

УЧРЕДИТЕЛИ:
ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора
Всероссийское научно-практическое общество эпидемиологов, микробиологов и паразитологов

ЖУРНАЛ МИКРОБИОЛОГИИ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ИММУНОБИОЛОГИИ

Двухмесячный научно-практический журнал

Основан в 1924 г.

Журнал рассматривает актуальные проблемы мировой науки в области эпидемиологии, микробиологии, вирусологии, иммунобиологии, в том числе иммунодиагностики и иммунопрофилактики, в их патогенетической взаимосвязи и обеспечивает синтез новейших результатов фундаментальных и прикладных научных исследований, направленных на обеспечение контроля, профилактики и лечения инфекционных заболеваний. Междисциплинарный подход дает возможность интеграции передовых научных знаний смежных специальностей, широкого видения проблем фундаментальной и прикладной инфектологии, комплексного подхода к созданию инновационных 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 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:

03.02.02 Вирусология (медицинские и биологические науки);
03.02.03 Микробиология (медицинские и биологические науки);
14.02.02 Эпидемиология (медицинские и биологические науки);
14.03.09 Клиническая иммунология, аллергология (медицинские и биологические науки)

1

ЯНВАРЬ – ФЕВРАЛЬ

**ТОМ 97
2020**

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свидетельство ПИ № ФС77-75442 ISSN 0372-9311 (Print) ISSN 2686-7613 (Online).

Журнал является органом Общероссийской общественной организации «Всероссийское научно-практическое общество эпидемиологов, микробиологов и паразитологов».

Журнал представлен в международных базах данных и информационно-справочных изданиях: РИНЦ, RSCI, EBSCO.

Индекс для подписки по каталогу «Газеты и Журналы»: 71420.

Индекс для подписки по каталогу «Пресса по подписке»: E71436.

АДРЕС РЕДАКЦИИ:
105064 г. Москва,
Малый Казенный пер., д. 5А.
Тел.: +7(925)011-87-79.
E-mail: jmei@crie.ru.

Заведующая редакцией:
Курушина Тамара Михайловна.

Полные тексты статей журнала без ограничений доступны на сайтах www.elibrary.ru и www.microbiol.elpub.ru через 6 месяцев после публикации.

Полные тексты текущих номеров журнала можно найти в базах данных EBSCO Publishing (на платформе EBSCOhost).

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов.

Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции.

К публикации принимаются только статьи, подготовленные в соответствии с правилами для авторов (см. www.microbiol.elpub.ru).

Направляя статью в редакцию, авторы принимают условия договора публичной оферты.

Полное или частичное воспроизведение материалов, опубликованных в журнале, допускается только с письменного разрешения издателя.

Подписано в печать 31.01.2020.
Формат 60×90^{1/8}.
Тираж 200 экз. Усл.-печ. л. 6,5.
Отпечатано в типографии «Буки Веди».
E-mail: info@bukivedi.com.
www.bukivedi.com

© ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, 2020

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор

Зверев В.В., докт. биол. наук, проф., академик РАН, ФБГНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Заместитель главного редактора

Семенов Т.А., докт. мед. наук, проф., ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Ответственный секретарь

Платонов А.Е., докт. биол. наук, проф., ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Редакционная коллегия

Акимкин В.Г., докт. мед. наук, проф., академик РАН, ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Брико Н.И., докт. мед. наук, проф., академик РАН, Институт общественного здоровья им. Ф.Ф. Эрисмана ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Брусина Е.Б., докт. мед. наук, проф., ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет», Кемерово, Россия

Бухарин О.В., докт. мед. наук, проф., академик РАН, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», Оренбург, Россия

Гинцбург А.Л., докт. мед. наук, проф., академик РАН, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Жирнов О.П., докт. биол. наук, проф., член-корр. РАН, Институт вирусологии им. Д.И. Иванова ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», Москва, Россия

Караулов А.В., докт. мед. наук, проф., академик РАН, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Кутырев В.В., докт. мед. наук, проф., академик РАН, ФКУЗ «Российский научно-исследовательский институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Россия

Лобзин Ю.В., докт. мед. наук, проф., академик РАН, ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия

Лукашев А.Н., докт. мед. наук, проф., член-корр. РАН, Институт медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Максютов Р.А., докт. биол. наук, ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии (Вектор)» Роспотребнадзора, Новосибирск, Россия

Малеев В.В., докт. мед. наук, проф., академик РАН, ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Михайлов М.И., докт. мед. наук, проф., член-корр. РАН, ФБГНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Институт молекулярной и персонифицированной медицины ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», Москва, Россия; ФГАОУ «Белгородский государственный университет», Белгород, Россия

Онищенко Г.Г., докт. мед. наук, проф., академик РАН, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Покровский В.И., докт. мед. наук, проф., академик РАН, ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Свитич О.А., докт. мед. наук, член-корр. РАН, ФБГНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия

Сергиев В.П., докт. мед. наук, проф., академик РАН, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Тартаковский И.С., докт. биол. наук, проф., ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи», Москва, Россия

Тотоян А.А., докт. мед. наук, проф., академик РАН, ФБУН «Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Урываев Л.В., докт. мед. наук, проф., член-корр. РАН, Институт вирусологии им. Д.И. Иванова ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», Москва, Россия

Филатов Н.Н., докт. мед. наук, проф., член-корр. РАН, ФБГНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия

Черкасов С.В., докт. мед. наук, проф., член-корр. РАН, ФБГНУ «Оренбургский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», Оренбург, Россия

Шаркова В.А., докт. мед. наук, проф., ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», Владивосток, Россия

Иностранные члены редакционной коллегии

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

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

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

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

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

Bimonthly scientific and practical journal

Founded in 1924

The title summarizes the actual fundamental and applied research results in the field of microbiology, epidemiology, and immunology, including immunodiagnostics and immunoprophylaxis in their pathogenetic relationship for control, prevention and treatment of infectious diseases and epidemics. The journal accepts original Russian and foreign articles, reviews, short communications as well as methodological materials and current legislative documents in the field of infectious disease control. 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 is admitted to the Index of leading peer-reviewed scientific journals intended for publication of key research results of MD Theses, as recommended by the Higher Attestation Commission of the Russian Ministry of Education and Science:

03.02.02 Virology (medical and biological sciences);
03.02.03 Microbiology (medical and biological sciences);
14.02.02 Epidemiology (medical and biological sciences);
14.03.09 Clinical immunology, Allergology (medical and sciences)

1

JANUARY – FEBRUARY

VOLUME 97

2020

The journal is registered with the Federal service for supervision of communications, information technology and mass communications. Certificate of PI NO. FS77-75442 ISSN 0372-9311 (Print) ISSN 2686-7613 (Online).

The journal is an organ of the all-Russian public organization "all-Russian scientific and practical society of epidemiologists, microbiologists and Parasitologists".

The journal is presented in the following international databases and reference publications: RSCI, EBSCO.

Index for subscription to the "Newspapers and Journals" catalog: 71420.

Index for subscription in the "Subscription Press" catalog: E71436.

EDITORIAL OFFICE ADDRESS:
5A, Maly Kazenny per., Moscow, 105064.

Tel.: +7 (925)011-87-79.

E-mail: jmei@crie.ru.

Head of Editorial Office:
Tamara Kurushina.

Full texts of the Journal's articles are available without restrictions on the websites www.elibrary.ru and www.microbiol.elpub.ru/jour 6 months after publication.

Full texts of current issues of the journal can be found in the databases of EBSCO Publishing (on The EBSCOhost platform).

The Editorial Board is not responsible for the content of advertising materials.

Editorial opinion does not always coincide with the opinion of the authors.

Only the articles prepared in compliance with Authors' guidelines (see www.microbiol.elpub.ru) are accepted for publication.

When submitting an article to the Editorial Board, the authors accept the terms and conditions of the public offer agreement.

Complete or partial reproduction is allowed by written permission of the Publisher.

Signed to the press on January 31, 2020.
Format 60×90^{1/8},
200 copies.
Printed at the Buki Vedi printing house.
E-mail: info@bukivedi.com.
www.bukivedi.com

© Central Research Institute of Epidemiology, 2020

EDITORIAL BOARD:

Editor-in-Chief

Vitaly V. Zverev, D. Sci. (Med.), Professor, Academician of RAS, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Deputy editor

Tatiana A. Semenenko, D. Sci. (Med.), Professor, Head of the Epidemiology Department, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Executive Secretary

Alexander E. Platonov, D. Sci. (Med.), Professor, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

Editorial board

Vasily G. Akimkin, D. Sci. (Med.), Professor, Academician of RAS, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia

Nikolay I. Briko, D. Sci. (Med.), Professor, Academician of RAS, Institute of Public Health, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Elena B. Brusina, D. Sci. (Med.), Professor, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia

Oleg V. Bukharin, D. Sci. (Med.), Professor, Academician of RAS, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia

Sergey V. Cherkasov, D. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Orenburg Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia

Aleksandr L. Gintsburg, D. Sci. (Med.), Professor, Academician of RAS, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Oleg P. Zhirnov, D. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia

Alexander V. Karaulov, D. Sci. (Med.), Professor, Academician of RAS, Institute of Clinical Medicine, Institute of Molecular Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Vladimir V. Kutryev, D. Sci. (Med.), Professor, Academician of RAS, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia

Yuri V. Lobzin, D. Sci. (Med.), Professor, Academician of RAS, Children's Scientific and Clinical Center for Infectious Diseases, St. Petersburg, Russia

Alexander N. Lukashev, D. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, 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, D. Sci. (Med.), Institution of Virology and Biotechnology State Scientific Center (Vector), Novosibirsk, Russia

Victor V. Maleev, D. Sci. (Med.), Professor, Academician of RAS, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia

Mikhail I. Mikhaylov, D. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Institute of Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia, Belgorod State University, Belgorod, Russia

Gennadiy G. Onishchenko, D. Sci. (Med.), Professor, Academician of RAS, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Valentin I. Pokrovskiy, D. Sci. (Med.), Professor, Academician of RAS, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia

Oxana A. Svitich, D. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

Vladimir P. Sergiev, D. Sci. (Med.), Professor, Academician of RAS, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Valentina A. Sharkova, D. Sci. (Med.), Professor, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

Igor S. Tartakovsky, D. Sci. (Med.), Professor, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia

Arg A. Totolian, D. Sci. (Med.), Professor, Academician of RAS, Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia

Leonid V. Urivayev, D. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, D.I. Ivanovskiy Virology Institute, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia

Nikolay N. Filatov, D. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

Sergey V. Cherkasov, D. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Orenburg Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia

Foreign members of the editorial Board

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

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

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

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Демидова Н.А., Климова Р.Р., Куц А.А., Леснова Е.И., Масалова О.В., Дорофеева А.Д., Никонова А.А., Федорова Н.Е., Зеерев В.В. Получение и характеристика моноклональных антител к G-белку респираторно-синцитиального вируса.....	7
Колесин И.Д., Житкова Е.М. Модель профилактической эффективности противогриппозной вакцины с поправкой на гипотезу антигенного расстояния	15
Арзумян В.Г., Иксанова А.М., Артемьева Т.А., Бутовченко Л.М. Влияние иммунизации кроликов дрожжевыми антигенами на активность фракции сывороточных антимикробных пептидов	19
Годовалов А.П., Карпунина Т.И. Состав микробиоты репродуктивного тракта женщин при бесплодии	26
Асратян А.А., Семененко Т.А., Кальнин И.Б., Орлова О.А., Соловьев Д.В., Русакова Е.В., Казарян С.М., Кузин С.Н. Современные эпидемиологические особенности вирусных гепатитов В и С, туберкулеза и ВИЧ-инфекции в психиатрических стационарах	32
Ногойбаева К.А., Тобкалова С.Т. Этиологическая и эпидемиологическая характеристика летальности от острого вирусного гепатита в Кыргызстане в 2009–2018 гг.*	40
Селянская Н.А., Березняк Е.А., Тришина А.В., Симонова И.Р., Егуазарян Л.А., Водопьянов А.С. Пространственная визуализация данных по антибиотикорезистентности штаммов холерных вибрионов, изолированных на территории России.....	47
Водяницкая С.Ю., Сергиенко О.В., Иванова Н.Г., Балахнова В.В., Архангельская И.В., Ренгач М.В., Непомнящая Н.Б., Воловикова С.В. О результатах мониторинговых исследований балластных вод и данных идентификации штаммов вибрионов, выделенных в ходе исследований судов в российских морских портах в 2018 году	55
ОБЗОРЫ	
Сомова Л.М., Андрюков Б.Г., Ляпун И.Н. Гетероморфизм клеточной персистенции возбудителей сапронозов в различных условиях среды обитания	62
Зайцев А.Е., Курбатова Е.А., Егорова Н.Б., Сухова Е.В., Нифантьев Н.Э. Иммунологические и эпидемиологические аспекты иммуногенности капсульного полисахарида <i>Streptococcus pneumoniae</i> серотипа 3 в составе пневмококковых вакцин	72
Шлепотина Н.М., Пешикова М.В., Колесников О.Л., Шишкова Ю.С. Современные представления о механизмах взаимодействия биопленки и факторов клеточного иммунитета.....	83
ИСТОРИЯ НАУКИ	
Белов А.Б., Панин А.Л. Теория сапронозных инфекций: история развития и пути совершенствования в системе медико-биологических наук.....	91
ХРОНИКА	
Акимкин В.Г. Резолюция Конгресса с международным участием «Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2019)» (Москва, 28–29 ноября 2019 г.)	102

* Статья опубликована на русском и английском языках.

CONTENTS

ORIGINAL RESEARCHES

ORIGINAL RESEARCH

Demidova N.A., Klimova R.R., Kushch A.A., Lesnova E.I., Masalova O.V., Dorofeeva A.D., Nikonova A.A., Fedorova N.E., Zverev V.V. Isolation and Characterization of the Monoclonal Antibodies to the G-Protein of Respiratory Syncytial Virus.....	7
Kolesin I.D., Zhitkova E.M. Model of Prophylactic Efficiency of Influenza Virus Vaccine Corrected to the Antigenic Distance Hypothesis	15
Arzumanian V.G., Iksanova A.M., Artemyeva T.A., Butovchenko L.M. Effect of Rabbit Immunization with Yeast Antigens on the Activity of the Fraction of Serum Antimicrobial Peptides	19
Godovalov A.P., Karpunina T.I. The Microbiota Continuum along the Reproductive Tract in Women with Infertility	26
Asratyan A.A., Semenenko T.A., Kal'nin I.B., Orlova O.A., Soloviev D.V., Rusakova E.V., Kazaryan S.M., Kuzin S.N. Current Epidemiological Features of Viral Hepatitis B and C, Tuberculosis and HIV Infection in Psychiatric Hospitals.....	32
Nogoibaeva K.A., Tobokalova S.T. Etiological and Epidemiological Characteristics of Lethality from Acute Viral Hepatitis, Kyrgyzstan, 2009–2018*	40
Selyanskaya N.A., Bereznyak E.A., Trishina A.V., Simonova I.R., Egiazaryan L.A., Vodopyanov A.S. Spatial Visualization of Data on the Antibiotic Resistance of <i>Vibrio cholerae</i> Strains Isolated in Russia	47
Vodyanitskaya S.Yu., Sergienko O.V., Ivanova N.G., Balachnova V.V., Arkhangelskaya I.V., Rengach M.V., Nepomnyashchaya N.B., Volovikova S.V. About the Results of Monitoring Researches of Ballast Waters and Data of Identification of the Vibrios Strains Selected During the Ships Researches in Russian Seaports in 2018.....	55
REVIEWS	
Somova L.M., Andryukov B.G., Lyapun I.N. Heteromorphism of Persistence of Saprozois Causative Agents in Cells in Various Environmental Conditions.....	62
Zaitsev A.E., Kurbatova E.A., Egorova N.B., Sukhova E.V., Nifantiev N.E. Immunological and Epidemiological Aspects of the Immunogenicity of <i>Streptococcus Pneumoniae</i> Serotype 3 Capsular Polysaccharide in Pneumococcal Vaccines	72
Shlepotina N.M., Peshikova M.V., Kolesnikov O.L., Shishkova Yu.S. Modern Conceptions about the Mechanisms of Interaction Between Biofilm and Cellular Immunity Factors	83
HISTORY OF SCIENCE	
Belov A.B., Panin A.L. Theory of Saprozois Infections: the History of Development and Ways of Improvement in the System of Medical and Biological Sciences	91
CHRONICLE	
Akimkin V.G. Resolution of the Congress with international participation “Control and prevention of healthcare associated infections (HAIs-2019)” (Moscow, November 28–29, 2019).....	102

* This article is published in Russian and English.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Получение и характеристика моноклональных антител к G-белку респираторно-синцитиального вируса

Демидова Н.А.¹, Климова Р.Р.¹, Куц А.А.^{1✉}, Леснова Е.И.¹, Масалова О.В.¹, Дорофеева А.Д.², Никонова А.А.², Федорова Н.Е.¹, Зверев В.В.^{2,3}¹ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия;²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия;³ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 127994, Москва, Россия

Цель работы состояла в получении гибридом, продуцирующих моноклональные антитела (МКА) к G-белку респираторно-синцитиального вируса (РСВ), и в изучении их иммунологических характеристик и вируснейтрализующей активности.

Материал и методы. Мышиные МКА получали с помощью гибридомной технологии. Свойства МКА изучали методами иммуноферментного анализа (ИФА), иммунофлюоресцентного окрашивания (ИФл) зараженных клеток культуры, а также в реакции биологической нейтрализации *in vitro* (РБН). Взаимное расположение эпитопов, выявляемых МКА на G-белке, определяли с помощью теста аддитивности в ИФА.

Результаты. Гибридизация спленоцитов с клетками миеломы Sp2/0 и первичный скрининг показали, что 75 гибридом продуцируют МКА, взаимодействующие с очищенным вирусом, 17 из которых реагируют также и с рекомбинантным G-белком в ИФА. В РБН 4 гибридомы подавляли РСВ-инфекцию *in vitro* более чем на 50%. Клонирование этих гибридом позволило выявить 4 моноклона, продуцирующих наиболее активные МКА. МКА 1С11 принадлежали к IgG2a, 3 других (5D4, 5G11 и 6H4) — к IgM. 3 МКА IgM активно реагировали как с РСВ А2 и Long, так и с G-белком, МКА 1С11 были менее активны со всеми антигенами. Все МКА подавляли РСВ-инфекцию, причем МКА 5D4 — практически полностью (98%). ИФл-анализ показал, что все МКА выявляли G-белок РСВ в цитоплазме клеток культуры, наибольшее количество зараженных клеток детектировали с помощью МКА 5D4 (80%). Полученные МКА направлены к двум неперекрывающимся эпитопам на G-белке РСВ.

Заключение. Полученные МКА могут использоваться для обнаружения РСВ в клиническом материале методами ИФА и ИФл. Активность в РБН создает предпосылки для получения на основе МКА гуманизированных рекомбинантных антител и возможность их использования для терапии РСВ-инфекции.

Ключевые слова: респираторно-синцитиальный вирус; G-белок; моноклональные антитела; иммуноферментный анализ; иммунофлюоресцентное окрашивание зараженных клеток; неперекрывающиеся эпитопы.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 17-15-01525.

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

Для цитирования: Демидова Н.А., Климова Р.Р., Куц А.А., Леснова Е.И., Масалова О.В., Дорофеева А.Д., Никонова А.А., Федорова Н.Е., Зверев В.В. Получение и характеристика моноклональных антител к G-белку респираторно-синцитиального вируса. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(1): 7–14.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-7-14>

Поступила 03.12.2019

Принята в печать 18.12.2019

Obtaining and Characterization of the Monoclonal Antibodies Against G-Protein of the Respiratory Syncytial Virus

Natalia A. Demidova¹, Regina R. Klimova¹, Alla A. Kushch^{1✉}, Ekaterina I. Lesnova¹, Olga V. Masalova¹, Anastasia D. Dorofeeva², Alexandra A. Nikonova², Natalia E. Fedorova¹, Vitaly V. Zverev^{2,3}¹National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow 123098, Russia;²I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow 105064, Russia;³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow 127994, Russia

The aim of this study was to obtain hybridomas producing monoclonal antibodies (Mabs) to the G-protein of the respiratory syncytial virus (RSV), and to evaluate their immunological characteristics and virus-neutralizing activity.

Material and methods. Mouse Mabs were obtained using hybridoma technology. The properties of Mabs were studied by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), immunofluorescence staining (IF) of infected cells, as well as by biological neutralization test *in vitro* (NT). To identify epitopes recognized by the Mabs on G protein ELISA additivity test was used.

Results. Hybridization of splenocytes with Sp2/0 myeloma cells and primary screening showed that 75 hybridomas produce antibodies interacting with purified virus, 17 of them also react with the recombinant G-protein in ELISA. In NT 4, hybridomas suppressed *in vitro* RSV infection by more than 50%. Cloning of these hybridomas revealed 4 monoclones producing the most active Mabs. Mab 1C11 was IgG2a, 3 others (5D4, 5G11 and 6H4) were IgM. Three IgM Mabs actively reacted with both RSV A2 and Long, and with G-protein; Mab 1C11 was less reactive with all antigens tested. All Mabs suppressed RSV infection, while Mab 5D4 suppressed it almost completely (98%). IF analysis showed that all Mabs detected RSV G-protein in the cell cytoplasm, the largest number of infected cells was detected using Mab 5D4 (80%). It was shown that the isolated Mabs were directed to two non-overlapping epitopes on the RSV G-protein.

Conclusion. The isolated Mabs can be used to detect RSV in clinical samples by ELISA and IF. The isolated Mabs can be used for humanized recombinant antibodies construction and for the treatment of RSV infection in future.

Keywords: respiratory syncytial virus; G-protein; monoclonal antibodies; ELISA; immunofluorescence staining of infected cells; non-overlapping epitopes.

Acknowledgments. This work was supported by a grant from the Russian Science Foundation 17-15-01525.

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

For citation: Demidova N.A., Klimova R.R., Kushch A.A., Lesnova E.I., Masalova O.V., Dorofeeva A.D., Nikonova A.A., Fedorova N.E., Zverev V.V. Obtaining and Characterization of the Monoclonal Antibodies Against G-Protein of the Respiratory Syncytial Virus. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, Russian journal.* 2020; 97(1): 7–14. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-7-14>

Received 3 December 2019

Accepted 18 December 2019

Введение

Острые респираторные инфекции занимают ведущее место в структуре общей заболеваемости населения России. Детская заболеваемость превышает заболеваемость взрослых в среднем в 3,5–4 раза, и за последнее время наблюдается повышение респираторной заболеваемости у детей. Так, с 2004 по 2016 г. заболеваемость острыми респираторными инфекциями увеличилась на 33,4% [1].

Среди возбудителей инфекций особое место занимает респираторно-синцитиальный вирус (РСВ), который является главной причиной инфекций нижних отделов респираторного тракта у детей раннего возраста [2]. К группам риска тяжелого течения РСВ-инфекции относятся недоношенные дети с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении, люди старшего возраста (старше 65 лет), а также лица с сердечно-сосудистыми заболеваниями и сниженным иммунитетом. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, РСВ ежегодно инфицируются 64 млн человек, из них 160 тыс. человек умирают [3].

Единственным разрешенным средством против РСВ-инфекции в настоящее время является препарат на основе гуманизированных моноклональных антител (МКА) к F-белку РСВ — паливизумаб. Применение паливизумаба оказывает профилактическое действие и позволяет снизить тяжесть течения заболевания. Эффективность паливизумаба у недоношенных детей с бронхолегочной дисплазией была подтверждена отечественными авторами в результате многоцентрового исследо-

вания: у детей, которые относились к группе высокого риска тяжелого течения РСВ-инфекции по причине недоношенности, зарегистрировано снижение частоты госпитализаций после 3 инъекций паливизумаба до 0,3% [4]. Однако применение препарата не предотвращает повторного заболевания, эффективность препарата значительно ниже при лечении доношенных новорожденных и более старших детей, а более аффинные антитела к F-белку (мотавизумаб) вызывали аллергические реакции [5]. Кроме того, высокая стоимость препарата препятствует его широкому использованию. Одним из недостатков препаратов на основе антител к F-белку является появление резистентных штаммов [6].

Для преодоления перечисленных недостатков проводятся исследования, направленные как на усовершенствование средств, специфичных к F-белку, так и на поиск новых подходов, основанных на использовании в качестве мишени других белков РСВ: нуклеопротеина (N), полимеразы (L), белка оболочки G РСВ [7]. В качестве наиболее перспективной мишени рассматривается G-белок — один из двух белков РСВ (наряду с F-белком), индуцирующих нейтрализующие антитела. Опыты на животных показали, что антитела к G-белку оказывают терапевтическое действие, причем в условиях, когда антитела к F-белку неэффективны [8].

Цель настоящей работы состояла в получении МКА, специфически взаимодействующих с G-белком РСВ, и в изучении их иммунологических свойств и вируснейтрализующей активности.

Материал и методы

Использовали РСВ двух эталонных штаммов (A2 и Long, подгруппа А) из коллекции ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова. РСВ A2 размножали в перевиваемой клеточной культуре НЕР-2 (человек, эпидермоидная карцинома гортани), в среде RPMI, содержащей 5% эмбриональной телячьей сыворотки, глутамин и гентамицин (ООО «ПанЭко», Россия), при 37°C в атмосфере 5% CO₂. РСВ Long культивировали с использованием перевиваемой культуры клеток МА-104 (макака резус, эмбриональная почка) в среде Игла MEM.

Вирус из культуральной жидкости (КЖ) от зараженных клеток концентрировали и очищали [9]. Для титрования вирусов использовали клетки МА-104, т.к. на них хорошо проявляется классическое цитопатогенное действие РСВ (образование синцитиев), которое можно учитывать при контроле моносоля с использованием микроскопа.

Титр вирусов рассчитывали по формуле Спирмена–Кербера. Титр РСВ A2 после концентрирования составил 9 lg тканевой 50% цитопатической дозы в 1 мл (ТЦД₅₀/мл), РСВ Long — 7 lg ТЦД₅₀/мл. Концентрацию белка в вирусном препарате определяли на микроспектрофотометре «NanoDrop» («Thermo Scientific», США) при длине волны 280 нм против 20% сахарозы или с помощью реагента Брэдфорда («Sigma», США) в соответствии с инструкцией.

Мышей линии BALB/c (самки массой 18–20 г), полученных из питомника «Пушино» (Московская обл.), иммунизировали внутрибрюшинно 3 раза с 2-недельным интервалом: 1-е введение — РСВ с полным адьювантом Фрейнда, следующие — с неполным адьювантом Фрейнда («Sigma», США). Доза РСВ A2 при каждой инъекции составляла 100 мкг/мышь. Исследования выполняли согласно Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных¹.

Миеломные и гибридомные клетки культивировали в среде RPMI-1640, содержащей 4,5 г/л глюкозы, 3 мМ глутамин, 60 мкг/мл гентамицина (ООО «ПанЭко», Россия) с добавлением 20% эмбриональной телячьей сыворотки («Gibco», «Invitrogen», США) и 0,2 ЕД/мл инсулина («Lilly», Франция). Культивирование проводили в CO₂-инкубаторе при 37°C в атмосфере 5% CO₂. Для слияния использовали клетки мышинной миеломы Sp2/0, не продуцирующие собственные иммуноглобулины.

Суспензию спленоцитов мыши смешивали с клетками Sp2/0 в соотношении 2:1 и добавляли раствор PEG/DMSO Solution («Hybri-Max™», «Sigma», США). После слияния клетки ресуспендировали в селективной среде гипоксантин-аминоптерин-тимидин («Hybri-Max™», «Sigma», США), вносили в 96-луночные панели и инкуби-

ровали при 37°C в атмосфере 5% CO₂. Клетки культивировали в селективной среде гипоксантин-аминоптерин-тимидин в течение 14 дней после слияния. КЖ из лунок, содержащих гибридные клетки, тестировали на наличие антител к РСВ и G-белку в иммуноферментном анализе (ИФА).

ИФА антител к РСВ в сыворотках крови мышей, в КЖ от гибридных клеток, а также МКА проводили в непрямом варианте: вносили по 50 мкл РСВ в концентрации 10 мкг/мл в 0,1 М фосфатно-солевом буфере, рН 7,2 в лунки 96-луночных планшетов MAXISORP NUNC-IMMUNO PLATE («Thermo Scientific», США) на 24 ч при 4°C. После отмывки фосфатно-солевым буфером с 0,1% раствором Твин-20 в лунки вносили сыворотки мышей в серийных разведениях или КЖ из лунок с гибридами и инкубировали в течение 1 ч при 37°C. После отмывки добавляли козы антитела к иммуноглобулинам мыши, меченные пероксидазой («Сорбент», Россия), в разведении 1:500. В качестве субстрата использовали тетраметилбензидина гидрохлорид («US Biomedical», США). Для торможения реакции добавляли 1N серную кислоту. Оптическую плотность (ОП) измеряли на планшетном иммуноферментном анализаторе «Sunrise» («Tecan», Швейцария) при длине волны 450 нм, референс-волна 620 нм. За титр антител принимали обратное разведение, ОП которого в 2 раза превосходила ОП отрицательных контролей — преиммунных мышинных сывороток или КЖ из лунок, не содержащих гибридные клетки.

Для анализа G-белка РСВ в лунки 96-луночных планшетов MAXISORP NUNC-IMMUNO PLATE («Thermo Scientific», США) вносили рекомбинантный G-белок («Sino Biological», Республика Корея) РСВ A2 в концентрации 0,5 мкг/мл в фосфатно-солевом буфере и инкубировали в течение 18 ч при 4°C. Затем вносили КЖ из лунок с гибридными клетками или МКА и выполняли ИФА.

Тест аддитивности МКА проводили согласно [10] и использовали для выяснения вопроса о том, распознают ли МКА различающиеся или близкие эпитопы. Панели сенсibilizировали препаратом концентрированного очищенного РСВ A2, как описано выше. Каждую пару МКА в насыщающих антиген концентрациях, подобранных в предварительных экспериментах, добавляли в отдельные лунки или одновременно в одну лунку панели. Затем определяли количество связанных с вирусом МКА в непрямом ИФА. Результаты выражали как индекс аддитивности (ИА), который сравнивает ОП, полученные в двух вариантах (для одного МКА и смеси) при стандартных условиях реакции. ИА вычисляли для каждой пары МКА по формуле:

$$\text{ИА} = \{ [2 \times A1 + 2 / (A1 + A2)] - 1 \} \times 100\%,$$

¹ Приказ Минздрава России от 19.06.2003 № 266.

где A1 и A2 — ОП МКА, нанесенных отдельно, A1+2 — ОП смеси МКА. ИА будет стремиться к нулю, если оба МКА распознают один и тот же эпитоп, и стремиться к 100%, если 2 эпитопа топографически не связаны.

Для проведения реакции биологической нейтрализации *in vitro* КЖ от моноклонов инкубировали с РСВ А2 (инфекционная множественность 10^4 ТЦД₅₀/мл) в течение 2 ч при 37°C в присутствии 5% СО₂ и затем вносили на монослой клеток МА-104. Через 1 ч обработанные клетки промывали средой без сыворотки и вносили среду поддержки с 2% эмбриональной телячьей сывороткой, содержащую двойную концентрацию глутамин. Цитопатогенное действие вируса на клетки оценивали через 72–96 ч, когда оно развивалось в инфицированной, но не обработанной культуре.

