микробиома пациентов с ХП, ассоциированным и не ассоциированным с СД2, показал более частую встречаемость в первой группе бактерий родов *Filifactor* и *Treponema* и более низкую частоту регистрации присутствия в микробиоме 5 таксономических групп: родов *Bordetella* и *Atopobium*, семейств *Fusobacteriaceae* и *Veillonellaceae*, *TM7*.

У пациентов с ХП без соматической патологии по сравнению со здоровыми людьми более часто встречались бактерии 5 таксономических групп: родов *Anaerostipes*, *Bulleidia*, а также порядков *Bacillales*, *Bacteroidales*, *Macellibacteroides*.

В целом основной особенностью таксономического профиля микробиома зубодесневой борозды при ассоциации ХП+СД2 является преобладание в составе биологического материала бактерий с пародонтопатогенными свойствами, принадлежащих к родам *Filifactor* и *Treponema*. Представляет определённый интерес и требует дополнительного анализа более частая встречаемость по сравнению со здоровыми людьми прокариот рода *Mycoplasma*, семейства *Flavobacteriaceae* и порядка *Bacillales*.

Особого внимания заслуживает тот факт, что наиболее значимой особенностью группы ХП+СД2

является преобладающее представительство в составе микробиома бактерий рода *Filifactor*. По этому признаку микробиом указанной группы отличается и от группы здоровых людей, и от группы пациентов с ХП среднетяжёлого течения, в которых бактерии рода *Filifactor* встречаются в единичных случаях. Возникает только вопрос, насколько эта особенность связана с развитием сахарного диабета и теми метаболическими сдвигами, которые наблюдаются при СД2 и ассоциированы преимущественно с действием микробиома.

На следующем этапе выполнялось секвенирование пулированных образцов с определением количественного преобладания отдельных таксономических категорий бактерий в составе микробиома по отдельным пулам биологического материала с функциональными признаками, позволяющими предсказать основные метаболические пути анализируемых пулированных образцов микробиома, принадлежащих разным клиническим группам (по 15 пулированных образцов в каждой группе).

Различия по таксономическому богатству метагеномов в полной мере отразились и на уровне различий в предсказанном функциональном потенциале микробных сообществ по группам исследования (рис. 3).

В группе ХП+СД2 выявлено снижение по сравнению с контролем относительной представленности 8 метаболических путей: биосинтеза жирных кислот, метаболизма пиримидина, метаболизма метана, метаболизма глицеролипидов, метаболизма сфинголипидов, метаболизма тирозина, метаболизма аскорбата и альдарата, биосинтеза убихинона и других терпеноид-хинонов.

При сравнении групп ХП, ассоциированного и не ассоциированного с СД2, выявлены различия в представленности 5 метаболических путей: в группе ХП+СД2 отмечено повышение метаболизма цистеина и метионина и снижение метаболизма пиримидина, биосинтеза жирных кислот, метаболизма метана, метаболизма сфинголипидов.

Для группы ХП в сравнении с контролем установлено снижение относительной представленности 4 метаболических путей: цистеина и метионина, серы, гистидина, глицеролипидов.

В конечном итоге можно выделить 4 метаболических пути, низкий уровень которых отличает группу ХП+СД2, от контроля и группы ХП: метаболизм метана, метаболизм сфинголипидов, биосинтез жирных кислот, метаболизм пиримидина. Для ХП, независимо от ассоциации с СД2, было характерно снижение метаболизма глицеролипидов.

Функциональный анализ пулированных образцов с использованием критерия Bray–Curtis подтвердил, что в целом группа больных ХП по характеристике метаболических путей была значительно ближе к контролю, чем группа ХП+СД2.

Для определения взаимосвязи выявленных особенностей метаболических профилей по группам исследования и наличия в составе микробиома пародонтальных карманов представителей рода

*Filifactor* был проведён корреляционный анализ с использованием коэффициента корреляции Спирмена ( $r$ ). Частота встречаемости этих бактерий при ХП+СД2 в наших исследованиях показывала

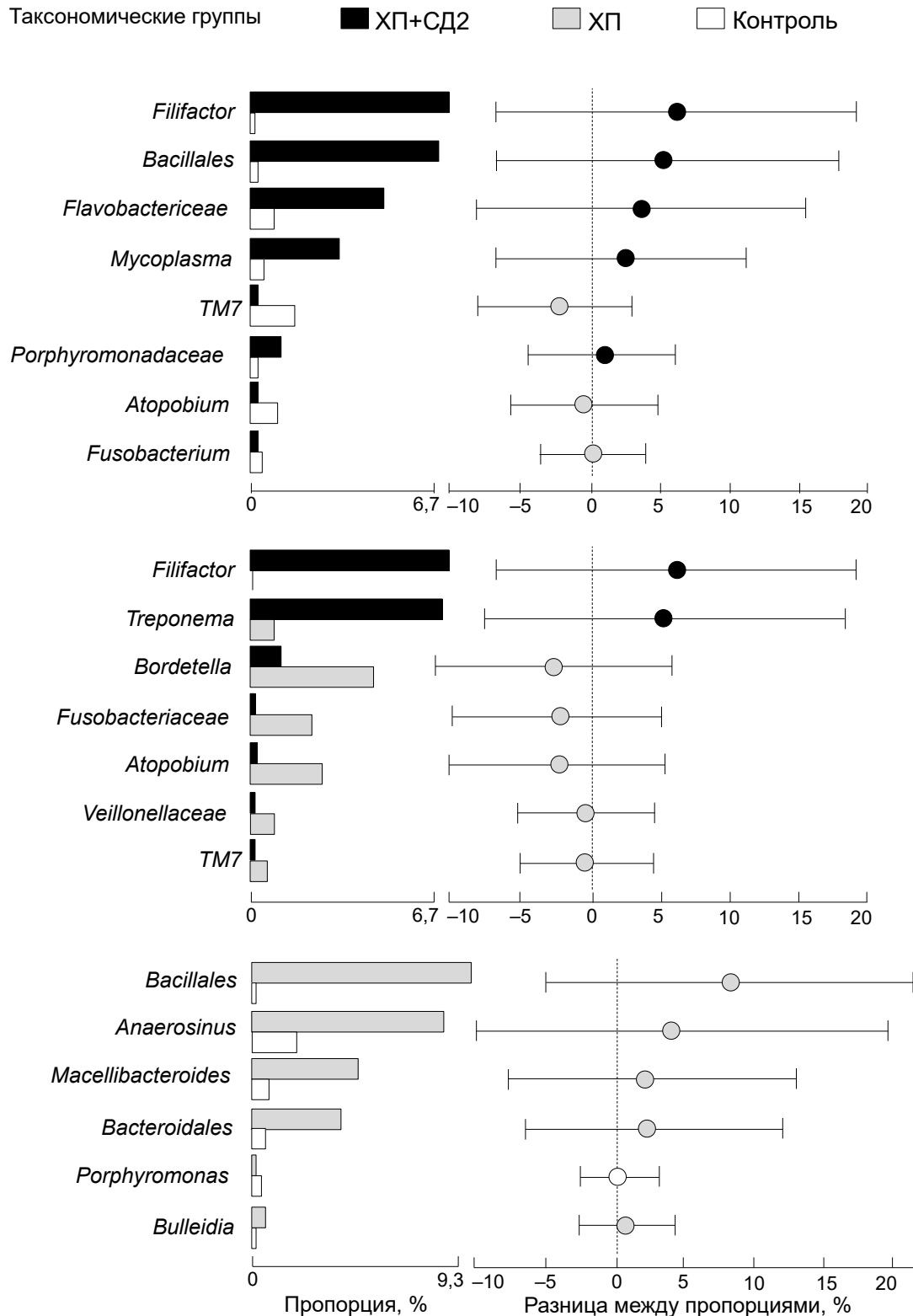
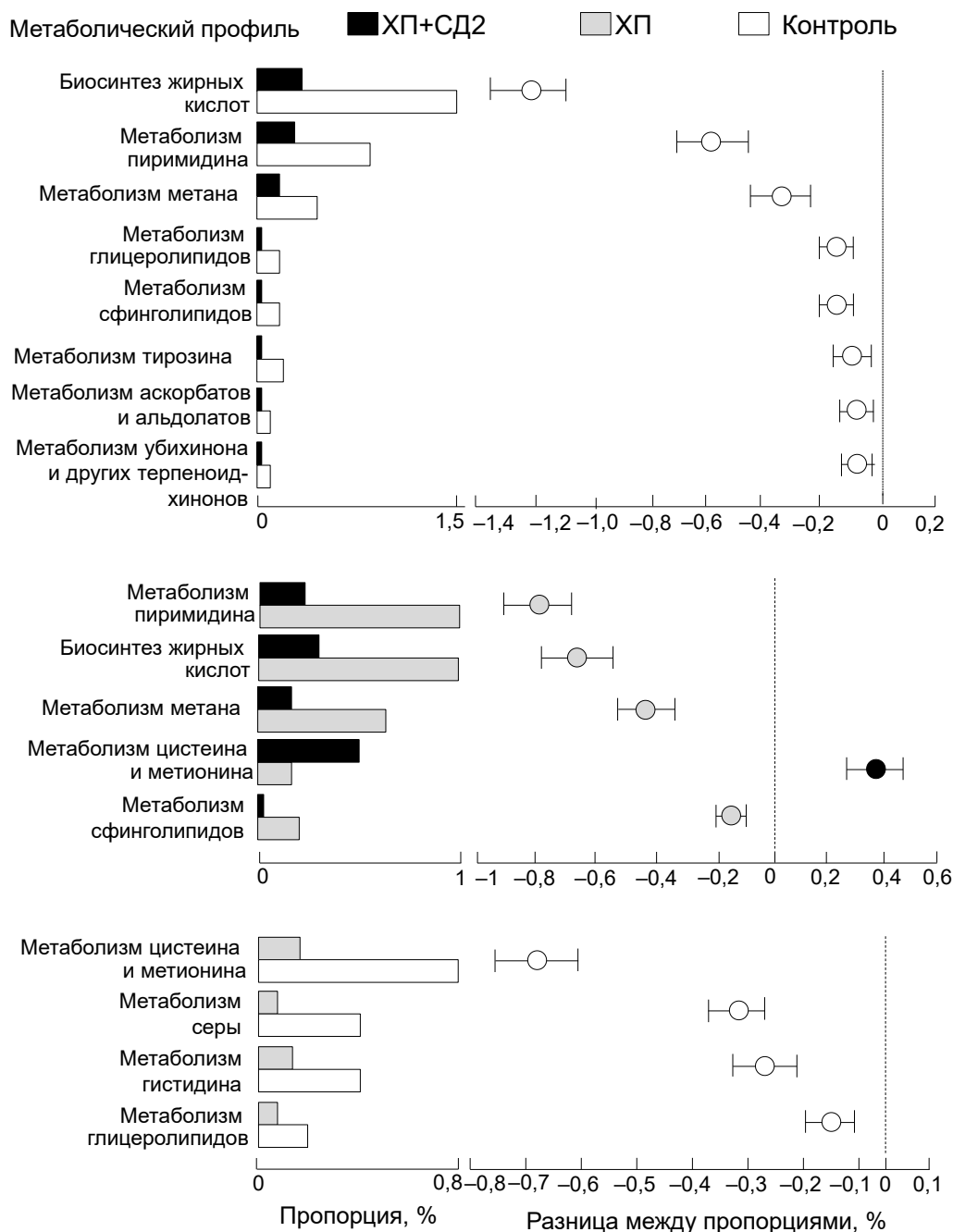


Рис. 2. Таксономический профиль микробиома пародонтальных карманов при сравнении групп исследования.

Fig. 2. Taxonomic profile of periodontal pocket microbiome in comparison of study groups.



**Рис. 3.** Прогнозируемый профиль метаболических путей микробиома пародонтальных карманов при сравнении групп исследования.

**Fig. 3.** Predicted profile of periodontal pocket microbiome metabolic pathways in the comparison of the clinical study groups.

достоверный уровень отрицательной корреляции ( $r > 0,723$ ) с прогнозированием двух метаболических путей — биосинтеза жирных кислот и метаболизма пиримидина, притом что все эти признаки у пациентов данной группы регистрировались в 3–5 раз реже, чем в остальных случаях.

### Обсуждение

Установленная нами наиболее высокая встречаемость бактерий рода *Filifactor*, относительно не-

давно причисленных к группе пародонтопатогенов I порядка [19], при ассоциации XH+СД2 отмечена и другими авторами в числе преобладающих представителей микробиома пародонтальных карманов [37–40], хотя и без детального сравнения встречаемости этого микроорганизма в других группах.

Полученные нами данные об особенностях метаболизма микробиома пародонтальных карманов у больных с XH+СД2 свидетельствуют о довольно значительной роли нарушений обмена жирных кис-

лот, пиримидина, метана, глицеролипидов, сфинголипидов. Два из этих признаков (снижение биосинтеза жирных кислот и метаболизма пиримидина) оказались корреляционно связаны с наличием в составе микробиома бактерий рода *Filifactor*. Факт наличия такой корреляции отмечен нами впервые, в то же время значение указанных метаболических путей микробиома при ассоциации ХП+СД2 обсуждается в современной научной литературе.

Так, при оценке метаболизма *F. alocis* выделяется значение биосинтеза этими бактериями насыщенной жирной кислоты — масляной кислоты, участвующей в патогенезе пародонтита [41]. Более того, предлагается даже использовать микробную масляную кислоту в качестве маркера пародонтита, при этом подчёркивается, что это соединение может влиять на чувствительность организма к инсулину [42]. Существует точка зрения, что среда полости рта при ХП+СД2 может характеризоваться уменьшением количества бактерий, продуцирующих масляную кислоту [43]. Это входит в некоторое противоречие с данными нашего исследования, по крайней мере, по значительному представительству рода *Filifactor* в микробиоме при рассматриваемой патологии. В то же время установленный нами дефицит жирных кислот при ассоциации ХП+СД2 может иметь и другое объяснение. Например, если имеет место присутствие в микробиоме субгингивальной биоплёнки герпесвирусов (особенно вируса Эпштейна–Барр), то они обладают способностью активно потреблять ту же масляную кислоту для своей реактивации [44]. Всё это показывает возможность неоднозначного трактования полученных результатов и необходимость дальнейших исследований в данном направлении.

Установленное нами снижение метаболизма пиримидина, коррелирующее с встречаемостью *F. alocis*, тоже отмечено в научной литературе как признак ХП. Например, имеются сведения о том, что гены, участвующие в синтезе пиримидина, имели значительно более низкую относительную численность у пациентов с пародонтитом по сравнению со здоровыми [45]. Пиримидин является агонистом рецептора GR119, связанного с гипогликемическим воздействием и протективным эффектом в отношении β-клеток поджелудочной железы, что позволяет даже рекомендовать производные пиримидина в качестве лечебных средств при СД2 [46]. С этой точки зрения состояние метаболизма пиримидина у микробиома тканей пародонта с участием *F. alocis* в перспективе может оказаться своеобразным маркером ассоциации пародонтита с сахарным диабетом, а возможно, и одним из многочисленных элементов патогенеза СД2.

Таким образом, дальнейшее исследование этих феноменов перспективно не только с точки зрения расшифровки этиопатогенетической роли бактерий

рода *Filifactor*, но и с позиций совершенствования способов диагностики и лечения обозначенной сочетанной патологии.

## Выводы

1. Микробиом тканей пародонта при ассоциации ХП+СД2 обладает рядом особенностей, касающихся как его функциональных признаков, так и таксономического состава. В последнем случае особое внимание исследователей привлекают недавно установленные и пока мало изученные бактериальные представители микробиома, плохо культивируемые на питательных средах и обладающие выраженными пародонтопатогенными свойствами. К таким микроорганизмам относятся, в частности, бактерии вида *F. alocis*.