В зараженных клетках проводили непрямой иммунофлуоресцентный анализ (ИФл-анализ). Клетки МА-104 в концентрации 4×10^4 клеток/мл вносили в лунки 24-луночных панелей с покровными стеклами, на следующий день заражали РСВ с инфекционной множественностью 10^4 ТЦД₅₀/мл.

Через 4 сут после заражения клетки фиксировали метанолом 20 мин при –20°C. На фиксированные препараты наносили МКА и инкубировали 1 ч при 37°C. Затем промывали фосфатно-солевым буфером и наслаивали антимышиную сыворотку, меченую ФИТЦ («Dako», Дания). Клетки докрашивали Evans blue («Biochem», Франция). Окрашивание наблюдали с помощью флюоресцентного микроскопа «AxioScore A1» («Carl Zeiss», Германия) при длине волны 520–560 нм. Результаты оценивали по количеству окрашенных клеток и выражали в условных обозначениях: +++ соответствовали количеству окрашенных клеток >50%; ++ — 10–50%; + — единичные окрашенные клетки.

Субтипы МКА и типы легких цепей определяли методом ИФА с помощью набора «Pierce Rapid ELISA Mouse mAb Isotyping Kit» («Thermo Scientific», США) в соответствии с инструкцией: КЖ от МКА вносили в лунки планшета, предварительно сорбированного антителами к иммуноглобулинам мыши классов G (IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3), IgA и IgM, а также к субтипам легкой цепи каппа и лямбда. После инкубации добавляли по-

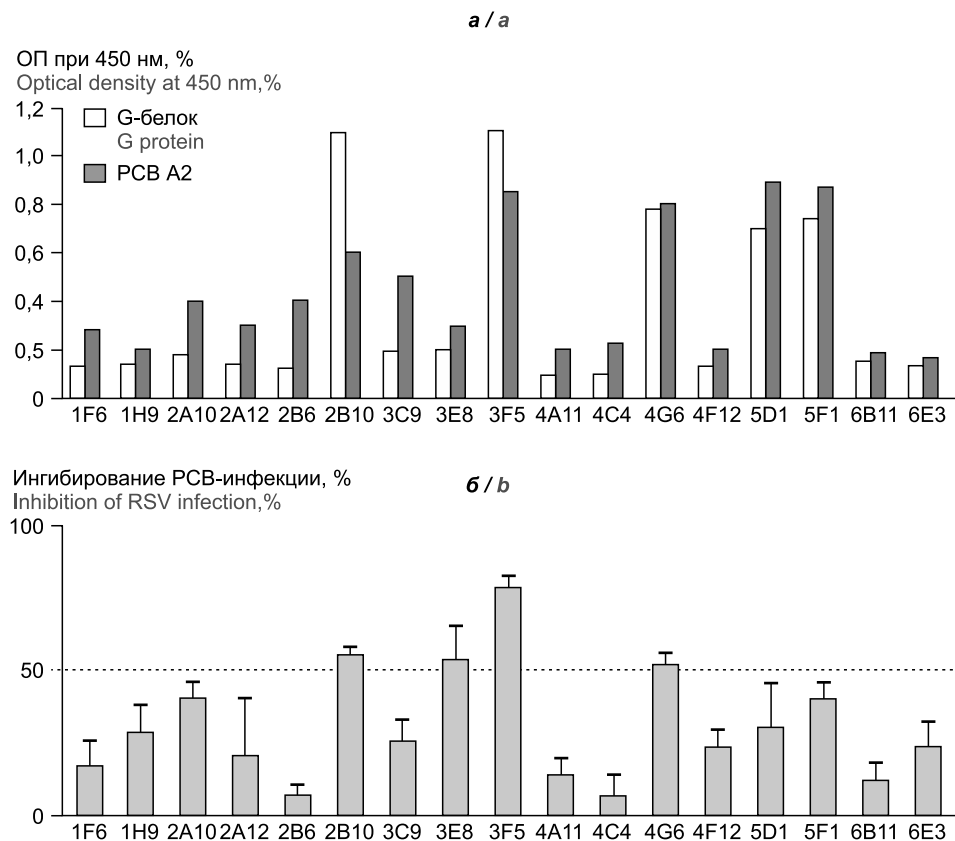


Рис. 1. Активность взаимодействия антител, продуцируемых гибридными культурами, с цельным РСВ и G-белком РСВ.

а — взаимодействие антител в КЖ с цельным вирусом РСВ А2 и G-белком в ИФА;
 б — вируснейтрализующая активность КЖ от гибридом, продуцирующих антитела к G-белку РСВ.

Fig. 1. The activity of the interaction of antibodies produced by hybrid cultures, with whole RSV and with RSV G protein.

а — interaction of antibodies in supernatants with whole RSV A2 virus and G protein in ELISA;
 б — virus-neutralizing activity of supernatants from hybridomas producing antibodies to the G protein of RSV.

Таблица 1. Свойства МКА к G-белку РСВ
Table 1. The properties of the Mabs to the RSV G protein

МКА Mabs	Изотип Ig, тип легкой цепи Ig isotype, light chain type	ИФА: ОП ₄₅₀ с КЖ* ELISA: optical density with supernatants			Реакция биологической нейтрализации <i>in vitro</i> , % ингибирования Reaction of neutralization <i>in vitro</i> , % inhibition	ИФл- анализ** Immunofluorescence assay**
		PCB A2	PCB Long	G-белок G protein		
1C11	Ig2a, κ	1,48	0,34	0,31	60	+
5D4	IgM, κ	2,50	2,39	2,02	98	+++
5G11	IgM, κ	2,30	2,58	2,36	60	++
6H4	IgM, κ	2,38	2,46	2,31	50	+

Примечание. *Показатели ОП при анализе МКА в КЖ от гибридом; ОП отрицательных контролей = 0,03; **ИФл — сравнительная оценка эффективности обнаружения инфицированных клеток, зараженных РСВ А2 в реакции иммунофлюоресценции.
 Note. *Optical density indicators in the analysis of Mabs in supernatants from hybridomas; Optical density of negative controls = 0.03; **Immunofluorescence assay — a comparative evaluation of the detection efficiency of infected cells infected with RSV A2 in the immunofluorescence reaction.

ливалентный конъюгат к IgG+IgA+IgM, меченный пероксидазой, затем субстрат тетраметилбензидин гидрохлорид. Принадлежность МКА определяли по максимальному сигналу с определенным субтипом иммуноглобулина и типом легкой цепи.

Результаты

Анализ иммунного ответа 5 мышей на введение очищенного РСВ А2 показал, что минимальная активность антител к РСВ в ИФА соответствовала титру 4×10^{-5} , максимальная — $7,8 \times 10^{-5}$. МКА в сыворотках крови всех мышей нейтрализовали инфекционную активность РСВ в титрах от 1:40 до 1:160. Для опытов по гибридизации клеток были выбраны 2 мыши с максимальной активностью в обеих реакциях. В результате экспериментов по слиянию спленоцитов отобранных мышей с клетками миеломы было получено 236 гибридных культур, устойчивых к селективной среде гипоксантин-аминоптерин-тимидин. Через 7–14 дней был проведен анализ МКА в КЖ в ИФА, который показал присутствие МКА, взаимодействующих с РСВ А2 в 75 КЖ (32%) от

гибридных клеток. Анализ КЖ от гибридных культур в ИФА с G-белком показал, что 17 (23%) из 75 клонов реагировали с G-белком (рис. 1, а). КЖ от данных гибридом были изучены в реакции биологической нейтрализации *in vitro* (рис. 1, б).

Для последующего клонирования были отобраны 4 гибридные культуры (2B10, 3E8, 3F5 и 4G6), взаимодействующие с G-белком и нейтрализующие РСВ-инфекцию более чем на 50%. В результате опытов по клонированию были отобраны по одному моноклону от каждой культуры — 4 гибридомы, продуцирующие МКА к G-белку. Иммунологические, иммуноцитохимические и биологические свойства МКА представлены в табл. 1 и на рис. 2.

Определены субтипы моноклональных иммуноглобулинов. Результаты изотипирования МКА показали, что МКА 1C11 принадлежали к изотипу IgG2a, 3 других — к классу IgM. Во всех моноклональных Ig был каппа-тип легкой цепи.

Результаты ИФА показали, что МКА 5D4, 5G11 и 6H4 одинаково интенсивно с ОП $\geq 2,0$ реагировали как со штаммом РСВ А2, к которому были получе-

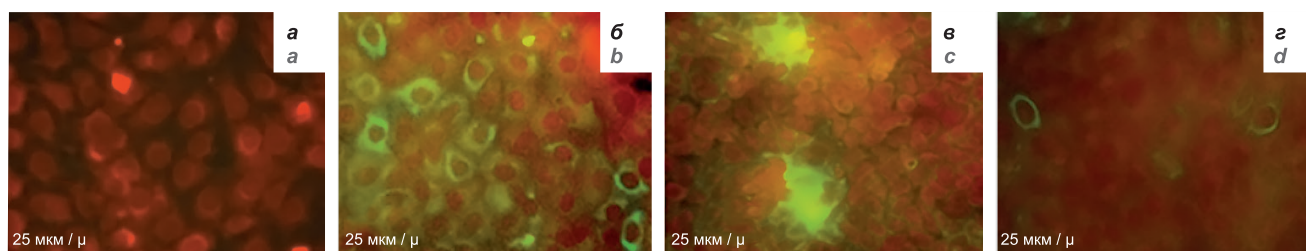


Рис. 2. ИФл-анализ взаимодействия МКА с клетками MA-104, инфицированными РСВ А2.

а — МКА к вирусу гепатита, отрицательный контроль; б — МКА 5D4, количество окрашенных клеток 80% (+++); в — МКА 5G11, количество окрашенных клеток 20% (++); г — МКА 6H4, единичные окрашенные клетки (+); зеленая окраска — ФИТЦ, красная — докраска Evans blue. Рисунок продублирован на обложке журнала.

Fig. 2. IF analysis of the interaction of Mabs with MA-104 cells infected with RSV A2.

a — Mabs for hepatitis virus, negative control; b — Mabs 5D4, the number of stained cells 80% (+++); c — Mabs 5G11, the number of stained cells 20% (++); d — Mabs 6H4, single stained cells (+); green color — FITC, red — Evans blue. The picture is duplicated on the cover of the magazine.

Таблица 2. Индексы аддитивности для МКА к G-белку РСВ ($M \pm m, \%$)**Table 2. Additivity index for Mabs to G-protein of RSV ($M \pm m, \%$)**

МКА	5D4	6H4	5G11	1C11
5D4	1,6 ± 0,3	8,3 ± 2,8	11,3 ± 0,5	41,6 ± 3,1
6H4	–	2,1 ± 0,6	12,1 ± 0,8	40,7 ± 4,2
5G11	–	–	3,5 ± 0,7	42,4 ± 2,6
1C11	–	–	–	4,2 ± 3,1

ны, так и со штаммом РСВ Long и с G-белком РСВ. МКА 1C11 достаточно активно взаимодействовали с РСВ A2, но слабее — с РСВ Long и с G-белком. Важно отметить, что 3 из 4 МКА проявили значительную вируснейтрализующую активность, подавляя развитие РСВ-инфекции на 60–98%.

Все полученные клоны выявляли РСВ в зараженных клетках, но с разной активностью (табл. 1, рис. 2). ИФл-анализ показал, что МКА выявляли G-белок РСВ в цитоплазме клеток, наибольшее количество зараженных клеток детектировали с помощью МКА 5D4 и 5G11.

Топографические связи между эпитопами определяли в тесте аддитивности (табл. 2). Метод требует использования антител в специально подобранных концентрациях, полностью насыщающих антиген. Низкие ИА получены для всех МКА при сочетании «самих с собой» (от 1,6 до 4,2%), что свидетельствует об адекватных условиях проведения реакции. Для пар МКА 5D4-6H4, 5D4-5G11 и 6H4-5G11 ИА составил 8,3–12,1%, что говорит о перекрывающихся или близко расположенных на G-белке эпитопах, распознаваемых данными МКА. ИА для пар МКА 1C11 с остальными МКА были >40%, следовательно, эпитоп, связывающийся с МКА 1C11, расположен в отдалении от эпитопов для МКА 5D4, 6H4 и 5G11.

Обсуждение

В настоящей работе получены 4 гибридомы, продуцирующие МКА к G-белку РСВ. G-белок более изменчив по сравнению с F-белком, который зачастую используется для получения препаратов для профилактики РСВ-инфекции, в то же время его введение оказывает протективное действие. В последнее время G-белок привлекает внимание исследователей благодаря ряду свойств, которые открывают перспективу использования его для разработки терапевтических препаратов и вакцин. Белок содержит небольшой, но высококонсервативный центральный домен (CCD) [7] и проявляет иммуногенность при введении здоровым людям [11]. В CCD G-белка обнаружен хемокиновый мотив CX3C, который взаимодействует с хемокиновым рецептором CX3CR1 на клетках хозяина, что приводит к нарушениям противовирусного ответа [12]. Установлено, что МКА, направленные на CCD,

оказывают противовирусное действие при РСВ-инфекции на модели зараженных мышей, блокируя развитие заболевания и улучшая иммунный ответ [13]. G-белок взаимодействует с эпителиальными клетками респираторного тракта пациентов, индуцируя инфекционный процесс. Показано, что антитела к G-белку эффективно подавляют воспаление [14]. Дальнейшее изучение антигенной структуры и функций G-белка необходимо для определения новой стратегии борьбы с РСВ-инфекцией [15].

МКА, полученные в настоящей работе, связываются с двумя эпитопами G-белка, при взаимодействии проявляют аддитивный эффект, выявляют вирусный антиген в зараженных клетках культуры и могут использоваться для обнаружения РСВ в клиническом материале методами иммунофлюоресценции, иммунопероксидазного окрашивания и ИФА. Вируснейтрализующая активность МКА создает предпосылки для получения на их основе гуманизированных рекомбинантных антител. Дальнейшие исследования покажут возможность и эффективность применения полученных МКА к G-белку в сочетании с МКА к F-белку РСВ для профилактики и терапии РСВ-инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Заплатников А.Л., Гирина А.А., Бурцева Е.И., Свиницкая В.И., Казакова С.А., Леписева И.В. и др. Современные возможности иммунопрофилактики вирусных и бактериальных респираторных инфекций у детей. *Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение*. 2018; 2(1-2): 93-8.
2. Tripp R.A., Power U.F., Openshaw P.J.M., Kauvar L.M. Respiratory syncytial virus: targeting the G protein provides a new approach for an old problem. *J. Virol.* 2018; 92(3): e01302-17. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.01302-17>
3. Pebody R., Moyes J., Hirve S., Campbell H., Jackson S., Moen A., et al. Approaches to use the WHO respiratory syncytial virus surveillance platform to estimate disease burden. *Influenza Other Respir. Viruses*. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/irv.12667>
4. Чубарова А.И., Давыдова И.В., Виноградова И.В., Дегтярева Е.А., Кешишян Е.С., Сафина А.И. и др. Эффективность паливизумаба в снижении частоты госпитализации детей с РСВ инфекцией в группах высокого риска: проспективное наблюдательное многоцентровое исследование. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2017; 72(4): 282-9. DOI: <http://doi.org/10.15690/vramn855>
5. O'Brien K.L., Chandran A., Weatherholtz R., Jafri H.S., Griffin M.P., Bellamy T., et al. Efficacy of motavizumab for the

- prevention of respiratory syncytial virus disease in healthy Native American infants: a phase 3 randomised double-blind placebo-controlled trial. *Lancet Infect. Dis.* 2015; 15(2): 1398-408. DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00247-9](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00247-9)
- Bates J.T., Keefer C.J., Slaughter J.C., Kulp D.W., Schief W.R., Crowe J.E. Escape from neutralization by the respiratory syncytial virus-specific neutralizing monoclonal antibody palivizumab is driven by changes in on-rate of binding to the fusion protein. *Virology.* 2014; 454-455: 139-44. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.virol.2014.02.010>
 - Jorquera P.A., Tripp R.A. Respiratory syncytial virus: prospects for new and emerging therapeutics. *Expert. Rev. Respir. Med.* 2017; 11(8): 609-15. DOI: <http://doi.org/10.1080/17476348.2017.1338567>
 - Boyoglu-Barnum S., Todd S.O., Chirkova T., Barnum T.R., Gaston K.A., Haynes L.M., et al. An anti-G protein monoclonal antibody treats RSV disease more effectively than an anti-F monoclonal antibody in BALB/c mice. *Virology.* 2015; 483: 117-25. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.virol.2015.02.035>
 - Ueba O. Respiratory syncytial virus. I. Concentration and purification of the infectious virus. *Acta. Med. Okayama.* 1978; 32(4): 265-72.
 - Xiang K., Cheng Y., Zhou M., Sun L., Ji Y., Wang Y., et al. Production of monoclonal antibody against EP0 protein of pseudorabies virus and determination of its recognized epitope. *Monoclon. Antib. Immunodiagn. Immunother.* 2014; 33(6): 409-13. DOI: <http://doi.org/10.1089/mab.2014.0046>
 - Power U.F., Nguyen T.N., Rietveld E., de Swart R.L., Groen J., Osterhaus A.D., et al. Safety and immunogenicity of a novel recombinant subunit respiratory syncytial virus vaccine (BBG2Na) in healthy young adults. *J. Infect. Dis.* 2001; 184(11): 1456-60. DOI: <http://doi.org/10.1086/324426>
 - Haynes L.M., Jones L.P., Barskey A., Anderson L.J., Tripp R.A. Enhanced disease and pulmonary eosinophilia associated with formalin-inactivated respiratory syncytial virus vaccination are linked to G glycoprotein CX3C-CX3CR1 interaction and expression of substance P. *J. Virol.* 2003; 77(18): 9831-44. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.77.18.9831-9844.2003>
 - Boyoglu-Barnum S., Todd S.O., Meng J., Barnum T.R., Chirkova T., Haynes L.M., et al. Mutating the CX3C motif in the G protein should make a live respiratory syncytial virus vaccine safer and more effective. *J. Virol.* 2017; 91(10): e02059-16. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.02059-16>
 - Cortjens B., Yasuda E., Yu X., Wagner K., Claassen Y.B., Bakker A.Q., et al. Broadly reactive anti-respiratory syncytial virus G antibodies from exposed individuals effectively inhibit infection of primary airway epithelial cells. *J. Virol.* 2017; 91(10): e02357-16. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.02357-16>
 - Boyoglu-Barnum S., Chirkova T., Anderson L.J. Biology of infection and disease pathogenesis to guide RSV vaccine development. *Front. Immunol.* 2019; 10: 1675. DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01675>
- REFERENCES
- Zaplatnikov A.L., Girina A.A., Burtseva E.I., Svintsitskaya V.I., Kazakova S.A., Lepiseva I.V., et al. Modern possibilities of immunoprophylaxis of viral and bacterial respiratory infections in children. *Russkiy meditsinskiy zhurnal. Meditsinskoe obozrenie.* 2018; 2(1-2): 93-8. (in Russian)
 - Tripp R.A., Power U.F., Openshaw P.J.M., Kauvar L.M. Respiratory syncytial virus: targeting the G protein provides a new approach for an old problem. *J. Virol.* 2018; 92(3): e01302-17. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.01302-17>
 - Pebody R., Moyes J., Hirve S., Campbell H., Jackson S., Moen A., et al. Approaches to use the WHO respiratory syncytial virus surveillance platform to estimate disease burden. *Influenza Other Respir. Viruses.* Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/irv.12667>
 - Chubarova A.I., Davydova I.V., Vinogradova I.V., Degtyareva E.A., Keshishyan E.S., Safina A.I., et al. The effectiveness of palivizumab in reducing the hospitalization rate of children with RSV infection in high-risk groups: a prospective observational multicenter study. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk.* 2017; 72(4): 282-9. DOI: <http://doi.org/10.15690/vramn855> (in Russian)
 - O'Brien K.L., Chandran A., Weatherholtz R., Jafri H.S., Griffin M.P., Bellamy T., et al. Efficacy of motavizumab for the prevention of respiratory syncytial virus disease in healthy Native American infants: a phase 3 randomised double-blind placebo-controlled trial. *Lancet Infect. Dis.* 2015; 15(2): 1398-408. DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00247-9](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00247-9)
 - Bates J.T., Keefer C.J., Slaughter J.C., Kulp D.W., Schief W.R., Crowe J.E. Escape from neutralization by the respiratory syncytial virus-specific neutralizing monoclonal antibody palivizumab is driven by changes in on-rate of binding to the fusion protein. *Virology.* 2014; 454-455: 139-44. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.virol.2014.02.010>
 - Jorquera P.A., Tripp R.A. Respiratory syncytial virus: prospects for new and emerging therapeutics. *Expert. Rev. Respir. Med.* 2017; 11(8): 609-15. DOI: <http://doi.org/10.1080/17476348.2017.1338567>
 - Boyoglu-Barnum S., Todd S.O., Chirkova T., Barnum T.R., Gaston K.A., Haynes L.M., et al. An anti-G protein monoclonal antibody treats RSV disease more effectively than an anti-F monoclonal antibody in BALB/c mice. *Virology.* 2015; 483: 117-25. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.virol.2015.02.035>
 - Ueba O. Respiratory syncytial virus. I. Concentration and purification of the infectious virus. *Acta. Med. Okayama.* 1978; 32(4): 265-72.
 - Xiang K., Cheng Y., Zhou M., Sun L., Ji Y., Wang Y., et al. Production of monoclonal antibody against EP0 protein of pseudorabies virus and determination of its recognized epitope. *Monoclon. Antib. Immunodiagn. Immunother.* 2014; 33(6): 409-13. DOI: <http://doi.org/10.1089/mab.2014.0046>
 - Power U.F., Nguyen T.N., Rietveld E., de Swart R.L., Groen J., Osterhaus A.D., et al. Safety and immunogenicity of a novel recombinant subunit respiratory syncytial virus vaccine (BBG2Na) in healthy young adults. *J. Infect. Dis.* 2001; 184(11): 1456-60. DOI: <http://doi.org/10.1086/324426>
 - Haynes L.M., Jones L.P., Barskey A., Anderson L.J., Tripp R.A. Enhanced disease and pulmonary eosinophilia associated with formalin-inactivated respiratory syncytial virus vaccination are linked to G glycoprotein CX3C-CX3CR1 interaction and expression of substance P. *J. Virol.* 2003; 77(18): 9831-44. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.77.18.9831-9844.2003>
 - Boyoglu-Barnum S., Todd S.O., Meng J., Barnum T.R., Chirkova T., Haynes L.M., et al. Mutating the CX3C motif in the G protein should make a live respiratory syncytial virus vaccine safer and more effective. *J. Virol.* 2017; 91(10): e02059-16. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.02059-16>
 - Cortjens B., Yasuda E., Yu X., Wagner K., Claassen Y.B., Bakker A.Q., et al. Broadly reactive anti-respiratory syncytial virus G antibodies from exposed individuals effectively inhibit infection of primary airway epithelial cells. *J. Virol.* 2017; 91(10): e02357-16. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.02357-16>
 - Boyoglu-Barnum S., Chirkova T., Anderson L.J. Biology of infection and disease pathogenesis to guide RSV vaccine development. *Front. Immunol.* 2019; 10: 1675. DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01675>

Информация об авторах:

Демидова Наталья Андреевна — м.н.с. ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», 123098, Москва, Россия.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-1961-9789>. E-mail: ailande@yandex.ru

Климова Регина Рафаиловна — к.б.н., с.н.с. лаборатории клеточной инженерии Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», 123098, Москва, Россия.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-4147-8444>. E-mail: regi.k@mail.ru

Куц Алла Александровна — д.б.н., проф., рук. отдела молекулярной вирусологии, зав. лабораторией клеточной инженерии Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», 123098, Москва, Россия.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3396-5533>. E-mail: vitaliku@mail.ru

Леснова Екатерина Ивановна — н.с. лаборатории клеточной инженерии Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», 123098, Москва, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2801-6843>. E-mail: wolf252006@yandex.ru

Масалова Ольга Владимировна — д.б.н., в.н.с. лаборатории клеточной инженерии Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», 123098, Москва, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5571-5669>. E-mail: ol.mas@mail.ru

Дорофеева Анастасия Дмитриевна — м.н.с. ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2501-2847>. E-mail: d0r0feeva@yandex.ru

Никонова Александра Александровна — к.б.н., зав. лабораторией молекулярной биотехнологии отдела вирусологии ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9610-0935>. E-mail: sana80@list.ru

Федорова Наталья Евгеньевна — к.б.н., в.н.с. лаборатории клеточной инженерии Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», 123098, Москва, Россия.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-8466-7993>. E-mail: ninani@mail.ru

Зверев Виталий Васильевич — д.б.н., проф., акад. РАН, зав. лабораторией молекулярной биотехнологии ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия; зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 127994, Москва, Россия
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-0017-1892>. E-mail: vitalyzverev@outlook.com

Участие авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Information about the authors:

Natalia A. Demidova — junior researcher, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, 123098, Moscow, Russia.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-1961-9789>. E-mail: ailande@yandex.ru

Regina R. Klimova — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of cell engineering, D.I. Ivanovsky Institute of Virology, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, 123098, Moscow, Russia.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-4147-8444>. E-mail: regi.k@mail.ru

Alla A. Kushch — Doct. Sci. (Biol.), Prof., Head, Laboratory of cell engineering, Department of molecular virology, D.I. Ivanovsky Institute of Virology, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, 123098, Moscow, Russia.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3396-5533>. E-mail: vitaliku@mail.ru

Ekaterina I. Lesnova — researcher, Laboratory of cell engineering, D.I. Ivanovsky Institute of Virology, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, 123098, Moscow, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2801-6843>. E-mail: wolf252006@yandex.ru

Olga V. Masalova — Doct. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of cell engineering, D.I. Ivanovsky Institute of Virology, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, 123098, Moscow, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5571-5669>. E-mail: ol.mas@mail.ru

Anastasia D. Dorofeeva — junior researcher, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2501-2847>. E-mail: d0r0feeva@yandex.ru

Alexandra A. Nikonova — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of molecular biotechnology, Department of virology, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9610-0935>. E-mail: sana80@list.ru

Natalia E. Fedorova — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of cell engineering, D.I. Ivanovsky Institute of Virology, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, 123098, Moscow, Russia.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-8466-7993>. E-mail: ninani@mail.ru

Vitaly V. Zverev — Doct. Sci. (Biol.), prof., Academician of RAS, Head, Laboratory of molecular biotechnology, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia; Head, Microbiology, virology, immunology department, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of Ministry of Health of Russian Federation (Sechenov University), 127994, Moscow, Russia.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-0017-1892>. E-mail: vitalyzverev@outlook.com

Contribution: the authors contributed equally to this article.

Модель профилактической эффективности противогриппозной вакцины с поправкой на гипотезу антигенного расстояния

Колесин И.Д.[✉], Житкова Е.М.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», 198504, Санкт-Петербург, Россия

Цель исследования — найти количественную взаимосвязь антигенных расстояний (AD) с эффективностью вакцины (VE) и исследовать чувствительность VE к изменению AD.

Материал и методы. С помощью данных эпидемиологических наблюдений за тремя сезонами по гриппу в Канаде с интерпретацией в рамках гипотезы антигенного расстояния (ADH) обосновывается введение поправочного множителя в модель для оценки VE. Поправка учитывает наличие антигенной взаимосвязи между вакциной предыдущего сезона (V1), вакциной текущего сезона (V2) и циркулирующим эпидемическим штаммом (e).

Результаты. Найдена количественная взаимосвязь VE с AD, воспроизводящая результаты эпидемиологических наблюдений за двумя группами лиц: одна — только с текущей вакцинацией (0+V2), другая — с предшествующей и текущей (V1+V2) вакцинациями. Выявлено различие в чувствительности VE к разным показателям AD, позволяющее ограничиться ведущим показателем.

Заключение. Предложенная модель соотносит микробиологические показатели AD с эпидемиологической характеристикой VE. Модель расширяет анализ, позволяя использовать ее как средство оценки ожидаемых изменений VE в разных постановках эксперимента по проверке гипотезы ADH.

Ключевые слова: эффективность противогриппозной вакцины; гипотеза антигенного расстояния; вакцина предыдущего сезона; вакцина текущего сезона; эпидемический штамм; модель оценки эффективности вакцины.

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

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

Для цитирования: Колесин И.Д., Житкова Е.М. Модель профилактической эффективности противогриппозной вакцины с поправкой на гипотезу антигенного расстояния. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(1): 15–18.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-15-18>

Поступила 18.08.2019

Принята в печать 18.12.2019

Model of Prophylactic Efficiency of Influenza Virus Vaccine Corrected to the Antigenic Distance Hypothesis

Igor D. Kolesin[✉], Ekaterina M. Zhitkova

St. Petersburg State University, Saint-Petersburg 198504, Russia

The **aim** of the study is to find a quantitative relationship between antigenic distances (AD) and vaccination effectiveness (VE) and investigate the response of VE to changes in AD.

Material and methods. Through the epidemiological data of three influenza seasons in Canada, interpreted within the framework of the antigenic distance hypothesis (ADH), the introduction of the correction factor into the model for estimating VE was substantiated considering the antigenic relationship between the previous season vaccine (V1), the current season vaccine (V2) and the circulating epidemic strain (e).

Results. A quantitative relationship between VE and AD was found, reproducing the results of epidemiological observation of two groups of people: vaccinated in the previous and current seasons (V1+V2) and vaccinated only in the current season (0+V2). The difference in the response of VE to different indicators of AD was found and allowing to use only one significant indicator.

Conclusion. The model proposed relates the microbiological indicators AD with epidemiological characteristic of VE. The model extends the analysis, allowing to use it as an assessment tool for the expected changes in vaccine effectiveness in various settings of the ADH hypothesis experiment.

Keywords: effectiveness of influenza vaccine; hypothesis of antigenic distance; prior season's vaccine; current season's vaccine; epidemic strain; a model for evaluating the effectiveness of a vaccine.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

For citation: Kolesin I.D., Zhitkova E.M. Model of Prophylactic Efficiency of Influenza Virus Vaccine Corrected to the Antigenic Distance Hypothesis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, Russian journal*. 2020; 97(1): 15–18. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-15-18>

Received 18 August 2019

Accepted 18 December 2019

Введение

Начиная с исследований Т.В. Hoskins и соавт. [1], замечено, что в ходе ежегодной противогриппозной вакцинации вакцина предыдущего сезона может негативно влиять на вакцину текущего сезона. В связи с этим эффективность ежегодной противогриппозной вакцинации стала подвергаться сомнению. Это мнение поддерживалось неоднократно отмеченным фактом снижения эффективности вакцины (VE) при повторной вакцинации [2–5].

Для изучения причин снижения эффективности была предложена гипотеза антигенного расстояния (ADH) [6], основанная на теории ассоциативной иммунологической памяти [7]. Согласно этой теории, с ростом отклонения вакцинного штамма текущего сезона (V2) от вакцинного штамма предшествовавшего сезона (V1) и при наличии несоответствия вакцинного штамма V2 эпидемическому (e) растет отрицательное воздействие антител к V1 на антиген V2, а с этим падает профилактическая эффективность вакцины V2. В соответствии с этой гипотеза ADH полагала: отрицательное вмешательство противогриппозной вакцины V1 в защитное действие вакцины V2 может происходить, когда антигенное расстояние (AD) между V1 и V2 небольшое ($V1 \approx V2$), но между V2 и текущим эпидемическим (e) штаммом — большое ($V2 \neq e$); отрицательное влияние наблюдается при $V1 \neq V2$. Результаты эпидемиологических наблюдений на протяжении трех сезонов [7] частично подтвердили эту гипотезу.

Наряду с эпидемиологическими экспериментами, гипотеза ADH проверялась на компьютерной модели [6], показавшей возможность негативного влияния антител к V1 на V2. Однако моделирование антигенной реакции проводилось на уровне организма. Было бы интересно обратиться непосредственно к данным эпидемиологических наблюдений [7] для выявления количественной взаимосвязи действующих факторов. Это позволит исследовать чувствительность профилактической эффективности вакцины к изменению AD и предложить меры,

содействующие дальнейшей проверке гипотезы ADH.

Цель данной статьи — найти количественную взаимосвязь AD с VE и исследовать чувствительность VE к изменению AD.

Материал и методы

Для отыскания зависимости VE от AD используются данные эксперимента, приведенные в работе [7]. Они относятся к эпидемиям гриппа A(H3N2), проходившим в Канаде в сезонах 2010–2011, 2012–2013, 2014–2015 гг. VE оценивали для лабораторно подтвержденных случаев с помощью отрицательного теста.

Рассматривались две группы населения:

- вакцинированные в текущем, но не в предшествующем сезоне (0+V2);
- вакцинированные как в текущем, так и в предшествующем сезонах (V1+V2).

Возраст участников эксперимента составлял 9–65 лет, причем взрослых было большинство (86%).

VE определялась как:

$$VE = (1 - OR) \times 100\%,$$

где OR — статистический показатель («отношение шансов»), меняющийся от сезона к сезону.

По значениям OR для групп 0+V2 и V1+V2 получены значения VE в 2010–2015 гг. (табл. 1). При этом отмечено отсутствие воздействия V1 на V2 в первом сезоне, слабое — во втором и выраженное — в третьем.

Для оценки VE с поправкой на ADH предложена следующая модель:

$$VE = (1 - g \times \overline{OR}) \times 100\%,$$

где \overline{OR} — значение OR, соответствующее ситуации отсутствия воздействия V1 на V2; g — поправочный множитель для ситуации наличия, определяемый как:

$$g = (a + b \times r)/r_e$$

Таблица 1. AD и VE в трех сезонах
Table 1. AD and VE in three seasons

Показатель Index	Сезон 2010–2011 гг. 2010–2011 season	Сезон 2012–2013 гг. 2012–2013 season	Сезон 2014–2015 гг. 2014–2015 season
r (AD между V1 and V2) r (AD between V1 and V2)	4	1	0
r_e (AD между V2 and e) r_e (AD between V2 and e)	6	4	4
VE (0+V2), %	34	49	65
VE (V1+V2), %	34	28	–33
Воздействие Impact	Нет No	Слабое Weak	Выраженное Expressed

Параметры a , b определяются по известным значениям r , r_e , VE методом наименьших квадратов. Сравнение результатов моделирования выполнено для двух групп: 0+V2 и V1+V2. Для каждой из них найдены значения коэффициентов a , b . Для этого, в соответствии с табл. 1, задается ряд VE (34, 49, 65%) — для случая 0+V2 — и ряд VE (34, 28, -33%) — для случая V1+V2. Последующее сравнение величин VE для этих случаев позволяет определить наличие или отсутствие негативного воздействия V1 на V2. Чувствительность VE к изменению r , r_e определяется через частные производные от этих параметров.

Результаты

Вычисления, выполненные для $\overline{OR} = 0,66$, дали для группы 0+V2: $a = 2,1212$, $b = 0,9697$, а для группы V1+V2: $a = 6,5921$, $b = -0,2704$. Модельные значения VE с этими значениями параметров a , b , а также заключение о наличии или отсутствии воздействия V1 на V2 представлены в табл. 2.

Обсуждение

Предложенная модель $VE = (1 - g \times \overline{OR}) \times 100\%$, в отличие от известной модели $VE = (1 - \overline{OR}) \times 100\%$, связывает микробиологические характеристики r , r_e (AD) с эпидемической характеристикой VE, вычисляемой отдельно для случаев 0+V2 и V1+V2. При сопоставлении величин VE для этих случаев делается вывод о наличии или отсутствии воздействия V1 на V2.

Для дальнейшего сравнения выделим две ситуации. Одна относится к сезону 2010–2011 гг., где V1 не оказала никакого воздействия на V2. Это следует из равенства VE для двух групп: 34%. Другая ситуация относится к сезону 2014–2015 гг., когда V1, воздействуя на V2, настолько ухудшила дело, что OR превысило единицу, а величина VE стала отрицательной: -33% (группа V1+V2).

Из сравнения данных эксперимента (табл. 1) с результатами моделирования (табл. 2) видно, что в случае 0+V2 для всех сезонов наблюдается идеальное совпадение результатов модели с экспериментом, а в случае V1+V2 для двух последних сезонов наблюдается расхождение, вызванное, воз-

можно, неполной достоверностью данных для сезона 2014–2015 гг. (о чем отмечается в статье [7]). Модель подтверждает отсутствие воздействия V1 на V2 в сезоне 2010–2011 гг., т.к. величина 39% близка к величине 34% (хотя и не совпадает с ней, как это имеет место в эксперименте). Наличие воздействия в сезоне 2014–2015 гг. подтверждается с меньшей убедительностью: если эксперимент дает для этого сезона расхождение в эффективности вакцины 65% и -33%, то модель дает 65% и -9%. Для сезона 2012–2013 гг. эксперимент дал значения эффективностей 49% и 28% (наличие слабого воздействия V1 на V2), модель же дала большее расхождение: 49% и -4%.

Кроме того, отсутствие более точных данных по числу пожилых лиц среди взрослых (указанный в [7] процент 86% не ориентирует в этом) вносит свою погрешность в вычисления профилактической эффективности вакцины. При значительном повышении возраста участников и высоких значениях показателя r_e вычисления могли дать еще большее расхождение с экспериментом.

Следует отметить, что описанный эффект снижения профилактической эффективности вакцины исследовался в работе [8] на мышах, при этом были предложены три способа устранения этого эффекта, основанные на использовании адьювантов.

Исследуем характер влияния параметров r , r_e на VE, т.е. чувствительность показателя VE к изменению каждого из них. Линейная зависимость VE от r и нелинейная от r_e (причем отрицательная от r и положительная от r_e) говорит о том, что рост AD между вакцинными штаммами предшествующего и текущего сезонов (r) вызывает линейный спад профилактической эффективности вакцины, а рост AD между вакцинным и эпидемическим штаммами текущего сезона (r_e) — нелинейный. Чувствительность к изменению AD (r_e) обратно пропорциональна квадрату величины r_e . Это позволяет говорить о незначительности влияния величины r_e , если она достаточно большая. Следовательно, при достаточно больших r_e можно сосредоточить внимание на изучении механизма изменения VE от r , а при достаточно малых — на изучении более сложного механизма зависимости VE от r , r_e .

Таблица 2. Профилактическая VE по сезонам, %
Table 2. Preventive VE by season, %

Показатель Index	Сезон 2010–2011 гг. 2010–2011 season	Сезон 2012–2013 гг. 2012–2013 season	Сезон 2014–2015 гг. 2014–2015 season
VE (0+V2)	34	49	65
VE (V1+V2)	39	-4	-9
Воздействие Impact	Нет No	Слабое Weak	Выраженное Expressed

Заключение

На основе анализа данных наблюдений за VE и AD между вакцинными штаммами текущего и предшествующего сезонов, а также вакцинным и эпидемическим штаммами текущего сезона выявлена количественная взаимосвязь этих величин. Анализ чувствительности профилактической эффективности вакцины к изменению AD выявил возможность управлять экспериментом в зависимости от близости вакцинного штамма к эпидемическому.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Hoskins T.W., Davies J.R., Smith A.J., Miller C.L., Allchin A. Assessment of inactivated influenza-A vaccine after three outbreaks of influenza A at Christ's Hospital. *Lancet*. 1979; 1(8106): 33-5.
DOI: [http://doi.org/10.1016/s0140-6736\(79\)90468-9](http://doi.org/10.1016/s0140-6736(79)90468-9)
2. Bartoszko J.J., McNamara I.F., Aras O.A.Z., Hylton D.A., Zhang Y.B., Malhotra D., et al. Does consecutive influenza vaccination reduce protection against influenza: A systematic review and meta-analysis. *Vaccine*. 2018; 36(24): 3434-44.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.04.049>
3. Beyer W.E., de Bruijn I.A., Palache A.M., Westendorp R.G., Osterhaus A.D. Protection against influenza after annually

- repeated vaccination: a meta-analysis of serologic and field studies. *Arch. Intern. Med.* 1999; 159(2): 182-8.
DOI: <http://doi.org/10.1001/archinte.159.2.182>
4. Keitel W.A., Cate T.R., Couch R.B., Huggins L.L., Hess K.R. Efficacy of repeated annual immunization with inactivated influenza virus vaccines over a five year period. *Vaccine*. 1997; 15(10): 1114-22.
DOI: [http://doi.org/10.1016/s0264-410x\(97\)00003-0](http://doi.org/10.1016/s0264-410x(97)00003-0)
 5. Szilagyi P.G., Fairbrother G., Griffin M.R., Hornung R.W., Donauer S., Morrow A., et al. Influenza vaccine effectiveness among children 6 to 59 months of age during 2 influenza seasons: a case-cohort study. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* 2008; 162(10): 943-51.
DOI: <http://doi.org/10.1001/archpedi.162.10.943>
 6. Smith D.J., Forrest S., Ackley D.H., Perelson A.S. Variable efficacy of repeated annual influenza vaccination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999; 96(24): 14001-6.
DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.96.24.14001>
 7. Skowronski D.M., Chambers C., De Serres G., Sabaiduc S., Winter A.L., Dickinson J.A., et al. Serial vaccination and the antigenic distance hypothesis: effects on influenza vaccine effectiveness during A(H3N2) epidemics in Canada, 2010-2011 to 2014-2015. *J. Infect. Dis.* 2017; 215(7): 1059-99.
DOI: <http://doi.org/10.1093/infdis/jix074>
 8. Kim J.H., Davis W.G., Sambhara S., Jacob J. Strategies to alleviate original antigenic sin responses to influenza viruses. *PNAS*. 2012, 109(34): 13751-8.
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0912458109>

Информация об авторах:

Колесин Игорь Дмитриевич — д.ф.-м.н., проф. кафедры управления медико-биологическими системами факультета прикладной математики — процессов управления ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», 198504, Санкт-Петербург, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4305-3423>. E-mail: kolesin_id@mail.ru

Житкова Екатерина Михайловна — к.ф.-м.н., научный сотрудник кафедры управления медико-биологическими системами факультета прикладной математики — процессов управления ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», 198504, Санкт-Петербург, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5085-9003>. E-mail: zhitkovakaterina@mail.ru

Участие авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Information about the authors:

Igor D. Kolesin — D. Sci. (Phys.-Math.), Professor, Department of Management of Biomedical Systems, Faculty of Applied Mathematics — Control Processes, St. Petersburg State University, 198504, St. Petersburg, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4305-3423>. E-mail: kolesin_id@mail.ru

Ekaterina M. Zhitkova — Cand. Sci. (Phys.-Math.), researcher, Department of Management of Biomedical Systems, Faculty of Applied Mathematics — Control Processes, St. Petersburg State University, 198504, St. Petersburg, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5085-9003>. E-mail: zhitkovakaterina@mail.ru

Contribution: the authors contributed equally to this article.

Влияние иммунизации кроликов дрожжевыми антигенами на активность фракции сывороточных антимикробных пептидов

Арзуманян В.Г.[✉], Иксанова А.М., Артемьева Т.А., Бутовченко Л.М.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия

Введение. Установлено, что иммунизация мышей дрожжевыми антигенами сопровождается повышением активности фракции антимикробных пептидов (АМП) по отношению к *Candida albicans*. Неизвестно, обладает ли эта фракция специфичностью по отношению к прочим видам дрожжей.

Цель работы — изучить влияние иммунизации кроликов разными видами дрожжей на общую антимикробную активность сыворотки и специфическую активность фракции ее АМП.

Материал и методы. Кроликов иммунизировали клетками дрожжей *Candida albicans*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Malassezia furfur*, *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum candidum*, *Trichosporon cutaneum*, *Saccharomyces cerevisiae*. Фракции АМП получали фильтрацией сывороток через фильтры с диаметром пор 100 кД. Общую активность сывороток и их АМП-фракций оценивали спектрофотометрически.

Результаты. Общая активность сывороток под действием иммунизации имела тенденцию к снижению независимо от вида дрожжей. Активность АМП-фракций под действием *C. albicans*, *Cr. neoformans*, *G. candidum* и *S. cerevisiae* возрастала, а под действием прочих — снижалась. Наиболее высокая чувствительность к АМП-фракции сывороток соответствовала *C. albicans*, особенно в отношении сыворотки кролика, иммунизированного этими же дрожжами, — в 1,5 раза выше контроля. Концентрация альбумина в сыворотках имела положительную корреляцию с общей активностью против *C. albicans* ($r = 0,760$), *R. mucilaginosa* ($r = 0,728$), *M. furfur* ($r = 0,723$) и *T. cutaneum* ($r = 0,588$).

Обсуждение. Результаты экспериментов не только согласуются с полученными ранее данными, но и расширяют представления о воздействии дрожжевых антигенов на активность сывороточных АМП против разных видов дрожжей.

Заключение. Альбумин сыворотки и сывороточные АМП обладают специфичностью в отношении разных микроорганизмов, причем наибольшую активность они проявляют в отношении тех видов, которые чаще выступают в роли условных патогенов.

Ключевые слова: иммунизация; антигены; альбумин; *Candida albicans*; противогрибковая активность; сыворотка; антимикробные пептиды.

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке бюджетного финансирования в рамках темы НИР № 0525-2018-0018.

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

Для цитирования: Арзуманян В.Г., Иксанова А.М., Артемьева Т.А., Бутовченко Л.М. Влияние иммунизации кроликов дрожжевыми антигенами на активность фракции сывороточных антимикробных пептидов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(1): 19–25.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-19-25>

Поступила 26.08.2019
Принята в печать 18.12.2019

Effect of Rabbit Immunization with Yeast Antigens on the Activity of the Fraction of Serum Antimicrobial Peptides

Vera G. Arzumanian[✉], Asiya M. Iksanova, Tamara A. Artemyeva, Lyubov M. Butovchenko

Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow 105064, Russian Federation

Introduction. Immunization of mice with yeasts antigens accompanied by increase of antimicrobial peptides (AMP) fraction activity towards *Candida albicans*. It is not known if the fraction has any specificity towards other yeasts.

The **aim** was to study the effect of rabbit immunization with different yeasts cells on overall antimicrobial serum activity and specific activity of antimicrobial peptides fraction.

Material and methods. Rabbits were immunized with cells of *Candida albicans*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Malassezia furfur*, *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum candidum*, *Trichosporon cutaneum* and *Saccharomyces cerevisiae*. AMP fractions were obtained by filtration through 100 kDa filters. Overall activities of sera and their AMP-fractions were estimated spectrophotometrically.

Results. Overall serum antimicrobial activity had tendency to decrease after immunization independently from yeast species. Activity of AMP-fractions after immunization with *C. albicans*, *Cr. neoformans*, *G. candidum* и *S. cerevisiae* increased, but with other yeasts — decreased. The highest sensitivity to AMP fraction corresponded to *C. albicans*, especially for serum of the rabbit immunized with this yeasts — 1,5-fold higher compare to control. Serum albumin concentration showed the positive correlation with overall antimicrobial activity against *C. albicans* ($r = 0,760$), *R. mucilaginosa* ($r = 0,728$), *M. furfur* ($r = 0,723$) и *T. cutaneum* ($r = 0,588$).

Discussion. The results confirm our earlier data. Moreover, they expand current views on the effect of yeasts antigens on activity of serum AMP against different yeasts.

Conclusion. Serum albumin and serum AMP demonstrated the specificity toward different yeasts: maximal activity they showed towards species which more often play an opportunistic role.

Keywords: immunization; antigens; albumin; *Candida albicans*; antifungal activity; serum; antimicrobial peptides.

Acknowledgments. The study was supported by budget funding within the framework of the research topic No. 0525-2018-0018.

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

For citation: Arzumanyan V.G., Iksanova A.M., Artemyeva T.A., Butovchenko L.M. Effect of Rabbit Immunization with Yeast Antigens on the Activity of the Fraction of Serum Antimicrobial Peptides. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* = *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, Russian journal*. 2020; 97(1): 19–25. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-19-25>

Received 26 August 2019
Accepted 18 December 2019

Введение

Прямым противомикробным действием сыворотки крови млекопитающих обладают белки системы комплемента, иммуноглобулины и антимикробные пептиды (АМП). При различных механизмах это действие выражается в повреждении клеточной мембраны патогенных микроорганизмов [1]. На основании данного свойства разработан способ оценки общей противомикробной активности сыворотки крови и ее низкомолекулярной фракции (2,8–80 кД), в которую входят АМП [2]. Данный способ заключается в действии образцов сыворотки на клетки тест-культур микроорганизмов и спектрофотометрическом измерении процента красителя, вошедшего в убитые клетки, по сравнению с контролем. С помощью этого метода определены указанные свойства сывороток 4 видов млекопитающих, включая человека, и обнаружены различия в величинах противогрибковой активности (ПГА) АМП-фракций сывороток, но не в величинах общей активности [3]. Этим же методом показано, что иммунизация мышей дрожжевыми антигенами приводила не только к увеличению уровней специфических иммуноглобулинов класса G, но и к повышению активности фракции АМП по отношению к *Candida albicans* [4].

Целью исследования явилось изучение влияния иммунизации кроликов клетками разных видов условно-патогенных дрожжевых грибов на общую антимикробную активность сыворотки и специфическую активность фракции ее АМП.

Материал и методы

Опытная группа кроликов состояла из 7 здоровых самок породы шиншилла массой 1,5 кг, полученных из питомника ФГБУН «НЦБМТ» ФМБА России, филиал «Андреевка». Контрольную группу составляли 4 таких же кролика. Эксперименты проводили в соответствии с межгосударственным стандартом по содержанию и уходу за лабораторными животными (ГОСТ 33217-2014).

Штаммы дрожжей *Candida albicans* № 927, *Rhodotorula mucilaginosa* № 132, *Malassezia furfur* № 1451, *Cryptococcus neoformans* № 3465, *Geotrichum candidum* № 1206, *Trichosporon cutaneum* № 18 получены из коллекции ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова; а *Saccharomyces cerevisiae* Y-375 — из Всероссийской коллекции микроорганизмов. Суспензии клеток для иммунизации и прочих опытов готовили из экспоненциальных культур, выращенных на плотной среде Сабуро при 25°C (в случае *M. furfur* — на модифицированной среде Диксона при 32°C).

Иммунизацию кроликов проводили по следующей схеме: каждого кролика из опытной группы иммунизировали суспензией убитых мертиолятом клеток одной из культур дрожжей плотностью 10¹⁰ КОЕ/мл в объеме 1 мл, внутримышечно (в бедро), 8-кратно в течение 2 мес. Сыворотки получали от всех кроликов одновременно, включая контрольную группу, лиофильно высушивали, определяли плотность путем взвешивания сухих остатков и соотношения с объемами исходных сывороток, после чего хранили при 5°C. Для проведения каждого эксперимента с одним видом дрожжей взвешивали часть сыворотки, разводя ее до исходной плотности дистиллированной стерильной водой.

Фракции, содержащие АМП, получали путем фильтрования сывороток через молекулярные фильтры «Amicon Ultra» («Millipore», «Merck») с диаметром пор 100 кД на центрифуге в течение 15 мин при 16 000 об/мин. ПГА определяли по схеме: аликвоты сывороток или их АМП-фракций объемом 150 мкл (контрольная пробирка содержала физиологический раствор) соединяли с 50 мкл суспензии дрожжей в пробирках типа Эппендорф, инкубировали 2 ч при 32°C на шейкере, затем центрифугировали 5 мин при 16 000 об/мин, супернатанты удаляли, а к осадкам добавляли по 300 мкл раствора бромкрезолового пурпурного в фосфатном буфере pH 4,6. Смесь суспендировали, инкубировали 45 мин при 32°C на шейкере, затем суспензии

вновь центрифугировали и по 50 мкл полученных супернатантов добавляли в заранее подготовленные пробирки, содержащие по 2,5 мл фосфатного буфера pH 4,6. Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре «Genesys 10S UV-Vis» при длине волны 440 нм в кюветах толщиной 1 см. Активность рассчитывали в процентах по отношению к контрольному образцу [5].

Метод определения концентрации сывороточного альбумина основан на образовании окрашенных комплексных соединений при взаимодействии альбумина с бромкрезоловым зеленым в слабокислой среде в присутствии детергента. К 0,1 мл сыворотки, разведенной в 10 раз, добавляли 4 мл реактива, содержащего бромкрезоловый зеленый и детергент Trigon X-100 в ацетатном буфере («Альбумин Агат», «Агат», Россия); инкубацию проводили в течение 10 мин при комнатной температуре, после чего оптическую плотность измеряли на спектрофотометре при длине волны 625 нм в кювете толщиной 1 см. Калибровочные растворы делали на основе человеческого сывороточного альбумина («Reanal», Чехия). Прямая зависимость оптической плотности от концентрации альбумина имела место в диапазоне концентраций 0,3–20 мг/мл.

Статистический анализ проводили с помощью программы Microsoft Excel. Коэффициенты Манна–Уитни, свидетельствующие о наличии/отсутствии значимости различий между показателями, рассчитывали с помощью автоматической программы¹. В качестве показателя корреляционных взаимосвязей использовали коэффициент Пирсона (r).

Результаты

В табл. 1 приведены медианы величин общей ПГА сывороток, полученных при иммунизации кроликов дрожжевыми антигенами, и контрольных («чистых») кроликов. Сравнение данных величин показывает наличие прямой корреляции высокой степени между общей активностью сыворотки иммунизированных кроликов (горизонтальные ряды) и общей активностью неиммунизированных животных (верхний ряд) против разных видов дрожжей. Кроме того, если сравнивать те же величины (верхний ряд) с активностями сывороток иммунизированных кроликов против тех же культур, которыми они были иммунизированы (числа, выделенные жирным шрифтом), то обнаруживается также высокая положительная корреляция ($r = 0,819$). Несмотря на то что достоверность различий в величинах общей активности между выборками неиммунизированных и иммунизированных кроликов не в каждом случае высока, векторы изменения общей

ПГА для всех изучаемых микроорганизмов одинаковы — тенденция к снижению активности в результате иммунизации.

В табл. 2 приведены медианы величин ПГА фракции сывороточных антимикробных пептидов кроликов в ответ на иммунизацию дрожжевыми клетками. Видно, что, в отличие от величин общей активности, эти величины менялись значительно, о чем свидетельствуют значения коэффициентов Манна–Уитни. Однако прямая корреляция высокой силы между АМП-активностью сыворотки иммунизированных кроликов (горизонтальные ряды) и общей активностью неиммунизированных животных (верхний ряд) также имела место. Сравнение тех же величин (верхний ряд) с АМП-активностями сывороток иммунизированных кроликов против тех же культур, которыми они были иммунизированы (числа, выделенные жирным шрифтом), показало также наличие высокой положительной корреляции ($r = 0,687$). В отличие от общей активности векторы изменения АМП-активностей зависели от вида дрожжей: в случае иммунизации *S. cerevisiae*, *G. candidum*, *Cr. neoformans* и *C. albicans* имело место повышение данного показателя, тогда как после иммунизации *R. mucilaginosa*, *M. furfur* и *T. cutaneum* — снижение.

Интересно отметить, что значения общей активности сыворотки иммунизированных кроликов против данной культуры не коррелировали с таковыми для АМП-активности ($r = -0,006$).

Концентрацию альбумина определяли во всех сыворотках: медиана для неиммунизированных кроликов равна 86,9 мг/мл, а для иммунизированных — 83,1 мг/мл. Различия между выборками недостоверны: $p \geq 0,05$. Сравнение величин концентрации альбумина и общей активности сывороток против разных видов дрожжей по всей выборке иммунизированных и неиммунизированных кроликов дало следующие коэффициенты корреляции: для *C. albicans* — 0,760; для *R. mucilaginosa* — 0,728; для *M. furfur* — 0,723; для *Cr. neoformans* — 0,316; для *G. candidum* — 0,432; для *T. cutaneum* — 0,588 и для *S. cerevisiae* — 0,056.

Обсуждение

Дрожжевые грибы родов *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula* и *Trichosporon* имеют большое значение в клинической практике, а такие роды, как *Geotrichum* и *Saccharomyces*, часто встречаются в продуктах питания [7]. Дрожжи рода *Malassezia* являются нормальными обитателями кожи теплокровных животных, но при иммунодефиците вовлекаются в патологические процессы [8]. Хорошо известно, что на введение чужеродного антигена организм отвечает повышением уровней специфических иммуноглобулинов. Публикаций о влиянии иммунизации на АМП чрезвычайно мало. Есть данные об индукции эпителиального бета-дефен-

¹ Математические методы обработки данных (онлайн-расчет). URL: <https://www.psychol-ok.ru/lib/statistics.html>

Таблица 1. Изменение общей ПГА сыворотки кроликов в ответ на иммунизацию дрожжевыми клетками
Table 1. Change in total rabbit serum PHA in response to yeast cell immunization

Сыворотки кроликов Rabbit serum	Активность сывороток против следующих культур дрожжей, % (медианы) Serum activity against the following yeast cultures,% (median)							Корреляция с общей активностью неиммунизированных кроликов Correlation with total activity non-immunized rabbits
	<i>C. albicans</i>	<i>R. mucilaginosa</i>	<i>M. furfur</i>	<i>Cr. neoformans</i>	<i>G. candidum</i>	<i>T. cutaneum</i>	<i>S. cerevisiae</i>	
Неиммунизированных* Non-immunized	83,9	68,4	75,8	71,3	64,4	76,5	76,3	
Иммунизированных клетками: Cell immunized:								
<i>C. albicans</i>	77,7	59,3	64,6	71,7	60,5	72,7	75,8	0,820
<i>R. mucilaginosa</i>	75,0	42,5	52,5	66,5	53,2	47,8	70,4	0,575
<i>M. furfur</i>	81,0	65,1	69,1	70,8	69,8	69,9	75,4	0,760
<i>Cr. neoformans</i>	82,5	53,1	55,2	41,2	58,4	54,2	69,6	0,644
<i>G. candidum</i>	84,3	58,3	68,2	66,6	63,2	68,5	69,1	0,883
<i>T. cutaneum</i>	76,9	64,0	76,1	67,2	70,2	75,1	69,4	0,703
<i>S. cerevisiae</i>	82,7	62,3	83,5	72,6	62,2	55,3	56,5	0,417
Достоверность различий** Significance**	$p \geq 0,05$	$p \leq 0,01$	$p \geq 0,05$	$p \leq 0,01$	$p \geq 0,05$	$p \geq 0,05$	$p \leq 0,01$	$p \leq 0,01$
Вектор изменения общей актив- ности в результате иммунизации The vector of change in overall activity as a result of immunization	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓

Примечание. *Медиана из 4 значений. ** Достоверность различий между выборкой неиммунизированных и иммунизированных кроликов.
Note. * Median of 4 values. ** Significance of differences between the sample of non-immunized and immunized rabbits.

Таблица 2. Изменение ПГА фракции сывороточных антимикробных пептидов кроликов в ответ на иммунизацию дрожжевыми клетками
Table 2. The change in antifungal activity of fractions of serum antimicrobial peptides of rabbits in response to immunization with yeast cells

Сыворотки кроликов Rabbit serum	Активность сывороток против следующих культур дрожжей, % (медианы)							Корреляция с АМП-активностью неиммунизированных кроликов Correlation with the AMP activity of non-immunized rabbits
	<i>C. albicans</i>	<i>R. mucilaginosa</i>	<i>M. furfur</i>	<i>Cr. neoformans</i>	<i>G. candidum</i>	<i>T. cutaneum</i>	<i>S. cerevisiae</i>	
Неиммунизированных* Non-immunized	35,2	34,2	14,1	28,5	8,0	22,0	15,2	
Иммунизированных клетками: Cell immunized:								
<i>C. albicans</i>	51,4	46,5	15,1	46,3	11,8	51,2	22,0	0,899
<i>R. mucilaginosa</i>	33,8	15,3	17,0	41,0	4,9	7,3	12,2	0,672
<i>M. furfur</i>	30,7	41,7	11,5	32,4	0	36,4	20,5	0,858
<i>Cr. neoformans</i>	39,6	43,5	20,0	34,3	15,1	8,6	10,1	0,816
<i>G. candidum</i>	39,6	40,6	11,2	35,4	10,0	31,7	19,0	0,965
<i>T. cutaneum</i>	38,3	30,3	10,7	32,9	7,4	9,6	8,6	0,917
<i>S. cerevisiae</i>	34,0	31,4	21,4	37,9	13,8	17,7	20,3	0,865
Достоверность различий** Significance**	$p \leq 0,01$	$p \leq 0,01$	$p \leq 0,01$	$p \leq 0,01$	$p \leq 0,01$	$p \leq 0,01$	$p \geq 0,05$	
Вектор изменения активности АМП-фракции в результате иммунизации The vector of changes in the activity of the AMP fraction as a result of immunization	↑	↓	↓	↑	↑	↓	↑	

Примечание. *Среднее из 4 значений. **Достоверность различий между выборкой неиммунизированных и иммунизированных кроликов.
 Note. * Median of 4 values. ** Significance of differences between the sample of non-immunized and immunized rabbits.

зина-3 в результате иммунизации мышей живыми клетками *Pseudomonas aeruginosa* [9]. На группе здоровых добровольцев, получавших живые аттенуированные бактериальные вакцины, показано подавление экспрессии эпителиального кишечного альфа-дефензина [10]. При иммунизации мышей антигенами разных видов дрожжей наблюдали увеличение специфических иммуноглобулинов наряду с повышением активности АМП-фракции сывороток животных по отношению к одному виду дрожжей, а именно *C. albicans* [4].

В настоящей работе оценивали не только активность АМП-фракций сыворотки против *C. albicans* в результате иммунизации животных, но и ту же активность против других значимых видов дрожжей, а также общую ПГА сывороток. Оказалось, что общая ПГА сывороток под действием иммунизации менялась незначительно, однако имела тенденцию к снижению независимо от вида дрожжей. В то же время активность АМП-фракций сывороток варьировала гораздо сильнее, при этом имела место зависимость от вида дрожжевых грибов: под действием *C. albicans*, *Cr. neoformans*, *G. candidum* и *S. cerevisiae* она значительно возрастала, а под действием прочих — снижалась. Обращает на себя внимание тот факт, что общая активность сывороток (и активность их АМП-фракций) у «чистых» и иммунизированных кроликов коррелировала между собой, что свидетельствует о некоторой специфичности по отношению к разным видам испытуемых дрожжей. Наиболее высокая чувствительность к АМП-фракции сывороток характерна для *C. albicans*, особенно в отношении сыворотки кролика, иммунизированного этими же дрожжами. Очевидно, что наибольшую активность АМП-фракции организм проявляет в отношении грибов, наиболее часто выступающих в качестве возбудителя микозов. Именно их антигены, попадая в организм животного, вызывают повышение иммунного ответа не только в виде специфических иммуноглобулинов, но и в виде комплекса АМП. Напротив, наименьшую активность организм проявляет по отношению к представителям нормобиоты и видам, поступающим с пищевыми продуктами.