2. При метагеномном анализе микробиома пародонтальных карманов пациентов установлено, что бактерии рода *Filifactor* встречаются в составе микробиома пациентов с ХП+СД2 значительно чаще, чем при наличии только пародонтита или у здоровых людей. Частота встречаемости бактерий рода *Filifactor* у пациентов с ассоциацией ХП+СД2 отрицательно коррелировала с отдельными особенностями предполагаемых метаболических путей микробиома, в число которых входили биосинтез жирных кислот и метаболизм пиримидина.

3. Отмеченные метаболические признаки, в частности снижение метаболизма пиримидина, коррелирующее с встречаемостью *F. alocis*, по данным литературы, с определённой долей вероятности могут считаться патогенетическим фактором развития пародонтита и/или СД2 и рассматриваться как диагностический маркер.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Eke P.I., Wei L., Borgnakke W.S., et al. Periodontitis prevalence in adults  $\geq 65$  years of age, in the USA. *Periodontol.* 2000; 2016;72(1):76–95. DOI: <https://doi.org/10.1111/prd.12145>
2. Мамедов М.Н., Куценко В.А., Керимов Э.Ф. и др. Связь состояния соматического здоровья с заболеваниями тканей пародонта и зубов в реальной клинической практике. *Профилактическая медицина.* 2022;25(2):66–73. Mamedov M.N., Kutsenko V.A., Kerimov E.F., et al. Relationship between the state of somatic health and diseases of periodontal tissues and teeth in real clinical practice. *The Russian Journal of Preventive Medicine.* 2022;25(2):66–73. DOI: <https://doi.org/10.17116/profmed20222502166> EDN: <https://elibrary.ru/xckwjl>
3. Балмасова И.П., Царев В.Н., Янушевич О.О. и др. *Микроэкология пародонта. Взаимосвязь локальных и системных эффектов.* М.; 2021:175–225. Balmasova I.P., Tsarev V.N., Yanushevich O.O., et al. *Microecology of Periodontium. The Relationship Between Local and Systemic Effects.* Moscow; 2021:175–225. EDN: <https://elibrary.ru/myzmbu>
4. Hajishengallis G., Chavakis T. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. *Nat. Rev. Immunol.* 2021;21(7):426–40. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-020-00488-6>

5. Nikolaeva E.N., Tsarev V.N., Tsareva T.V., et al. Interrelation of cardiovascular diseases with anaerobic bacteria of subgingival biofilm. *Contemp. Clin. Dent.* 2019;10(4):637–42. DOI: [https://doi.org/10.4103/ccd.ccd\\_84\\_19](https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_84_19)
6. Bascones-Martínez A., Muñoz-Corcuera M., Bascones-Illundain J. Diabetes and periodontitis: A bidirectional relationship. *Med. Clin. (Barc.)*. 2015;145(1):31–5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2014.07.019> (in Spanish)
7. Portes J., Bullón B., Quiles J.L., et al. Diabetes mellitus and periodontitis share intracellular disorders as the main meeting point. *Cells*. 2021;10(9):2411. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10092411>
8. Alam U., Asghar O., Azmi S., Malik R.A. General aspects of diabetes mellitus. *Handb. Clin. Neurol.* 2014;126:211–22. DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-53480-4.00015-1>
9. Ida S., Kaneko R., Murata K. Utility of real-time and retrospective continuous glucose monitoring in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Diabetes Res.* 2019;2019:4684815. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/4684815>
10. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes – 2021. *Diabetes Care*. 2021;44(Suppl. 1):15–33. DOI: <https://doi.org/10.2337/dc21-s002>
11. Patil V.S., Patil V.P., Gokhale N., et al. Chronic periodontitis in type 2 diabetes mellitus: oxidative stress as a common factor in periodontal tissue injury. *J. Clin. Diagn. Res.* 2016;10(4):BC12–6. DOI: <https://doi.org/10.7860/jcdr/2016/17350.7542>
12. Унаньян К.Г., Балмасова И.П., Царев В.Н. и др. Церамиды как биомаркеры хронического пародонтита, ассоциированного с сахарным диабетом второго типа. *Вестник Российской академии медицинских наук. Серия: Медицина*. 2020;24(4):325–37. Unanyan K.G., Balmasova I.P., Tsarev V.N., et al. Ceramides as biomarkers of chronic periodontitis associated with type II diabetes. *RUDN Journal of Medicine. Series: Medicine*. 2020;24(4):325–37. DOI: <https://doi.org/10.22363/2313-0245-2020-24-4-325-337> EDN: <https://elibrary.ru/kykdxt>
13. Царев В.Н., Николаева Е.Н., Ипполитов Е.В. Пародонтопатогенные бактерии как основные факторы возникновения и развития пародонтита. *Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунобиологии*. 2017;94(5):101–12. Tsarev V.N., Nikolaeva E.N., Ippolitov E.V. Periodontal pathogenic bacteria as the main factors in the occurrence and development of periodontitis. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2017;94(5):101–12. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-5-101-112> EDN: <https://elibrary.ru/ctbcar>
14. Howard K.C., Gonzalez O.A., Garneau-Tsodikova S. Porphyromonas gingivalis: where do we stand in our battle against this oral pathogen? *RSC Med. Chem.* 2021;12(5):666–704. DOI: <https://doi.org/10.1039/d0md00424c>
15. Zhou M., Rong R., Munro D., et al. Investigation of the effect of type 2 diabetes mellitus on subgingival plaque microbiota by high-throughput 16S rDNA pyrosequencing. *PLoS One*. 2013;8(4):e61516. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061516>
16. Dewhirst F.E., Chen T., Izard J., et al. The human oral microbiome. *J. Bacteriol.* 2010;192(19):5002–17. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.00542-10>
17. Griffen A.L., Beall C.J., Campbell J.H., et al. Distinct and complex bacterial profiles in human periodontitis and health revealed by 16S pyrosequencing. *ISME J.* 2012;6(6):1176–85. DOI: <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.191>
18. Jalava J., Eerola E. Phylogenetic analysis of *Fusobacterium alocis* and *Fusobacterium sulci* based on 16S rRNA gene sequences: proposal of *Filifactor alocis* (Cato, Moore and Moore) comb. nov. and *Eubacterium sulci* (Cato, Moore and Moore) comb. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1999;49(Pt. 4):1375–9. DOI: <https://doi.org/10.1099/00207713-49-4-1375>
19. Янушевич О.О., Царев В.Н., Николаева Е.Н. и др. Первый отечественный опыт выявления ассоциации анаэробных бактерий *Filifactor alocis* и *Porphyromonas gingivalis* молекулярно-биологическими методами при заболеваниях пародонта и коморбидной патологии (сравнительное исследование). *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2022;77(6):437–46. Yanushevich O.O., Tsarev V.N., Nikolaeva E.N., et al. The first domestic experience of detecting the association of anaerobic bacteria *Filifactor alocis* and *Porphyromonas gingivalis* by molecular biological methods in periodontal diseases and comorbid pathology (comparative research). *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2022;77(6):437–46. DOI: <https://doi.org/10.15690/vramn2262> EDN: <https://elibrary.ru/pzajok>
20. Uematsu H., Sato N., Hossain M.Z., et al. Degradation of arginine and other amino acids by butyrate-producing asaccharolytic anaerobic G am-positive rods in periodontal pockets. *Arch. Oral Biol.* 2003;48(6):423–9. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0003-9969\(03\)00031-1](https://doi.org/10.1016/s0003-9969(03)00031-1)
21. Aruni A.W., Roy F., Fletcher H.M. *Filifactor alocis* has virulence attributes that can enhance its persistence under oxidative stress conditions and mediate invasion of epithelial cells by *Porphyromonas gingivalis*. *Infect. Immun.* 2011;79(10):3872–86. DOI: <https://doi.org/10.1128/iai.05631-11>
22. Moffatt C.E., Whitmore S.E., Griffen A.L., et al. *Filifactor alocis* interactions with gingival epithelial cells. *Mol. Oral Microbiol.* 2011;26(6):365–73. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2041-1014.2011.00624.x>
23. Kim H.Y., Song M.K., Gho Y.S., et al. Extracellular vesicles derived from the periodontal pathogen *Filifactor alocis* induce systemic bone loss through Toll-like receptor 2. *J. Extracell. Vesicles*. 2021;10(12):e12157. DOI: <https://doi.org/10.1002/jev2.12157>
24. Aruni A.W., Zhang K., Dou Y., Fletcher H. Proteome analysis of coinfection of epithelial cells with *Filifactor alocis* and *Porphyromonas gingivalis* shows modulation of pathogen and host regulatory pathways. *Infect. Immun.* 2014;82(8):3261–74. DOI: <https://doi.org/10.1128/iai.01727-14>
25. Fine D.H., Markowitz K., Fairlie K., et al. A consortium of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Streptococcus parasanguinis* and *Filifactor alocis* are present in sites prior to bone loss in a longitudinal study of localized aggressive periodontitis. *J. Clin. Microbiol.* 2013;51(9):2850–61. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.00729-13>
26. Aja E., Mishra A., Dou Y., Fletcher H.M. Role of the *Filifactor alocis* hypothetical protein FA519 in oxidative stress resistance. *Microbiol. Spectr.* 2021;9(3):e0121221. DOI: <https://doi.org/10.1128/spectrum.01212-21>
27. Armstrong C.L., Miralda I., Neff A.C., et al. *Filifactor alocis* promotes neutrophil degranulation and chemotactic activity. *Infect. Immun.* 2016;84(12):3423–33. DOI: <https://doi.org/10.1128/iai.00496-16>
28. Aruni A.W., Mishra A., Dou Y., et al. *Filifactor alocis* a new emerging periodontal pathogen. *Microbes Infect.* 2015;17(7):517–30. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2015.03.011>
29. Graetz C., Mann L., Krois J., et al. Comparison of periodontitis patients' classification in the 2018 versus 1999 classification. *J. Clin. Periodontol.* 2019;46(9):908–17. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcpe.13157>
30. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2012;35(Suppl. 1):S64–71. DOI: <https://doi.org/10.2337/dc12-s064>
31. Callahan B.J., McMurdie P.J., Rosen M.J., et al. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data.

- Nat. Methods.* 2016;13(7):581–3.  
DOI: <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
32. Quast C., Pruesse E., Yilmaz P., et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.* 2013;41(Database):D590–6.  
DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
  33. Tang Z.Z., Chen G., Alekseyenko A.V. PERMANOVA-S: association test for microbial community composition that accommodates confounders and multiple distances. *Bioinformatics.* 2016;32(17):2618–25.  
DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw311>
  34. Langille M.G., Zaneveld J., Caporaso J.G., et al. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nat. Biotechnol.* 2013;31(9):814–21.  
DOI: <https://doi.org/10.1038/nbt.2676>
  35. Parks D.H., Tyson G.W., Hugtholtz P., Beiko R.G. STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles. *Bioinformatics.* 2014;30(21):3123–4.  
DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu494>
  36. Saeb A.T.M., Al-Rubeaan K.A., Aldosary K., et al. Relative reduction of biological and phylogenetic diversity of the oral microbiota of diabetes and pre-diabetes patients. *Microb. Pathog.* 2019;128:215–29.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.009>
  37. Casarin R.C., Barbagallo A., Meulman T., et al. Subgingival biodiversity in subjects with uncontrolled type-2 diabetes and chronic periodontitis. *J. Periodontal Res.* 2013;48(1):30–6.  
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2012.01498.x>
  38. Tam J., Hoffmann T., Fischer S., et al. Obesity alters composition and diversity of the oral microbiota in patients with type 2 diabetes mellitus independently of glycemic control. *PLoS One.* 2018;13(10):e0204724.  
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204724>
  39. Tang B., Yan C., Shen X., Li Y. The bidirectional biological interplay between microbiome and viruses in periodontitis and type 2 diabetes mellitus. *Front. Immunol.* 2022;13:885029.  
DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.885029>
  40. Ganesan S.M., Joshi V., Fellows M., et al. A tale of two risks: smoking, diabetes and the subgingival microbiome. *ISME J.* 2017;11(9):2075–89.  
DOI: <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.73>
  41. Uematsu H., Sato N., Hossain M.Z., et al. Degradation of arginine and other amino acids by butyrate-producing asaccharolytic anaerobic Gram-positive rods in periodontal pockets. *Arch. Oral Biol.* 2003;48(6):423–9.  
DOI: [https://doi.org/10.1016/s0003-9969\(03\)00031-1](https://doi.org/10.1016/s0003-9969(03)00031-1)
  42. Cueno M.E., Ochiai K. Gingival periodontal disease (PD) level-butyric acid affects the systemic blood and brain organ: Insights into the systemic inflammation of periodontal disease. *Front. Immunol.* 2018;9:1158.  
DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01158>
  43. Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends Immunol.* 2014;35(1):3–11.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.it.2013.09.001>
  44. Imai K., Ogata Y. How does Epstein-Barr virus contribute to chronic periodontitis? *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(6):1940.  
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21061940>
  45. Li Y., He J., He Z., et al. Phylogenetic and functional gene structure shifts of the oral microbiomes in periodontitis patients. *ISME J.* 2014;8(9):1879–91.  
DOI: <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.28>
  46. Fang Y., Xu J., Li Z., et al. Design and synthesis of novel pyrimido[5,4-d]pyrimidine derivatives as GPR119 agonist for treatment of type 2 diabetes. *Bioorg. Med. Chem.* 2018;26(14):4080–7.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.06.035>

### Информация об авторах

**Царева Татьяна Викторовна** — к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9571-0520>

**Янушевич Олег Олегович** — д.м.н., профессор, академик РАН, зав. каф. пародонтологии, ректор МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0059-4980>

**Царев Виктор Николаевич** — д.м.н., профессор, зав. каф. микробиологии, вирусологии, иммунологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия, [nikola777@rambler.ru, https://orcid.org/0000-0002-3311-0367](https://orcid.org/0000-0002-3311-0367)

**Балмасова Ирина Петровна** — д.м.н., профессор, зав. лаб. патогенеза и методов лечения инфекционных заболеваний Научно-исследовательского медицинского стоматологического института МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8194-2419>

**Участие авторов.** Царева Т.В. — сбор биоматериала от пациентов, проведение молекулярно-генетических исследований, биоинформационный и статистический анализ, написание текста статьи; Янушевич О.О. — общее руководство, организация групп пациентов и сбора клинического биоматериала, прочтение и редактирование статьи; Царев В.Н. — дизайн исследования, проведение микробиологических и молекулярно-генетических исследований биоматериала, анализ базы полученных данных генетических исследований; Балмасова И.П. — проведение молекулярно-генетических исследований биоматериала, биоинформационный анализ, интерпретация данных литературы, написание текста статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 02.09.2023;  
принята к публикации 27.11.2023;  
опубликована 28.11.2023

### Information about the authors

**Tatyana V. Tsareva** — Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of microbiology, virology, immunology, Moscow State University of Medicine and Dentistry named A.I. Evdokimov, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9571-0520>

**Oleg O. Yanushevich** — D. Sci. (Med.), Professor, RAS Full Member, Head, Department of periodontology, Rector, Moscow State University of Medicine and Dentistry named A.I. Evdokimov, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0059-4980>

**Viktor N. Tsarev** — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of microbiology, virology, immunology, Moscow State University of Medicine and Dentistry named A.I. Evdokimov, Moscow, Russia, [nikola777@rambler.ru, https://orcid.org/0000-0002-3311-0367](https://orcid.org/0000-0002-3311-0367)

**Irina P. Balmasova** — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Laboratory of pathogenesis and methods of treatment of infectious diseases, Scientific Research Medical Dental Institute, Moscow State University of Medicine and Dentistry named A.I. Evdokimov, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8194-2419>

**Author contribution.** Tsareva T.V. — collection of biomaterial from patients, conducting molecular genetic studies, bioinformatic and statistical analysis, writing the text of the article; Yanushevich O.O. — general guidance, organization of patient groups and collection of clinical biomaterial, reading and editing the article; Tsarev V.N. — research design, conducting microbiological and molecular genetic studies of biomaterial, database analysis the obtained data of genetic research; Balmasova I.P. — interpretation of literary data, conducting molecular genetic studies of biomaterial, bioinformatics analysis, writing the text of the article. All authors confirm that they met the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, revised the work, made final approval of the version to be published.

All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 02.09.2023;  
accepted for publication 27.11.2023;  
published 28.11.2023

## ОБЗОРЫ

Обзорная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-446>



# Накопленный опыт и перспективы исследования вируса гепатита В *in vivo*

Нагорных А.М.<sup>✉</sup>, Тюменцева М.А., Тюменцев А.И., Акимкин В.Г.

Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

### Аннотация

На сегодняшний день в мире более 300 млн человек инфицированы вирусом гепатита В (HBV), а одной из целей ВОЗ является ликвидация вирусного гепатита к 2030 г. Изучение патогенных и иммунологических свойств HBV, а также терапевтических субстанций и схем его лечения существенно осложнено отсутствием достаточного количества восприимчивых биологических тест-систем (животных моделей) и зоонозных резервуаров вируса. В связи с этим изучение свойств HBV и родственных ему гепаднавирусов даёт бесценный материал для понимания биологии возбудителя и разработки методов профилактики и борьбы с этим хроническим инфекционным заболеванием, приводящим к тяжёлым гепатопатиям (цирроз и гепатоцеллюлярная карцинома).

Кроме того, продолжительная виремия HBV приводит к истощению иммунной системы, снижая резистентность против возбудителей других инфекций, особенно имеющих хроническое течение и социально обусловленное распространение.

**Цель** работы — оценка существующих животных моделей инфекции HBV в контексте патогенеза, иммунологических и патоморфологических характеристик. Впервые с позиции развития патоморфологических особенностей рассматривается гипотеза возможного использования некоторых моделей для изучения сочетанных с HBV социально значимых инфекций.

Для подготовки статьи использовалась информация об особенностях моделирования инфекции HBV *in vivo*, опубликованная за последние 25 лет в открытых источниках (Web of Science, PubMed, Scopus, ScienceDirect, Springer). Основными критериями для подбора литературы были тип инфицирующего агента, наблюдаемые иммунологические особенности течения инфекционного процесса и наличие описания патоморфологической картины у модельных организмов.

**Ключевые слова:** вирус гепатита В, животные модели, патоморфологические характеристики, обзор

**Источник финансирования.** Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках гранта в форме субсидии на создание и развитие «Центра геномных исследований мирового уровня по обеспечению биологической безопасности и технологической независимости в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий», соглашение № 075-15-2019-1666.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Для цитирования:** Нагорных А.М., Тюменцева М.А., Тюменцев А.И., Акимкин В.Г. Накопленный опыт и перспективы исследования вируса гепатита В *in vivo*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(6):495–510.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-446>

EDN: <https://www.elibrary.ru/uwgum1>



Review

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-446>

# Accumulated experience and future prospects of *in vivo* hepatitis B virus research

Aleksey M. Nagornykh<sup>✉</sup>, Marina A. Tyumentseva, Aleksandr I. Tyumentsev, Vasily G. Akimkin

Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia

## Abstract

Nowadays, an estimated more than 300 million people live with hepatitis B virus (HBV) infection globally. One of the main goals of the World Health Organization (WHO) is to eliminate viral hepatitis by the year 2030. The study of the pathogenic and immunologic properties of HBV, as well as therapeutic substances and treatment regimens, is significantly complicated by the insufficient number of susceptible biological test subjects (animal models) and the lack of zoonotic reservoirs of the virus. In this regard, researching the properties of HBV and related hepadnaviruses provides invaluable material for understanding the biology of the pathogen and the developing methods of prevention and control of this chronic infectious disease, leading to severe hepatopathies (cirrhosis and hepatocellular carcinoma).

Furthermore, prolonged HBV viremia leads to depletion of the immune system, reducing resistance against pathogens of other infections, especially those with a chronic course and socially determined spread.

**The aim** of this research is to evaluate existing animal models of HBV infection in the context of pathogenesis, immunologic and pathomorphological features. For the first time, the hypothesis of the possible use of certain models for the research of HBV-associated socially significant infections is considered from the point of view of the development of pathomorphological features.

To complete this review, we analyzed the information about the features of HBV infection models *in vivo*, published over the last 25 years in open sources (Web of Science, PubMed, Scopus, ScienceDirect, Springer). The main criteria for literature selection were the type of infecting agent, the observed immunologic features of the course of the infectious process and the availability of a description of the pathomorphological features in model organisms.

**Keywords:** Hepatitis B virus, animal models, pathomorphological features, review

**Funding source.** The research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation under a grant in the form of a subsidy for the establishment and development of the "World Genomic Research Center to ensure biological safety and technological independence within the framework of the Federal Scientific and Technical Program for the Development of Genetic Technologies", Agreement No. 075-15-2019-1666.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**For citation:** Nagornykh A.M., Tyumentseva M.A., Tyumentsev A.I., Akimkin V.G. Accumulated experience and future prospects of *in vivo* hepatitis B virus research. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2023;100(6):495–510.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-446>

EDN: <https://www.elibrary.ru/uwgum1>

## Введение

Вирус гепатита В (HBV) представляет собой небольшой покрытый оболочкой гепатотропный ДНК-вирус. HBV имеет релаксированный частично двухцепочечный кольцевой ДНК-геном длиной около 3200 оснований с 4 основными перекрывающимися открытыми рамками трансляции: pre-S/S, pre-C/C, X и P [1, 2]. Открытая рамка трансляции pre-S/S кодирует 3 структурных белка оболочки: большой (L), средний (M) и малый (S). Белок S, известный как HBsAg, состоит из 226 аминокислот. Открытая рамка трансляции pre-C/C кодирует 2 белка: Core, или коровый белок, образует белковую оболочку нуклеокапсида, также носит название «коровый антиген гепатита В» (HBcAg); pre-Core, или прекоровый белок, образуется при инициации

трансляции с альтернативных сайтов внутри открытой рамки трансляции pre-C/C HBV. Открытая рамка трансляции X кодирует небольшой регуляторный белок X, который необходим для репликации вируса. Наконец, открытая рамка трансляции P кодирует вирусную ДНК-полимеразу [3], которая также является специализированной обратной транскриптазой, необходимой для репликации геномной ДНК HBV через промежуточную РНК [4].

HBsAg является поверхностным антигеном и основным маркером HBV. При остром гепатите HBsAg может быть выявлен в крови обследуемых уже в инкубационный период в первые 4–6 нед от начала клинического периода. Присутствие HBsAg более 6 мес рассматривается как фактор перехода болезни в хроническую стадию. Следует отметить,

что только часть HBsAg, образующегося при размножении вируса, используется для построения новых вирусных частиц, основное же его количество поступает в кровь инфицированных лиц [5].

HBcAg — коровый антиген, выявляемый только в ядрах гепатоцитов, но отсутствующий в крови. Большое диагностическое значение имеет определение в крови антител класса М к этому антигену. Эти антитела при остром гепатите выявляются раньше, чем антитела к другим вирусным антигенам. Анти-HBc-IgM обнаруживают у 100% больных острым гепатитом В, а суммарные анти-HBc антитела могут быть единственным маркером HBV в фазу так называемого «окна», когда в крови не удаётся выявить ни HBsAg, ни антитела к нему. Именно поэтому их определяют на станциях переливания крови при тестировании донорской крови и плазмы [6].

HBcAg и HBsAg являются основными структурными антигенами HBV. Оба антигена представляют собой мощные иммуногены для экспериментальных животных, а также для людей, инфицированных HBV [7].

Белок Х HBV (HBx) представляет собой плеiotропный регуляторный белок [8]. Его роль в репликации вируса была продемонстрирована в ряде исследований *in vitro* и *in vivo*. HBx был впервые идентифицирован как трансактиватор экспрессии генов. HBx не связывает элементы ДНК напрямую, но соединяется с белками, которые связывают ДНК. HBx умеренно стимулирует транскрипцию, управляемую широким спектром промоторов, включая собственный энхансер в контексте всего вирусного генома [9]. Однако роль HBx и индуцированной им транскрипции генов, а также её влияние на цитоплазматические сигнальные пути при естественном инфицировании HBV, остаётся открытой [10].

После проникновения вируса в клетку капсид HBV транспортируется в ядро, где он высвобождает вирусную ДНК. В ядре неполный геном вирусной ДНК «восстанавливается» клеточными ферментами в кольцевую ковалентно-замкнутую ДНК (ккзДНК), служащую затем матрицей для транскрипции генов HBV [11]. Заболевание сопровождается образованием инфекционных вирионов, а также высоких концентраций вирусных белков.

HBV обладает строгим тропизмом к хозяину и органу. Он присоединяется к гепарансульфат протеогликанам и поглощается при связывании с натрий-таурохолат котранспортным полипептидом (NTCP). NTCP является специфичным для гепатоцитов переносчиком желчных кислот и идентифицирован как истинный рецептор HBV.

Экспрессия человеческого NTCP (hNTCP) *ex vivo* в гепатоцитах мыши, крысы и собаки обеспечивает проникновение HBV в клетки, но затем вирус блокируется на одном или нескольких этапах жизненного цикла [12]. В свою очередь, экспрес-

сия hNTCP в гепатоцитах свиней, макак-крабоедов (*Macaca fascicularis*) и макак-резусов (*Macaca mulatta*) позволяет HBV пройти полный цикл репликации. Скорее всего, дополнительные факторы организма-хозяина необходимы для импорта неполных геномов HBV в ядро или их «восстановления» до персистирующей формы ккзДНК [13].

HBV является одним из представителей семейства *Hepadnaviridae*, включающего другие гепатотропные оболочечные ДНК-вирусы, такие как вирус гепатита В уток (Duck hepatitis B virus, DHBV), вирус гепатита сурка (Woodchuck hepatitis virus, WHV) и вирус гепатита В шерстистых обезьян (Woolly monkey hepatitis B virus, WMHBV). DHBV, WHV и WMHBV активно используются в качестве суррогатных моделей инфекции HBV. Гепаднавирусы млекопитающих, в том числе HBV, являются представителями рода *Orthohepadnavirus* и приводят к развитию патологий печени, в то время как DHBV — к роду *Avihepadnavirus*, инфицирование которым не приводит к развитию гепатопатий.

## Суррогатные животные модели HBV

### Утки

В 1980 г. DHBV был обнаружен в сыворотке домашних уток и стал инструментальной моделью для понимания жизненного цикла гепаднавирусов [14]. На культурах клеток гепатоцитов уток эта модель сыграла ключевую роль в выяснении механизмов репликации вируса, включая сборку вирусного капсида, инициацию обратной транскрипции и, наконец, образование двухцепочечной релаксированной кольцевой ДНК [15–19]. С помощью этой модели были исследованы этапы формирования ккзДНК [20–22]. Модели уток с персистирующей инфекцией DHBV также широко использовались для оценки противовирусных препаратов, ингибиторов сборки нуклеокапсида и комбинированных терапевтических подходов (рис. 1) [23–25].

Тем не менее утиные модели на основе DHBV по-прежнему сильно отличаются от HBV у людей в следующих аспектах: DHBV только на 40% гомологичен человеческому HBV [26], DHBV использует карбоксипептидазу D в качестве входного рецептора [27], кроме того, токсичность лекарственных препаратов может проявляться по-разному у людей и уток [28, 29]. Таким образом, скрининг кандидатных лекарственных препаратов, а также исследования механизмов с помощью этой системы могут потребовать дальнейшей проверки из-за существующих различий между вирусами и хозяевами.

### Сурки

Открытие WHV, который инфицировал лесных сурков (*Marmota monax*) в зоопарке Филадельфии [30], предоставило новые возможности для из-



**Рис. 1.** Патогенез, иммунологические и патологические характеристики животных моделей инфекции HBV, основанных на суррогатных вирусах.

**Fig. 1.** Pathogenesis, immunological and pathological characteristics of animal models of HBV infection based on surrogate viruses.

учения реакции хозяина на гепаднавирусы *in vivo*. WHV схож с HBV не только по таким вирусологическим характеристикам, как размер, организация и нуклеотидная последовательность генома (сходство достигает 60–70%), но и по врожденным и адаптивным иммунным реакциям хозяина, которые возникают при вирусной инфекции [31].

В настоящее время в качестве животных моделей для исследований, связанных с HBV, используются два вида сурков: *Marmota monax* [32, 33] и *Marmota himalayana* [34]. Течение инфекции, патогенез и прогрессирование заболевания у сурков, инфицированных WHV, сходно с инфекцией HBV у людей. Следовательно, модель сурка широко используется для доклинических исследований противовирусных препаратов, а также исследований гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК), вызванной HBV. В качестве доклинических моделей инфицированные сурки были протестированы на восприимчивость к таким противовирусным препаратам, как аналоги нуклеоз(т)идов, включая ламивудин [35], энтекавир [36] и тенофовир [37]. Заражение новорожденных сурков обычно приводит к хронической инфекции, тогда как у взрослых сурков обычно развивается острый гепатит, что указывает на аналогичный иммунный ответ против вирусной инфекции HBV у человека. Благодаря этому стало возможным применение сурков в качестве животной модели HBV для разработки профилактических вакцин и скрининга иммунотерапевтических

подходов к борьбе с HBV [15, 16, 32, 33]. В частности, на модели *Marmota himalayana* показано, что применение аналогов нуклеозидов отдельно или в сочетании с ДНК-вакциной способно индуцировать частичный или полный иммунный ответ, предотвращая виремию после инфицирования WHV [38].

Тем не менее следует отметить, что при проведении исследований на модели сурка существуют некоторые ограничения. Во-первых, сурок — крупное животное, и в ходе проведения экспериментальных процедур с ним бывает трудно работать. Во-вторых, существует мало реагентов для исследования иммунного ответа сурков на вирусную инфекцию. Кроме того, различен HBV- и WHV-опосредованный канцерогенез, поскольку ДНК WHV часто интегрируется в протоонкоген *Мус*, в результате чего почти у всех неонатально инфицированных сурков развивается ГЦК, тогда как HBV предпочитает интегрироваться в гены *TERT*, *MLL4* и *CTNNB1* [39]. Таким образом, различия между вирусами HBV и WHV, а также их влиянием на хозяев необходимо принимать во внимание для оценки эффективности потенциальных терапевтических препаратов и вакцин, направленных против HBV.

#### Летучие мыши

Метагеномный анализ образцов тканей популяций летучих мышей выявил множество гепаднавирус-подобных последовательностей, демонстрирующих более 70% гомологии с последовательно-

стями геномов WHV и HBV [40]. Полногеномное секвенирование образцов тканей летучих мышей, обитающих в Панаме и Габоне, также установило наличие в этих популяциях гепаднавирусов, однако зоонозный потенциал был подтверждён лишь у летучих мышей Нового Света. Этот вирус обладал способностью инфицировать гепатоциты человека посредством hNTCP и вступал в перекрёстную реакцию с моноклональными антителами против S-домена HBsAg. Гистопатологическое исследование продемонстрировало незначительные или умеренные лимфоцитарные, а также скудные нейтрофильно-эозинофильные инфильтраты в портальных триадах инфицированных животных [41]. Наличие HBx позволяет предположить потенциал развития ГЦК у инфицированных летучих мышей. Однако обнаружение антитело-позитивных и ДНК-отрицательных летучих мышей в сочетании с высокой серопревалентностью в рамках этого же исследования указывает на то, что летучие мыши, вероятно, способны избавляться от инфекции.