Недавно установлено, что сывороточный альбумин в физиологических концентрациях (порядка 50 мг/мл и выше) обладает непосредственным антимикробным действием на клетки дрожжевых грибов и бактерий, проявляя при этом дозозависимый эффект [10]. Определение концентрации альбумина в настоящем исследовании показало отсутствие существенных различий в этих показателях у иммунизированных и неиммунизированных животных. Однако для некоторых видов дрожжей наблюдалась корреляция между концентрацией альбумина и общей активностью сыворотки. Величина коэффициента корреляции Пирсона убывала в

ряду: *C. albicans* — *R. mucilaginosa* — *M. furfur* — *T. cutaneum* — *G. candidum* — *Cr. neoformans* — *S. cerevisiae*. Наиболее высокой взаимосвязь между общей ПГА сыворотки и концентрацией альбумина была в случае дрожжей *C. albicans*.

Заключение

Альбумин сыворотки, как и АМП, обладает специфичностью в отношении разных дрожжевых грибов, причем наибольшую активность они проявляют в отношении тех видов, которые чаще выступают в роли условных патогенов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zaslhoff M. Antimicrobial peptides in health and disease. *N. Engl. J. Med.* 2002; 347(15): 1199-200. DOI: <http://doi.org/10.1056/NEJMe020106>
2. Арзуманян В.Г., Михайлова Н.А., Артемьева Т.А., Бутовченко Л.М., Вартанова Н.О., Ерофеева Т.В. и др. Способ определения противомикробной активности цельной сыворотки и фракции ее антимикробных пептидов. Патент РФ № 2686337С1; 2018.
3. Арзуманян В.Г., Артемьева Т.А., Иксанова А.М. Противогрибковая активность сыворотки крови человека и некоторых млекопитающих. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2019; (1): 17-22. DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-1-17-22>
4. Arzumanyan V., Shmeleva O., Michailova N. Elevated activity levels of serum antimicrobial peptides in mice as response to immunization with yeast antigens. *Med. Mycol. Open Access.* 2017; 3(1): 23. DOI: <http://doi.org/10.21767/2471-8521.100023>
5. Арзуманян В.Г., Ожован И.М. Модифицированный метод оценки целостности цитоплазматической мембраны клеток эукариот. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2002; 134(7): 118-20.
6. Арзуманян В.Г., Шмелева О.А. Клинически значимые дрожжевые грибы — классификация, антигены и современные методы диагностики. В кн.: Дьяков Ю.Т., Сергеев А.Ю., ред. *Микология сегодня. Том III.* М.: Национальная академия микологии; 2016: 116-39.
7. Арзуманян В.Г. Дрожжи рода *Malassezia*: таксономия, идентификация, значение в экологии и патологии человека. В кн.: Дьяков Ю.Т., Сергеев Ю.В., ред. *Новое в систематике и номенклатуре грибов.* М.: Медицина для всех; 2003: 458-92.
8. Bals R., Wang X., Meegalla R.L., Wattler S., Weiner D.J., Nehls M.C., et al. Mouse beta-defensin 3 is an inducible antimicrobial peptide expressed in the epithelia of multiple organs. *Infect. Immun.* 1999; 67(7): 3542-7.
9. Simuyandi M., Kapulu M., Kelly P. Anti-microbial peptide gene expression during oral vaccination: analysis of a randomized controlled trial. *Clin. Exp. Immunol.* 2016; 186(2): 205-13. DOI: <http://doi.org/10.1111/cei.12848>
10. Арзуманян В.Г., Ожован И.М., Свитич О.А. Антимикробное действие альбумина на клетки бактерий и дрожжей. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2019; 167(6): 722-5.

REFERENCES

1. Zaslhoff M. Antimicrobial peptides in health and disease. *N. Engl. J. Med.* 2002; 347(15): 1199-200. DOI: <http://doi.org/10.1056/NEJMe020106>
2. Arzumanyan V.G., Mikhaylova N.A., Artem'eva T.A., Butovchenko L.M., Vartanova N.O., Erofeeva T.V., et al. Method

- of determining antimicrobial activity of whole serum and fraction of its antimicrobial peptides. Patent RF № 2686337C1; 2018. (in Russian)
- Arzumanyan V.G., Artem'eva T.A., Iksanova A.M. Antifungal activity of human and some mammals sera. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2019; (1): 17-22. DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-1-17-22> (in Russian)
 - Arzumanian V., Shmeleva O., Michailova N. Elevated activity levels of serum antimicrobial peptides in mice as response to immunization with yeast antigens. *Med. Mycol. Open Access*. 2017; 3(1): 23. DOI: <http://doi.org/10.21767/2471-8521.100023>
 - Arzumanyan V.G., Ozhovan I.M. Modified method for evaluation of plasma membrane integrity in eukaryotic cell. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2002; 134(7): 118-20. (in Russian)
 - Arzumanyan V.G., Shmeleva O.A. Clinically important yeasts — classification, antigens and modern methods of diagnostics. In: D'yakov Yu.T., Sergeev A.Yu., eds. *Mycology Today. Volume III [Mikologiya segodnya. Tom III]*. Moscow: National Academy of Mycology; 2016: 116-39. (in Russian)
 - Arzumanyan V.G. Yeast *Malassezia*: taxonomy, identification, significance in human ecology and pathology. In: D'yakov Yu.T., Sergeev Yu.V., eds. *New in Systematics and Nomenclature of Fungi [Novoe v sistematike i nomenklature gribov]*. Moscow: Meditsina dlya vsekh; 2003: 458-92. (in Russian)
 - Bals R., Wang X., Meegalla R.L., Wattler S., Weiner D.J., Nehls M.C., et al. Mouse beta-defensin 3 is an inducible antimicrobial peptide expressed in the epithelia of multiple organs. *Infect. Immun.* 1999; 67(7): 3542-7.
 - Simuyandi M., Kapulu M., Kelly P. Anti-microbial peptide gene expression during oral vaccination: analysis of a randomized controlled trial. *Clin. Exp. Immunol.* 2016; 186(2): 205-13. DOI: <http://doi.org/10.1111/cei.12848>
 - Arzumanyan V.G., Ozhovan I.M., Svitich O.A. Antimicrobial effect of albumin on bacterial and yeasts cells. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2019; 167(6): 722-5. (in Russian)

Информация об авторах:

Арзуманян Вера Георгиевна — д.б.н., проф., зав. лабораторией физиологии грибов и бактерий ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9769-1634>. E-mail: veraar@mail.ru

Иксанова Асия Мунировна — лаборант-исследователь лаборатории физиологии грибов и бактерий ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8841-910X>. E-mail: asya7700@mail.ru

Артемьева Тамара Алексеевна — ведущий технолог лаборатории физиологии грибов и бактерий ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5187-6676>. E-mail: tamar1946@mail.ru

Бутовченко Любовь Михайловна — ведущий инженер лаборатории физиологии грибов и бактерий ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1964-2399>. E-mail: lubu1504@mail.ru

Участие авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Information about the authors:

Vera G. Arzumanian — Doct. Sci. (Biol.), Prof., Head, Laboratory of physiology of fungi and bacteria, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9769-1634>. E-mail: veraar@mail.ru

Asiya M. Iksanova — research assistant, Laboratory of physiology of fungi and bacteria, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8841-910X>. E-mail: asya7700@mail.ru

Tamara A. Artemyeva — lead technologist, Laboratory of physiology of fungi and bacteria, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5187-6676>. E-mail: tamar1946@mail.ru

Lyubov M. Butovchenko — lead engineer, Laboratory of physiology of fungi and bacteria, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1964-2399>. E-mail: lubu1504@mail.ru

Contribution: the authors contributed equally to this article.

© ГОДОВАЛОВ А.П., КАРПУНИНА Т.И., 2020

Состав микробиоты репродуктивного тракта женщин при бесплодии

Годовалов А.П.[✉], Карпунина Т.И.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера»
Минздрава России, 614990, Пермь, Россия

Введение. В настоящее время вопрос об участии комменсальной, в том числе условно-патогенной, микрофлоры в развитии бесплодия остается дискуссионным. Для решения этого вопроса активно внедряются молекулярно-генетические методы исследования, которые превосходят рутинные методики культивирования по ряду позиций.

Цель исследования — оценить таксономическое разнообразие микроорганизмов в вагинальном биотопе при бесплодии.

Материал и методы. Для исследования использовали образцы вагинального содержимого, полученного из заднего свода влагалища 15 женщин, состоящих в бесплодном браке. Метагеномное исследование 16S рибосомной РНК образцов осуществлено на платформе Illumina MiSeq с использованием набора MiSeq Reagent Kits v3 (600-Cycle Kit) согласно рекомендациям производителя. Библиотеки для секвенирования участков V3-V4 гена 16S рибосомной РНК были приготовлены согласно 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation Illumina. При биоинформационной оценке применяли программное обеспечение для метагеномного анализа — Kraken Metagenomics version 2.0.0 (классификатор ридов — коротких нуклеотидных последовательностей), используя стандартную базу данных.

Результаты. Показано, что встречаемость представителей семейства *Lactobacillaceae* в вагинальном биотопе варьирует от 12 до 84%. Ведущее положение среди представителей семейства занимал род *Lactobacillus* с доминированием *L. jensenii*, *L. delbrueckii* и *L. amylolyticus*. Во всех пробах обнаружены в большом количестве *Moraxella* spp., причем *M. osloensis* лидировали среди представителей всего сообщества. В половине случаев выявлено совместное присутствие *M. osloensis* и *G. vaginalis*.

Заключение. Установлено, что при бесплодии в вагинальной микробиоте существенно снижается количество представителей рода *Lactobacillus*, а также наблюдается смена лидирующего вида на *L. jensenii*, функциональная активность которых не обеспечивает в полной мере колонизационную резистентность вагинального биотопа, допуская избыточное размножение условно-патогенных микроорганизмов, в частности *M. osloensis*.

Ключевые слова: вагинальная микробиота; метагеномное секвенирование; *L. jensenii*; *M. osloensis*; бесплодие.

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Администрации Пермского края в рамках научных проектов 16-44-590429 p_a и 17-44-590404 p_a.

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

Для цитирования: Годовалов А.П., Карпунина Т.И. Состав микробиоты репродуктивного тракта женщин при бесплодии. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(1): 26–31.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-26-31>

Поступила 09.11.2019

Принята в печать 18.12.2019

The Microbiota Continuum along the Reproductive Tract in Women with Infertility

Anatoly P. Godovalov[✉], Tamara I. Karpunina

E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm 614990, Russia

Introduction. At present, the question of commensal, including opportunistic, microflora participation in infertility development remains debatable. In a number of studies, the translocation of the vaginal microflora into the endometrial tissue is considered as a factor contributing to inflammation development. In addition, the connection of some reproductive losses with the persistence of certain conditionally pathogenic microorganisms is shown. Today, to solve this issue, molecular genetic research methods are being actively introduced that surpass the routine cultivation techniques in a number of positions.

The **aim** of the study was to assess the taxonomic diversity of microorganisms in the vaginal biotope with infertility.

Material and methods. For the study samples of vaginal contents obtained from the posterior vaginal fornix of 15 women, consisting of barren marriage, were used. A metagenomic study of 16S ribosomal RNA samples was carried out on the Illumina MiSeq platform, using the MiSeq Reagent Kits v3 kit (600-Cycle Kit), as recommended by the manufacturer. Libraries for sequencing plots of the V3-V4 gene of the 16S ribosomal RNA were prepared according to the 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation Illumina. In bioinformatics assessment, Kraken Metagenomics version 2.0.0 software for metagenomic analysis (classifier of reads — short nucleotide sequences) was used using a standard database.

Results. It was shown that the occurrence of representatives of the *Lactobacillaceae* family in the vaginal biotope varies from 12 to 84%. The genus *Lactobacillus* with the dominance of *L. jensenii*, *L. delbrueckii* and *L. amylolyticus* occupied

the leading position among the members of the family. In all samples, *Moraxella* spp. was found in large numbers, with *M. osloensis* leading among the representatives of the entire community. In half of the cases, the joint presence of *M. osloensis* and *G. vaginalis* was revealed.

Conclusion. It has been established that in infertility in the vaginal microbiota the number of representatives of the genus *Lactobacillus* is significantly reduced, and there is also a change in the leading species to *L. jensenii*, whose functional activity does not fully ensure the colonization resistance of the vaginal biotope, allowing for excessive reproduction of opportunistic microorganisms, in particular, *M. osloensis*.

Keywords: vaginal microbiota; metagenomic sequencing; *L. jensenii*; *M. osloensis*; infertility.

Acknowledgments. The study was financially supported by the Russian Federal Property Fund and the Perm Krai Administration in the framework of scientific projects 16-44-590429 p_a and 17-44-590404 p_a.

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

For citation: Godovalov A.P., Karpunina T.I. The Microbiota Continuum along the Reproductive Tract in Women with Infertility. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, Russian journal.* 2020; 97(1): 26–31. (In Russ.).
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-26-31>

Received 9 November 2019

Accepted 18 December 2019

Женский репродуктивный тракт представляет собой уникальную экосистему [1]. Предполагается, что компоненты микробиоты влагалища могут присутствовать в эндометриальной ткани, вызывая стимуляцию локальных иммунных факторов, в том числе при участии лактобактерий вагинального биотопа. Есть наблюдения, констатирующие возникновение инфекционно-воспалительных заболеваний в репродуктивных органах, обусловленных влагалищной микрофлорой [2]. В ходе недавних исследований, основанных на секвенировании генов 16S рРНК, установлены 5 типов вагинальной микробиоты, в 3–4 из которых лактобактерии составляют более 90% микробного сообщества [3]. Считается, что в случае их доминирования, обеспечивающего в первую очередь низкий уровень рН, а также достаточно высокое содержание метаболитов с антибактериальной активностью (бактериоцины, пероксид и др.), ингибируется рост потенциально опасных микроорганизмов [4–6]. С другой стороны, немало фактов указывает на то, что нарушение состава микробиоты нижних отделов генитального тракта, проявляющееся прежде всего клиникой бактериального вагиноза (БВ), предрасполагает к развитию инфекций мочевыводительной системы, заболеваний, передающихся половым путем, и преждевременным родам [2].

Вопрос об участии микроорганизмов, особенно комменсальных и мутуалистических, в развитии бесплодия к настоящему времени не решен. Если участие таких возбудителей инфекций, передающихся половым путем, как *Chlamydia trachomatis* и *Neisseria gonorrhoeae*, в патогенезе этого недуга достаточно подробно описано [7], то многие другие микроорганизмы остаются пока в области научных интересов. В недавних исследованиях показана связь условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) из нижних отделов генитального тракта женщин с неблагоприятными исходами беременности после как естественного, так и искусствен-

ного оплодотворения [8]. Более того, отмечается, что УПМ при колонизации генитального тракта, как правило, не вызывают типичных симптомов воспалительного процесса, особенно при локализации в его верхних отделах [9]. Отсутствует и однозначное отношение к БВ как причинному фактору бесплодия [10]. БВ относится к синдромам с полимикробной этиологией, когда создается локальное провоспалительное микроокружение со снижением численности протективных лактобактерий и избыточным ростом анаэробных УПМ [11, 12]. Подобные нарушения в вагинальном биотопе обеспечивают условия, облегчающие восходящую диссеминацию микроорганизмов, что в конечном итоге может привести к трубному бесплодию [13]. Более того, развитие беременности на фоне БВ сопровождается клиническими нарушениями, вплоть до ее прерывания [14].

Цель исследования — оценить таксономическое разнообразие микроорганизмов в вагинальном биотопе при бесплодии.

Материал и методы

Для исследования использовали образцы вагинального содержимого, полученного из заднего свода с помощью мерной ложки Фолькмана от 15 женщин, состоящих в бесплодном браке. Метагеномное исследование 16S рибосомной РНК образцов осуществлено на платформе Illumina MiSeq с использованием набора MiSeq Reagent Kits v3 (600-Cycle Kit) согласно рекомендациям производителя. Библиотеки для секвенирования участков V3-V4 гена 16S рибосомной РНК были приготовлены согласно 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation Illumina. При биоинформационной оценке применяли программное обеспечение для метагеномного анализа — Kraken Metagenomics version 2.0.0 (классификатор ридов — коротких нуклеотидных последовательностей), используя стандартную базу данных [15].

Для анализа полученных данных использовали описательную статистику и программу Statistica 7.0. Данные представлены в виде $M \pm \delta$.

Результаты исследования

В вагинальном биотопе женщин с бесплодием регистрировали преимущественно бактериальные таксоны, доля которых в общей массе составляла 49–99% ($83,9 \pm 16,02$). Генетические маркеры бактерий семейства *Lactobacillaceae* обнаруживали в 12–84% ($41,9 \pm 17,99$) образцов, причем в половине случаев их содержание не превышало 30% общей бактериальной массы. Ведущее положение среди представителей семейства занимал род *Lactobacillus* с доминированием *L. jensenii*, *L. delbrueckii* и *L. amylolyticus*. В единичных случаях количество микроорганизмов родов *Lactobacillus* и *Enterococcus* было сопоставимым. *L. crispatus* и *L. gasseri* обнаруживались в ряде проб, но их доля в генетическом материале была минимальной. Против ожидания, *L. iners* не обнаружены ни у одной пациентки.

Ведущих участников в этиологии БВ — *Gardnerella vaginalis* — регистрировали практически во всех пробах, но их доля, как правило, не превышала 1%. Другой возбудитель БВ — *Atopobium vaginae* — не обнаружен ни в одной пробе, однако в 12 из них присутствовал *A. parvulum*, также в незначительных количествах.

Примечательно, что в микробиоте влагалища инфертильных женщин удельное содержание анаэробных бактерий — типичных ассоциантов БВ: *Actinomyces* spp., *Peptoniphilus* spp., *Prevotella* spp., *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp. и *Mobiluncus curtisii* — оказалось минимальным.

Неожиданной находкой для вагинального биотопа стало обнаружение в большом количестве генетического материала *Moraxella* spp. Во всех пробах *M. osloensis* занимала лидирующие позиции среди представителей всего сообщества. Так, в половине случаев выявлено совместное присутствие *M. osloensis* и *G. vaginalis*, при этом первый симбионт преобладал, а численность гарднерелл составляла порядка 10% бактериальной массы. В трети таких случаев присутствовал *Enterococcus faecalis* (8–15%). Кроме этого, *M. osloensis* чаще обнаруживали в пробах, когда среди лактобактерий лидировали представители *L. jensenii*. В 1 случае 20% генетического материала представлял геном *Bifidobacterium longum* в сочетании с *M. osloensis* (19%).

Доля микроорганизмов семейства *Staphylococcaceae* в микробиоте влагалища только в 1 случае составила 0,5%, в остальных обнаруживали следовые количества, при этом преобладали геном-варианты из рода *Staphylococcus*. Во всех пробах обнаружены генетические маркеры *S. aureus*, однако в 3 случаях их количество занимало 2-ю рейтин-

говую позицию, уступив 1-е место *S. haemolyticus*. Практически всегда эти бактерии обнаруживали в ассоциации друг с другом. Аналогично скудное представительство характерно для семейства *Enterobacteriaceae*. Только в 2 случаях их доля в общей микробной массе достигала 0,8%. Во всех пробах обнаружены геномы *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. и комплекса *Enterobacter cloacae*. В 9 случаях лидировали *E. coli*, в 3 — *Klebsiella* spp., и еще в 3 случаях данные геномы выявлены в сопоставимых количествах. В 12 пробах обнаружены геномы микроорганизмов рода *Citrobacter*, но их количество было ничтожно мало.

Обсуждение

Одной из причин снижения фертильности признаются перенесенные специфические урогенитальные инфекции. Как показали результаты нашего исследования, при бесплодии в вагинальном биотопе прослеживаются и заметные изменения в составе нормофлоры: снижается численность лактобактерий, практически элиминируются наиболее полезные, с выраженной антагонистической активностью виды — *L. crispatus* и *L. gasseri*, а также расширяется спектр других микроорганизмов, преимущественно УПМ. Зачастую такие события протекают незаметно для пациента. Ранее показано, что предрасположенность к специфическим инфекционно-воспалительным процессам в генитальном тракте связана с избыточным ростом бактерий, прежде всего ассоциированных с БВ, из родов *Gardnerella*, *Atopobium*, *Prevotella*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Mobiluncus*, *Sneathia*, *Leptotrichia*, *Mycoplasma* и порядка *Clostridiales* [16]. Однако в настоящем исследовании большинство из них если и были обнаружены, то в минимальных количествах.

Известно, что род *Atopobium* представлен 4 видами, один из которых тесно связан с развитием БВ [17]. *A. parvulum* — вид, который обнаруживают преимущественно в ротовой полости [18], однако, по нашим наблюдениям, его генетический материал выделен из влагалища, что косвенно может указывать на широкое распространение нетрадиционных сексуальных практик, что, например, согласуется с данными F.M. Lewis и соавт. [19].

С заметным постоянством детектировали фрагменты генома коккобацилл *M. osloensis*, что оказалось достаточно неожиданным, поскольку эти бактерии являются частью респираторной микрофлоры и относятся к оппортунистическим микроорганизмам, хотя есть сведения об их обнаружении при различных воспалительных процессах, в том числе при вагините [20]. В большинстве случаев упоминается, что пациенты, инфицированные *M. osloensis*, были иммунокомпрометированными. Описано, что основной метаболит этих бакте-

рий — 4-метил-3-гексеновая кислота — участвует в формировании стойкого неприятного запаха [21]. Среди факторов патогенности *M. osloensis* описаны продукция экзотоксина, для накопления которого требуется длительная персистенция микроорганизма, а также липополисахарид, фимбрии, предполагается участие капсулы и некоторых адгезинов [22].

При описании лактобактерий как основных участников микробиоты влагалища основное внимание уделяется *L. crispatus*, которые в настоящем исследовании обнаружены лишь в трети проб и в небольшом количестве. Ведущая позиция принадлежала *L. jensenii*, которые способны продуцировать биосурфактант с антимикробной активностью в отношении *E. coli* и *Candida albicans* и антиадгезивным действием на *E. coli*, *S. saprophyticus* и *Enterobacter aerogenes* [23]. В отношении моракселл таких данных нет. Показано, что *L. jensenii* являются активным продуцентом перекиси водорода [24], однако есть сведения, что антимикробная активность лактобацилл в большей степени определяется молочной кислотой и бактериоцинами [25]. Более того, тот же вид продуцирует и пероксидазу, которая нивелирует действие перекиси [24]. Кроме этого, *L. jensenii* отличаются большей активностью D-лактатдегидрогеназы, участвующей в продукции D-оптического изомера молочной кислоты [26], для которого антимикробная активность менее характерна, чем для L-изомера. Несмотря на вполне убедительные иммуномодулирующие эффекты *L. jensenii* [27], описано участие этого вида в развитии ряда воспалительных заболеваний [28].

В целом, можно предположить, что при развитии бесплодия происходят снижение количества лактобактерий и смена их лидирующего вида. В случае замещения на *L. jensenii* можно ожидать проявление антагонистических свойств в отношении ряда УПМ, в том числе основных возбудителей БВ, однако в силу малой численности, изменения функциональной активности эффективность воздействия лактофлоры снижается и такие микроорганизмы, как *M. osloensis*, могут успешно персистировать в вагинальном биотопе. При этом возможна постепенная колонизация и верхних отделов генитального тракта, что влечет за собой репродуктивные проблемы.

Заключение

У включенных в исследование женщин с бесплодием наблюдались бессимптомно протекающие дисбиотические процессы, характеризующиеся рядом особенностей. В вагинальной микробиоте существенно снижается количество представителей рода *Lactobacillus*. Среди последних доминируют *L. jensenii*, функциональная активность которых не обеспечивает в полной мере колонизацион-

ную резистентность вагинального биотопа, допуская избыточное размножение УПМ, в частности *M. osloensis*. Прослеженные стойкие нарушения в составе микробиоты влагалища в совокупности с изменениями локальной иммунной реактивности могут становиться причиной снижения фертильности, а в запущенных ситуациях — и утраты репродуктивной функции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chen C., Song X., Wei W., Zhong H., Dai J., Lan Z., et al. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat. Commun.* 2017; 8(1): 875.
DOI: <http://doi.org/10.1038/s41467-017-00901-0>
2. Stone L. Infection: Vaginal microbiota and infectious infertility. *Nat. Rev. Urol.* 2018; 15(3): 136.
DOI: <http://doi.org/10.1038/nrurol.2018.11>
3. Ding T., Schloss P.D. Dynamics and associations of microbial community types across the human body. *Nature.* 2014; 509(7500): 357-60.
DOI: <http://doi.org/10.1038/nature13178>
4. Шишкова Ю.С., Долгушина В.Ф., Графова Е.Д., Завьялова С.А., Курносенко И.В., Евстигнеева Н.П. и др. Взаимосвязь функционального статуса нейтрофилов цервикального секрета у беременных женщин с видовым составом лактофлоры. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2018; 95(4): 51-6.
DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-51-56>
5. Сычева М.В., Пешкова Ю.И., Карташова О.Л., Андреева А.В. Регуляция антимикробными пептидами чувствительности микроорганизмов к антагонистическим активным представителям мутуалистической микрофлоры. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2017; 94(6): 21-5.
DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-6-21-25>
6. Ma B., Forney L.J., Ravel J. Vaginal microbiome: rethinking health and disease. *Annu. Rev. Microbiol.* 2012; 66: 371-89.
DOI: <http://doi.org/10.1146/annurev-micro-092611-150157>
7. Sirota I., Zarek S.M., Segars J.H. Potential influence of the microbiome on infertility and assisted reproductive technology. *Semin. Reprod. Med.* 2014; 32(1): 35-42.
DOI: <http://doi.org/10.1055/s-0033-1361821>
8. Fransiak J.M., Werner M.D., Juneau C.R., Tao X., Landis J., Zhan Y., et al. Endometrial microbiome at the time of embryo transfer: next-generation sequencing of the 16S ribosomal subunit. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2016; 33(1): 129-36.
DOI: <http://doi.org/10.1007/s10815-015-0614-z>
9. Campisciano G., Florian F., D'Eustacchio A., Stanković D., Ricci G., De Seta F., et al. Subclinical alteration of the cervical-vaginal microbiome in women with idiopathic infertility. *J. Cell Physiol.* 2017; 232(7): 1681-8.
DOI: <http://doi.org/10.1002/jcp.25806>
10. van Oostrum N., De Sutter P., Meys J., Verstraelen H. Risks associated with bacterial vaginosis in infertility patients: a systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod.* 2013; 28(7): 1809-15.
DOI: <http://doi.org/10.1093/humrep/det096>
11. Михайлова Н.А., Воеводин Д.А., Поддубиков А.В. Коррекция дисбиоза – основа регенеративной медицины. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2018; 95(5): 107-13.
DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-5-107-113>

12. Brotman R.M. Vaginal microbiome and sexually transmitted infections: an epidemiologic perspective. *J. Clin. Invest.* 2011; 121(12): 4610-7.
DOI: <http://doi.org/10.1172/JCI57172>
13. Mastromarino P., Hemalatha R., Barbonetti A., Cinque B., Cifone M.G., Tammaro F., et al. Biological control of vaginosis to improve reproductive health. *Indian J. Med. Res.* 2014; 140(Suppl.): S91-7.
14. Donati L., Di Vico A., Nucci M., Quagliozzi L., Spagnuolo T., Labianca A., et al. Vaginal microbial flora and outcome of pregnancy. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2010; 281(4): 589-600.
DOI: <http://doi.org/10.1007/s00404-009-1318-3>
15. Богун А.Г., Кисличкина А.А., Галкина Е.В., Майская Н.В., Соломенцев В.И., Мухина Т.Н. и др. Использование современных методов идентификации бактерий в деятельности государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур (ГКПМ-Оболensk). *Инфекция и иммунитет.* 2016; 6(3): 8.
16. Onderdonk A.B., Delaney M.L., Fichorova R.N. The human microbiome during bacterial vaginosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2016; 29(2): 223-38.
DOI: <http://doi.org/10.1128/CMR.00075-15>
17. Mendes-Soares H., Krishnan V., Settles M.L., Ravel J., Brown C.J., Forney L.J. Fine-scale analysis of 16S rRNA sequences reveals a high level of taxonomic diversity among vaginal *Atopobium* spp. *Pathog. Dis.* 2015; 73(4): pii: ftv020.
DOI: <http://doi.org/10.1093/femspd/ftv020>
18. Copeland A., Sikorski J., Lapidus A., Nolan M., Del Rio T.G., Lucas S., et al. Complete genome sequence of *Atopobium parvulum* type strain (IPP 1246). *Stand. Genomic Sci.* 2009; 1(2): 166-73.
DOI: <http://doi.org/10.4056/sigs.29547>
19. Lewis F.M., Bernstein K.T., Aral S.O. Vaginal microbiome and its relationship to behavior, sexual health, and sexually transmitted diseases. *Obstet. Gynecol.* 2017; 129(4): 643-54.
DOI: <http://doi.org/10.1097/AOG.0000000000001932>
20. Gómez-Camarasa C., Fernández-Parra J., Navarro-Marí J.M., Gutiérrez-Fernández J. *Moraxella osloensis* emerging infection. Visiting to genital infection. *Rev. Esp. Quimioter.* 2018; 31(2): 178-81. (in Spanish)
21. Goto T., Hirakawa H., Morita Y., Tomida J., Sato J., Matsumura Y., et al. Complete genome sequence of *Moraxella osloensis* strain KMC41, a producer of 4-Methyl-3-Hexenoic acid, a major malodor compound in laundry. *Genome Announc.* 2016; 4(4): e00705-16.
DOI: <http://doi.org/10.1128/genomeA.00705-16>
22. Tan L., Grewal P.S. Pathogenicity of *Moraxella osloensis*, a bacterium associated with the nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*, to the slug *Deroceras reticulatum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001; 67(11): 5010-6.
DOI: <http://doi.org/10.1128/AEM.67.11.5010-5016.2001>
23. Morais I.M.C., Cordeiro A.L., Teixeira G.S., Domingues V.S., Nardi R.M.D., Monteiro A.S., et al. Biological and physicochemical properties of biosurfactants produced by *Lactobacillus jensenii* P6A and *Lactobacillus gasseri* P65. *Microb. Cell Fact.* 2017; 16(1): 155.
DOI: <http://doi.org/10.1186/s12934-017-0769-7>
24. Martin R., Suarez J.E. Biosynthesis and degradation of H₂O₂ by vaginal lactobacilli. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010; 76(2): 400-5.
DOI: <http://doi.org/10.1128/AEM.01631-09>
25. O'Hanlon D.E., Moench T.R., Cone R.A. In vaginal fluid, bacteria associated with bacterial vaginosis can be suppressed with lactic acid but not hydrogen peroxide. *BMC Infect. Dis.* 2011; 11: 200.
DOI: <http://doi.org/10.1186/1471-2334-11-200>
26. Kim S., Gu S.A., Kim Y.H., Kim K.J. Crystal structure and thermodynamic properties of d-lactate dehydrogenase from *Lactobacillus jensenii*. *Int. J. Biol. Macromol.* 2014; 68: 151-7.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.04.048>
27. Tsukida K., Takahashi T., Iida H., Kanmani P., Suda Y., Nuchi T., et al. Immunoregulatory effects triggered by immunobiotic *Lactobacillus jensenii* TL2937 strain involve efficient phagocytosis in porcine antigen presenting cells. *BMC Immunol.* 2016; 17(1): 21.
DOI: <http://doi.org/10.1186/s12865-016-0160-1>
28. Patnaik S., Davila C.D., Chennupati A., Rubin A. Endocarditis of the native aortic valve caused by *Lactobacillus jensenii*. *BMJ Case Rep.* 2015; 2015: bcr2014206288.
DOI: <http://doi.org/10.1136/bcr-2014-206288>