Использование летучих мышей в качестве модельного организма для изучения HBV является дорогостоящим и трудоёмким в связи с необходимостью организации ухода и содержания животных в условиях изолированного вивария. Кроме того, сами гепаднавирусы летучих мышей изучены недостаточно. Однако вопрос моделирования инфекции HBV на рукокрылых открыт с учётом миграционно-го характера существования этих животных.

#### Нечеловекообразные приматы

Другой HBV-подобный вирус — WMHBV — инфицирует своего естественного хозяина — шерстистую обезьяну (*Lagothrix lagotricha*) [42]. WMHBV успешно использовался в различных исследованиях на паукообразных (*Ateles geoffroyi*) и беличьих (*Saimiri sciureus*) обезьянах. Инфекционный клон WMHBV был разработан для исследования на моделях паукообразных обезьян, что привело к умеренной виремии ( $10^4$ – $10^5$  геномного эквивалента на 1 мл) через 8 нед после инокуляции с последующим иммунопосредованным клиренсом [28]. Шерстистые и паукообразные обезьяны находятся под угрозой исчезновения и по этическим причинам не доступны для исследований, связанных с HBV [43, 44]. Тем не менее модели HBV на основе нечеловекообразных приматов могут оказаться многообещающими. Так, у беличьих обезьян, инфицированных WMHBV, наблюдались острые инфекции, а в некоторых случаях и хронические инфекции при доставке геномов WMHBV с помощью аденоассоциированных вирусов [45]. Показано, что у беличьих обезьян, инфицированных WMHBV, виремия длится 6–8 мес, что более чем в 2 раза превышает продолжительность виремии у других нечеловекообразных приматов. Этот факт

позволяет рассматривать их в качестве суррогатной модели для разработки терапевтических подходов для лечения HBV [45].

В 2013 г. в популяции яванских макаков на острове Маврикий (mcHBV) был обнаружен один природный трансмиссивный штамм HBV, на 99% идентичный штамму генотипа D (ayw) вируса гепатита В, что породило некоторые надежды на создание модели HBV на основе маленькой обезьяны Старого Света [46]. Однако до сих пор получить продуктивной инфекции яванских макаков mcHBV не удалось, несмотря даже на то, что их заражали высокими дозами [47].

После того как hNTCP был идентифицирован как функциональный рецептор HBV, исследователи обнаружили, что он является ключевым фактором хозяина, ограничивающим инфекцию HBV у яванских макаков и макаков-резусов [13]. hNTCP отличается от NTCP приматов только пятью аминокислотными остатками в области связывания HBV. Однако отличие по одному из таких отличающихся аминокислотных остатков (G158R) приводит к неспособности связывания HBV с NTCP приматов. Внесение соответствующей мутации в ген *NTCP* приматов привело к возникновению восприимчивости к HBV [48]. Чтобы создать новую модель HBV, обеспечивающую восприимчивость к HBV, можно было бы ввести в NTCP макаков мутацию *R158G* с помощью системы направленного редактирования генома CRISPR/Cas.

Кроме того, на основе макаков-резусов, трансдуцированных вирусным вектором для экспрессии hNTCP *in vivo*, была создана модель HBV [47]. Введение вирусного вектора с последующим заражением HBV приводило к устойчивой виремии HBV в течение как минимум 6 нед. В организме модельных животных формируется гуморальный и противовирусный клеточный иммунитет, а в гепатоцитах макаков-резусов в ходе инфекции — ккзДНК. Однако уровень экспрессии hNTCP у макаков-резусов остаётся низким, в связи с чем эта модель инфекции HBV не признана эффективной (лишь 0,5–1,0% гепатоцитов являются HBsAg-положительными, в то время как в крови HBsAg не обнаружен) [47].

Перечисленные данные весьма обнадеживают и вдохновляют на разработку других моделей HBV на основе нечеловекообразных приматов, которые смогут продемонстрировать более высокую эффективность заражения вирусом гепатита В.

#### Иммунотолерантные животные модели HBV

##### Трансгенные мыши

Начиная с 1985 г. были созданы модели трансгенных мышей, экспрессирующих белки HBV (такие, как HBsAg [49], HBeAg [50] или HBx [51]) для изучения их роли в патогенезе либо полноразмерные геномы HBV, которые могут продуцировать

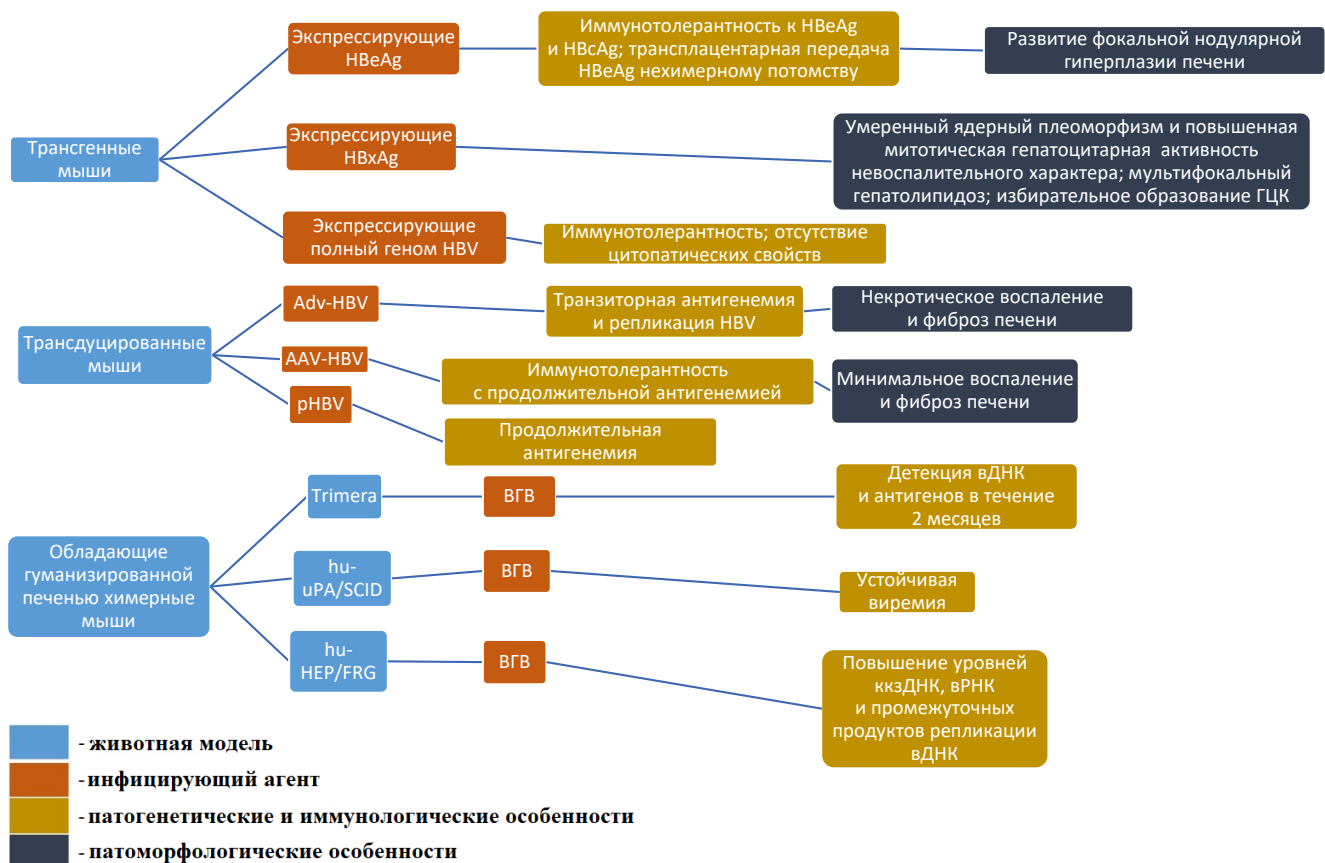
инфекционные вирионы HBV в гепатоцитах мышей [52–55]. Эти модели внесли особенно важный вклад в идентификацию онкогенных функций HBsAg и белка HBx, которые вызывают воспаление, изменяют экспрессию генов хозяина и, в конечном итоге, приводят к развитию ГЦК [51, 56].

Трансгенные мыши, экспрессирующие HBeAg, иммунологически толерантны не только к HBeAg, но и к HBsAg, однако способны к трансплацентарной передаче HBeAg. Показано, что нехимерное потомство таких животных после рождения демонстрирует сниженный Т-клеточный ответ на HBsAg. Всё перечисленное указывает на то, что на ранней стадии инфекции HBeAg играет решающую роль в ограничении Т-клеточного ответа на HBsAg и способствует переходу процесса в хроническое течение. В то время как экспрессия HBsAg не вызывает очевидных патоморфологических изменений у этих мышей, усиленная экспрессия HBeAg ингибирует его высвобождение, что приводит к образованию ацидофильных включений в цитоплазме и способствует развитию фокальной нодулярной гиперплазии печени. Клетки с ацидофильными включениями, в свою очередь, напоминают матовостекловидные гепатоциты у носителей HBV [57].

Трансгенные мыши, экспрессирующие HBxAg в тканях печени под контролем своего нативного промотора, были использованы для установления онкогенного потенциала HBxAg. Из-за того, что HBxAg экспрессируется не во всех гепатоцитах, не у всех животных развивается ГЦК. У некоторых мышей появляется лишь умеренный ядерный плеоморфизм и повышается митотическая гепатоцитарная активность невоспалительного характера, а также возникает мультифокальный гепатолипидоз (рис. 2). Примечательно, что прогрессирование заболевания и гибель наблюдаются у самцов гораздо раньше, чем у самок [58].

Трансгенные мыши с интегрированными полноразмерными геномами HBV, способные продуцировать вирионы HBV в периферическую кровь, также использовались для проверки эффективности противовирусных препаратов, таких как ламивудин и энтекавир, а также для оценки противовирусных эффектов терапевтических препаратов на основе малых интерферирующих РНК [59, 60].

Трансгенные мыши являются иммунотолерантными в отношении HBV, поскольку геном HBV интегрирован в геном мыши [61]. Тем не менее трансгенные мыши использовались для изучения



**Рис. 2.** Патогенез, иммунологические и патологические характеристики иммунотолерантных животных моделей инфекции HBV.

**Fig. 2.** Pathogenesis, immunological and pathological characteristics of immunotolerant animal models of HBV infection.

противовирусного эффекта индуктора интерферонов [62] и агониста толл-подобного рецептора 7/8 [54]. Кроме того, трансплантация иммунных клеток от наивных мышей трансгенным может спровоцировать развитие иммунного ответа на HBV [63–65].

### Трансдуцированные мыши

Основным методом трансдукции гепатоцитов мыши *in vivo* является гидродинамическая инъекция, заключающийся в быстром (6–8 с) введении большого количества генетических конструкций, содержащих геном HBV, в хвостовую вену под высоким давлением [66]. При этом происходит повреждение гепатоцитов, что влечёт за собой постинъекционное повышение уровня аланинтрансаминазы до огромных значений, но после трансдукции репликация HBV носит временный характер [67]. Трансдукция гепатоцитов *in vivo* осуществляется с помощью плазмидных ДНК, аденовирусных (Adv) или аденоассоциированных вирусных векторов (AAV). Показано, что трансдукция с помощью высоких доз Adv вызывает транзиторную антигемию [68] и репликацию HBV на протяжении 3 мес. После этого возникает сильный иммунный ответ против самого аденовируса [67]. Трансдукция с помощью AAV приводит к иммуноtolерантному фенотипу с длительной антигемией, минимальным воспалением и фиброзом печени [69].

Использование плазмидных ДНК снижает риски возникновения сильных иммунных ответов против вирусных носителей [70]. У иммунокомпетентных животных образование антигенов, вирусных транскриптов и синтез ДНК длится в течение 14 дней. Это связано с развитием Т-клеточного иммунного ответа, направленного на уничтожение инфицированных гепатоцитов. Важно отметить, что у иммунодефицитных мышей NOD/SCID тот же процесс длится в течение 81 дня после трансдукции [70].

Оптимизация носителя, содержащего геном HBV, позволила увеличить продолжительность антигемии у иммунокомпетентных мышей до 6 мес. При этом HBsAg-положительные мыши-носители продуцировали антитела против HBsAg, но не против HBsAg, что напоминает картину иммуноtolерантной фазы инфекции у людей-носителей. Перенос иммунных клеток, специфичных к HBsAg, способствовал элиминации HBsAg из сыворотки крови мышей-носителей, что демонстрирует решающее значение иммунного ответа против HBsAg в устранении персистенции HBV [71].

Решающее значение в персистенции HBV *in vivo* играет ккзДНК, которая отвечает за рецидив вирусной активности у хронически инфицированных пациентов. Необходимо отметить, что ккзДНК не способна внедряться в ядра гепатоцитов немодифицированных мышей. С помощью Adv, не способного к репликации, рекомбинантная ккзДНК (рккзДНК)

HBV была успешно доставлена в печень трансгенных мышей Alb-Cre и оставалась стабильной более 62 нед, что привело к персистенции HBV. Устойчивая некровоспалительная реакция и фиброз печени, обнаруженные на поздней стадии персистенции вируса, были аналогичны повреждениям при прогрессирующем течении хронического гепатита В (ХГВ) у человека [72]. На этой же линии мышей посредством аденоассоциированного вируса 8 была создана похожая гепатотропная модель рккзДНК. Модель характеризовалась продолжающейся более 72 недель антигемией и персистенцией ккзДНК более 51 недели. В отличие от предыдущей модели, в печени отмечалось незначительное паренхиматозное воспаление и очаговый фиброз [73].

Таким образом, подход к трансдукции мышей HBV, опосредованной вирусными векторами и плазмидными ДНК, пригоден для дальнейшего использования в исследованиях иммуноtolерантности к HBV. Более того, доставка AAV-HBV мышам вызвала гистопатологические проявления, соответствующие фиброзу печени, характерному для инфекции HBV [74]. Однако этот вопрос требует дальнейшего изучения.

### Химерные мыши с гуманизированной печенью

Трансгенные и трансдуцированные мыши не поддерживают полноценного инфицирования из-за отсутствия рецептора hNTCP. Модель «Trimer» является результатом самых ранних попыток в направлении совершенствования существующих мышиных моделей HBV. Для создания такой модели иммунодефицитным мышам под капсулу почки трансплантировались фрагменты инфицированной печени человека. После приживления трансплантата вирусная ДНК и антигены обнаруживались в течение 2 мес [75]. Эта модель использовалась для оценки противовирусных препаратов, несмотря на ограничение применимости для прочих задач исследования HBV из-за относительно короткого временного окна для инфекции и транзиторного характера вирусемии. В другой простой модели мышам Nude, обладающим частичным иммунодефицитом, подожно трансплантировали клетки линии HepAD38, способные к индуцируемой продукции HBV. Устойчивая вирусемия развивалась через 21 день после формирования подкожного новообразования и сохранялась на протяжении 30 дней [76].

Альтернативой модели «Trimer» считается применение мышей со специфической для печени экспрессией активатора плазминогена урокиназного типа (uPA). Таким животным свойственны повышенная концентрация uPA, гипофибриногенемия и неонатальные кровоизлияния. Экспрессия гена *uPA* индуцирует некроз гепатоцитов у молодых мышей и через 9 нед обеспечивает выраженную репопуляцию около 87% паренхимы печени [77]. Несмо-

тря на устойчивую вирусемию, матовостекловидные гепатоциты у таких животных не обнаруживаются [78]. Модель hu-uPA/SCID широко используется для оценки противовирусных препаратов и разработки схем иммунной терапии, а также для изучения механизма врождённого иммунного ответа против HBV. Основным недостатком этой модели является неконтролируемая экспрессия гена *uPA*, требующая проведения ксенотрансплантации гепатоцитов в неонатальный период, а также повышенный риск возникновения обширных кровоизлияний у модельных животных [79].

В 2018 г. G. Dalton и соавт. представили мышей с нокаутом гена *Fah*. Эти животные в значительной степени решили проблему модели hu-uPA/SCID. Потеря гена *Fah* вызывает накопление токсичных метаболитических промежуточных продуктов катаболизма фенилаланина в тирозин, а индукция печёночной недостаточности регулируется введением 2-(2-нитро-4-флюорометилбензоил)-1,3-циклогександиона [80]. На основании этой особенности было создано несколько моделей, среди которых — мыши FRG, несущие генотип с нокаутом генов *Fah*, *Rag2* и *IL-2ry*. Животные этой линии достигли 95% репопуляции печени гепатоцитами человека [81, 82]. После инфицирования HBV у мышей hu-HEP/FRG наблюдалось повышение уровней ккЗДНК, вРНК и промежуточных продуктов репликации вирусной ДНК. Модель hu-HEP/FRG успешно используется для исследования патогенеза HBV [82] и оценки эффективности противовирусных препаратов и терапевтических схем [83].

## Иммунокомпетентные животные модели HBV

### Тупайя

Тупайя (*Tupaia belangeri*) — это небольшие млекопитающие, которые генетически более тесно связаны с приматами, чем с грызунами [84]. Тупайи экспериментально восприимчивы к HBV и вирусу гепатита С (HCV), что привело к тому, что они стали моделью животных, не относящихся к приматам, которая была изучена в последние десятилетия [85, 86]. Подобно другим видам, тупайи имеют большую склонность к хроническому развитию заболевания при заражении в новорождённом возрасте и демонстрируют такие же гистопатологические изменения в печени, как и у людей, инфицированных HBV [83]. Первичные гепатоциты тупайи широко доступны и используются при инфекциях HBV и WMHBV [87, 88].

Именно благодаря первичной культуре гепатоцитов тупайи стало возможным точное картирование сайта связывания HBV, а NTCP был идентифицирован как его функциональный рецептор [12]. Внутрибрюшинная инокуляция HBV новорождённым

животным приводит к персистенции HBcAg в печени, сопровождающейся непродолжительной HBsAg- и HBeAg-антигенемией, а внутрипечёночная трансдукция рекомбинантной вирусной ДНК — к появлению сывороточных антител против HBsAg и HBcAg и развитию хронического гепатита, заканчивающегося фиброзом у некоторых особей [89]. У взрослых тупай внутривенное или внутрибрюшинное инфицирование приводит к быстрому нарастанию титров антител против HBcAg, HBsAg и HBeAg в течение 2–3 нед. Гистопатологические изменения печени у хронически инфицированных животных аналогичны наблюдаемым при ХГВ человека [89], включая образование ГЦК на поздней стадии жизни у 30% животных (рис. 3). При этом повышения уровней сывороточных трансаминаз у тупай не происходит [90].

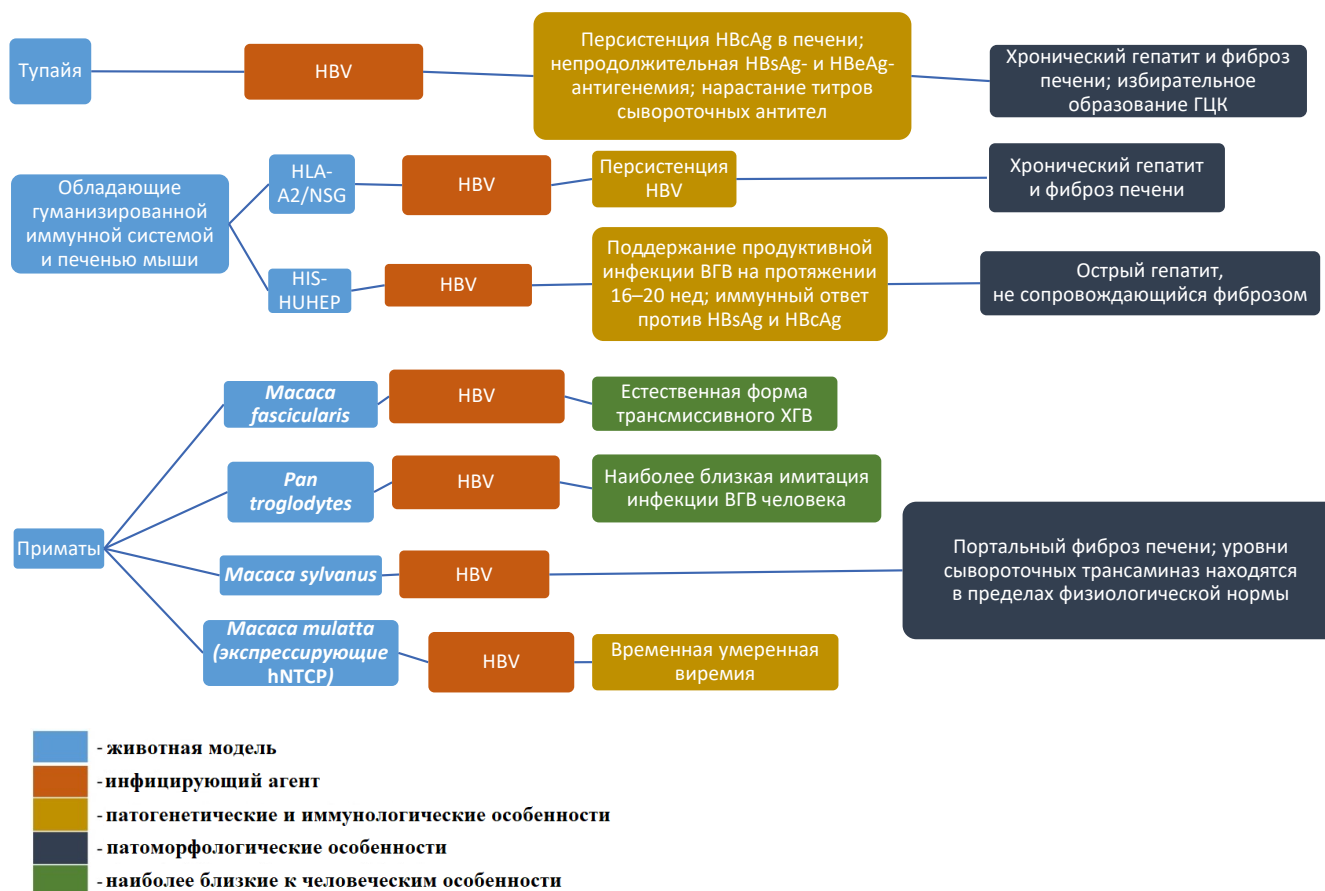
На сегодняшний день существует ряд предостережений, которые ограничивают применимость тупайи в качестве животной модели HBV. Во-первых, тупайи как беспородный вид обладают генетической гетерогенностью, которая может быть полезна для изучения реальных ситуаций, но не приемлема для крупномасштабных исследований, проводимых на животных. Во-вторых, у тупай обнаруживаются лишь низкие титры вируса *in vivo*. И, наконец, существует острая нехватка инструментов и материалов для исследования HBV у этого вида.

### Химерные мыши с гуманизированной иммунной системой и печенью

Значительным недостатком химерных мышей с гуманизированной печенью является их высокий иммунодефицитный фон. Для того чтобы обеспечить возможность анализа иммунного ответа человека на HBV, вирусиндуцированного иммунопатогенеза и тестирования иммуномодуляторов для лечения ХГВ, постоянно совершенствуются протоколы совместного приживления мышам гепатоцитов человека и клеток иммунной системы человека.

Восстановление иммунной системы человека достигается посредством внутрипечёночной инъекции новорождённым мышам NSG, несущим аллель HLA-A2, гематопозитических стволовых клеток CD34<sup>+</sup> человека (hCD34<sup>+</sup>). hCD34<sup>+</sup> совместно с клетками-предшественниками печени человека заселяют печень мыши, повреждённую агонистическими антителами против CD95. Эта модель позволяет достичь 25% гуманизации клетками человека, персистенции HBV с низкой вирусной нагрузкой (< 5 × 10<sup>5</sup> копий/мл) и развития специфического для HBV hCD8<sup>+</sup>-Т-клеточного ответа. Накопление M2-подобных макрофагов, способствующих у пациентов с ХГВ ускоренному фиброзу печени, приводит к развитию тяжёлого гепатита и фиброза у мышей [91].

Другая модель — HIS/hu-HEP — создаётся путём приживления клеток hCD34<sup>+</sup> и гепатоцитов



**Рис. 3.** Патогенез, иммунологические и патологические характеристики иммунокомпетентных животных моделей инфекции HBV.

**Fig. 3.** Pathogenesis, immunological and pathological characteristics of immunocompetent animal models of HBV infection.

взрослого человека мышам BALB/c Rag2<sup>-/-</sup>IL2ry<sup>-/-</sup> Sirpa NOD Alb-uPA<sup>tg/tg</sup>. HIS/hu-HEP характеризуется более высоким уровнем продукции антигенов HBV, а также развитием и поддержанием продуктивной инфекции на протяжении 16–20 нед. Инфицирование животных этой модели приводит к инфильтрации воспалительных клеток в области, содержащие антиген-положительные гепатоциты, без последующего формирования очагов фиброза. При этом воздействие небольшими дозами антигенов HBsAg и HBcAg индуцирует более сильный иммунный ответ [92].

Линия мышей FRGS (Fah<sup>-/-</sup>Rag2<sup>-/-</sup>IL-2Rγ<sup>-/-</sup>SCID) также применяется для создания химерных мышей с гуманизированной иммунной системой и печенью. Для этого проводят интрапленальную трансплантацию мезенхимальных стволовых клеток костного мозга человека. В результате через 12 нед мезенхимальные стволовые клетки костного мозга человека дифференцируются в функциональные гепатоциты непосредственно в печени мышей. Кроме того, hCD45<sup>+</sup>-клетки в различной степени заселяют костный мозг, тимус, лимфатические узлы, печень и обнаруживаются в периферической крови модельных животных. После инфицирования развивается

персистирующая инфекция HBV с высокой вирусной нагрузкой и антигемией, привлекающей в паренхиму печени большое количество воспалительных клеток. Патоморфологическая картина острого лобулярного гепатита с образованием лимфоидных агрегатов и поражением протоков проявляется через 12 нед после инфицирования, а характерная для ХГВ портальная и перипортальная лимфоцитарная инфильтрация обнаруживается с 24-й недели. Образование в печени диффузных рубцов и областей фокальной нодулярной гиперплазии, а также повышенные уровни сывороточных γ-глутамилтранспептидазы и гиалуроновой кислоты сохраняются на протяжении 36 нед после инфицирования. В совокупности такие изменения печени у животных подобны некоторым патоморфологическим признакам, характерным для течения ХГВ у человека. Более того, у 10% инфицированных животных развивается цирроз, что напоминает картину ХГВ у человека [92].

Химерные мыши с гуманизированной иммунной системой и печенью представляют собой новый тип животных моделей HBV. Такие модели успешно воспроизводят естественное развитие инфекции HBV и, таким образом, открывают возможности для понимания патофизиологии вирусного



иммунитета и улучшения стратегий вмешательства при заболеваниях печени, связанных с HBV.

### Приматы

Шимпанзе — единственная известная иммунокомпетентная модель, которая полностью восприимчива к HBV и может довольно точно воспроизводить картину патогенеза и прогрессирования заболевания. Показано, что даже 1 геномного эквивалента ДНК HBV достаточно для успешного заражения шимпанзе [93]. После инъекции HBV, полученного от пациентов с ХГВ, у шимпанзе может развиваться острая и хроническая инфекция с профилями иммунного ответа и воспаления, очень похожими на таковые у пациентов, инфицированных HBV [94].

На ранних этапах исследований HBV модель шимпанзе сыграла важную роль в оценке безопасности и эффективности разрабатываемых вакцин против HBV. Исследования на шимпанзе использовались для проверки эффективности вакцины против гепатита В первого поколения (полученной из плазмы крови) и разработанной позже рекомбинантной вакцины, содержащей HBsAg, полученный в клетках дрожжей [94, 95]. В последние годы эффективность модифицированных рекомбинантных вакцин, вакцин против устойчивых к противовирусным препаратам мутантных форм HBV и некоторых исследований по терапевтической вакцинации также была проверена с использованием модели шимпанзе [96–98].

Шимпанзе кажутся незаменимыми в качестве модели иммунокомпетентных животных в исследованиях иммунитета в связи с тем, что могут воспроизводить такое же воспаление печени и клеточные иммунные реакции, как и у пациентов, инфицированных HBV. Исследования на шимпанзе показали, что нецитопатические противовирусные механизмы, опосредованные провоспалительными цитокинами, могут способствовать клиренсу вируса во время острого вирусного гепатита [99]. Совсем недавно исследования на моделях шимпанзе с ХГВ показали, что иммунная модуляция может повысить противовирусный иммунитет и подавить репликацию HBV (например, посредством активации TLR-7 агонистом) [100]. Хотя шимпанзе исторически были наиболее релевантным видом животных для исследований HBV, ограниченность доступности, высокие затраты и серьезные этические проблемы ограничили их использование в качестве экспериментальной модели.

Кроме шимпанзе, применялись и другие модели приматов для изучения HBV. Например, у маготов (*Macaca sylvanus*), трансдуцированных плазмидной ДНК, содержащей геном HBV, развиваются вирусемия и ранний портальный фиброз печени, что также характерно для течения заболевания у человека. В то же время уровни сывороточных транс-

аминаз у инфицированных маготов остаются в пределах значений физиологической нормы [101]. У макак-резусов, экспрессирующих hNTCP в гепатоцитах, также может быть установлена временная умеренная вирусемия [47].

Модели, созданные на основе приматов, являются крайне важными в изучении HBV, не имеют широкого распространения не только по этическим причинам, но и ввиду их высокой стоимости, а также отсутствия необходимых инструментов (реагентов) для проведения подобных исследований.

### Модели социально значимых коинфекций HBV

Инфекция HBV является социально обусловленным хроническим заболеванием и может сочетаться с другими инфекциями, вызываемыми HCV и вирусом гепатита D (HDV), вирусом иммунодефицита человека (HIV) или туберкулезом. При этом патологические особенности этих сочетанных заболеваний существенно отличаются от характеристик моноинфекции. Поэтому при разработке терапевтических подходов целесообразно разрабатывать в том числе животные модели, способные отражать особенности сочетанных инфекций.

#### Коинфекции HBV/HCV и HBV/HDV

Гепатит С широко распространен. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, в мире около 3% населения инфицировано HCV, при этом ежегодно происходит около 1,5 млн новых случаев инфицирования. От последствий гепатита С (главным образом, от цирроза и рака печени) ежегодно умирает более 250 тыс. человек.

Гепатит D относится к воспалительным поражениям печени, вызванным HDV. Для репликации HDV необходимо присутствие HBV (без HBV даже заражение гепатитом D невозможно). Коинфекция HBV/HDV считается наиболее тяжелой формой ХГВ ввиду более стремительного развития ГЦК, которая приводит к летальному исходу.