REFERENCES

1. Chen C., Song X., Wei W., Zhong H., Dai J., Lan Z., et al. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat. Commun.* 2017; 8(1): 875.
DOI: <http://doi.org/10.1038/s41467-017-00901-0>
2. Stone L. Infection: Vaginal microbiota and infectious infertility. *Nat. Rev. Urol.* 2018; 15(3): 136.
DOI: <http://doi.org/10.1038/nrurol.2018.11>
3. Ding T., Schloss P.D. Dynamics and associations of microbial community types across the human body. *Nature.* 2014; 509(7500): 357-60.
DOI: <http://doi.org/10.1038/nature13178>
4. Shishkova Yu.S., Dolgushina V.F., Grafova E.D., Zav'yalova S.A., Kurnosenko I.V., Evstigneeva N.P., et al. Cervical mucus neutrophils functional status interaction with the species composition of vaginal lactobacilli in pregnant women. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2018; 95(4): 51-6.
DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-51-56> (in Russian)
5. Sycheva M.V., Peshkova Yu.I., Kartashova O.L., Andreeva A.V. Regulation of microorganisms sensitivity to antagonistic active representatives of mutualistically microflora by the antimicrobial peptides. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2017; 94(6): 21-5.
DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-6-21-25> (in Russian)
6. Ma B., Forney L.J., Ravel J. Vaginal microbiome: rethinking health and disease. *Annu. Rev. Microbiol.* 2012; 66: 371-89.
DOI: <http://doi.org/10.1146/annurev-micro-092611-150157>
7. Sirota I., Zarek S.M., Segars J.H. Potential influence of the microbiome on infertility and assisted reproductive technology. *Semin. Reprod. Med.* 2014; 32(1): 35-42.
DOI: <http://doi.org/10.1055/s-0033-1361821>
8. Frasiak J.M., Werner M.D., Juneau C.R., Tao X., Landis J., Zhan Y., et al. Endometrial microbiome at the time of embryo transfer: next-generation sequencing of the 16S ribosomal subunit. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2016; 33(1): 129-36.
DOI: <http://doi.org/10.1007/s10815-015-0614-z>
9. Campisciano G., Florian F., D'Eustacchio A., Stanković D., Ricci G., De Seta F., et al. Subclinical alteration of the cervical-vaginal microbiome in women with idiopathic infertility. *J. Cell Physiol.* 2017; 232(7): 1681-8.
DOI: <http://doi.org/10.1002/jcp.25806>
10. van Oostrum N., De Sutter P., Meys J., Verstraelen H. Risks associated with bacterial vaginosis in infertility patients: a systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod.* 2013; 28(7): 1809-15.
DOI: <http://doi.org/10.1093/humrep/det096>
11. Mikhaylova N.A., Voevodin D.A., Poddubikov A.V. Disbiosis correction – the basis of regenerative medicine. *Zhurnal mikro-*

- biologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2018; 95(5): 107-13.
DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-5-107-113> (in Russian)
12. Brotman R.M. Vaginal microbiome and sexually transmitted infections: an epidemiologic perspective. *J. Clin. Invest.* 2011; 121(12): 4610-7.
DOI: <http://doi.org/10.1172/JCI57172>
 13. Mastromarino P., Hemalatha R., Barbonetti A., Cinque B., Cifone M.G., Tammaro F., et al. Biological control of vaginosis to improve reproductive health. *Indian J. Med. Res.* 2014; 140(Suppl.): S91-7.
 14. Donati L., Di Vico A., Nucci M., Quagliozi L., Spagnuolo T., Labianca A., et al. Vaginal microbial flora and outcome of pregnancy. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2010; 281(4): 589-600.
DOI: <http://doi.org/10.1007/s00404-009-1318-3>
 15. Bogun A.G., Kislichkina A.A., Galkina E.V., Mayskaya N.V., Solomentsev V.I., Mukhina T.N., et al. The use of modern methods for identifying bacteria in the activities of the state collection of pathogenic microorganisms and cell cultures (GKPM-Obolensk). *Infektsiya i immunitet*. 2016; 6(3): 241. (in Russian)
 16. Onderdonk A.B., Delaney M.L., Fichorova R.N. The human microbiome during bacterial vaginosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2016; 29(2): 223-38.
DOI: <http://doi.org/10.1128/CMR.00075-15>
 17. Mendes-Soares H., Krishnan V., Settles M.L., Ravel J., Brown C.J., Forney L.J. Fine-scale analysis of 16S rRNA sequences reveals a high level of taxonomic diversity among vaginal *Atopobium* spp. *Pathog. Dis.* 2015; 73(4): pii: ftv020.
DOI: <http://doi.org/10.1093/femspd/ftv020>
 18. Copeland A., Sikorski J., Lapidus A., Nolan M., Del Rio T.G., Lucas S., et al. Complete genome sequence of *Atopobium parvulum* type strain (IPP 1246). *Stand. Genomic Sci.* 2009; 1(2): 166-73.
DOI: <http://doi.org/10.4056/sigs.29547>
 19. Lewis F.M., Bernstein K.T., Aral S.O. Vaginal microbiome and its relationship to behavior, sexual health, and sexually transmitted diseases. *Obstet. Gynecol.* 2017; 129(4): 643-54.
DOI: <http://doi.org/10.1097/AOG.0000000000001932>
 20. Gómez-Camarasa C., Fernández-Parra J., Navarro-Marí J.M., Gutiérrez-Fernández J. *Moraxella osloensis* emerging infection. Visiting to genital infection. *Rev. Esp. Quimioter.* 2018; 31(2): 178-81. (in Spanish)
 21. Goto T., Hirakawa H., Morita Y., Tomida J., Sato J., Matsumura Y., et al. Complete genome sequence of *Moraxella osloensis* strain KMC41, a producer of 4-Methyl-3-Hexenoic acid, a major malodor compound in laundry. *Genome Announc.* 2016; 4(4): e00705-16.
DOI: <http://doi.org/10.1128/genomeA.00705-16>
 22. Tan L., Grewal P.S. Pathogenicity of *Moraxella osloensis*, a bacterium associated with the nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*, to the slug *Deroceras reticulatum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001; 67(11): 5010-6.
DOI: <http://doi.org/10.1128/AEM.67.11.5010-5016.2001>
 23. Morais I.M.C., Cordeiro A.L., Teixeira G.S., Domingues V.S., Nardi R.M.D., Monteiro A.S., et al. Biological and physicochemical properties of biosurfactants produced by *Lactobacillus jensenii* P6A and *Lactobacillus gasseri* P65. *Microb. Cell Fact.* 2017; 16(1): 155.
DOI: <http://doi.org/10.1186/s12934-017-0769-7>
 24. Martin R., Suarez J.E. Biosynthesis and degradation of H₂O₂ by vaginal lactobacilli. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010; 76(2): 400-5.
DOI: <http://doi.org/10.1128/AEM.01631-09>
 25. O'Hanlon D.E., Moench T.R., Cone R.A. In vaginal fluid, bacteria associated with bacterial vaginosis can be suppressed with lactic acid but not hydrogen peroxide. *BMC Infect. Dis.* 2011; 11: 200.
DOI: <http://doi.org/10.1186/1471-2334-11-200>
 26. Kim S., Gu S.A., Kim Y.H., Kim K.J. Crystal structure and thermodynamic properties of d-lactate dehydrogenase from *Lactobacillus jensenii*. *Int. J. Biol. Macromol.* 2014; 68: 151-7.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.04.048>
 27. Tsukida K., Takahashi T., Iida H., Kanmani P., Suda Y., Nochi T., et al. Immunoregulatory effects triggered by immunobiotic *Lactobacillus jensenii* TL2937 strain involve efficient phagocytosis in porcine antigen presenting cells. *BMC Immunol.* 2016; 17(1): 21.
DOI: <http://doi.org/10.1186/s12865-016-0160-1>
 28. Patnaik S., Davila C.D., Chennupati A., Rubin A. Endocarditis of the native aortic valve caused by *Lactobacillus jensenii*. *BMJ Case Rep.* 2015; 2015: bcr2014206288.
DOI: <http://doi.org/10.1136/bcr-2014-206288>

Информация об авторах:

Годовалов Анатолий Петрович[✉] — к.м.н., доцент кафедры микробиологии с курсом вирусологии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера», 614990, Пермь, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5112-2003>. E-mail: agodovalov@gmail.com

Карпунина Тамара Исаковна — д.б.н., проф. кафедры микробиологии с курсом вирусологии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера», 614990, Пермь, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2511-4656>. E-mail: karpuninapsma@mail.ru

Участие авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Information about the authors:

Anatoly P. Godovalov[✉] — Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Department of microbiology with a course of virology, E.A.Vagner Perm State Medical University, 614990, Perm, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5112-2003>. E-mail: agodovalov@gmail.com

Tamara I. Karpunina — Doct. Sci. (Biol.), Prof., Department of microbiology with a course of virology, E.A.Vagner Perm State Medical University, 614990, Perm, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2511-4656>. E-mail: karpuninapsma@mail.ru

Contribution: the authors contributed equally to this article.

Современные эпидемиологические особенности вирусных гепатитов В и С, туберкулеза и ВИЧ-инфекции в психиатрических стационарах

Асратян А.А.¹, Семенов Т.А.¹, Кальнин И.Б.², Орлова О.А.³, Соловьев Д.В.⁴, Русакова Е.В.¹, Казарян С.М.¹, Кузин С.Н.^{1,5}

¹ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия;

²ГБУЗ Московской области «Психиатрическая больница № 2 имени В.И. Яковенко», 142360, пос. Мещерское, Московская обл., Россия;

³ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, 105203, Москва, Россия;

⁴ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве», 129626, Москва, Россия;

⁵ГБУЗ Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского», 129110, Москва, Россия

Актуальность. Психиатрические стационары, где находятся пациенты с иммунодефицитными состояниями, часто не соблюдающие элементарных мер профилактики, а также получающие широкий спектр лечебных процедур, в том числе парентеральных, во всем мире являются учреждениями высокого риска распространения в них социально значимых инфекций.

Цель — изучить современные эпидемиологические особенности парентеральных гепатитов в крупном психиатрическом стационаре среди различных категорий душевнобольных (с туберкулезом легких и ВИЧ-инфекцией) и медицинского персонала.

Материал и методы. Определены серологические маркеры гепатита В (ГВ) и гепатита С (ГС) у 8352 больных и 542 сотрудников крупного психиатрического стационара с применением отечественных диагностических тест-систем.

Результаты. Маркеры ГВ и ГС среди больных выявлены у 7,3% лиц (ГС — 3,1%, ГВ — 2,8% и ГВ+ГС — 1,4%). Проведен анализ половых, возрастных и социальных характеристик пациентов с наличием маркеров вирусов ГВ и ГС. У ВИЧ-инфицированных пациентов значительно чаще были выявлены маркеры ГС (44,4% лиц); основные пути передачи ГВ и ГС — внутривенное употребление наркотиков и половой путь. Среди пациентов с туберкулезом легких обнаружено максимальное количество лиц с маркерами ГВ (44,3%) и ГВ+ГС (38,2%); основная клиническая форма туберкулеза легких представлена инфильтративной формой (60,4%); в 53,7% случаев выявлены бациллярные формы туберкулеза, представляющие серьезную эпидемиологическую опасность распространения туберкулеза в стационаре. Анализ социальной структуры показал, что ГВ+ГС+ВИЧ и туберкулез легких характерны для лиц с отягощенным социальным статусом. Наиболее частыми факторами инфицирования ГВ и ГС является длительная парентеральная нагрузка и внутривенное употребление наркотических веществ. Наибольший коэффициент парентеральной нагрузки отмечается у душевнобольных с ГВ+ГС и сопутствующим туберкулезом. Частота выявления маркеров ГВ и ГС среди медицинского персонала зависит от характера и стажа работы, частоты и степени контакта с кровью в процессе профессиональной деятельности.

Заключение. Установлен высокий уровень коморбидности психических расстройств и социально значимых инфекционных заболеваний (ВИЧ-инфекция, туберкулез, ГВ и ГС), что оказывает существенное влияние на эпидемиологический процесс этих инфекций. Профилактические программы, создаваемые в стационарах и на обслуживаемых ими территориях, должны учитывать аспекты их коморбидности. Показана необходимость специфической и неспецифической профилактики вирусных гепатитов у пациентов и медицинского персонала психиатрических стационаров.

Ключевые слова: психиатрический стационар; больные туберкулезом легких; вирусные гепатиты В и С; ВИЧ-инфекция; медицинский персонал; профилактика.

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

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

Для цитирования: Асратян А.А., Семенов Т.А., Кальнин И.Б., Орлова О.А., Соловьев Д.В., Русакова Е.В., Казарян С.М., Кузин С.Н. Современные эпидемиологические особенности вирусных гепатитов В и С, туберкулеза и ВИЧ-инфекции в психиатрических стационарах. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(1): 32–39.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-32-39>

Current Epidemiological Features of Viral Hepatitis B and C, Tuberculosis and HIV Infection In Psychiatric Hospitals

Arpik A. Asratyan^{1✉}, Tatyana A. Semenenko¹, Igor B. Kal'nin², Oksana A. Orlova³, Dmitry V. Soloviev⁴, Ekaterina V. Rusakova¹, Serine M. Kazaryan¹, Stanislav N. Kuzin^{1,5}

¹National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, 123098, Moscow, Russia;

²Psychiatric Hospital No. 2 named after V.I. Yakovenko, 142360, Meshcherskoye, Moscow region, Russia;

³N.I. Pirogov National Medical and Surgical Center, 105203, Moscow, Russia;

⁴Center for Hygiene and Epidemiology in the City of Moscow, 129626, Moscow, Russia;

⁵M.F. Vladimirsky Moscow Regional Clinical Research Institute, 129110, Moscow, Russia

Background. Psychiatric hospitals, where patients with immunodeficiency often do not comply with basic preventive measures, as well as receiving a wide range of medical procedures, including parenteral ones, are the institutions of high risk of socially significant infections spreading.

The **aim** was to study the current epidemiological features of parenteral hepatitis among various categories of mentally ill patients (with pulmonary tuberculosis and HIV infection) and medical personnel in a large psychiatric hospital.

Materials and methods. Serological markers of hepatitis B (HB) and hepatitis C (HC) were determined in 8352 patients and 542 employees of a large psychiatric hospital using domestic diagnostic test systems.

Results. Markers of HB and HC among patients were revealed in 7.2% of persons (HB — 2.8%, HC — 3.1%, and HB+HC — 1.4%). The analysis of sex, age and social characteristics of HBV- and HCV-patients was conducted. Markers of HC were significantly more common in HIV-infected patients (44.4% of individuals); the main routes of transmission of HB and HC were intravenous drug use and sexual intercourse. Among patients with pulmonary tuberculosis, the maximum number of persons was found with markers of HB (44.3%) and HB+HC (38.2%); the main clinical form of pulmonary tuberculosis was represented by the infiltrative form (60.4%); in 53,7% of cases the bacillary forms were identified that pose a serious epidemiological risk in the spread of tuberculosis in the hospital. Analysis of the social structure showed that HBV+HC+HIV and pulmonary tuberculosis are characteristics of persons with aggravated social status. The most frequent factors of infection with HBV and HCV were longterm parenteral loading and intravenous drug use. The greatest factor of parenteral load was observed in mentally ill patients diagnosed with HB+HC accompanying tuberculosis. It was shown that the frequency of HBV and HCV markers detection among medical personnel depends on the department profile, work duration, frequency and risk of contact with blood during professional activity.

Conclusion. A high level of comorbidity of mental disorders and socially significant infectious diseases (HIV infection, tuberculosis and HB and HC) has been established, which has a significant impact on the epidemic process of these infections. Preventive programmes established in hospitals and in the territories they serve should take into account their comorbidity. The necessity of specific and non-specific prevention of viral hepatitis in patients and medical staff of psychiatric hospitals is shown.

Keywords: *psychiatric hospital; patients with pulmonary tuberculosis; viral hepatitis B and C; HIV infection; medical personnel; prevention.*

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

For citation: Asratyan A.A., Semenenko T.A., Kal'nin I.B., Orlova O.A., Soloviev D.V., Rusakova E.V., Kazaryan S.M., Kuzin S.N. Current Epidemiological Features of Viral Hepatitis B and C, Tuberculosis and HIV Infection In Psychiatric Hospitals. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, Russian journal.* 2020; 97(1): 32–39. (In Russ.).
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-32-39>

Received 9 December 2019

Accepted 18 December 2019

Актуальность

Психиатрические стационары во всем мире являются учреждениями высокого риска распространения в них социально значимых инфекций. В этих профильных стационарах находятся пациенты с иммунодефицитными состояниями, часто не соблюдающие элементарных мер профилактики, также они получают широкий спектр лечебных процедур, в том числе парентеральных [1–5]. Психические расстройства наряду с вирусными гепатитами В (ГВ) и С (ГС), туберкулезом, ВИЧ-инфекцией, злокачественными новообразованиями входят в перечень социально значимых заболеваний, утвержден-

ный постановлением Правительства РФ № 715 от 01.12.2004.

Психически больных с диагнозами «шизофрения», «алкогольные психозы» относят к группе лиц с наиболее высоким риском заболевания туберкулезом. Показатель смертности от туберкулеза психически больных в несколько раз превышает его среди людей, не страдающих психическими заболеваниями. Опасность заболевания туберкулезом контингентов психически больных заключается в возможности распространения инфекции [2, 3, 6, 7]. У большинства психически больных туберкулез сопровождается распадом легкого и бактериовыделением. Для

психически больных характерен скачкообразный рост заболеваемости и смертности от туберкулеза, связанный с групповыми внутрибольничными вспышками туберкулеза. По имеющимся данным, внутрибольничный туберкулез легких выявляется в инфильтративной, очаговой формах, а также в стадиях распада и диссеминирования с выделением микобактерий во внешнюю среду, т.е. в эпидемиологически опасных формах инфекции. Высокая распространенность вредных привычек (табакокурения, алкоголизма, наркомании) среди этих пациентов является дополнительным фактором риска внутрибольничной заболеваемости туберкулезом, что в значительной степени осложняет течение туберкулеза и снижает эффективность лечения. В связи с распространенностью наркомании остро стоит проблема ВИЧ-инфекции. Хорошо известно о наличии пограничных нервно-психических расстройств у ВИЧ-инфицированных больных. В настоящее время доказано, что ВИЧ-инфекция увеличивает риск заболевания туберкулезом и смертность от него.

К группам риска по инфицированию и заболеванию ГВ и ГС относятся прежде всего лица, злоупотребляющие внутривенным введением наркотических препаратов и имеющие при этом многочисленные половые контакты, а также определенные профессиональные группы, часто контактирующие с кровью и другими биологическими жидкостями, в том числе медицинские работники (акушеры, гинекологи, хирурги, стоматологи, дерматовенерологи и пр.). Сведения о пораженности этими инфекциями пациентов и медицинского персонала крупных стационаров, в том числе психоневрологического профиля, весьма ограничены и фрагментарны. Имеются данные о достаточно частом сочетании разных инфекций у душевнобольных, в частности вирусных гепатитов, ВИЧ-инфекции, туберкулеза легких [8–11].

Вследствие традиционной закрытости информации эпидемиологические закономерности и особенности этих инфекций в лечебно-профилактических учреждениях данного профиля изучены недостаточно. Для обоснования адекватных мер их профилактики в данных стационарах необходимы дальнейшие научные исследования распространения серологических маркеров вирусов гепатитов, ВИЧ-инфекции среди пациентов и медицинского персонала, проявлений эпидемического процесса упомянутых инфекций, групп риска инфицирования, основных путей и факторов передачи возбудителей, доминирующих причин и условий распространения парентеральных вирусных гепатитов внутри психиатрических стационаров.

С учетом большого количества безжелтушных, скрытых, атипичных клинических форм ГВ и ГС выявлять маркеры инфицирования и изучать эпидемиологические особенности возможно только

с помощью широкого применения адекватных лабораторных методов, которые должны быть доступны в стационарах [12].

Цель исследования — изучить современные эпидемиологические особенности парентеральных гепатитов в крупном психиатрическом стационаре среди различных категорий душевнобольных (с туберкулезом легких и ВИЧ-инфекцией) и медицинского персонала.

Материал и методы

С целью определения частоты выявления серологических маркеров ГВ и ГС проанализированы результаты обследований пациентов (8352 больных) и медицинского персонала лечебных отделений и параклинических служб (542 человека) крупного психиатрического стационара.

Сыворотки от пациентов психиатрического стационара были исследованы на наличие маркеров вирусов ГВ и ГС (HBsAg, HBeAg, антитела классов М и G к HBs-, HBe-, HBcAg; анти-ВГС, спектр анти-ВГС IgM и G) методом ИФА отечественными диагностическими тест-системами.

Образцы сыворотки крови медицинского персонала исследованы на наличие HBsAg, анти-HBs, анти-HBc, анти-ВГС методом ИФА отечественными диагностическими тест-системами.

Для оценки достоверности и значимости различий сравниваемых относительных величин рассчитывали ошибку достоверности (p) на основании критерия Стьюдента (t). Определяли доверительные интервалы с расчетом средних ошибок сравниваемых показателей — $m(\sigma)$.

Результаты и обсуждение

Данные исследования сывороток крови на наличие серологических маркеров у 8352 пациентов (21,8% пролеченных в стационаре) свидетельствуют о наличии маркеров ГВ и ГС у 604 пациентов (7,23% обследованных), при этом в форме моноинфекции — у 2,76% и 3,08% соответственно, в виде сочетанной инфекции — у 1,39%. Не исключается также наличие скрытых форм ГВ, как это было показано для стационаров другого профиля [13].

Изучены клинико-эпидемиологические особенности парентеральных вирусных гепатитов среди различных категорий душевнобольных, в том числе с сопутствующими диагнозами «ВИЧ-инфекция» (179 больных) и «туберкулез» (212 больных), за пятилетний период наблюдения.

Среди душевнобольных пациентов, инфицированных ВИЧ ($n = 179$), маркеры вируса ГВ обнаружены у 1,9%, микст-инфекция вирусами ГВ и ГС — у 3,7%. Статистически значимо чаще были выявлены маркеры вируса ГС — у 44,4% лиц ($p < 0,05$).

По данным эпидемиологического анамнеза установлено, что основная доля в структуре пу-

тей передачи ГВ и ГС у этих пациентов приходится на внутривенное введение наркотиков — 76,9% ($p < 0,05$). Лишь незначительное число обследуемых (2,6%) имели другой парентеральный путь передачи (лечение зубов, нанесение татуировок, гемотрансфузии, хирургические вмешательства ($p < 0,05$); 20,5% лиц указали на заражение в быту, где реализуется прежде всего половой путь передачи инфекции ($p < 0,05$).

Таким образом, заражение вирусными гепатитами у ВИЧ-инфицированных пациентов психиатрического стационара происходило преимущественно при внутривенном употреблении наркотиков и половым путем (до поступления в стационар).

Наибольшее число ВИЧ-инфицированных пациентов с наличием маркеров вирусов ГВ и ГС принадлежали к возрастной группе 18–25 лет (69,2%), что позволяет сделать вывод о том, что данная возрастная категория является группой риска по одновременному инфицированию вирусами гепатитов и ВИЧ. Выявлять маркеры этих инфекций возможно только при широком внедрении современных методов лабораторной диагностики, которые рекомендуется использовать при обследовании таких больных в стационаре.

Из 604 носителей вирусов ГВ и ГС у 212 был выявлен сопутствующий туберкулез легких (35%). Результаты выявления у них маркеров вирусов ГВ и ГС показали, что у 44,33% обнаружены маркеры вируса ГВ, у 17,45% — вируса ГС, у 38,22% — ГВ+ГС.

Анализ структуры клинических форм туберкулеза показал, что на долю инфильтративного туберкулеза приходилось 128 (60,4%) случаев, очагового туберкулеза — 32 (15,1%), фиброзно-кавернозного — 17 (8,1%), диссеминированных форм туберкулеза — 35 (16,5%). Следует отметить, что среди этой группы пациентов 53,7% случаев (114 лиц) приходилось на бациллярные формы туберкулеза, что представляло серьезную эпидемиологическую опасность и способствовало распространению туберкулеза в данном стационаре.

Полученные данные свидетельствуют о высоком уровне коморбидности психических расстройств и социально значимых инфекционных заболеваний (вирусные ГВ и ГС, ВИЧ-инфекция, туберкулез). Очевидно, что оба этих вида патологии (психические расстройства и социально значимые инфекции) могут потенцировать друг друга и оказывать тем самым существенное влияние на эпидемиологический процесс этих инфекций. Поэтому профилактические программы, создаваемые в стационарах и на обслуживаемых ими территориях, должны учитывать аспекты их коморбидности.

Анализ половых, возрастных и социальных характеристик пациентов психиатрических стационаров Московского региона — носителей вирусов

ГВ и ГС ($n = 5407$) позволил установить, что маркеры вирусов ГВ и ГС одинаково часто определялись как среди мужчин (48,28%), так и среди женщин (51,71%). При этом женщины чаще были инфицированы вирусом ГВ по сравнению с мужчинами, а мужчины — вирусом ГС и сочетанием вирусов ГВ и ГС ($p < 0,02$).

Маркеры вирусов ГВ и ГС были обнаружены наиболее часто у мужчин в возрастной группе 19–25 лет, а у женщин — в возрастных группах 26–30, 31–40, 51–60 лет ($p < 0,00001$). В более старших возрастных группах различия в частоте выявления маркеров вирусов ГВ и ГС как среди мужчин, так и среди женщин были незначительными.

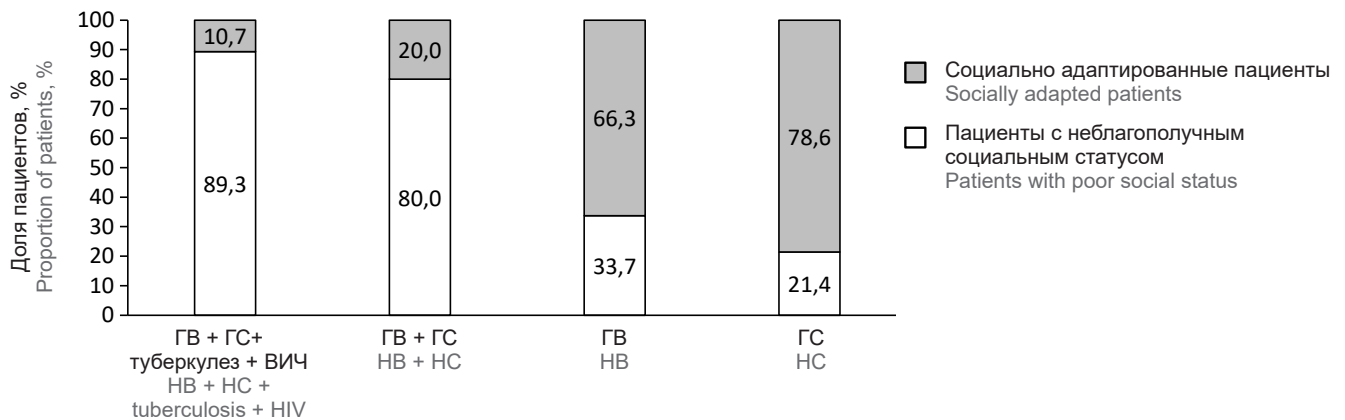
В целом тенденция вовлеченности в эпидемиологический процесс социально и репродуктивно активной части населения характерна и для пациентов психиатрических учреждений, как и для населения в целом.

Анализ социальной структуры пациентов психиатрических стационаров, инфицированных вирусами ГВ и ГС, показал, что, как правило, микст-инфекция (ГВ+ГС в сочетании с инфицированием ВИЧ и различными формами туберкулеза легких) характерна для социально дезадаптированных лиц: неработающих, лиц без определенного места жительства, с неудовлетворительными жилищными и социально-бытовыми условиями жизни, злоупотребляющих алкоголем, наркотиками и т.п. (см. **рисунок**). В группах пациентов с моноинфекцией (ГВ или ГС), напротив, преобладают социально адаптированные пациенты, что подчеркивает значимость социальных условий для возникновения психических заболеваний и проявлений сопутствующих инфекций.

Эпидемиологический анализ позволил изучить структуру путей передачи вирусов ГВ и ГС у пациентов психиатрического стационара. Для этого среди пациентов, принадлежащих к возрастным группам, среди которых отмечено наибольшее распространение серологических маркеров вирусов ГВ и ГС, определяли коэффициент парентеральной нагрузки (КПН) — сумму эпидемиологических признаков анамнеза (частота половых контактов, кратность внутривенного использования наркотических и психоактивных веществ, наличие хирургических, стоматологических вмешательств, гемотрансфузий, парентеральных процедур):

- КПН ≤ 1 баллу — низкая степень парентеральной «нагруженности»;
- КПН 1–3 балла — средняя степень;
- КПН > 3 баллов — высокая степень.

Исследованием были охвачены 193 пациента, в том числе 88 с сопутствующим туберкулезом легких, 57 из которых имели микст-инфекцию (ГВ+ГС+туберкулез), при этом 99 пациентов (51,29%) были лицами мужского пола, а 94 (48,7%) — женского.



Социальная структура пациентов психиатрических стационаров, инфицированных вирусами ГВ и ГС
The social structure of patients in psychiatric hospitals infected with hepatitis B (HB) and hepatitis C (HC) viruses

В группе пациентов с микст-инфекцией ГВ+ГС и сопутствующим туберкулезом легких (КПН = $4,2 \pm 0,87$), а также в группе инфицированных вирусом ГС (КПН = $3,2 \pm 0,72$) КПН был достаточно высоким (>3 баллов). При ГВ он оценен как средний (КПН = $2,7 \pm 0,57$), что подтверждает ведущее значение парентерального пути передачи вирусов ГВ и ГС среди пациентов психиатрического стационара.

Кроме того, выявлена прямая корреляционная связь между КПН и частотой выявления маркеров ГВ и ГС у душевнобольных с сопутствующим туберкулезом легких ($r = 0,81$).

Анализ структуры путей распространения вирусов ГВ и ГС у пациентов психиатрического стационара показал преобладание среди них инъекционного (введение наркотических и психоактивных веществ) и полового путей инфицирования: на их долю приходилось $91,7 \pm 3,8\%$ и $78,3 \pm 2,5\%$ соответственно, регистрируемых чаще у больных с ГВ+ГС+туберкулез ($p < 0,001$). Эти пациенты указывали на систематическое бытовое использование наркотических веществ, сочетающееся с хронической алкоголизацией и беспорядочными половыми связями более чем в трети случаев ($36,8 \pm 4,2\%$). Существенное место в структуре путей передачи вирусов ГВ и ГС принадлежит также различным хирургическим вмешательствам: с ними оказалось связано до $43,7 \pm 4,7\%$ случаев инфицирования.

Одной из задач нашего исследования явилось выявление причин и частоты инфицирования вирусами ГВ и ГС медицинского персонала, который относится к группе повышенного риска инфицирования данными возбудителями в связи с профессиональной деятельностью [14, 15].

Обследовано на наличие серологических маркеров ГВ- и ГС-инфекции 542 медицинских работника 24 профильных учреждений, в том числе 5 фтизиопсихиатрических отделений крупного психиатрического стационара и 8 параклинических

служб. Из них 27% были мужчинами и 73% — женщинами, средний возраст $36,7 \pm 0,6$ года. Скрининг проводился до массовой вакцинации против ГВ.

Выявлено широкое, но неравномерное распределение маркеров ГВ- и ГС-инфекции среди сотрудников различных лечебных отделений и параклинических служб психиатрического стационара (см. таблицу). Наивысшие показатели наличия маркеров ГВ выявлены в лабораторно-диагностическом отделении (27,3%), вторую группу по частоте обнаружения HBsAg составили сотрудники фтизиопсихиатрических отделений (18,34%), третья группа включала медицинский персонал острых психиатрических отделений и консультативной поликлиники (8,3–9,6%). В данных группах медицинского персонала установлены достоверные различия по частоте обнаружения HBsAg ($p < 0,05$).

Серологические маркеры ГС-инфекции выявлены у 0,2% обследованного медицинского персонала, относящегося к лечебным отделениям фтизиопсихиатрического профиля. Эти результаты свидетельствуют о том, что у пациентов психиатрического стационара частота обнаружения маркера вируса ГС была достоверно выше, чем у медицинского персонала, — 3,08% и 0,2% соответственно ($p < 0,05$).

Характерно также, что в лабораторно-диагностическом и фтизиопсихиатрических отделениях более половины сотрудников (56–86,4%) имеют антитела к HBc-антигену вируса ГВ, что свидетельствует о высоком риске инфицирования вирусом ГВ в связи с профессиональной деятельностью.

Таким образом, обследование медицинского персонала крупного психиатрического стационара показало, что наиболее широко среди них распространены маркеры ГВ, при этом чаще были инфицированы сотрудники лабораторно-диагностического и фтизиопсихиатрических отделений: частота выявления HBsAg среди них была в 2,8 и 1,9 раза выше, чем среди сотрудников острых психиатрических отделений. Более половины из них перенесли острый

Частота выявления маркеров вирусов ГВ и ГС у сотрудников различных подразделений психиатрического стационара

The frequency of detection of HB and HC virus markers in employees of various units of a psychiatric hospital

Профиль подразделения Unit profile	n	HBsAg		Анти-HBs Anti-HBs		Анти-HBc Anti-HBc		Анти-ВГС Anti-HC virus	
		абс. abs.	%	абс. abs.	%	абс. abs.	%	абс. abs.	%
Острые психиатрические отделения Acute psychiatric departments	387	37	9,6	94	24,3	103	26,6	–	–
Фтизиопсихиатрические отделения Phthiopsychiatric departments	109	20	18,3	53	48,6	61	56	4	3,7
Лабораторно-диагностические отделения Laboratory and diagnostic departments	22	6	27,3	14	63,6	19	86,4	–	–
Поликлиника Polyclinic	24	2	8,3	7	29,1	11	48,5	–	–
Итого Total	542	65	12	168	40	194	16,9	4	0,2

вирусный гепатит субклинически или бессимптомно. Об этом свидетельствует выявление анти-HBc — наиболее стабильного серологического признака перенесенной инфекции — и наличие у 24,3–63,6% обследованных сотрудников антител к HBs-антигену.

Серологическая индикация маркеров ГС-инфекции свидетельствует о незначительном ее распространении среди медперсонала (у 0,2% обследованных), однако следует подчеркнуть, что антитела к вирусу ГС обнаружены только у сотрудников фтизиопсихиатрических отделений, среди которых высока инфицированность вирусом ГВ.

Нами не выявлено корреляционной зависимости частоты обнаружения маркеров ГВ- и ГС-инфекций у медицинского персонала и пациентов. Однако риск профессионального инфицирования ГВ и ГС сотрудников лечебно-профилактических учреждений психиатрического профиля пропорционален степени контакта с пациентами, больными ВГ, и потенциально инфицированным биологическим материалом. Об этом свидетельствует тот факт, что анализ распространенности маркеров ВГ среди профессиональных групп показал, что наиболее часто инфицированы процедурные медицинские сестры и фельдшеры-лаборанты (62,6%), наиболее часто контактирующие с кровью, по сравнению с младшим и вспомогательным медицинским персоналом (23,9%) и врачами-ординаторами (13,5%).

Нами также была рассмотрена зависимость частоты инфицирования вирусом ГВ среднего медицинского персонала от стажа профессиональной деятельности. Среди 65 сотрудников с установленной ГВ-инфекцией 20 (30,76%) человек имели стаж работы до 5 лет, из них 9 (13,84%) медицинских работников имели стаж до 1 года, 45 (69,23%) — свыше 10 лет.

Среди среднего персонала со стажем профессиональной деятельности до 1 года HBs-антигенемии не выявлено. У медицинских сестер, прора-

ботавших 5 лет, в 6,7% случаев в сыворотке крови обнаружен HBsAg, а у 33,8% — анти-HBs. У медицинских сестер, проработавших свыше 10 лет, серологические маркеры ГВ встречались еще чаще: HBsAg — 15,41%, анти-HBs — 48,62%.

Приведенные данные демонстрируют отчетливую зависимость частоты определения маркеров ГВ-инфекции у среднего медицинского персонала психиатрического стационара от стажа их работы, при этом риск профессионального заражения наиболее высок в первые годы работы. У проработавших свыше 10 лет медицинских сестер HBsAg обнаруживается в 2,3 раза чаще, чем у лиц со стажем до 5 лет, что убедительно доказывает необходимость вакцинации против ВГ в начале профессиональной деятельности.

Нами не отмечено случаев манифестных форм ВГ среди медицинского персонала, в основном преобладает носительство HBsAg. Однако увеличение частоты выявления анти-HBs со стажем работы указывает на постоянное инфицирование вирусом ГВ медицинских работников на протяжении всего периода профессиональной деятельности.

Заключение

Установлен высокий уровень коморбидности психических расстройств и социально значимых инфекционных заболеваний (вирусные гепатиты В и С, ВИЧ-инфекция, туберкулез). Наиболее частыми факторами инфицирования вирусами парентеральных гепатитов пациентов ЛПУ психиатрического профиля является длительная парентеральная нагрузка проводимыми терапевтическими мероприятиями и внутривенное употребление наркотических веществ. Наибольший коэффициент парентеральной нагрузки отмечается у душевнобольных с микст-инфекцией ГВ+ГС с сопутствующим туберкулезом. Микст-инфекция ГВ+ГС в сочетании с инфицированием ВИЧ и различными формами

туберкулеза легких характерна для лиц с отягощенным социальным статусом, в то время как среди пациентов с моноинфекцией ВГ преобладают социально адаптированные пациенты.

Представленные результаты демонстрируют неравномерность распространения серологических маркеров ГВ- и ГС-инфекций среди медицинского персонала и пациентов психиатрического стационара. Анализ полученных данных показал, что медицинский персонал и пациенты психиатрических стационаров относятся к группе высокого риска инфицирования вирусами ГВ и ГС. В условиях отсутствия специфических средств защиты от ГС необходимо усилить контроль над выполнением неспецифических методов профилактики; для защиты против ГВ необходима обязательная вакцинация этих категорий лиц.

ЛИТЕРАТУРА

1. Годков М.А., Брико Н.И., Ермолов А.С., Захарова Н.М. ВИЧ-инфекция и гепатит С среди пациентов лечебных учреждений различной специализации. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2011; (5): 9-13.
2. ВОЗ. Доклад о глобальной борьбе с туберкулезом. Женева; 2016.
3. Информационный бюллетень ВОЗ. Туберкулез. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/ru>
4. Кальнин И.Б., Асратян А.А. Вакцинопрофилактика вирусного гепатита В у пациентов психиатрического стационара с сопутствующим туберкулезом легких. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2005; (5): 33-5.
5. Методические рекомендации для врачей психиатров, наркологов, инфекционистов, эпидемиологов, лаборантов. Клинико-лабораторная диагностика парентеральных вирусных гепатитов и порядок обследования на носительство вирусов гепатитов В и С пациентов специализированных психиатрических учреждений в Московской области. М.; 2005.
6. Вознесенко А.А. *Лекарственно-индуцированные поражения печени у больных туберкулезом органов дыхания и пути их преодоления*: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2012.
7. Шилова М.В. *Туберкулез в России в 2014 году*. Монография. М.: Перо; 2015.
8. Беляков Н.А., Рахманова А.Г., Рассохин В.В. *ВИЧ-инфекция и хронические гепатиты: Тематический архив*. СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр; 2014.
9. Мишин В.Ю. Туберкулез у ВИЧ-инфицированных больных. *Consilium Medicum*. 2008; 10(10): 9-14.
10. Асратян А.А., Соловьев Д.В., Русакова Е.В. Современная эпидемическая ситуация по заболеваемости вирусными гепатитами и туберкулезом в Москве. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2015; 14(3): 42-8.
11. Асратян А.А., Соловьев Д.В., Родина О.В., Гармаш Ю.Ю., Литвинов В.И., Мусина Е.Е. и др. Клинико-эпидемиологические особенности гепатитов В и С у больных туберкулезом легких. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2013; (6): 20-7.
12. Семенов Т.А., Ярош Л.В., Баженов А.И., Никитина Г.Ю., Клейменов Д.А., Эльгорт Д.А. и др. Эпидемиологическая оценка распространенности «скрытых» форм и HBsAg-мутантов вируса гепатита В у гематологических больных. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2012; (6): 9-14.
13. Семенов Т.А., Зубкин М.Л., Ярош Л.В., Червинко В.И., Фролова Н.Ф., Суслов А.П. Скрытый гепатит В и мутантные формы вируса гепатита В у реципиентов почечного

трансплантата с хроническими заболеваниями печени. *Инфекционные болезни*. 2016; 14(3): 6-13.

DOI: <http://doi.org/10.20953/1729-9225-2016-3-6-13>

14. Николаева Л.И., Семенов Т.А., Никитина Г.Ю., Ярош Л.В., Корнеев Д.В., Махновский П.И. и др. Частота выявления маркеров инфицирования вирусом гепатита С у пациентов и медицинских сотрудников крупных клинических центров Москвы. *Инфекционные болезни*. 2017; 15(2): 6-13. DOI: <http://doi.org/10.20953/1729-9225-2017-2-6-13>
15. Никитина Г.Ю., Семенов Т.А., Готвянская Т.П., Хахаева И.Б., Коноплева М.В., Николаева О.Г. и др. Частота выявления маркеров инфицирования вирусами парентеральных гепатитов у медицинских работников в регионах Российской Федерации с различной интенсивностью эпидемического процесса. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017; 19(2): 161-7.

REFERENCES

1. Godkov M.A., Briko N.I., Ermolov A.S., Zakharova N.M. HIV infection and hepatitis C among patients of medical institutions of different specialization. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2011; (5): 9-13. (in Russian)
2. WHO Global tuberculosis report. Geneva; 2016.
3. WHO Fact sheet. Tuberculosis. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>
4. Kal'nin I.B., Asratyan A.A. Vaccination of viral hepatitis B in psychiatric patients with concomitant pulmonary tuberculosis. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika*. 2005; (5): 33-5. (in Russian)
5. Guidelines for psychiatrists, narcologists, infectious disease, epidemiologists, laboratory assistants. Clinical and laboratory diagnostics of parenteral viral hepatitis and the procedure for examination of hepatitis b and C virus carriers in patients of specialized psychiatric institutions in the Moscow region. Moscow; 2005. (in Russian)
6. Voznesenko A.A. *Drug-induced liver damage in patients with respiratory tuberculosis and ways to overcome them*: Diss. Moscow; 2012. (in Russian)
7. Shilova M.V. *Tuberculosis in Russia in 2014. Monograph [Tuberkulez v Rossii v 2014 godu. Monografiya]*. Moscow: Pero; 2015. (in Russian)
8. Belyakov N.A., Rakhmanova A.G., Rassokhin V.V. *HIV Infection and Chronic Hepatitis: Theme Files [VICH-infektsiya i khronicheskie gepatity: Tematicheskiy arkhiv]*. St. Petersburg: Baltic Medical Education Center; 2014. (in Russian)
9. Mishin V.Yu. Tuberculosis in HIV-infected patients. *Consilium Medicum*. 2008; 10(10): 9-14. (in Russian)
10. Asratyan A.A., Solov'ev D.V., Rusakova E.V. The current epidemiological situation on the incidence of viral hepatitis, tuberculosis. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika*. 2015; 14(3): 42-8. (in Russian)
11. Asratyan A.A., Solov'ev D.V., Rodina O.V., Garmash Yu.Yu., Litvinov V.I., Musina E.E., et al. Clinical and epidemiological features of hepatitis b and C in patients with pulmonary tuberculosis. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika*. 2013; (6): 20-7. (in Russian)
12. Semenov T.A., Yarosh L.V., Bazhenov A.I., Nikitina G.Yu., Kleymenov D.A., El'gort D.A., et al. Epidemiological Estimation of the «Occult» Hepatitis B Infection and HBsAg-mutations Prevalence at Patients with Hematological Disease. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika*. 2012; (6): 9-14. (in Russian)
13. Semenov T.A., Zubkin M.L., Yarosh L.V., Chervinko V.I., Frolova N.F., Suslov A.P. Latent hepatitis B and mutant forms of hepatitis b virus in kidney transplant recipients with chronic liver diseases. *Infektsionnye bolezni*. 2016; 14(3): 6-13. DOI: <http://doi.org/10.20953/1729-9225-2016-3-6-13> (in Russian)

14. Nikolaeva L.I., Semenenko T.A., Nikitina G.Yu., Yarosh L.V., Korneev D.V., Makhnovskiy P.I., et al. Frequency of detection of markers of hepatitis C virus infection in patients and medical staff of large clinical centers of Moscow. *Infektsionnye bolezni*. 2017; 15(2): 6-13.
DOI: <http://doi.org/10.20953/1729-9225-2017-2-6-13> (in Russian)
15. Nikitina G.Yu., Semenenko T.A., Gotvyanskaya T.P., Khakhaeva I.B., Konopleva M.V., Nikolaeva O.G., et al. The detection rate of markers of infection with parenteral virus hepatitis among health care workers in regions with different intensity of epidemic process. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2017; 19(2): 161-7. (in Russian)

Информация об авторах:

Асратян Арпик Ашотовна — д.м.н., проф., в.н.с. отдела эпидемиологии ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-1288-7561>. E-mail: zasratyan@yahoo.com

Семеновко Татьяна Анатольевна — д.м.н., проф., рук. отдела эпидемиологии ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-6686-9011>. E-mail: semenenko@gamaleya.org

Кальнин Игорь Борисович — к.м.н., госпитальный эпидемиолог, ГБУЗ Московской области «Психиатрическая больница № 2 им. В.И. Яковленко», 142360, пос. Мещерское, Московская обл., Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8807-8245>. E-mail: kalnin777@mail.ru

Орлова Оксана Анатольевна — д.м.н., врач-эпидемиолог ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 105203, Москва, Россия.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-0556-1822>. E-mail: oksana_orlova@bk.ru

Соловьев Дмитрий Владимирович — к.м.н., зав. противоэпидемическим отделением ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в г. Москве», 129626, Москва, Россия.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2133-3475>. E-mail: dv_soloviev@list.ru

Русакова Екатерина Владимировна — д.м.н., проф., в.н.с. ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3561-1499>. E-mail: rusakovaev5@yandex.ru

Казарян Серине Мишиковна — к.м.н., с.н.с. отдела эпидемиологии ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-8014-2540>. E-mail: serikazar@yahoo.com

Кузин Станислав Николаевич — д.м.н., проф., в.н.с. отдела эпидемиологии ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия; врач клинической лабораторной диагностики ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», 129110, Москва, Россия.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-0616-9777>. E-mail: drkuzin@list.ru

Участие авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Information about the authors:

Arpik A. Asratyan — Doct. Sci. (Med.), Prof., senior researcher, Epidemiology Department, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, 123098, Moscow, Russia.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-1288-7561>. E-mail: zasratyan@yahoo.com

Tatyana A. Semenenko — Doct. Sci. (Med.), Prof., Head, Epidemiology Department, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, 123098, Moscow, Russia.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-6686-9011>. E-mail: semenenko@gamaleya.org

Igor B. Kal'nin — Cand. Sci. (Med.), hospital epidemiologist, Psychiatric Hospital No. 2 named after V.I. Yakovenko, 142360, Meshcherskoye, Moscow region, Russia.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-8807-8245>. E-mail: kalnin777@mail.ru

Oksana A. Orlova — Doct. Sci. (Med.), epidemiologist, N.I. Pirogov National Medical and Surgical Center, 105203, Moscow, Russia.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-0556-1822>. E-mail: oksana_orlova@bk.ru

Dmitry V. Soloviev — Cand. Sci. (Med.), Head, Antiepidemic department, Center for Hygiene and Epidemiology in the City of Moscow, 129626, Moscow, Russia.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2133-3475>. E-mail: dv_soloviev@list.ru

Ekaterina V. Rusakova — Doct. Sci. (Med.), Prof., leading researcher, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, 123098, Moscow, Russia.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3561-1499>. E-mail: rusakovaev5@yandex.ru

Serine M. Ghazaryan — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Epidemiology department, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, 123098, Moscow, Russia.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-8014-2540>. E-mail: serikazar@yahoo.com

Stanislav N. Kuzin — Doct. Sci. (Med.), Prof., senior researcher, Head, Epidemiology department, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, 123098, Moscow, Russia; clinical laboratory diagnostics doctor, M.F. Vladimirovsky Moscow Regional Clinical Research Institute, 129110, Moscow, Russia.
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-0616-9777>. E-mail: drkuzin@list.ru

Contribution: the authors contributed equally to this article.

© НОГОЙБАЕВА К.А., ТОБОКАЛОВА С.Т., 2020

Этиологическая и эпидемиологическая характеристика летальности от острого вирусного гепатита в Кыргызстане в 2009–2018 гг.

Ногойбаева К.А.^{1,2✉}, Тобокалова С.Т.¹

¹Кыргызский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации имени С.Б. Даниярова, 72004, Бишкек, Республика Кыргызстан;

²Кыргызская государственная медицинская академия имени И.К. Ахунбаева, 72006, Бишкек, Республика Кыргызстан

Цель. Изучение этиологической структуры летальности от острого гепатита (ОГ) и сравнение ее с заболеваемостью и смертностью за 2009–2018 гг.

Материал и методы. Изучены государственные отчетные формы № 1 «Отчет об инфекционных, паразитарных и неинфекционных заболеваниях» за 2009–2018 гг.

Результаты. В Кыргызстане за 2009–2018 гг. выявлено 138 612 случаев вирусного ОГ, из них 109 больных имели летальный исход. В общей структуре последних доля больных с ОГ типа В (ОГВ, 36,7%) и типа А (ОГА, 35,7%) была примерно одинаковой. В каждом пятом случае был диагностирован неуточненный вирусный ОГ (22,9%). ОГ типа С (ОГС) был причиной гибели 4 (3%) больных, а HDV-инфекция — 1 пациента. Среди умерших не было случаев с гепатитом Е. Летальность от ОГВ зарегистрирована у 5 детей, а от ОГС — у 1 ребенка. В то же время 9 из 25 пациентов с неверифицированным вирусным ОГ были детьми.

За 2009–2018 гг. заболеваемость ОГВ была ниже, чем ОГ в целом, в 31,3 раза (7,7‰ и 240,9‰ соответственно), смертность — в 2,7 раза (0,07‰ и 0,19‰ соответственно), а летальность — выше в 11,4 раза (89,8‰ и 7,9‰ соответственно). Средняя заболеваемость ОГВ детей была ниже, чем ОГ в целом, в 6,4 раза (1,2‰ и 7,7‰ соответственно), смертность — в 2,3 раза (0,03‰ и 0,07‰ соответственно), а летальность — выше в 1,8 раза (165,9‰ и 89,8‰ соответственно).

Заключение. Наличие заболеваемости и летальности взрослых и детей от острых гепатитов указывает на высокое бремя болезни для страны. Высокая доля ОГВ и ОГА в структуре смертности от ОГ требует улучшения качества иммунизации детей и расширения охвата взрослых вакцинацией против этих вирусных гепатитов. Рост летальности на фоне снижения заболеваемости ОГ в десятки раз указывает на то, что число умерших от данной патологии пациентов не уменьшается.

Ключевые слова: смертность; летальность; острый гепатит; острый гепатит В; гепатит А; дети; взрослые.

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

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

Для цитирования: Ногойбаева К.А., Тобокалова С.Т. Этиологическая и эпидемиологическая характеристика летальности от острого вирусного гепатита в Кыргызстане в 2009–2018 гг. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(1): 40–46.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-40-46>

Поступила 26.11.2019

Принята в печать 18.12.2019

Etiological and Epidemiological Characteristics of Lethality from Acute Viral Hepatitis, Kyrgyzstan, 2009–2018

Kalys A. Nogoibaeva^{1,2✉}, Saparbu T. Tobokalova¹

¹S.B. Danyarov Kyrgyz State Medical Institute for Retraining and Advanced Training, Bishkek 72004, Kyrgyzstan;

²I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, Bishkek 72006, Kyrgyzstan

Aim. A study of the etiological structure of mortality from acute hepatitis and its comparison with morbidity and death rate for 2009–2018.

Material and methods. We studied The State Report Forms No. 1 “Report on Infectious, Parasitic and Non-Infectious Diseases”, for the period 2009–2018.

Results. In Kyrgyzstan for the period 2009–2018, 138,612 cases of acute hepatitis (AH) were identified, of which 109 were fatal. In the general structure of fatal outcomes, the patients with acute hepatitis B (AHB, 36.7%) and A (AHA, 35.7%) predominated. Every fifth case was diagnosed with unverified acute hepatitis (22.9%). Hepatitis C virus was the cause of death in 4 cases (3%), and HDV virus in 1 patient. Among deceased patients, there were no cases of acute hepatitis E. The epidemiological surveillance system revealed 5 fatal cases of children with AHB. Hepatitis C virus was the cause of death of 1 child. 9 out of 25 patients with unverified AH were children under 14 years old. For the period 2009–2018, the incidence of AHB was lower than that of AH by 31.3 times (240.9‰ and 7.7‰, respectively), death rate — 2.7 times (0.19‰ and 0.07‰, respectively), and mortality was 11.4 times higher (7.9‰ and 89.8‰, respectively). The average incidence of AHB in children was 6.4 times lower (7.7‰ and 1.2‰, respectively), death rate was 2.3 times (0.07‰ and 0.03‰, respectively), and mortality was 1.8 times higher (89.8‰ and 165.9‰, respectively).

Conclusion. The presence of morbidity and death rate in adults and children from AH indicates a high disease burden for the country. A high proportion of AHB and AHA in the structure of deaths from AH requires improving the quality of immunization of children and expanding the coverage of adults with vaccination against these viruses. The increase in mortality against the background of a decrease in the incidence of exhaust gas by tens of times indicates that the number of patients who die from this pathology does not decrease.

Keywords: death rate; mortality; acute hepatitis; acute hepatitis B; children; adults.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

For citation: Nogoibaeva K.A., Tobokalova S.T. Etiological and Epidemiological Characteristics of Lethality from Acute Viral Hepatitis, Kyrgyzstan, 2009–2018. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, Russian journal.* 2020; 97(1): 40–46. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-40-46>

Received 26 November 2019

Accepted 18 December 2019

Введение

Заболеемость, вызванная вирусом гепатита В (HBV), наносит большой ущерб социально-экономическому состоянию страны, независимо от уровня развития [1–3]. Мировой опыт показывает, что, несмотря на успешную реализацию программ вакцинации против HBV-инфекции, определенная часть детей и взрослых остаются неохваченными данным профилактическим мероприятием. Следствием этого является наличие заболеваемости острым вирусным гепатитом (ОВГ) В (ОВГВ) среди населения [4–7]. Такая ситуация характерна и для Кыргызской Республики, где средняя кумулятивная заболеваемость населения ОВГВ в 2009–2018 гг. составила 8 случаев на 100 тыс. населения, в том числе лиц старше 15 лет — 10,7‰, детей — 1,3‰¹. Необходимо подчеркнуть, что в стране на государственном уровне поддерживается вакцинация только детей, которые иммунизируются в рамках Национального календаря прививок (НКП) с 1999 г.² По оценке экспертов ВОЗ, в Кыргызстане хроническим вирусным гепатитом С страдают более 100 тыс. человек³. Наличие циклического подъема заболеваемости ОВГА через каждые 3–4 года до 250–409 человек на 100 тыс. населения подчеркивает особую актуальность данной патологии для республики [8]. При этом вакцинация против ОВГА в НКП не включена, проводится в редких случаях и на платной основе. Высокая заболеваемость ОВГА свидетельствует о низком охвате профилактически-

ми прививками в первую очередь детей, который полностью зависит от информированности, сознательности и активности граждан. Наличие смертности от острого поражения печени определяет эту проблему как одно из заболеваний с высоким бременем болезни как на региональном, так и в мировом масштабе [9–11]. К сожалению, в нашей стране система эпиднадзора продолжает выявлять летальные случаи от ОВГ, которые встречаются даже среди беременных женщин [12–14].

Целью данного исследования явилось определение этиологической структуры летальности от ОВГ и сравнение ее с заболеваемостью и смертностью за 2009–2018 гг.

Материал и методы

Для изучения этиологической структуры, динамики смертности и летальности от ОВГ был проведен анализ данных государственной отчетной формы № 1 «Отчет об инфекционных, паразитарных и неинфекционных заболеваниях» Департамента профилактики заболеваний и государственного санитарно-эпидемиологического надзора Министерства здравоохранения Кыргызской Республики за 2009–2018 гг., в которой регистрируются случаи с летальным исходом среди взрослых и детей 0–14 лет, которые, в свою очередь, объединяются в группы 0–12 мес, 1–2 года, 3–4 года и 5–14 лет и кумулируются в Центре электронного здравоохранения МЗ КР [8]. Численность населения в разрезе возрастов основана на базе данных Национального статистического комитета КР⁴.

Обработка материала была проведена с использованием программы Microsoft Office Excel. Расчет заболеваемости и смертности производился на 100 тыс. населения, а летальности — на 10 тыс. заболевших. Экстенсивный показатель — долевое участие изучаемых признаков — рассчитывался в процентах.

⁴ Статистические данные «5.01.00.01. Численность постоянного населения по полу и возрастным группам» Национального статистического комитета Кыргызской Республики. URL: <http://www.stat.kg/ru>

¹ Отчет о движении инфекционных и паразитарных заболеваний. Государственная отчетная форма № 1 Департамента профилактики заболеваний и государственного санитарно-эпидемиологического надзора при Министерстве здравоохранения Кыргызской Республики. URL: <https://dgsen.kg>; <http://cez.med.kg>

² Приказ МЗ КР 107 от 06.04.2000 г. «О внедрении плановой иммунизации против вирусного гепатита В в КР». URL: <http://www.med.kg/ru>

³ Отчет миссии ВОЗ по оценке мер борьбы с вирусными гепатитами в Кыргызстане 11–15 июля 2016 г. URL: http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0003/343263/Final-KGZ-Hepatitis-Mission-Report-06.07.2017-RUS.pdf

В расчете стандартной ошибки пропорции использована формула:

$$\sqrt{p \frac{(1-p)}{n}}$$

Поскольку p выражалась в процентах, то $(1-p)$ заменена на $(100-p)$ [15].

95% доверительный интервал для пропорции оценивали по формуле:

$$(p - [1,96 \times \sqrt{p \frac{(1-p)}{n}}]); (p + [1,96 \times \sqrt{p \frac{(1-p)}{n}}]).$$

Результаты

В Кыргызской Республике за 2009–2018 гг. выявлено всего 138 612 случаев ОВГ, из них 109 случаев имели летальный исход. Распределение умерших пациентов по этиологической структуре представлено на **рис. 1**.

По данным рутинной системы эпиднадзора, за 2009–2018 гг. в общей структуре летальных случаев доминирующую долю составили больные с ОВГВ ($n = 40$; 36,7%) и ОВГА ($n = 39$; 35,7%), которые встречались примерно с одинаковой частотой. Этиологию ОВГ не удалось идентифицировать у каждого пятого умершего от гепатита больного, в связи с чем им был диагностирован неуточненный ОВГ ($n = 25$; 22,9%). ОВГС был причиной гибели 4 больных (3%), а ОВГД — 1 пациента. Среди умерших не было случаев с ОВГЕ.

Изучение динамики этиологической структуры ОВГ за анализируемый период показало, что ОВГА был причиной смерти 45–54% пациентов в 2010–2013 гг. В 2014 г. доля умерших лиц от ОВГА снизилась до 18%, но в последующие годы наблюдалось повышение летальности, и в 2017 г. она вновь достигла предыдущего уровня (50%). ОВГВ в 2009, 2014, 2017–2018 гг. был причиной гибели каждого второго, а в 2010–2012 гг. и 2015–2016 гг. — каждо-

го третьего умершего пациента. ОВГС как причина смерти 4 больных с ОВГ был установлен в 2010, 2014 и 2015 гг. Доля неуточненного ОВГ среди пациентов с неблагоприятным исходом доходила до 30% в 2009 г. ($n = 13$), 2013 г. ($n = 11$), 2016 г. ($n = 14$) и 2018 г. ($n = 11$).

Анализ возрастного состава умерших пациентов показал наличие среди них детей с ОВГА, ОВГВ, ОВГС и неуточненным ОВГ. За анализируемый период система эпиднадзора выявила 5 летальных случаев детей с ОВГВ, при этом средняя кумулятивная заболеваемость составила 1,2‰. Учитывая малочисленность этой группы, решено возрастное распределение представить в абсолютных числах: 0–12 мес жизни — 2 ребенка (2009 г. и 2015 г.), 1–2 года — 1 (2009 г.), в возрасте 5–14 лет — 2 ребенка (2011 г. и 2012 г.). От ОВГС умер 1 ребенок, который входил в возрастную группу 5–14 лет. Из 25 пациентов, умерших с диагнозом «неуточненный ОВГ», было 9 детей до 14 лет (до 12 мес — 1, 3–4 года — 2 и 5–14 лет — 6 детей).