Благодаря способности к контролируемому апоптозу гепатоцитов трансгенные гуманизированные мыши hu-uPA/SCID/beige и AFC8-hu-HSC/Her могут быть использованы для имитации сочетанных коинфекций HBV/HCV или HBV/HDV. Титры вирусов у этих моделей достигают обнаруживаемых в сыворотке крови значений через 3 нед после инфицирования HBV/HDV. При этом вирусемия HBV несколько ниже HDV-вирусемии, т.к. коинфекция HBV/HDV связана с индукцией экспрессии интерферонов I типа человека, в отличие от моноинфекции HBV [102]. Мыши линий FRG и Alb-uPA также успешно использовались для ксенотрансплантации гепатоцитов человека и последующего инфицирования HCV. Интересно, что в ходе протестированных

работ был подтверждён трансмиссивный характер заболевания [103, 104].

У. Амако и соавт. продемонстрировали возможность инфицирования наивных животных сывороткой серопозитивных тупай с последующим развитием острого гепатита и виремии. Инфицирование тупай сывороткой HCV-позитивного человека приводило к повышению уровня сывороточной аланинаминотрансферазы в 2–5 раз и возникновению продолжительной транзитной виремии. При этом у инфицированных животных отмечался гепатолиподоз. В течение последующих 2 лет вокруг порталных областей и синусоидов печени формировались лимфоцитарные инфильтраты, характерные для хронической патологии. Еще 1 год спустя воспаление приводило к развитию умеренного и даже тяжёлого фиброза с элементами цирроза печени [105].

Как и для HBV, функциональным рецептором для HDV является NTCP. При этом для высвобождения из инфицированных гепатоцитов и продолжения инфекционного процесса HDV необходимы оболочечные белки HBV [106], хотя известно, что HDV может персистировать в покоящихся (неделяющихся) гепатоцитах сурка как минимум в течение 42 дней, независимо от HBV [103]. Проведённые *in vivo* исследования на сурках, инфицированных как WHV, так и HDV, помогли в разработке стратегий иммунизации. Хотя J.L. Gerin утверждал, что одним из препятствий для многостороннего использования данной модели являлось раннее развитие WHV-индуцированной ГЦК [107].

#### Коинфекция HBV/HIV

На конец 2022 г. в мире, по разным оценкам, насчитывалось 33,1–45,7 млн человек, живущих с HIV-инфекцией. Около 1% людей, живущих с HBV-инфекцией (2,7 млн человек), также инфицированы HIV. Известно, что у HIV-позитивных пациентов с ХГВ риск смертности при осложнении гепатопатии в 8 раз выше из-за применения высокоактивной антиретровирусной терапии. Помимо этого HIV-инфекция ускоряет прогрессирование HBV-инфекции, значительно увеличивая риск развития цирроза печени или ГЦК. При этом инфицирование HBV не приводит к ускоренному сокращению количества CD4<sup>+</sup>-Т-клеток [108].

Учитывая аналогичные факторы передачи, случаи коинфекции HBV/HIV нередки. Поэтому для изучения сочетанной инфекции HBV/HIV используются дважды гуманизированные мышинные модели. Такой моделью могли бы стать мыши AFC8-hu-HSC/Нер, полученные из линии иммунодефицитных мышей. Животным AFC8-hu-HSC/Нер свойственен индуцируемый апоптоз гепатоцитов благодаря введённому в геном трансгену (AFC8 — FK506-связывающий белок и каспаза 8 под контролем альбуминового промотора). Инфицирование

этих мышей HBV приводит к экспрессии фиброгенных белков человека, которые обуславливают развитие воспаления и фиброза печени, коррелирующих с активацией звёздчатых клеток в гуманизированной части печени [109]. Сходным образом возможно использовать модели гуманизированных мышей HIS/hu-Нер [91] или ТК-NOG-hu-HSC/Нер [110]. Однако основным препятствием для создания этих моделей является необходимость использования для трансплантации тканей, полученных от одного донора.

Более проста в исполнении мышинная модель НН, получаемая путём трансплантации в паренхиму печени иммунодефицитных мышей эмбриональных hCD34<sup>+</sup>-клеток. Таким образом удаётся получить мышей с двойной гуманизацией и минимизированным риском развития реакции «трансплантат против хозяина». После инфицирования у мышей НН наблюдался узелковый фиброз печени, прогрессирующий до разлитого фиброза с многочисленными перегородками. Разлитой фиброз приводил в результате воспаления и активации звёздчатых клеток печени к развитию сильного рубцевания и нодулярного цирроза. При этом в паренхиме печени животных отмечалось трёхкратное увеличение количества hCD45<sup>+</sup>-лейкоцитов и усиление регуляции как человеческих, так и мышинных фиброгенных генов [111].

#### Коинфекция HBV/Mycobacterium tuberculosis

Туберкулёз, как и инфекции, вызываемые вирусами HCV и HDV, и HIV, является социально значимым заболеванием. В 2021 г., согласно оценкам, туберкулёзом во всем мире заболели 10,6 млн человек. Нередко встречаются коинфекции HBV и *Mycobacterium tuberculosis* (MTB).

Известно, что при терапии сочетанной инфекции HBV и MTB в первую очередь применяются противотуберкулёзные препараты, что на фоне туберкулёза печени может нести огромный риск повреждения печени [112]. Макаки-резусы и макаки-крабоеды восприимчивы к инфицированию MTB при естественном пути инфицирования, и у них образуются гранулёмы, в том числе в печени, имеющие высокоупорядоченную архитектуру с центральным некрозом, окружённым периферическим ободком [113].

Разработка аэрозольного способа инфицирования мышей позволила повысить вирулентность микобактерий относительно внутривенного способа [114]. Модель BLT, получаемая путём трансплантации под капсулу почки иммунодефицитных мышей фетальных тканей костного мозга, печени и тимуса человека, восприимчива к инфицированию микобактериями. Через 3–4 нед после инокуляции MTB развивалось мультифокальное воспаление паренхимы печени. При этом бактерии локализованы в областях воспаления, но спустя 4 нед после ин-

фицирования в печени не было отмечено обструкции протоков [115]. Основная сложность модели BLT заключается именно в процедуре ксенотрансплантации, требующей выполнения манипуляций с ювелирной точностью. Кроме того, в модели BLT развивающаяся человеческая ткань печени не воссоздаёт полноценную структуру органа.

Универсальной моделью для некоторых инфекций могут стать высокоиммунодефицитные мыши ТК-NOG, пригодные для ксенотрансплантации как тканей печени, так и гематопоэтических стволовых клеток. Их гуманизация может позволить имитировать не только HBV-инфекцию, сочетанную с HIV [110], но и сделать этих мышей перспективной моделью для будущих исследований коинфекции HBV/MTV.

L. Zhan и соавт. сообщали о восприимчивости тупай к экспериментальному внутривенному инфицированию высокими и низкими дозами MTV. Учитывая, что тупай аутобредны, наблюдаемые клинические признаки заболевания различались среди животных даже внутри одной экспериментальной группы. Патоморфологическое исследование показало наличие в лёгких и селезёнке туберкулёзных гранулём с казеозным некрозом в центре и большим количеством воспалительных клеток на периферии. Очаговый некроз с воспалительными клетками был распространён в коре и капсуле надпочечников и мозжечке. Инфильтрированные воспалительными клетками очаги поражения, содержащие MTV, были обнаружены в печени, почках и обширных некротических очагах в мышцах. Важно отметить, что к 11-й неделе животные достигали гуманных конечных точек [116]. Учитывая вышеизложенное, тупай также могут считаться перспективной моделью для будущих исследований коинфекции HBV/MTV.

### Заключение

DHBV только на 40% гомологичен HBV [26] и в качестве входного рецептора использует карбоксипептидазу D [27]. Поэтому утки обладают низкой релевантностью в качестве моделей для оценки эффективности противовирусной терапии [117]. Как и утки, сурки, летучие мыши и приматы не инбредны, а иммунологические реагенты для всестороннего исследования гепаднавирусных инфекций недоступны. Кроме того, многие естественные модели инфекции просто находятся под угрозой исчезновения.

Иммунотолерантные мыши могут только поддерживать репликацию HBV в контексте анатомио-физиологических особенностей мышцы. При этом жизненный цикл вируса является неполным из-за отсутствия этапов проникновения, образования ккзДНК и распространения. Релевантность результатов, полученных на химерных мышцах, обладающих гуманизированной печенью, невозможно транслировать на человека вследствие их иммуно-

дефицитности и, соответственно, отсутствия патоморфологических изменений, обусловленных иммунным ответом против инфицированных клеток.

Тупай могут быть инфицированы HBV, но они также аутобредны, и использование их *in vivo* в качестве моделей требует предварительных исследований. Подвергшиеся двойной гуманизации мыши представляют перспективное направление для дальнейших исследований. Однако стабильность виремии напрямую зависит от степени гуманизации печени мыши введёнными гепатоцитами человека [102]. Кроме того, трансплантация (приживление) ксеногенной иммунной системы и печени индуцирует несоответствия в системе главного комплекса гистосовместимости, что оставляет открытым вопрос о релевантности механизмов распознавания и иммунных реакций против вируса в таких моделях.

Учитывая недоступность шимпанзе для исследования HBV, а также сходство иммунной системы и относительную доступность некоторых реагентов, нечеловекообразные приматы, вероятно, предоставляют самые надёжные данные об иммунитете для трансляционных исследований [46]. Однако эти результаты необходимо тщательно интерпретировать, перепроверяя в других биологических системах.

Новым витком является разработка животных моделей сочетанных с HBV социально значимых инфекций. При этом иммунодефицитность некоторых моделей может стать их преимуществом, как в случае имитации коинфекции HBV/HIV. С другой стороны, одновременное инфицирование двумя патогенами несёт риск существенного снижения качества жизни животного. Поэтому планирование подобных исследований должно рассматриваться этическими комитетами самым строгим образом.

При исследовании такого патогена, как HBV, не существует «бесполезных» моделей. Поэтому модели, способные продемонстрировать как долгосрочное развитие гепатопатии, так и иммунологические особенности инфекционного процесса *in vivo*, в дальнейшем получат большее распространение в изучении как гепатотропных вирусов, так и сочетанных с ними инфекций. Кроме того, выявление новых естественных резервуаров гепаднавирусных инфекций с целью расширения возможной модельной базы позволит пролить свет на происхождение и эволюцию HBV.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Miller R.H., Kaneko S., Chung C.T., et al. Compact organization of the hepatitis B virus genome. *Hepatology*. 1989;9(2):322–7. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.1840090226>
2. Song H., Xu F., Xiao Q., Tan G. Hepatitis B virus X protein and its host partners. *Cell. Mol. Immunol.* 2021;18(5):1345–6. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41423-021-00674-z>
3. Seeger C., Mason W.S. Hepatitis B virus biology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2000;64(1):51–68. DOI: <https://doi.org/10.1128/mmb.64.1.51-68.2000>

4. Summers J., Mason W.S. Replication of the genome of a hepatitis B-like virus by reverse transcription of an RNA intermediate. *Cell*. 1982;29(2):403–15.  
DOI: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(82\)90157-x](https://doi.org/10.1016/0092-8674(82)90157-x)
5. Gerlich W.H. The enigma of concurrent hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibodies to HBsAg. *Clin. Infect. Dis.* 2007;44(9):1170–2.  
DOI: <https://doi.org/10.1086/513296>
6. Tupoleva T.A., Ignatova E.N., Gulyaeva A.A., et al. The screening of donor blood on antibodies to nuclear antigen of hepatitis B virus as a tool of increasing of safety of transfusion for patients with diseases of blood system. *Klin. Lab. Diagn.* 2016;61(5):311–6.  
DOI: <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2016-61-5-311-316>
7. Aguilar J.C., Lobaina Y., Muzio V., et al. Development of a nasal vaccine for chronic hepatitis B infection that uses the ability of hepatitis B core antigen to stimulate a strong Th1 response against hepatitis B surface antigen. *Immunol. Cell Biol.* 2004;82(5):539–46.  
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.0818-9641.2004.01278.x>
8. Bouchard M.J., Schneider R.J. The enigmatic X gene of hepatitis B virus. *J. Virol.* 2004;78(23):12725–34.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.78.23.12725-12734.2004>
9. Syed G.H., Wyles D.L., Siddiqui A. Hepatitis viruses. In: *Reference Module in Biomedical Sciences*. Elsevier;2014.
10. Warner N., Locarnini S. Replication of hepatitis B virus. In: *Zakim and Boyer's Hepatology*. Elsevier;2012:86–96.
11. Yan H., Peng B., Liu Y., et al. Viral entry of hepatitis B and D viruses and bile salts transportation share common molecular determinants on sodium taurocholate cotransporting polypeptide. *J. Virol.* 2014;88(6):3273–84.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.03478-13>
12. Schieck A., Schulze A., Gähler C., et al. Hepatitis B virus hepatotropism is mediated by specific receptor recognition in the liver and not restricted to susceptible hosts. *Hepatology*. 2013;58(1):43–53. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.26211>
13. Lempp F.A., Wiedtke E., Qu B., et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is the limiting host factor of hepatitis B virus infection in macaque and pig hepatocytes. *Hepatology*. 2017;66(3):703–16.  
DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.29112>
14. Mason W.S., Seal G., Summers J. Virus of Pekin ducks with structural and biological relatedness to human hepatitis B virus. *J. Virol.* 1980;36(3):829–36.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.36.3.829-836.1980>
15. Tavis J.E., Massey B., Gong Y. The duck hepatitis B virus polymerase is activated by its RNA packaging signal, epsilon. *J. Virol.* 1998;72(7):5789–96.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.72.7.5789-5796.1998>
16. Tavis J.E., Ganem D. Evidence for activation of the hepatitis B virus polymerase by binding of its RNA template. *J. Virol.* 1996;70(9):5741–50.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.70.9.5741-5750.1996>
17. Beck J. dNTP versus NTP discrimination by phenylalanine 451 in duck hepatitis B virus P protein indicates a common structure of the dNTP-binding pocket with other reverse transcriptases. *Nucleic Acids Res.* 2002;30(7):1679–87.  
DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/30.7.1679>
18. Junker-Niepmann M., Bartenschlager R., Schaller H. A short cis-acting sequence is required for hepatitis B virus pregenome encapsidation and sufficient for packaging of foreign RNA. *EMBO J.* 1990;9(10):3389–96.  
DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1990.tb07540.x>
19. Tavis J.E., Ganem D. RNA sequences controlling the initiation and transfer of duck hepatitis B virus minus-strand DNA. *J. Virol.* 1995;69(7):4283–91.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.69.7.4283-4291.1995>
20. Tuttleman J.S., Pourcel C., Summers J. Formation of the pool of covalently closed circular viral DNA in hepadnavirus-infected cells. *Cell*. 1986;47(3):451–60.  
DOI: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(86\)90602-1](https://doi.org/10.1016/0092-8674(86)90602-1)
21. Wu T.T., Coates L., Aldrich C.E., et al. In hepatocytes infected with duck hepatitis B virus, the template for viral RNA synthesis is amplified by an intracellular pathway. *Virology*. 1990;175(1):255–61.  
DOI: [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(90\)90206-7](https://doi.org/10.1016/0042-6822(90)90206-7)
22. Summers J., Smith P.M., Horwich A.L. Hepadnavirus envelope proteins regulate covalently closed circular DNA amplification. *J. Virol.* 1990;64(6):2819–24.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.64.6.2819-2824.1990>
23. Foster W.K., Miller D.S., Scougall C.A., et al. Effect of antiviral treatment with Entecavir on age- and dose-related outcomes of duck hepatitis B virus infection. *J. Virol.* 2005;79(9):5819–32. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.79.9.5819-5832.2005>
24. Colledge D., Civitico G., Locarnini S., Shaw T. In vitro antihepadnaviral activities of combinations of Penciclovir, lamivudine, and adefovir. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2000;44(3):551–60. DOI: <https://doi.org/10.1128/aac.44.3.551-560.2000>
25. Campagna M.R., Liu F., Mao R., et al. Sulfamoylbenzamide derivatives inhibit the assembly of hepatitis B virus nucleocapsids. *J. Virol.* 2013;87(12):6931–42.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.00582-13>
26. Schaefer S. Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes. *World J. Gastroenterol.* 2007;13(1):14.  
DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i1.14>
27. Tong S., Li J., Wands J.R. Carboxypeptidase D is an avian hepatitis B virus receptor. *J. Virol.* 1999;73(10):8696–702. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.73.10.8696-8702.1999>
28. Lanford R.E., Chavez D., Barrera A., Brasky K.M. An infectious clone of woolly monkey hepatitis B virus. *J. Virol.* 2003;77(14):7814–9.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.77.14.7814-7819.2003>
29. Mason W.S., Cullen J., Saputelli J., et al. Characterization of the antiviral effects of 2' carbodeoxyguanosine in ducks chronically infected with duck hepatitis B virus. *Hepatology*. 1994;19(2):398–411.  
DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.1840190219>
30. Summers J., Smolec J.M., Snyder R. A virus similar to human hepatitis B virus associated with hepatitis and hepatoma in woodchucks. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1978;75(9):4533–7. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.75.9.4533>
31. Mulrooney-Cousins P.M., Michalak T.I. Asymptomatic hepadnaviral persistence and its consequences in the woodchuck model of occult hepatitis B virus infection. *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2015;3(3):211–9.  
DOI: <https://doi.org/10.14218/jcth.2015.00020>
32. Menne S., Tumas D.B., Liu K.H., et al. Sustained efficacy and seroconversion with the Toll-like receptor 7 agonist GS-9620 in the Woodchuck model of chronic hepatitis B. *J. Hepatol.* 2015;62(6):1237–45.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.12.026>
33. Cheng H.R., Kao J.H., Wu H.L., et al. Clinical and virological features of occult hepatitis B in patients with HBsAg seroclearance post-treatment or spontaneously. *Liver. Int.* 2014;34(6):e71–9.  
DOI: <https://doi.org/10.1111/liv.12324>
34. Liu Y., Wang B., Wang L., et al. Transcriptome analysis and comparison of *Marmota monax* and *Marmota himalayana*. *PLoS One*. 2016;11(11):e0165875.  
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165875>
35. Zhou T., Saputelli J., Aldrich C.E., et al. Emergence of drug-resistant populations of woodchuck hepatitis virus in woodchucks treated with the antiviral nucleoside lamivudine. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1999;43(8):1947–54.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/aac.43.8.1947>
36. Colonna R.J., Genovesi E.V., Medina I., et al. Long-term entecavir treatment results in sustained antiviral efficacy and prolonged life span in the woodchuck model of chronic hepatitis