Для более детального изучения эпидемической ситуации по смертности от ОВГ мы провели сравнительный анализ смертности (на 100 тыс. населения), летальности (на 10 тыс. заболевших) и соотносили их с заболеваемостью (**рис. 2**). Средняя кумулятивная заболеваемость ОВГ составила 240,9‰ со снижением в 1,6 раза за 10 лет (2009–2018 гг.). При этом подъем заболеваемости наблюдался в 2011–2013 гг. с пиком в 2012 г. (400,3‰), в основном за счет ОВГА. В последующем кривая инцидентности имела волнообразный характер со снижением интенсивности процесса в 2015 г. почти в 2 раза (190,9‰), с подъемом в 2016 г. на 50‰ — в 1,3 раза (242,8‰), а в 2017 г. зарегистрировано ее снижение почти на 100‰, составившее минимальное значение (145,5‰) за весь анализируемый период.

Кривая летальности от ОВГ за аналогичный период времени имела обратную зависимость от за-

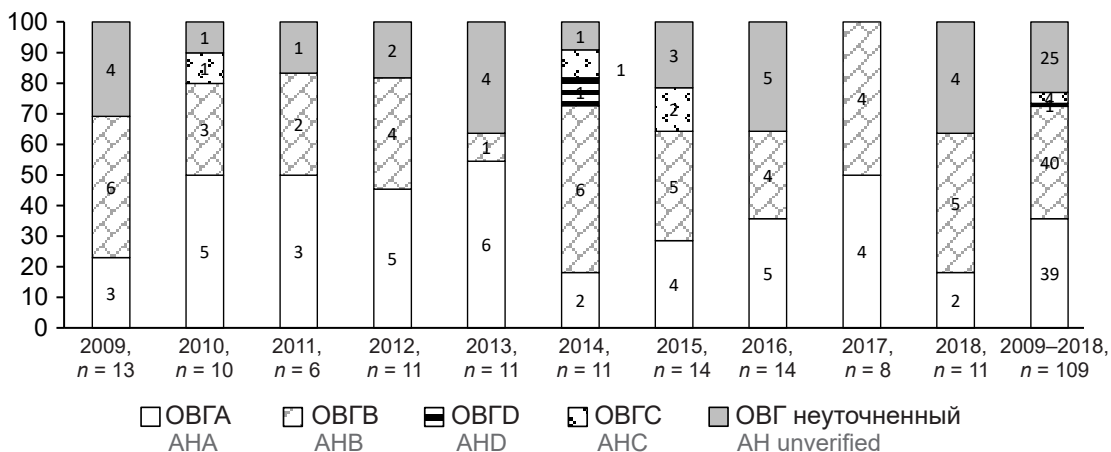


Рис. 1. Этиологическая структура ОВГ с летальным исходом в Кыргызстане в 2009–2018 гг.

Fig. 1. Etiological structure of Acute Viral Hepatitis with fatal outcome, Kyrgyzstan, 2009–2018

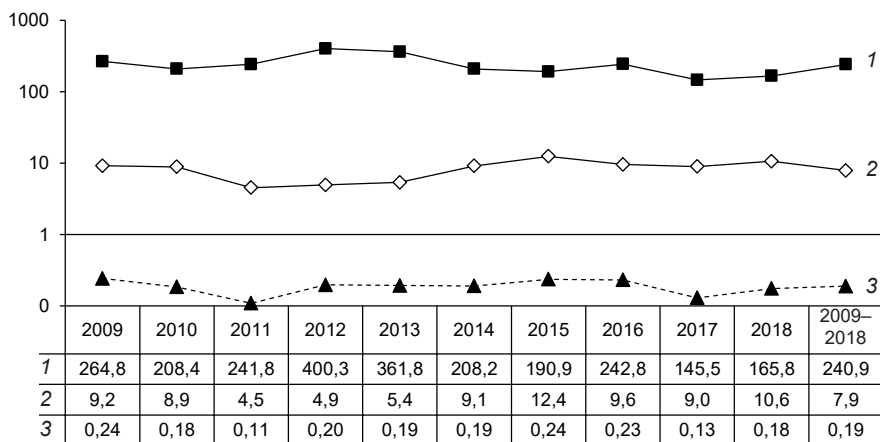


Рис. 2. Динамика заболеваемости ОВГ (на 100 тыс. населения; 1), смертности (на 10 тыс. заболевших; 2) и летальности (на 100 тыс. населения; 3) от ОВГ в Кыргызстане в 2009–2018 гг.

Fig. 2. Dynamics of morbidity (1), mortality (2) and lethality (3) from Acute Hepatitis, Kyrgyzstan, 2009–2018.

болеваемости, т.е. отмечалось снижение показателя летальности в годы повышения инцидентности (4,5, 5,4 и 4,9‰ в 2011, 2013 и 2012 г. соответственно) и повышение — в годы относительного эпидемического благополучия (12,4, 9,6 и 9,0‰ в 2015, 2016 и 2017 г. соответственно). При этом средняя кумулятивная летальность составила 8 человек на 10 тыс. заболевших с тенденцией к росту (на 13,2%) за 2009–2018 гг. Уровень смертности в среднем составил 2 случая на 1 млн населения и снизился на 25% за анализируемый период. Направление кривой повторило динамику летальности: в пик подъема заболеваемости она снизилась до 0,11‰ в 2011 г. и увеличилась до 2,4‰ в 2015 г., когда наблюдался самый низкий уровень заболеваемости за весь анализируемый период.

Несмотря на то, что с 1999 г. в стране проводится вакцинация детей против ОВГ в рамках НКП, до сих пор выявляются случаи смерти детей от ОВГ. Поэтому было решено провести сравнительный анализ заболеваемости, смертности и летальности от ОВГ (рис. 3).

Средняя кумулятивная заболеваемость за наблюдаемые 10 лет составила 7,7‰ с прогрессивным снижением в 2,1 раза (на 52,3%) за изучаемый период (10,9 и 5,2‰ в 2009 и 2018 г. соответственно). В то же время в первые 5 лет анализируемого периода показатель летальности снизился в 4,7 раза (на 78,8%) (103,3 и 21,9‰ в 2009 и 2013 г. соот-

ветственно), а с 2014 г. отмечался резкий подъем летальности — в 6,2 раза (21,9 и 137,0‰ в 2013 и 2014 г. соответственно). В последующие годы эта тенденция сохранялась: 137,0 и 153,8‰ в 2014 и 2018 г. соответственно. При этом средний кумулятивный показатель составил 89,8‰. Уровень смертности, подобно летальности, снижался в течение первых 5 лет изучаемого периода (0,11 и 0,02‰ в 2009 и 2013 г. соответственно) и повысился в 5 раз в 2014 г. (0,02 и 0,10‰ в 2013 и 2014 г. соответственно). В 2014–2018 гг., несмотря на тенденцию к росту показателя летальности, смертность стабильно сохранялась на уровне 0,07–0,08‰.

Таким образом, анализ соотношения кумулятивных показателей за 10-летний период показал, что заболеваемость ОВГ была ниже ОВГ в 31,3 раза (240,9 и 7,7‰ для ОВГ и ОВГ соответственно), смертность — ниже в 2,7 раза (0,19 и 0,07‰ для ОВГ и ОВГ соответственно), а летальность — выше в 11,4 раза (7,9 и 89,8‰ для ОВГ и ОВГ соответственно). Результаты изучения динамических показателей в 2009–2018 гг. свидетельствуют о снижении заболеваемости как ОВГ в целом (в 1,6 раза), так и ОВГ (в 2,1 раза), при этом скорость снижения последней была выше. Динамика снижения смертности при указанных патологиях была одинаковой (1,3 раза и 1,4 раза для ОВГ и ОВГ соответственно), а летальность повысилась при ОВГ в 1,2 раза, при ОВГ — в 1,5 раза.

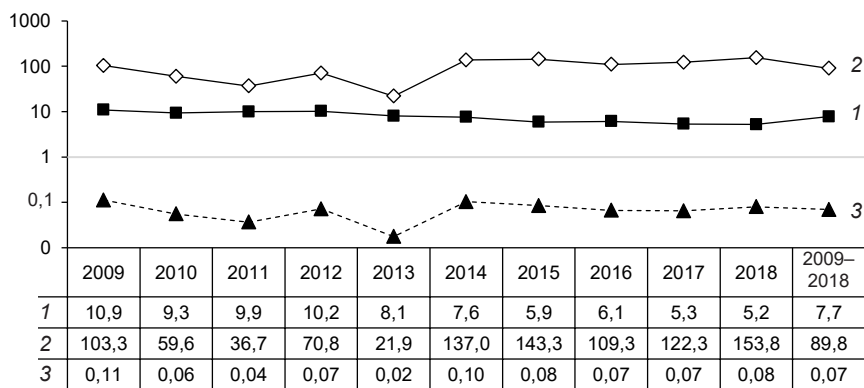


Рис. 3. Динамика заболеваемости ОВГВ (на 100 тыс. населения; 1), смертности (на 10 тыс. заболевших; 2) и летальности (на 100 тыс. населения; 3) от ОВГВ в Кыргызстане в 2009–2018 гг.

Fig. 3. Dynamics of morbidity (1), mortality (2) and lethality (3) from acute Hepatitis B, Kyrgyzstan, 2009–2018.

Результаты анализа вышеуказанных показателей у умерших детей с ОВГВ представлены на **рис. 4**.

В динамике заболеваемость детей ОВГВ снизилась в 15,5 раза (3,1 и 0,2‰ в 2009 и 2018 г. соответственно). Средняя летальность составила 166 человек на 10 тыс. заболевших детей с минимальным уровнем 256,4‰ в 2009 г., с максимальным — в 2015 г. (1428,6‰). Смертность колебалась в пределах 5–12 случаев на 10 млн детей.

Сравнение заболеваемости, смертности и летальности детей от ОВГВ с аналогичными показателями в общей популяции больных выявило, что за 2009–2018 гг. средняя кумулятивная заболеваемость ОВГВ детей была ниже по сравнению с общей популяцией больных с указанной патологией в 6,4 раза (1,2 и 7,7‰ соответственно), смертность также ниже в 2,3 раза (0,03 и 0,07‰ соответственно), а летальность — выше в 1,8 раза (165,9 и 89,8‰ соответственно).

Обсуждение

Анализ этиологической структуры смертности от ОВГ за 2009–2018 гг. показал, что летальный исход был зарегистрирован при всех формах острого вирусного поражения печени (В, А, С, D), выявляемых в стране, за исключением ОВГЕ.

Несмотря на то, что в стране вакцинопрофилактика ОВГВ проводится в течение последних 20 лет, доля смертельных случаев от ОВГВ остается довольно высокой (36,7%). Наличие заболеваемости и смертности от ОВГВ детей указывает на недостаточный охват их вакцинацией против HBV даже в рамках НКП. Неблагополучную ситуацию по ОВГВ среди взрослых можно объяснить тем, что финансовые расходы на иммунизацию против HBV лиц старше 15 лет несет население, которое на фо-

не слабой информационной и образовательной поддержки не оказывает достаточно серьезного внимания данному вопросу. Вышесказанное требует изучения причин заболеваемости и смертности детей и взрослых от ОВГВ на фоне вакцинации детей в рамках НКП для разработки ответных профилактических и противоэпидемических мероприятий.

Частая встречаемость летальных случаев (35,7%) у больных ОВГА, несомненно, связана с многолетней неблагоприятной эпидемической ситуацией в стране. Как указывают многие ученые и организаторы здравоохранения страны, несмотря на то, что НАV является энтеровирусом, улучшение обеспечения населения питьевой водой, соблюдение санитарно-гигиенических мер, которые должны были привести к снижению распространения инфекции, в течение нескольких десятилетий заболеваемость ОВГА в Кыргызской Республике остается на высоком уровне [11]. Наличие смертности от ОВГА на фоне высокой заболеваемости (154,3‰ в 2018 г.) требует решения вопроса о включении вакцинации против НАV в НКП на фоне постоянного проведения социальной мобилизации населения на борьбу с ОВГА.

Относительно высокий уровень неуточненных гепатитов (22,9%) позволяет предположить возможность поражения печени цитомегаловирусом и/или вирусом простого герпеса и т.д. Также не исключается течение оккультного гепатита В или острого токсического гепатита. Для подтверждения/исключения данных гипотез необходимо проводить углубленные исследования на HBsAg, другие гепатотропные вирусы более чувствительными методами, токсикологическое обследование пациентов с отрицательными маркерами на вирусные гепатиты. Для исключения лабораторных погрешностей необходимо использовать тесты с высокой чувствительностью и специфичностью.

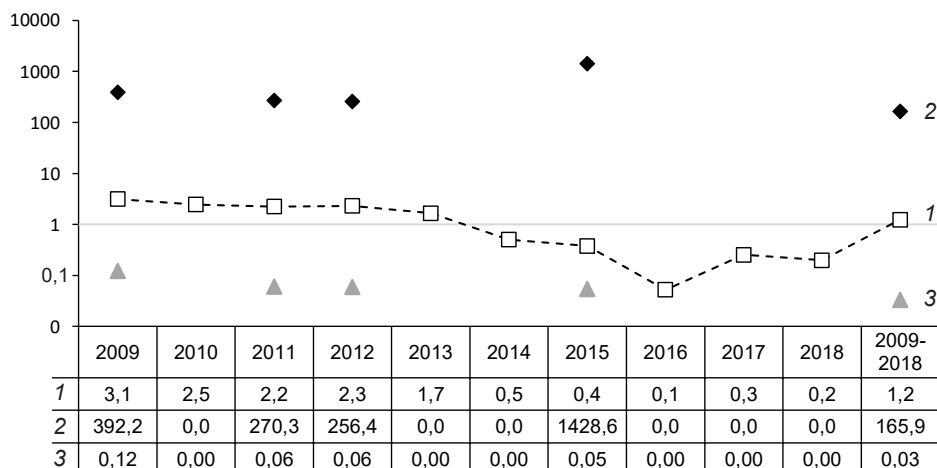


Рис. 4. Динамика заболеваемости ОВГВ (на 100 тыс. населения; 1), смертности (на 10 тыс. заболевших; 2) и летальности (на 100 тыс. населения; 3) от ОВГВ детей в Кыргызстане в 2009–2018 гг.

Fig. 4. Dynamics of morbidity (1), mortality (2) and lethality (3) from acute Hepatitis B in children, Kyrgyzstan, 2009–2018.

Несмотря на общепризнанность мнения об относительно легком течении ОВГС, он стал причиной смерти у 3% больных. Учитывая этиологические и эпидемиологические особенности HCV-инфекции, необходимо обратить внимание на усиление мер профилактики при оказании медицинских услуг и безопасности поведения среди ключевых групп.

Абсолютно низкая встречаемость ОВГД (1 случай из 109), вероятнее всего, объясняется патогенетическими особенностями развития болезни. Поздняя выработка антител класса IgM к HDV — на 3–4-й неделе болезни — обуславливает отрицательные результаты исследования в начале желтушного периода. Поэтому этиологическое подтверждение ОВГД запаздывает, и у пациентов, умерших от данной инфекции, диагностируется ОВГВ.

Несмотря на то, что за анализируемые 10 лет население страны было подвержено ОВГВ в 31,3 раза меньше, чем ОВГ в целом, смертность от HBV была ниже всего лишь в 2,7 раза. То, что пациенты с ОВГВ по сравнению с заболевшими остальными ОВГ имели большую подверженность смертельному исходу, подтверждает более тяжелое течение гепатита В (зачастую с дельта-антигеном), а также показатель летальности, который был выше в 11,4 раза (8 и 90 на 10 тыс. заболевших ОВГ и ОВГВ соответственно).

Снижение заболеваемости ОВГВ детей в 6,4 раза, смертности в 2,3 раза и повышение летальности в 1,9 раза по сравнению с общепопуляционными показателями указывают на то, что на фоне резкого снижения регистрации случаев ОВГВ среди детей уровень летальных случаев не уменьшился. Наличие единичных случаев заболевания ОВГВ среди детей, включая детей грудного и младшего возраста, объясняется тем, что 1–6% детей остаются непривитыми в связи с отказами родителей или медицинскими отводами. Создается острая необходимость повышения охвата иммунопрофилактикой детей путем проведения разъяснительных работ по снижению антивакцинальной настроенности родителей, ограничению медицинских отводов от введения вакцины.

Заключение

Таким образом, наличие заболеваемости и смертности взрослых и детей от острых гепатитов указывает на то, что эта патология остается высоким социальным бременем для страны. Учитывая высокий смертоносный потенциал ОВГ, требуется улучшение качества иммунизации детей и расширение охвата взрослых вакцинацией против HBV. Рост летальности от данного заболевания в десятки раз требует от представителей общественного здравоохранения усиления профилактических и противоэпидемических мер, а от врачей-клиницистов — обеспечения пациентов с указанной патологией качественной и своевременной медицинской помощью во избежание неблагоприятного исхода.

Благодарности

Авторы статьи выражают благодарность сотрудникам эпидемиологического отдела Департамента профилактики заболеваний и государственного санитарно-эпидемиологического надзора Министерства здравоохранения Кыргызской Республики в лице С.Т. Суранбаева и Республиканского центра иммунопрофилактики Министерства здравоохранения Кыргызской Республики в лице О.Д. Плотниковой за оказанную поддержку в предоставлении данных государственных отчетных форм № 1 и № 6.

ЛИТЕРАТУРА

1. EASL clinical practice guidelines. Management of chronic hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.* 2012; 57(1): 167-85. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010>
2. Рахманова А.Г., Яковлев А.А., Цинзерлинг В.А. Хронические вирусные гепатиты в Санкт-Петербурге. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2013; (2): 15-25.
3. Ott J.J., Horn J., Krause G., Mikolajczyk R.T. Time trends of chronic HBV infection over prior decades – A global analysis. *J. Hepatol.* 2017; 66(1): 48-54. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.08.013>
4. Schweitzer A., Horn J., Mikolajczyk R.T., Krause G., Ott J.J. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: A systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet.* 2015; 386(10003): 1546-55. DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)61412-X](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)61412-X)
5. Iqbal K., Klevens R.M., Kainer M.A., Baumgartner J., Gerard K., Poissant T., et al. Epidemiology of acute hepatitis B in the united states from population- based surveillance, 2006–2011. *Clin. Infect. Dis.* 2015; 61(4): 584-92. DOI: <http://doi.org/10.1093/cid/civ332>
6. Сафьянова Т.В., Лукьяненко Н.В. Заболеваемость острыми парентеральными вирусными гепатитами в г. Барнаул в 1986–2003 гг. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2006; (3): 121-2.
7. Кузин С.Н., Тленкопачев Р.С., Садикова Н.В. Заболеваемость острым вирусным гепатитом В на территории Кабардино-Балкарии. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2005; (6): 14-8.
8. Джангазиева А.А., Кутманова А.З., Касымова Р.О., Саттарова Г.Ж. Эпидемиологическая характеристика вирусного гепатита А в Кыргызской Республике за период с 2000 по 2014 гг. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2015; 3(1): 68-72.
9. Lozano R., Naghavi M., Foreman K., Lim S., Shibuya K., Aboyans V., et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet.* 2012; 380(9859): 2095-128. DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61728-0](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61728-0)
10. Stanaway J.D., Stanaway J., Flaxman A.D., Fitzmaurice C., Vos T., Abubakar I., et al. The global burden of viral hepatitis from 1990 to 2013: findings from the global burden disease study 2013. *Lancet.* 2016; 388(10049): 1081-8. DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30579-7](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30579-7)
11. Зайратьянц О.В., Ющук Н.Д., Хрипун А.И., Знойко О.О., Гудкова С.Б., Орехов О.О. и др. Распространенность инфекции, вызванной вирусами гепатита В и С, по материалам летальных исходов в Москве в 2015–2017 гг. *Архив патологии.* 2019; 81(2): 29-35. DOI: <http://doi.org/10.17116/ptol20198102129>

12. Тобокалова С.Т., Бекенова Д.С., Заирова Г.М., Нурматов З.Ш., Назарбаева Ж.Н., Айтиева Ж.Т. Эпидемиологические особенности острого и хронического гепатитов В в Кыргызской Республике за 20-летний период (1997–2017 гг.). *Казанский медицинский журнал*. 2018; 99(6): 986-93.
DOI: <http://doi.org/10.17816/KMJ2018-986>
13. Шоонаева Н.Д. Анализ материнской смертности при вирусных гепатитах. *Научный журнал*. 2016; 4(5): 81-6.
14. Джангазиева А.А., Кочкорбекова С.К., Рачинский В.П., Аширова А.М., Зикиряева А.М., Карыпбаева А.Ж. Этиологическая структура и анализ клинического течения тяжелых форм вирусных гепатитов (по материалам отделения реанимации и интенсивной терапии Республиканской клинической инфекционной больницы). *Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева*. 2018; (3): 43-7.
15. Dicker R.C., Coronado F., Koo D., Parrish R.G. *Principles of Epidemiology in Public Health Practice: An Introduction to Applied Epidemiology and Biostatistics*. Atlanta; 1998.
Available at: <https://www.cdc.gov/csels/dsepd/ss1978/>
1. EASL clinical practice guidelines. Management of chronic hepatitis B virus infection. *J. Hepatol*. 2012; 57(1): 167-85.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010>
2. Rakhmanova A.G., Yakovlev A.A., Tsinzerling V.A. Chronic viral hepatitis in St. Petersburg. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2013; (2): 15-25. (in Russian)
3. Ott J.J., Horn J., Krause G., Mikolajczyk R.T. Time trends of chronic HBV infection over prior decades – A global analysis. *J. Hepatol*. 2017; 66(1): 48-54.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.08.013>
4. Schweitzer A., Horn J., Mikolajczyk R.T., Krause G., Ott J.J. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: A systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet*. 2015; 386(10003): 1546-55.
DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)61412-X](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)61412-X)
5. Iqbal K., Klevens R.M., Kainer M.A., Baumgartner J., Gerard K., Poissant T., et al. Epidemiology of acute hepatitis B in the united states from population-based surveillance, 2006–2011. *Clin. Infect. Dis*. 2015; 61(4): 584-92.
DOI: <http://doi.org/10.1093/cid/civ332>
6. Safyanova T.V., Luk'yanenko N.V. The incidence of acute parenteral viral hepatitis in Barnaul in 1986–2003. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2006; (3): 121-2. (in Russian)
7. Kuzin S.N., Tlenkopachev R.S., Sadikova N.V. The incidence of acute viral hepatitis B in the territory of Kabardino-Balkaria. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2005; (6): 14-8. (in Russian)
8. Dzhangazieva A.A., Kutmanova A.Z., Kasymova R.O., Satarova G.Zh. Epidemiological characteristics of viral hepatitis A in the Kyrgyz Republic for the period 2000 to 2014. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2015; 3(1): 68-72. (in Russian)
9. Lozano R., Naghavi M., Foreman K., Lim S., Shibuya K., Aboyans V., et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 2012; 380(9859): 2095-128.
DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61728-0](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61728-0)
10. Stanaway J.D., Stanaway J., Flaxman A.D., Fitzmaurice C., Vos T., Abubakar I., et al. The global burden of viral hepatitis from 1990 to 2013: findings from the global burden disease study 2013. *Lancet*. 2016; 388(10049): 1081-8.
DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30579-7](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30579-7)
11. Zayrat'yants O.V., Yushchuk N.D., Khripun A.I., Znoyko O.O., Gudkova S.B., Orekhov O.O., et al. The prevalence of infection caused by hepatitis B and C viruses, based on deaths in Moscow in 2015–2017. *Arkhiv patologii*. 2019; 81(2): 29-35.
DOI: <http://doi.org/10.17116/patol20198102129> (in Russian)
12. Tobokalova S.T., Bekenova D.S., Zairova G.M., Nurmatov Z. Sh., Nazarbaeva Zh.N., Aйтиева Zh.T. Epidemiological features of acute and chronic hepatitis B in the Kyrgyz Republic over a 20-year period (1997–2017). *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2018; 99(6): 986-93.
DOI: <http://doi.org/10.17816/KMJ2018-986> (in Russian)
13. Shoonaeva N.D. Analysis of maternal mortality in viral hepatitis. *Nauchnyy zhurnal*. 2016; 4(5): 81-6. (in Russian)
14. Dzhangazieva A.A., Kochkorbekova S.K., Rachinskiy V.P., Ashirova A.M., Zikiryayeva A.M., Karypbaeva A.Zh. The etiological structure and analysis of the clinical course of severe forms of viral hepatitis (based on materials from the intensive care unit of the Republican Clinical Infectious Diseases Hospital). *Vestnik KGMA im. I.K. Akhunbaeva*. 2018; (3): 43-7. (in Russian)
15. Dicker R.C., Coronado F., Koo D., Parrish R.G. *Principles of Epidemiology in Public Health Practice: An Introduction to Applied Epidemiology and Biostatistics*. Atlanta; 1998.
Available at: <https://www.cdc.gov/csels/dsepd/ss1978/>

REFERENCES

Информация об авторах:

Ногойбаева Калысбубу Асанбековна[✉] — к.м.н., и.о. доцента профессорского курса инфекционных болезней Кыргызского государственного медицинского института переподготовки и повышения квалификации им. С.Б. Даниярова, 72004, Бишкек, Республика Кыргызстан; преподаватель кафедры общей и клинической эпидемиологии Кыргызской государственной медицинской академии им. И.К. Ахунбаева, 72006, Бишкек, Республика Кыргызстан.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0673-872X>. E-mail: k.nogoibaeva2014@gmail.com

Тобокалова Сапарбу Тобокаловна — д.м.н., проф., зав. курсом инфекционных болезней Кыргызского государственного медицинского института переподготовки и повышения квалификации им. С.Б. Даниярова, 72004, Бишкек, Республика Кыргызстан.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0650-1159>. E-mail: stobokalova@mail.ru

Участие авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Information about the authors:

Kalys A. Nogoibaeva[✉] — Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Department of infectious diseases, S.B. Danyarov Kyrgyz State Medical Institute for Retraining and Advanced Training, 72004, Bishkek, Kyrgyzstan; lecturer, Department of general and clinical epidemiology, I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, 72006, Bishkek, Kyrgyzstan.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0673-872X>. E-mail: k.nogoibaeva2014@gmail.com

Saparbu T. Tobokalova — Doct. Sci. (Med.), Prof., Head of the course of infectious diseases, I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, 72006, Bishkek, Kyrgyzstan.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0650-1159>. E-mail: stobokalova@mail.ru

Contribution: the authors contributed equally to this article.

Etiological and Epidemiological Characteristics of Lethality from Acute Viral Hepatitis, Kyrgyzstan, 2009–2018

Kalys A. Nogoibaeva^{1,2✉}, Saparbu T. Tobokalova¹

¹S.B. Danyarov Kyrgyz State Medical Institute for Retraining and Advanced Training, Bishkek 72004, Kyrgyzstan;

²I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, Bishkek 72006, Kyrgyzstan

Purpose. Study of the etiological structure of lethality from Acute Hepatitis and its comparison with morbidity and mortality for the period of 2009–2018.

Materials and methods. State Reporting Forms No. 1 “Report on Infectious, Parasitic and Non-Infectious Diseases” for the period of 2009–2018 were studied. The data was processed by the Microsoft Office Excel statistical package.

Results. In Kyrgyzstan, during the period of 2009–2018, 138,612 cases of Acute Viral Hepatitis (AVH) were detected, of which 109 patients had fatal outcomes. In the general structure of the latter, the proportions of patients with Acute Hepatitis B (HBV 36.7%) and A (HAV, 35.7%) were approximately the same. In every fifth case, “Unspecified Acute Viral Hepatitis (UAVH)” was diagnosed (22.9%). Acute Hepatitis C was the cause of death in 4 patients (3%), and HDV infection in 1 patient. Among the deceased, there were no cases of Hepatitis E. Lethality from Acute Hepatitis B was recorded in 5 children, and from Hepatitis C in one child. At the same time, 9 out of 25 patients with “Unverified Acute Viral Hepatitis” were children.

Over the period of 2009–2018, the incidence of HBV was 31.3 times lower than that of all AH in general (240.9, and 7.7, AH and HBV, respectively), the mortality rate was 2.7 times lower (0.19 and 0.07, AH and HBV, respectively), and the lethality rate was 11.4 times higher (7.9 and 89.8, AH and HBV, respectively). The average incidence of HBV in children was 6.4 times lower (7.7 and 1.2, total and children, respectively), the mortality rate was 2.3 times (0.07 and 0.03, total and children, respectively), and the lethality rate was 1.8 times higher (89.8 and 165.9, total and children, respectively).

Conclusion. The existence of morbidity and lethality in adults and children from Acute Hepatitis indicates a high disease burden for the country. The high proportion of HBV and HAV in the structure of AH mortality requires improving the quality of immunization of children and expanding the coverage of adults with vaccination against these viral Hepatitis. The increase in lethality against the background of a tenfold decrease in the incidence of AH points out that the number of patients who have died from this pathology does not decrease.

Keywords: mortality, lethality, acute hepatitis, acute hepatitis b, hepatitis A, children, adults

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

For citation: Nogoibaeva K.A., Tobokalova S.T. Etiological and Epidemiological Characteristics of Lethality from Acute Viral Hepatitis, Kyrgyzstan, 2009–2018. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, Russian journal.* 2020; 97(1): 40–45.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-40-45>

Received 26 November 2019

Accepted 18 December 2019

Introduction

The morbidity caused by Hepatitis B virus (HBV) causes great damage to the socio-economic condition of the country, regardless of the level of development [1–3]. World experience shows that despite the successful implementation of vaccination programs against HBV infection, a certain part of children and adults remain unreached by this preventive measure. The consequence of this is the presence of the incidence of acute viral Hepatitis B (HBV) in the population [4–7]. This situation is also typical for the Kyrgyz Republic, where the average cumulative incidence of HBV in the population within the period of 2009–2018 was 8 cases per 100,000 population, including people over 15 years old — 10.7, and children — 1.3 [8]. It should be emphasized that in the

country, at the state level, vaccination is supported only for children who have been immunized within the National Vaccination Calendar (NVC) since 1999 [9]. According to WHO experts, more than 100,000 people suffer from chronic viral Hepatitis C in Kyrgyzstan [10]. The presence of a cyclical increase in the incidence of viral Hepatitis A every 3–4 years up to 250–409 people per 100,000 population emphasizes the particular relevance of this pathology to the Republic [11]. At the same time, vaccination against Hepatitis A is not included in the NVC; it is carried out in rare cases and on a paid basis. The high incidence of OVHA indicates a low coverage of preventive vaccinations, especially for children, which is completely dependent on the awareness, consciousness and activity of citizens. The presence of mortality from acute liver damage defines this problem as one of the diseas-

es with a high burden of disease both on the regional and global scales [12–14]. Unfortunately, in our country, the epidemiological surveillance system continues to detect lethal cases of AH, which occur even among pregnant women [15–17].

The purpose of this study was to determine the etiological structure of lethality from acute Hepatitis and its comparison with morbidity and mortality for the period of 2009–2018.

Materials and methods

To study the etiological structure, dynamics of mortality and lethality from acute viral Hepatitis, the data of the State Reporting Form No. 1 “Report on Infectious, Parasitic and Non-Infectious Diseases” of the Department of Disease Prevention and State Sanitary and Epidemiological Supervision of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic (DDP and SSES of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic) for the period of 2009–2018 were analyzed. The Report records lethal cases among adults and children “0–14 years”, which in turn are grouped into 0–12 months, 1–2 years, 3–4 years and 5–14 years and are cumulated in the E-health Center of (EHC) of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic [8]. The population size by age is based on the database of the National Statistical Committee of the Kyrgyz Republic [18]. The material was processed using the Microsoft Office Excel statistical package software. Morbidity and mortality were calculated per 100,000 population and lethality per 10,000 cases. The extensive indicator – the share of the studied features was calculated as a percentage. Calculating the standard error of proportion use the following formula:

$$\sqrt{p \frac{(1-p)}{n}},$$

since p was expressed as a percentage, $(1-p)$ was replaced by $(100-p)$ [19].