- infection. *J. Infect. Dis.* 2001;184(10):1236–45.  
DOI: <https://doi.org/10.1086/324003>
37. Fairman J., Liu K.H., Menne S. Prevention of liver tumor formation in woodchucks with established hepatocellular carcinoma by treatment with cationic liposome-DNA complexes. *BMC Cancer.* 2017;17(1):172.  
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3163-2>
  38. Wang B., Zhu Z., Zhu B., et al. Nucleoside analogues alone or combined with vaccination prevent hepadnavirus viremia and induce protective immunity: Alternative strategy for hepatitis B virus post-exposure prophylaxis. *Antiviral. Res.* 2014;105:118–25.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.02.016>
  39. Li X., Zhang J., Yang Z., et al. The function of targeted host genes determines the oncogenicity of HBV integration in hepatocellular carcinoma. *J. Hepatol.* 2014;60(5):975–84.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.12.014>
  40. He B., Li Z., Yang F., et al. Virome profiling of bats from Myanmar by metagenomic analysis of tissue samples reveals more novel mammalian viruses. *PLoS One.* 2013;8(4):e61950.  
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061950>
  41. Drexler J.F., Geipel A., König A., et al. Bats carry pathogenic hepadnaviruses antigenically related to hepatitis B virus and capable of infecting human hepatocytes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2013;110(40):16151–6.  
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1308049110>
  42. Lanford R.E., Chavez D., Brasky K.M., et al. Isolation of a hepadnavirus from the woolly monkey, a New World primate. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1998;95(10):5757–61.  
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.95.10.5757>
  43. Ange-van Heugten K.D., Burns R., Verstegen M.W.A., et al. Evaluation of diabetes determinants in woolly monkeys (*Lagothrix lagotricha*). *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)* 2007;91(11-12):481–91.  
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2007.00679.x>
  44. Hagell S., Whipple A.V., Chambers C.L. Population genetic patterns among social groups of the endangered Central American spider monkey (*Ateles geoffroyi*) in a human-dominated landscape. *Ecol. Evol.* 2013;3(5):1388–99.  
DOI: <https://doi.org/10.1002/ece3.547>
  45. Chen C.Y., Winer B.Y., Chavez D., et al. Woolly monkey-HBV infection in squirrel monkeys as a surrogate non-human primate model of HBV infection. *Hepatol. Commun.* 2020;4(3):371–86. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep4.1471>
  46. Dupinay T., Gheyt T., Roques P., et al. Discovery of naturally occurring transmissible chronic hepatitis B virus infection among *Macaca fascicularis* from Mauritius island: Hepatology. *Hepatology.* 2013;58(5):1610–20.  
DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.26428>
  47. Burwitz B.J., Wettengel J.M., Mück-Häusl M.A., et al. Hepatocytic expression of human sodium-taurocholate cotransporting polypeptide enables hepatitis B virus infection of macaques. *Nat. Commun.* 2017;8(1):2146.  
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01953-y>
  48. Takeuchi J.S., Fukano K., Iwamoto M., et al. A single adaptive mutation in sodium taurocholate cotransporting polypeptide induced by hepadnaviruses determines virus species specificity. *J. Virol.* 2019;93(5):e01432-18.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.01432-18>
  49. Chisari F.V., Pinkert C.A., Milich D.R., et al. A transgenic mouse model of the chronic hepatitis B surface antigen carrier state. *Science.* 1985;230(4730):1157–60.  
DOI: <https://doi.org/10.1126/science.3865369>
  50. Milich D.R., Jones J.E., Hughes J.L., et al. Is a function of the secreted hepatitis B e antigen to induce immunologic tolerance in utero? *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1990;87(17):6599–603.  
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.87.17.6599>
  51. Kim C.M., Koike K., Saito I., et al. *HBx* gene of hepatitis B virus induces liver cancer in transgenic mice. *Nature.* 1991;351(6324):317–20. DOI: <https://doi.org/10.1038/351317a0>
  52. Winer B.Y., Shirvani-Dastgerdi E., Bram Y., et al. Preclinical assessment of antiviral combination therapy in a genetically humanized mouse model for hepatitis delta virus infection. *Sci. Transl. Med.* 2018;10(447):eaap9328.  
DOI: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aap9328>
  53. Guidotti L.G., Matzke B., Schaller H., Chisari F.V. High-level hepatitis B virus replication in transgenic mice. *J. Virol.* 1995;69(10):6158–69.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.69.10.6158-6169.1995>
  54. Wang Y., Chen K., Wu Z., et al. Immunizations with hepatitis B viral antigens and a TLR7/8 agonist adjuvant induce antigen-specific immune responses in HBV-transgenic mice. *Int. J. Infect. Dis.* 2014;29:31–6.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2014.07.015>
  55. Moriyama T., Guilhot S., Klopchin K., et al. Immunobiology and pathogenesis of hepatocellular injury in hepatitis B virus transgenic mice. *Science.* 1990;248(4953):361–4.  
DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1691527>
  56. Chisari F.V., Filippi P., McLachlan A., et al. Expression of hepatitis B virus large envelope polypeptide inhibits hepatitis B surface antigen secretion in transgenic mice. *J. Virol.* 1986;60(3):880–7.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.60.3.880-887.1986>
  57. Tian Y., Kuo C.F., Akbari O., Ou J.H.J. Maternal-derived hepatitis B virus e antigen alters macrophage function in offspring to drive viral persistence after vertical transmission. *Immunity.* 2016;44(5):1204–14.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.04.008>
  58. Zhu H., Wang Y., Chen J., et al. Transgenic mice expressing hepatitis B virus X protein are more susceptible to carcinogen induced hepatocarcinogenesis. *Exp. Mol. Pathol.* 2004;76(1):44–50.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2003.09.001>
  59. McCaffrey A.P., Nakai H., Pandey K., et al. Inhibition of hepatitis B virus in mice by RNA interference. *Nat. Biotechnol.* 2003;21(6):639–44. DOI: <https://doi.org/10.1038/nbt824>
  60. Julander J.G., Colonna R.J., Sidwell R.W., Morrey J.D. Characterization of antiviral activity of entecavir in transgenic mice expressing hepatitis B virus. *Antiviral. Res.* 2003;59(3):155–61.  
DOI: [https://doi.org/10.1016/s0166-3542\(03\)00109-8](https://doi.org/10.1016/s0166-3542(03)00109-8)
  61. Hong M., Bertoletti A. Tolerance and immunity to pathogens in early life: insights from HBV infection. *Semin. Immunopathol.* 2017;39(6):643–52.  
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0641-1>
  62. Wieland S.F., Guidotti L.G., Chisari F.V. Intrahepatic induction of alpha/beta interferon eliminates viral RNA-containing capsids in hepatitis B virus transgenic mice. *J. Virol.* 2000;74(9):4165–73.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.74.9.4165-4173.2000>
  63. Guidotti L.G., Ishikawa T., Hobbs M.V., et al. Intracellular inactivation of the hepatitis B virus by cytotoxic T lymphocytes. *Immunity.* 1996;4(1):25–36.  
DOI: [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(00\)80295-2](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(00)80295-2)
  64. Baron J.L., Gardiner L., Nishimura S., et al. Activation of a nonclassical NKT cell subset in a transgenic mouse model of hepatitis B virus infection. *Immunity.* 2002;16(4):583–94.  
DOI: [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(02\)00305-9](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(02)00305-9)
  65. Publicover J., Goodsell A., Nishimura S., et al. IL-21 is pivotal in determining age-dependent effectiveness of immune responses in a mouse model of human hepatitis B. *J. Clin. Invest.* 2011;121(3):1154–62.  
DOI: <https://doi.org/10.1172/jci44198>
  66. Yang P.L., Althage A., Chung J., et al. Immune effectors required for hepatitis B virus clearance. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2010;107(2):798–802.  
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0913498107>
  67. Huang L.R., Gäbel Y.A., Graf S., et al. Transfer of HBV genomes using low doses of Adenovirus vectors leads to per-

- sistent infection in immune competent mice. *Gastroenterology*. 2012;142(7):1447–50.e3.  
DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.03.006>
68. John von Freyend M., Untergasser A., Arzberger S., et al. Sequential control of hepatitis B virus in a mouse model of acute, self-resolving hepatitis B: Control of HBV infection in mice. *J. Viral. Hepat.* 2011;18(3):216–26.  
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2010.01302.x>
69. Yang D., Liu L., Zhu D., et al. A mouse model for HBV immunotolerance and immunotherapy. *Cell. Mol. Immunol.* 2014;11(1):71–8.  
DOI: <https://doi.org/10.1038/cmi.2013.43>
70. Yang P.L., Althage A., Chung J., Chisari F.V. Hydrodynamic injection of viral DNA: A mouse model of acute hepatitis B virus infection. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2002;99(21):13825–30. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.202398599>
71. Huang L.R., Wu H.L., Chen P.J., Chen D.S. An immunocompetent mouse model for the tolerance of human chronic hepatitis B virus infection. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2006;103(47):17862–7.  
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0608578103>
72. Li G., Zhu Y., Shao D., et al. Recombinant covalently closed circular DNA of hepatitis B virus induces long-term viral persistence with chronic hepatitis in a mouse model. *Hepatology*. 2018;67(1):56–70.  
DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.29406>
73. Wu M., Wang C., Shi B., et al. A novel recombinant cccDNA-based mouse model with long term maintenance of rccDNA and antigenemia. *Antiviral. Res.* 2020;180:104826. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104826>
74. Ye L., Yu H., Li C., et al. Adeno-associated virus vector mediated delivery of the HBV genome induces chronic hepatitis B virus infection and liver fibrosis in mice. *PLoS One*. 2015;10(6):e0130052.  
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130052>
75. Vuyyuru R., Herzog-Hauff S., Tavakoli S., et al. Vaccination with dendritic cells induces strong HBV specific Th cell and CTL responses in HBV trimera mice. *Z. Gastroenterol.* 2007;45(01):A4\_24.  
DOI: <https://doi.org/10.1055/s-2007-967882>
76. Schinazi R.F., Bassit L., Clayton M.M., et al. Evaluation of single and combination therapies with tenofovir disoproxil fumarate and emtricitabine *in vitro* and in a robust mouse model supporting high levels of hepatitis B virus replication. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012;56(12):6186–91.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/aac.01483-12>
77. Tsuge M., Hiraga N., Takaishi H., et al. Infection of human hepatocyte chimeric mouse with genetically engineered hepatitis B virus. *Hepatology*. 2005;42(5):1046–54.  
DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.20892>
78. Meuleman P., Libbrecht L., De Vos R., et al. Morphological and biochemical characterization of a human liver in a uPA-SCID mouse chimera. *Hepatology*. 2005;41(4):847–56.  
DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.20657>
79. Meuleman P., Lerouxroels G. The human liver-uPA-SCID mouse: A model for the evaluation of antiviral compounds against HBV and HCV. *Antiviral. Res.* 2008;80(3):231–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2008.07.006>
80. Dalton G., Oh S.H., Premont R., et al. Hedgehog signaling directly regulates metabolism and proliferation in hepatocytes and is critical for normal liver regeneration following partial hepatectomy in mice. *Gastroenterology*. 2018;154(6):S-166. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(18\)30966-1](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(18)30966-1)
81. Bissig K.D., Wieland S.F., Tran P., et al. Human liver chimeric mice provide a model for hepatitis B and C virus infection and treatment. *J. Clin. Invest.* 2010;120(3):924–30.  
DOI: <https://doi.org/10.1172/jci40094>
82. Long K.R., Lomonosova E., Li Q., et al. Efficacy of hepatitis B virus ribonuclease H inhibitors, a new class of replication antagonists, in FRG human liver chimeric mice. *Antiviral. Res.* 2018;149:41–7.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2017.11.008>
83. Ruan P., Yang C., Su J., et al. Histopathological changes in the liver of tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*) persistently infected with hepatitis B virus. *Virology*. 2013;10(1):333. DOI: <https://doi.org/10.1186/1743-422x-10-333>
84. Fan Y., Huang Z.Y., Cao C.C., et al. Genome of the Chinese tree shrew. *Nat. Commun.* 2013;4(1):1426.  
DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms2416>
85. Walter E., Keist R., Niederöst B., et al. Hepatitis B virus infection of tupaia hepatocytes *in vitro* and *in vivo*: Hepatitis B virus infection of tupaia hepatocytes *in vitro* and *in vivo*. *Hepatology*. 1996;24(1):1–5.  
DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.510240101>
86. Winer B.Y., Ding Q., Gaska J.M., Ploss A. In vivo models of hepatitis B and C virus infection. *FEBS Lett.* 2016;590(13):1987–99. DOI: <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12157>
87. Yan H., Zhong G., Xu G., et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. *Elife*. 2012;1:e00049.  
DOI: <https://doi.org/10.7554/elife.00049>
88. Köck J., Nassal M., MacNelly S., et al. Efficient infection of primary Tupaia hepatocytes with purified human and woolly monkey hepatitis B virus. *J. Virol.* 2001;75(11):5084–9.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.75.11.5084-5089.2001>
89. Yang C., Ruan P., Ou C., et al. Chronic hepatitis B virus infection and occurrence of hepatocellular carcinoma in tree shrews (*Tupaia belangeri chinensis*). *Virology*. 2015;12(1):26. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12985-015-0256-x>
90. Bility M.T., Cheng L., Zhang Z., et al. Hepatitis B virus infection and immunopathogenesis in a humanized mouse model: Induction of human-specific liver fibrosis and M2-like macrophages. *PLoS Pathog.* 2014;10(3):e1004032.  
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004032>
91. Dusséaux M., Masse-Ranson G., Darche S., et al. Viral load affects the immune response to HBV in mice with humanized immune system and liver. *Gastroenterology*. 2017;153(6):1647–61.e9.  
DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.08.034>
92. Yuan L., Jiang J., Liu X., et al. HBV infection-induced liver cirrhosis development in dual-humanised mice with human bone mesenchymal stem cell transplantation. *Gut*. 2019;68(11):2044–56.  
DOI: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-316091>
93. Asabe S., Wieland S.F., Chattopadhyay P.K., et al. The size of the viral inoculum contributes to the outcome of hepatitis B virus infection. *J. Virol.* 2009;83(19):9652–62.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.00867-09>
94. Wieland S.F. The chimpanzee model for hepatitis B virus infection. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2015;5(6):a021469. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021469>
95. Gerety R.J., Tabor E., Purcell R.H., Tyeryar F.J. Summary of an international workshop on hepatitis B vaccines. *J. Infect. Dis.* 1979;140(4):642–8.  
DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/140.4.642>
96. Payette P.J., Ma X., Weeratna R.D., et al. Testing of CpG-optimized protein and DNA vaccines against the hepatitis B virus in chimpanzees for immunogenicity and protection from challenge. *Intervirology*. 2006;49(3):144–51.  
DOI: <https://doi.org/10.1159/000089375>
97. Shata M.T.M., Pfähler W., Brotman B., et al. Attempted therapeutic immunization in a chimpanzee chronic HBV carrier with a high viral load. *J. Med. Primatol.* 2006;35(3):165–71. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0684.2006.00152.x>
98. Kamili S., Sozzi V., Thompson G., et al. Efficacy of hepatitis B vaccine against antiviral drug-resistant hepatitis B virus mutants in the chimpanzee model. *Hepatology*. 2009;49(5):1483–91. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.22796>

99. Guidotti L.G., Rochford R., Chung J., et al. Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science*. 1999;284(5415):825–9. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.284.5415.825>
100. Lanford R.E., Guerra B., Chavez D., et al. GS-9620, an oral agonist of toll-like receptor-7, induces prolonged suppression of hepatitis B virus in chronically infected chimpanzees. *Gastroenterology*. 2013;144(7):1508–17. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.02.003>
101. Gheit T., Sekkat S., Cova L., et al. Experimental transfection of *Macaca sylvanus* with cloned human hepatitis B virus. *J. Gen. Virol.* 2002;83(7):1645–9. DOI: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-83-7-1645>
102. Tham C.Y.L., Kah J., Tan A.T., et al. Hepatitis delta virus acts as an immunogenic adjuvant in hepatitis B virus-infected hepatocytes. *Cell Rep. Med.* 2020;1(4):100060. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2020.100060>
103. Netter H.J., Gerin J.L., Tennant B.C., Taylor J.M. Apparent helper-independent infection of woodchucks by hepatitis delta virus and subsequent rescue with woodchuck hepatitis virus. *J. Virol.* 1994;68(9):5344–50. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.68.9.5344-5350.1994>
104. Mercer D.F., Schiller D.E., Elliott J.F., et al. Hepatitis C virus replication in mice with chimeric human livers. *Nat. Med.* 2001;7(8):927–33. DOI: <https://doi.org/10.1038/90968>
105. Amako Y., Tsukiyama-Kohara K., Katsume A., et al. Pathogenesis of hepatitis C virus infection in *Tupaia belangeri*. *J. Virol.* 2010;84(1):303–11. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.01448-09>
106. Sureau C. The role of the HBV envelope proteins in the HDV replication cycle. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2006;307:113–31. DOI: [https://doi.org/10.1007/3-540-29802-9\\_6](https://doi.org/10.1007/3-540-29802-9_6)
107. Gerin J.L. Animal models of hepatitis delta virus infection and disease. *ILAR J.* 2001;42(2):103–6. DOI: <https://doi.org/10.1093/ilar.42.2.103>
108. Porras-Ramírez A., Rico-Mendoza A. Coinfection of hepatitis B and C in HIV patients: a review of the state of the art. In: *Hepatitis B and C*. IntechOpen;2020. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.83704>
109. Washburn M.L., Bility M.T., Zhang L., et al. A humanized mouse model to study hepatitis C virus infection, immune response, and liver disease. *Gastroenterology*. 2011;140(4):1334–44. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.01.001>
110. Dagur R.S., Wang W., Makarov E., et al. Establishment of the dual humanized TK-NOG mouse model for HIV-associated liver pathogenesis. *J. Vis. Exp.* 2019;(151):10.3791/58645. DOI: <https://doi.org/10.3791/58645>
111. Keng C.T., Sze C.W., Zheng D., et al. Characterisation of liver pathogenesis, human immune responses and drug testing in a humanised mouse model of HCV infection. *Gut*. 2016;65(10):1744–53. DOI: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-307856>
112. Arora U., Garg P., Agarwal S., et al. Complexities in the treatment of coinfection with HIV, hepatitis B, hepatitis C, and tuberculosis. *Lancet Infect. Dis.* 2021;21(12):e399–406. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(20\)30765-9](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(20)30765-9)
113. Mehra S., Alvarez X., Didier P.J., et al. Granuloma correlates of protection against tuberculosis and mechanisms of immune modulation by *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Infect. Dis.* 2013;207(7):1115–27. DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/jis778>
114. North R.J. *Mycobacterium tuberculosis* is strikingly more virulent for mice when given via the respiratory than via the intravenous route. *J. Infect. Dis.* 1995;172(6):1550–3. DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/172.6.1550>
115. Calderon V.E., Valbuena G., Goetz Y., et al. A humanized mouse model of tuberculosis. *PLoS One*. 2013;8(5):e63331. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063331>
116. Zhan L., Ding H., Lin S., et al. Experimental *Mycobacterium tuberculosis* infection in the Chinese tree shrew. *FEMS Microbiol. Lett.* 2014;360(1):23–32. DOI: <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12524>
117. Quinet J., Jarnard C., Burtin M., et al. Nucleic acid polymer REP 2139 and nucleos(T)ide analogues act synergistically against chronic hepadnaviral infection *in vivo* in Pekin ducks. *Hepatology*. 2018;67(6):2127–40. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.29737>

### Информация об авторах

**Нагорных Алексей Михайлович**<sup>✉</sup> — к.вет.н., с.н.с. научной группы разработки экспериментальных моделей лаборатории экспериментальной фармакологии отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, nagornih@cmd.su, <https://orcid.org/0000-0002-8320-2999>

**Тюменцева Марина Алексеевна** — к.б.н., зав. лабораторией геномного редактирования отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3145-3702>

**Тюменцев Александр Игоревич** — к.б.н., зав. лабораторией экспериментальной фармакологии отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0537-2586>

**Акимкин Василий Геннадиевич** — д.м.н., профессор, академик РАН, директор ЦНИИ Эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>

**Участие авторов.** Нагорных А.М., Тюменцева М.А., Тюменцев А.И. — сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста, концепция и дизайн исследования; Акимкин В.Г. — концепция и дизайн исследования, редактирование. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 25.09.2023;  
принята к публикации 13.11.2023;  
опубликована 28.11.2023

### Information about the authors

**Aleksey M. Nagorniykh**<sup>✉</sup> — Cand. Sci. (Vet.), senior researcher, Scientific group of experimental models' development, Laboratory of experimental pharmacology, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, nagornih@cmd.su, <https://orcid.org/0000-0002-8320-2999>

**Marina A. Tyumentseva** — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of genome editing, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3145-3702>

**Aleksandr I. Tyumentsev** — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of experimental pharmacology, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0537-2586>

**Vasily G. Akimkin** — D. Sci. (Med.), Professor, Full Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>

**Author contribution.** Nagorniykh A.M., Tyumentseva M.A., Tyumentsev A.I. — collection and processing of material, statistical processing, writing the text, concept and design of the study; Akimkin V.G. — concept and design of the study, editing. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 25.09.2023;  
accepted for publication 13.11.2023;  
published 28.11.2023

## ХРОНИКА

### Итоги X Российской научной конференции с международным участием «Персистенция и симбиоз микроорганизмов»



20–22 сентября 2023 г. в Оренбурге состоялась юбилейная X Российская научная конференция с международным участием «Персистенция и симбиоз микроорганизмов», посвящённая 300-летию Российской академии наук и 10-летию науки и технологий. Конференция проходила на базе трех научных учреждений: Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН — обособленного структурного подразделения Оренбургского федерального исследовательского центра Уральского отделения РАН, Оренбургского государственного медицинского университета Минздрава России, Федерального научного центра биологических систем и агротехнологий РАН. Конференция поддержана Уральским отделением РАН, Отделением физиологических наук РАН, Отделением медицинских наук РАН, Правительством Оренбургской области, Всероссийским научно-практическим обществом эпидемиологов, микробиологов и паразитологов, Межрегиональным микробиологическим обществом. В работе конференции приняли участие более 120 сотрудников из 39 ведущих научных учреждений, вузов и медицинских организаций России (Москва, Санкт-Петербург, Иркутск, Екатеринбург, Челябинск, Тверь, Тюмень, Пушино, Казань, Оренбург, Уфа, Пермь, Сургут, Самара, Ярославль) и Казахстана (Уральск).

Заслушаны 12 пленарных и 68 секционных докладов, представлены 26 стендовых сообщений по направлениям:

- Симбионтная микробиота и её роль в обеспечении физиологических функций хозяина.
- Иммунологические аспекты персистирующих инфекций и взаимоотношений в системе «патоген–хозяин–микробиом».
- Современные подходы к диагностике, профилактике и лечению заболеваний микробной этиологии.
- Микробиологические и иммунологические аспекты развития эндогенных бактериальных инфекций.
- Микробные сообщества природных экосистем, био- и агросистем. Микробные технологии.

- Симбионтная микробиота как объект исследований в животноводстве.

Тематика конференции является весьма актуальной, т.к. микробные сообщества присутствуют в различных природных экосистемах и играют важную физиологическую и патологическую роль в организмах многоклеточных (человек, животные, растения) и даже одноклеточных (протисты). В современной медицине, биотехнологиях и агротехнологиях исследования микробиоты человека, животных и растений находятся на переднем крае науки. Персистентный потенциал служит основой для долгосрочного выживания микроорганизмов в организме и природных экосистемах и играет ключевую роль в формировании симбиотических связей.

Пленарная сессия была посвящена фундаментальным проблемам персистенции и симбиотических взаимодействий микроорганизмов, а также практическим аспектам исследований микробиоты в медицине, биотехнологиях и агротехнологиях. С пленарными докладами выступили ведущие российские ученые: академик РАН О.В. Бухарин, член-корр. РАН С.В. Черкасов (ИКВС УрО РАН, Оренбург); академик В.В. Зверев (НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва); д.б.н. С.А. Ермолаева (НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва); д.м.н., проф. И.Г. Козлов (НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева, Москва); д.б.н. М.В. Донова, д.б.н. В.А. Щербакова (ИБХМ РАН, Пушино); д.б.н. Ю.В. Гоголев (КИББ КНЦ РАН, Казань); д.м.н., проф. В.К. Ильин (ГНЦ ИМБП РАН, Москва).

На конференции обсуждались проблемы выживания микроорганизмов и их длительного существования в биологических объектах и окружающей среде; формирование симбиотических систем и различных форм симбиоза; взаимоотношения микробиоты и биохимических параметров организма человека; влияние лактоферрина на стабильность биоценоза в условиях космического полёта; иммунорегуляторные механизмы поддержания гомеостаза микробиоты; вакцинация против респираторных патогенов и разработка вакцин для борьбы с опухолями; иммуномодулирующее действие бактериальных лигандов при бронхообструктивных забо-



леваниях; иммунобиологические эффекты синтетического аналога гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора и перспективы его использования в клинической практике.

Активно обсуждались проблемы развития послеоперационных воспалительных и внутригоспитальных осложнений; молекулярные механизмы развития эндогенных бактериальных инфекций; вновь была поднята тема острой проблемы растущей микробной устойчивости к антибиотикам. В центре внимания оказались вопросы улучшения диагностики и лечения хронической инфекции лёгких (ХИЛ) у больных с муковисцидозом, а также профилактические меры по ограничению распространения мультирезистентных штаммов возбудителей ХИЛ.

На секции «Микробиота на стыке науки и практики» учёные познакомили врачей с новейшими фундаментальными разработками и возможностями их внедрения в практическое здравоохранение. Обнаружение новых микроорганизмов, продуктов их жизнедеятельности, генов и функций, а также изучение механизмов симбиоза между человеком и микробами способствуют широкому использованию микробных технологий в прикладных аспектах, в том числе в получении метаболитов бактерий, являющихся потенциальными антибиотиками.

Широкий спектр докладов заслушан по микробным сообществам природных экосистем и биотехнологии. Представлены доклады по микробиому растений и использованию штаммов *Bacillus* spp. в качестве стимуляторов роста сельскохозяйственных растений. Активно обсуждались микробиомы галофильных микроводорослей; молекулярно-генетические механизмы симбиоза бактерий и вирусов с простейшими; оценка качества подготовки питье-

вой воды; регуляция Quorum sensing — зависимых процессов у грамотрицательных бактерий.

В рамках конференции организован симпозиум для практикующих врачей «Микробиота на стыке науки и практики», посвящённый вопросам оценки и коррекции микробиома человека. Участие специалистов мирового уровня позволило данному мероприятию стать важным шагом в реализации проекта по превентивной медицине, площадкой для которого является Оренбургская область.

Активное научное взаимодействие происходило и на стендовой сессии, во время которой представлены доклады молодых исследователей. В заключение конференции проведён круглый стол «Персистенция и симбиоз микроорганизмов: медицинские, экологические и биотехнологические аспекты». Труды участников конференции опубликованы в электронном журнале «Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН» № 2, 3 за 2023 г.

По итогам конференции принято решение:

1. Рекомендовать изучение проблемы персистенции микроорганизмов как способа поддержания симбиотических систем между прокариотами и эукариотами для решения актуальных научных вопросов в области микробиологии, экологии, медицины и биотехнологии.

2. Привлекать специалистов в смежных с микробиологией областях (генетиков, биоинформатиков, биотехнологов, иммунологов) для регулярного обсуждения различных сторон проблем персистенции и симбиоза микроорганизмов с целью обмена научными знаниями и координации текущих исследований.

3. Провести следующую конференцию «Персистенция и симбиоз микроорганизмов» в Оренбурге в 2026 г.

Черкасов С.В., Плотников А.О.,  
Селиванова Е.А., Шуплова Е.А.