The 95% confidence interval for the proportion was estimated using the formula:

$$(p - [1,96 \times \sqrt{p \frac{(1-p)}{n}}]); (p + [1,96 \times \sqrt{p \frac{(1-p)}{n}}]).$$

Results

Over the past 10 years (2009–2018), in the Kyrgyz Republic, a total of 138,612 cases of acute viral Hepatitis (AH) were detected, of which 109 patients died. The distribution of deceased patients by etiological structure is presented in **Figure 1**.

According to the routine epidemiological surveillance system, over the analyzed 10 years (2009–2018), the dominant share in the overall structure of fatal cases was constituted by patients with HBV ($n=40$, 36.7%) and HAV ($n=39$, 35.7%) that occurred with approximately the same frequency. The etiology of AH was not identified in every fifth patient who died from Hepatitis, and therefore they were diagnosed as “Unspecified Acute Viral Hepatitis” (22.9%, 25/109). Hepatitis C virus (HCV) was the cause of death in 4 patients (3%), and Delta virus (HDV) – in 1 patient. Among the deceased, there were no cases of HEV.

The study of the dynamics of the etiological structure of AH for the analyzed period showed that Hepatitis A was the cause of death in 45–54% of patients from 2010 to 2013. In 2014, the proportion of

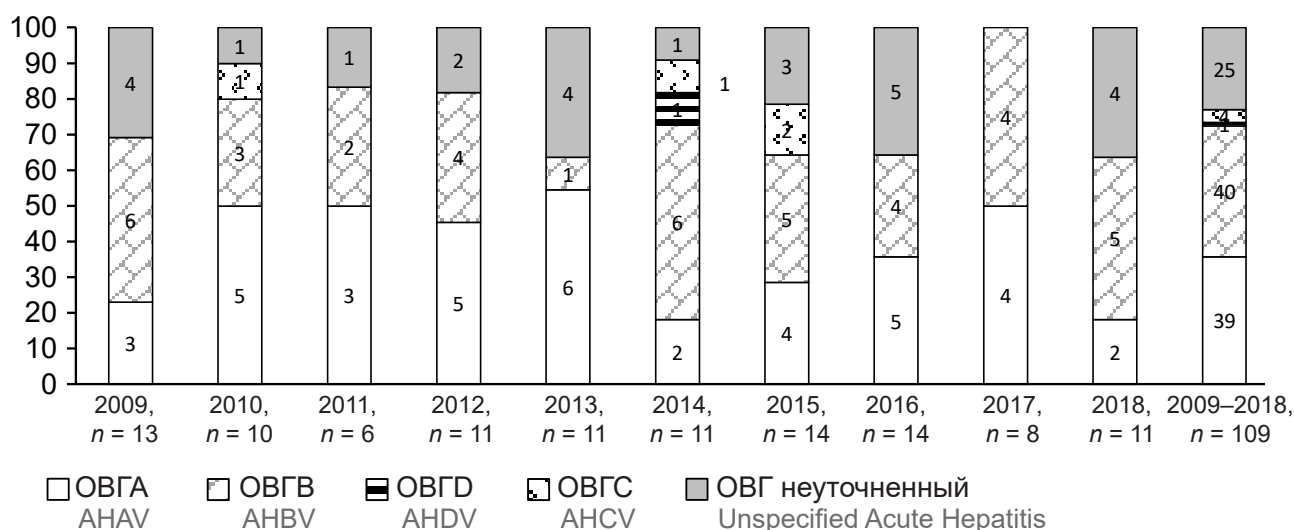


Fig. 1. Etiological structure of Acute Viral Hepatitis with fatal outcome, Kyrgyzstan, 2009–2018

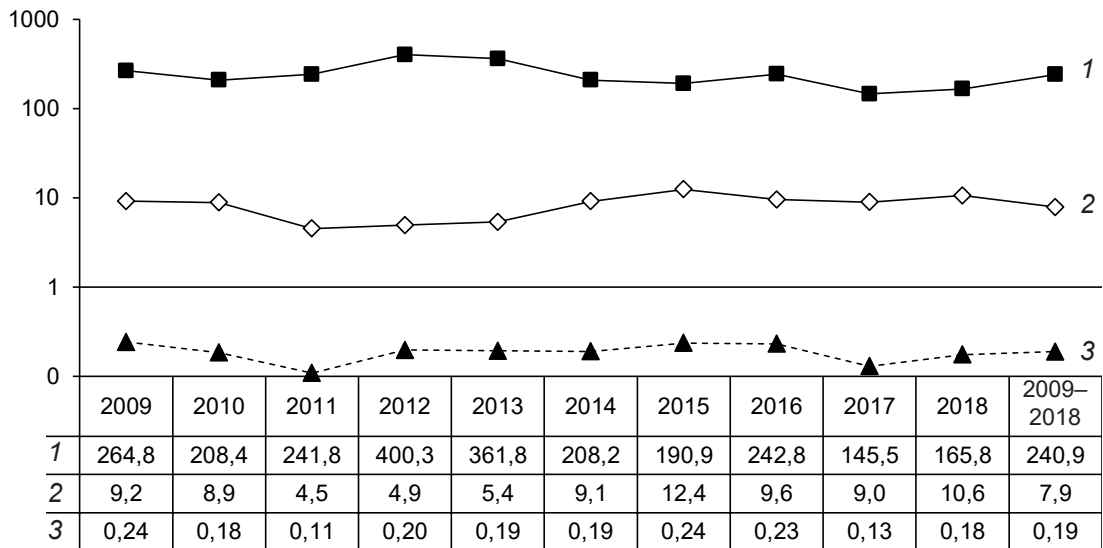


Fig. 2. Dynamics of morbidity (1), mortality (2) and lethality (3) from Acute Hepatitis, Kyrgyzstan, 2009–2018.

deaths from HAV decreased to 18%, but in subsequent years there was an increase in lethality, and in 2017 it reached the previous level again (50%). As for HBV infection, in 2009, 2014, 2017–2018, it was the cause of death of every second patient, and in the periods 2010–2012 and 2015–2016 – every third patient who died. Hepatitis C virus as the cause of death in 4 patients with AH was established in 2010, 2014, and 2015. The proportion of unspecified Hepatitis among patients with unfavorable outcome reached 30% in 2009, $n=13$, 2013, $n=11$, 2016, $n=14$, and 2018, $n=11$.

The analysis of the age composition of the deceased patients showed the presence of children with HAV, HBV, HCV and “Unspecified Acute Hepatitis” among them. For the analyzed period, the epidemiolo-

gical surveillance system detected 5 fatal cases of children with HBV and an average cumulative morbidity was 1.2‰. Given the small number of this group, it was decided to present the age distribution in absolute numbers: 0–12 months of life — 2 children (2009 and 2015), 1–2 years — 1 (in 2009), and 5–14 years — 2 children (2011 and 2012). 1 child who was in the “5–14 year old” age group died from acute Hepatitis C (HCV). 9 of the 25 patients who died with the diagnosis of “Unspecified Acute Hepatitis” were children under 14 years (under 12 months–1, 3–4 years–2 and 5–14—6 children).

For a more detailed study of the epidemic situation in terms of AVH mortality, a comparative analysis of mortality (per 100,000 population, ‰), lethality (per 10,000 cases, ‰) was carried out and correlated

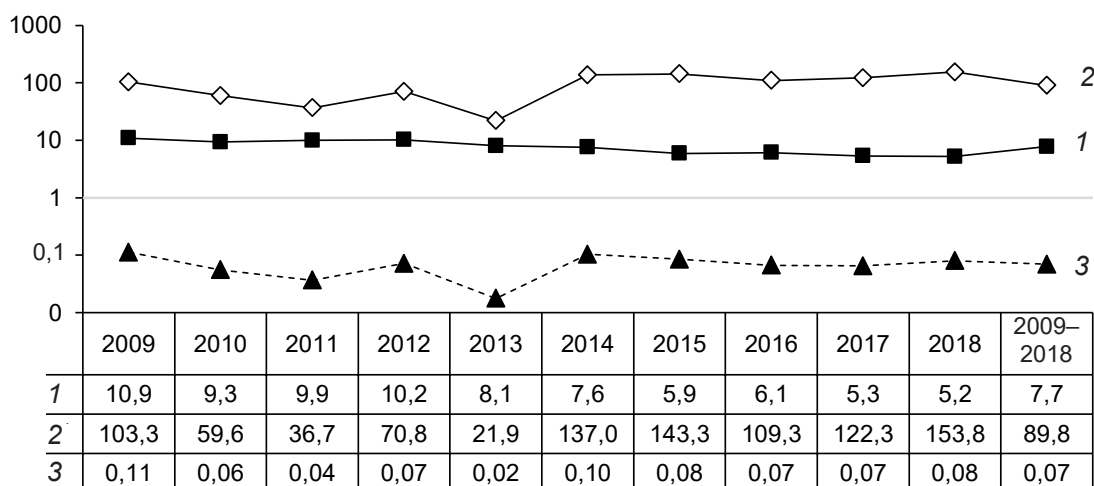


Fig. 3. Dynamics of morbidity (1), mortality (2) and lethality (3) from acute Hepatitis B, Kyrgyzstan, 2009–2018.

to morbidity (**Figure 2**). The chart shows that the average cumulative incidence of AVH was 240.9‰ with a 1.6-time decrease over 10 years (2009–2018). At the same time, a rise in the incidence was observed in the period 2011–2013, with a peak in 2012 (400.3‰), mainly due to Hepatitis A. Subsequently, the incidence curve had a wave-like aspect, with a decrease in the intensity of the process in 2015 almost 2 times (190.9‰), with an increase in 2016 by 50‰ — 1.3 times (242.8‰), and in 2017 it was recorded a decrease of almost 100‰, which was the minimum indicator (145.5‰) for the entire analyzed period.

The AVH lethality curve for the same period of time had an inverse dependence on the incidence, that is, there was a decrease in the lethality rate in the years of increased incidence (4.5, 5, 4, and 4.9‰, 2011, 2013, and 2012, respectively) and an increase in the years of relative epidemic well-being (12.4, 9.6, and 9.0‰, 2015, 2016, and 2017, respectively). At the same time, the average cumulative lethality rate was 8 people per 10,000 (‰) cases with a trend to increase (by 13.2 %) for 2009–2018. The mortality indicator averaged 2 cases per 1,000,000 population and decreased by 25% over the analyzed period. The direction of the curve repeated the lethality dynamics: at the peak of the rise in morbidity, this indicator decreased (0.11‰, 2011) and rose to 2.4‰ in 2015, when the lowest level of morbidity was observed for the entire analyzed period.

It should be noted that despite the fact that children have been vaccinated against Hepatitis B since 1999 as part of the National vaccination calendar in

the country, there are still cases of deaths of children from HBV. Therefore, it was decided to conduct a comparative analysis of morbidity, mortality and lethality from Acute Hepatitis B (**Figure 3**).

The average cumulative incidence over the observed 10 years was 7.7‰, with a progressive 2.1-time decrease (by 52.3%) over the study period (10.9‰ and 5.2‰, 2009 and 2018, respectively). At the same time, during the first five years of the analyzed period, the lethality rate decreased 4.7 times (by 78.8%) (103.3‰ and 21.9‰, 2009 and 2013, respectively), and since 2014, there has been a sharp rise in lethality – 6.2 times (21.9‰ and 137.0‰, 2013 and 2014, respectively). This trend continued in the subsequent years: 137.0‰ and 153.8‰, 2014 and 2018, respectively. The average cumulative indicator was 89.8‰. The mortality rate decreased similar to lethality during the first five-year of the period under study (0.11‰ and 0.02‰, 2009 and 2013, respectively) and increased 5 times in 2014 (0.02‰ and 0.10‰, 2013 and 2014, respectively). In the period 2014–2018, despite the increasing trend in the lethality rate, the mortality rate remained stable at the level of 0.07–0.08‰.

Thus, the analysis of cumulative indicator ratio over the 10-year period showed that the incidence of HBV was 31.3 times lower than AVH (240.9‰ and 7.7‰, AVH and HBV, respectively), the mortality was 2.7 times lower (0.19‰ and 0.07‰, AH and HBV, respectively), but the lethality was 11.4 times higher (7.9‰ and 89.8‰, AVH and HBV, respectively). The results of the study of dynamic

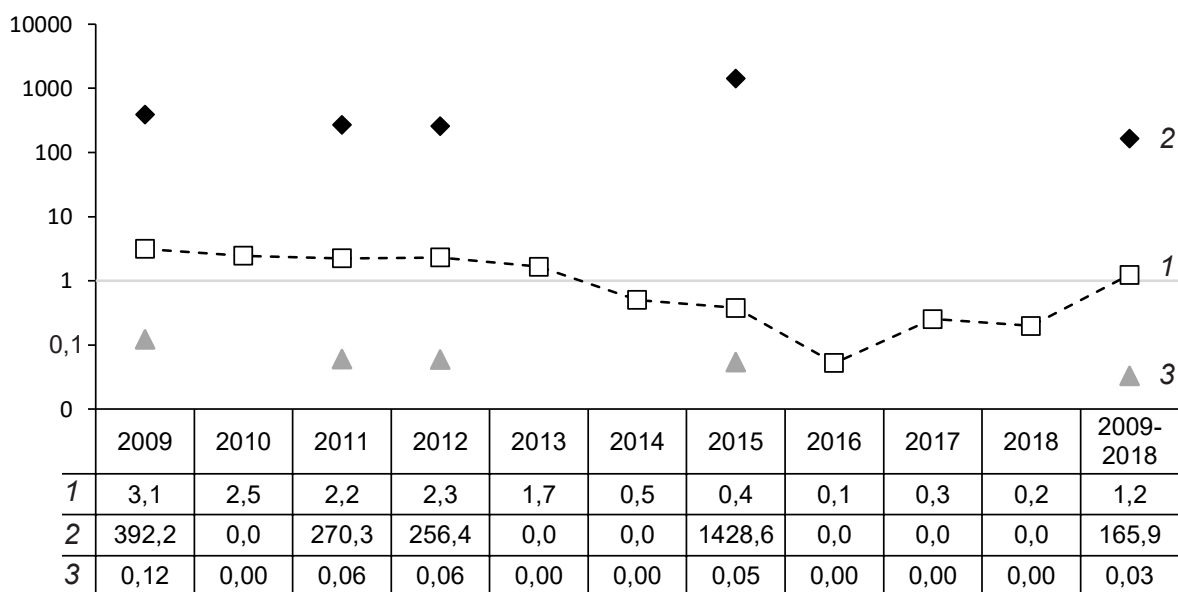


Fig. 4. Dynamics of morbidity (1), mortality (2) and lethality (3) from acute Hepatitis B in children, Kyrgyzstan, 2009–2018.

indicators in 2009–2018 show a decrease in the incidence of both AVH in General (1.6 times) and HBV (2.1 times), while the rate of decrease of the latter was higher. The dynamics of mortality decrease at these pathologies was the same (1.3 times and 1.4 times, AVH and HBV, respectively), and the lethality rate increased 1.2 times in terms of AVH and 1.5 times in terms of HBV.

The results of the analysis of the above indicators in deceased children with HBV are presented in **Figure 4**.

As shown in the diagram, the incidence of HBV in children decreased 15.5 times in the dynamics (3.1‰ and 0.2‰, 2009 and 2018, respectively). The average lethality rate was 166 people per 10,000 cases in children, with a minimum of 256.4‰ in 2009, and a maximum of 1428.6 (‰) in 2015. The mortality rate varied from 5–12 cases per 10,000,000 children.

Comparison of morbidity, mortality and lethality in children from acute Hepatitis B with similar indicators in the general population of patients revealed that, for the period of 2009–2018, the average cumulative incidence of HBV in children was 6.4 times lower compared to the general population of patients with this pathology (7.7‰ and 1.2‰, total and children, respectively), the mortality was also 2.3 times lower (0.07‰ and 0.03‰, total and children, respectively); but the lethality was 1.8 times higher (89.8‰ and 165.9‰, total and children, respectively).

Discussion

The analysis of the etiological structure of mortality from AVH for the period of 2009–2018 showed that the fatal outcome was recorded at all forms of acute viral liver disease (HBV, HAV, HCV, HDV) detected in the country with the exception of HEV.

Despite the fact that HBV vaccination has been carried out in the country for the last 20 years, the proportion of deaths from HBV remains quite high (36.7%). The presence of morbidity and mortality from HBV in children indicates insufficient HBV vaccination coverage of them, even within the NVC. The unfavorable situation with Hepatitis B among adults can be explained by the fact that the expenses on immunization against HBV for people over 15 years are borne by the population that, against the background of weak information and educational support, does not pay enough serious attention to this issue. The above requires the study of the causes of morbidity and mortality of children and adults from HBV infection against the background of vaccina-

tion of children in the framework of NVC in order to develop preventive and anti-epidemic measures in response.

The frequent occurrence of lethal cases (35.7%) in HAV patients is undoubtedly related to the long-term unfavorable epidemic situation in the country. As many scientists and health care organizers of the country point out, despite the fact that HAV is an enterovirus and improving the provision of drinking water to the population along with compliance with sanitary and hygienic measures should have led to a decrease in the spread of infection, the Hepatitis A incidence in the Kyrgyz Republic has been remaining at a high level for several decades [11]. The existence of mortality from it, against the background of high morbidity (154.3‰, 2018), requires decision on the inclusion of vaccination against HAV in the National Vaccination Calendar, against the background of constant social mobilization of the population to fight HAV.

The relatively high level of “Unspecified Hepatitis” (22.9%) allows us to think about the possibility of liver damage by cytomegalovirus and/or herpes simplex virus, etc. The course of occult Hepatitis B or Acute Toxic Hepatitis is also not excluded. To confirm/exclude these hypotheses, it is necessary to conduct in-depth studies on HBs Ag, other hepatotropic viruses using more sensitive methods and toxicological examination of patients with negative markers for viral Hepatitis. Also, to avoid laboratory errors, it is necessary to use tests with high sensitivity and specificity.

Despite the generally accepted opinion about the relatively mild course of HCV, it caused deaths in 3% of patients. Taking into account the etiological and epidemiological features of HCV infection, it is necessary to pay attention to strengthening prevention measures when providing medical services and safety of behavior among key groups.

Absolutely low incidence of HDV (1 case out of 109) is most likely due to the pathogenetic features of the disease. Late production of antibodies to HDV, class IgM, on week 3–4 of the disease, causes negative results of the examination at the beginning of the icteric period. Therefore, the etiological confirmation of acute Hepatitis B with Delta agent is delayed and patients, who died from this infection, are diagnosed as HBV.

Despite the fact that, over the analyzed 10 years, the population of the country was exposed to HBV 31.3 times less than acute viral Hepatitis in general, the mortality rate from HBV was only 2.7 times lower. The fact that patients with HBV, in comparison

with other AVH, had a greater risk of death, confirms the more severe course of Hepatitis B (often with Delta antigen), as well as the lethality rate, which was 11.4 times higher (8 and 90 per 10,000 patients, AVH and HBV, respectively).

A 6.4-time decrease in the incidence of HBV in children, a 2.3-time decrease in mortality, and a 1.9-time increase in lethality compared to general population indicators means that the level of fatal cases has not decreased against the background of a sharp decline in recording HBV cases among children. The presence of single cases of HBV among children, including infants and young children, is explained by the fact that 1–6% of children remain unvaccinated because of parental refusals or medical contraindications. There is an urgent need to increase the coverage of children with immunoprophylaxis by conducting explanatory work to reduce the anti-vaccination mood of parents and limiting medical contraindications for the administration of vaccine.

Thus, the existence of morbidity and mortality of adults and children (including infants and young children) from Acute Hepatitis indicates that this pathology remains a high social burden for the country. Given the high lethal potential of AVH, it is necessary to improve the quality of immunization of children and expand coverage of adults with HBV vaccination. The tenfold increase in lethality from this disease requires public health representatives to enhance preventive and anti-epidemic measures, and clinicians to provide patients having this pathology with high-quality and timely medical care in order to avoid the unfavorable outcome.

Acknowledgement

The authors of the article express their gratitude to the employees of the Epidemiological Department of DDP and SSES of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic represented by Suranbaev, S.T., and the Republican Center for Immunoprophylaxis of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic represented by Plotnikova, O.D. for their support in providing data of State Reporting Forms No. 1 and No. 6.

REFERENCES

1. EASL clinical practice guidelines. Management of chronic hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.* 2012; 57(1): 167-85. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010>
2. Rakhmanova A.G., Yakovlev A.A., Tsinzerling V.A. Chronic viral hepatitis in St. Petersburg. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2013; (2): 15-25. (in Russian)

3. Ott J.J., Horn J., Krause G., Mikolajczyk R.T. Time trends of chronic HBV infection over prior decades – A global analysis. *J. Hepatol.* 2017; 66(1): 48-54. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.08.013>
4. Schweitzer A., Horn J., Mikolajczyk R.T., Krause G., Ott J.J. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: A systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet.* 2015; 386(10003): 1546-55. DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)61412-X](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)61412-X)
5. Iqbal K., Klevens R.M., Kainer M.A., Baumgartner J., Gerard K., Poissant T., et al. Epidemiology of acute hepatitis B in the united states from population- based surveillance, 2006–2011. *Clin. Infect. Dis.* 2015; 61(4): 584-92. DOI: <http://doi.org/10.1093/cid/civ332>
6. Saŕyanova T.V., Luk'yanenko N.V. The incidence of acute parenteral viral hepatitis in Barnaul in 1986–2003. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2006; (3): 121-2. (in Russian)
7. Kuzin S.N., Tlenkopachev R.S., Sadikova N.V. The incidence of acute viral hepatitis B in the territory of Kabardino-Balkaria. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2005; (6): 14-8. (in Russian)
8. Dzhangazieva A.A., Kutmanova A.Z., Kasymova R.O., Sattarova G.Zh. Epidemiological characteristics of viral hepatitis A in the Kyrgyz Republic for the period 2000 to 2014. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy.* 2015; 3(1): 68-72. (in Russian)
9. Lozano R., Naghavi M., Foreman K., Lim S., Shibuya K., Aboyans V., et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet.* 2012; 380(9859): 2095-128. DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61728-0](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61728-0)
10. Stanaway J.D., Stanaway J., Flaxman A.D., Fitzmaurice C., Vos T., Abubakar I., et al. The global burden of viral hepatitis from 1990 to 2013: findings from the global burden disease study 2013. *Lancet.* 2016; 388(10049): 1081-8. DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30579-7](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30579-7)
11. Zayrat'yants O.V., Yushchuk N.D., Khripun A.I., Znoyko O.O., Gudkova S.B., Orekhov O.O., et al. The prevalence of infection caused by hepatitis B and C viruses, based on deaths in Moscow in 2015-2017. *Arkhiv patologii.* 2019; 81(2): 29-35. DOI: <http://doi.org/10.17116/patol20198102129> (in Russian)
12. Tobokalova S.T., Bekenova D.S., Zairova G.M., Nurmatov Z. Sh., Nazarbaeva Zh.N., Aytieva Zh.T. Epidemiological features of acute and chronic hepatitis B in the Kyrgyz Republic over a 20-year period (1997–2017). *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal.* 2018; 99(6): 986-93. DOI: <http://doi.org/10.17816/KMJ2018-986> (in Russian)
13. Shoonaeva N.D. Analysis of maternal mortality in viral hepatitis. *Nauchnyy zhurnal.* 2016; 4(5): 81-6. (in Russian)
14. Dzhangazieva A.A., Kochkorbekova S.K., Rachinskiy V.P., Ashirova A.M., Zikiryaeva A.M., Karypbaeva A.Zh. The etiological structure and analysis of the clinical course of severe forms of viral hepatitis (based on materials from the intensive care unit of the Republican Clinical Infectious Diseases Hospital). *Vestnik KGMA im. I.K. Akhunbaeva.* 2018; (3): 43-7. (in Russian)
15. Dicker R.C., Coronado F., Koo D., Parrish R.G. *Principles of Epidemiology in Public Health Practice: An Introduction to Applied Epidemiology and Biostatistics.* Atlanta; 1998. Available at: <https://www.cdc.gov/csels/dsepd/ss1978/>

Information about the authors:

Kalys A. Nogoibaeva[✉] — Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Department of infectious diseases, S.B. Danyarov Kyrgyz State Medical Institute for Retraining and Advanced Training, 72004, Bishkek, Kyrgyzstan; lecturer, Department of general and clinical epidemiology, I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, 72006, Bishkek, Kyrgyzstan. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0673-872X>. E-mail: k.nogoibaeva2014@gmail.com

Saparbu T. Tobokalova — Doct. Sci. (Med.), Prof., Head of the course of infectious diseases, I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, 72006, Bishkek, Kyrgyzstan. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0650-1159>. E-mail: stobokalova@mail.ru

Contribution: the authors contributed equally to this article.

Пространственная визуализация данных по антибиотикорезистентности штаммов холерных вибрионов, изолированных на территории России

Селянская Н.А.[✉], Березняк Е.А., Тришина А.В., Симонова И.Р., Егиазарян Л.А., Водопьянов А.С.

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия

Цель. Разработка интегрированной онлайн, пополняемой и обновляемой географической информационной системы (ГИС) для систематизации и анализа сведений об антибиотикорезистентности *V. cholerae* El Tor.

Материал и методы. Методом серийных разведений в плотной питательной среде (МУК 4.2.2495-09) определяли чувствительность/устойчивость к 22 антибактериальным препаратам штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, выделенных от людей и из водных объектов на территории России в 2005–2016 гг. Разработку интернет-версии ГИС проводили с использованием языков программирования HTML, JavaScript и PHP и картографических данных, полученных от корпорации «Ростелеком» и сообщества OpenStreetMap.

Результаты. Сравнительный анализ антибиотикорезистентности штаммов по субъектам РФ и по времени выделения показал увеличение в 2012–2016 гг. числа штаммов, устойчивых к стрептомицину, ампициллину, рифампицину, фуразолидону, появление в 2012–2016 гг. культур, резистентных к налидиксовой кислоте и цефтриаксону, снижение устойчивости к триметоприму/сульфаметоксазолу по сравнению с 2005–2009 гг. В Ставропольском крае выделенные *V. cholerae* O1 El Tor характеризовались резистентностью к фуразолидону (33,3%) и триметоприму/сульфаметоксазолу (100%), в Приморском крае — к ампициллину, стрептомицину, рифампицину (7%), фуразолидону (43%), триметоприму/сульфаметоксазолу (100%), в Иркутской области и Калмыкии — к ампициллину (8,3% и 11%), фуразолидону и триметоприму/сульфаметоксазолу (11% и 89%).

Заключение. Разработанная ГИС позволяет осуществлять сбор и анализ информации об антибиотикорезистентности *V. cholerae* O1 El Tor, проводить выборку штаммов по заданным свойствам.

Ключевые слова: ГИС; холера; антибиотикорезистентность.

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

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

Для цитирования: Селянская Н.А., Березняк Е.А., Тришина А.В., Симонова И.Р., Егиазарян Л.А., Водопьянов А.С. Пространственная визуализация данных по антибиотикорезистентности штаммов холерных вибрионов, изолированных на территории России. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(1): 47–54.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-47-54>

Поступила 06.04.2019
Принята в печать 18.12.2019

Spatial Visualization of Data on the Antibiotic Resistance of *Vibrio cholerae* Strains Isolated in Russia

Nadezhda A. Selyanskaya[✉], Elena A. Bereznyak, Alyona V. Trishina, Irina R. Simonova, Liana A. Egiazaryan, Alexey S. Vodopyanov

Rostov-on-Don Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don 344002, Russia

Aim. The aim was to develop an integrated online and updated geographic information system (GIS) for the systematization and analysis of information on *V. cholerae* El Tor antibiotic resistance.

Material and methods. The method of serial dilutions in a dense nutrient medium (MUK 4.2.2495-09) was used to determine the sensitivity/resistance to 22 antibacterial preparations of *V. cholerae* O1 El Tor strains isolated from people and from aquatic environmental objects in Russia in 2005–2016. The development of the Internet version of the GIS was carried out using programming languages HTML, JavaScript and PHP and cartographic data obtained from the corporation Rostelecom (Russia) and the community OpenStreetMap.

Results. A comparative analysis of the antibiotic resistance of the strains by regions of the Russian Federation and by isolation time showed an increase of strains resistant to streptomycin, ampicillin, rifampicin and furazolidone, the appearance of cultures resistant to nalidixic acid and ceftriaxone, reduced resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole in 2012–2016 compared to 2005–2009. In the Stavropol Krai, the isolated *V. cholerae* O1 El Tor were characterized by resistance to furazolidone (33.3%) and trimethoprim/sulfamethoxazole (100%); in the Primorsky Krai — to ampicillin, streptomycin, rifampicin (7%), furazolidone (43%), trimethoprim/sulfamethoxazole (100%); in the Irkutsk region and Kalmykia, to ampicillin (8.3% and 11%), furazolidone and trimethoprim/sulfamethoxazole (11% and 89%).

Conclusion. The GIS developed allows to collect and analyze information on the antibiotic resistance of *V. cholerae* O1 El Tor, and to select the strains for given properties.

Keywords: GIS; cholera; antibiotic resistance.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

For citation: Selyanskaya N.A., Bereznyak E.A., Trishina A.V., Simonova I.R., Egiazaryan L.A., Vodopyanov A.S. Spatial Visualization of Data on the Antibiotic Resistance of *Vibrio cholerae* Strains Isolated in Russia. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* = *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, Russian journal*. 2020; 97(1): 47–54. (In Russ.).
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-47-54>

Received 6 April 2019

Accepted 18 December 2019

Введение

В современных условиях проблема лекарственной устойчивости микроорганизмов приобрела глобальный характер. Широкое распространение штаммов микроорганизмов с резистентностью к антимикробным препаратам потребовало создания в ряде стран национальных программ мониторинга и минимизации антибиотикорезистентности (АБР), внедрения комплекса аналитических исследований и организованных мероприятий по проведению динамического мониторинга за структурой и уровнем лекарственной устойчивости микроорганизмов.

Всемирная организация здравоохранения определила эпидемиологический надзор за устойчивостью к антибактериальным препаратам как одно из основных направлений Глобальной стратегии ВОЗ по сдерживанию АБР¹. В Европе этой проблемой занимается специальная Исследовательская группа по надзору за антимикробной резистентностью Европейского общества по клинической микробиологии и инфекционным болезням (ESCMID Study Group for Antimicrobial Resistance Surveillance).

В России на базе НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО «Смоленская государственная медицинская академия» с 2000 г. функционирует научно-методический центр по мониторингу АБР [1]. Активное участие в работе по формированию правильного применения противомикробных препаратов на национальном, региональном и международном уровнях принимает Роспотребнадзор, который в настоящее время разрабатывает план мероприятий по реализации «Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года», утвержденной Правительством РФ в 2017 г., а также начал реализацию проекта «Совершенствование мер борьбы и профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи», в рамках которого уделяется значительное внимание вопросам изучения АБР, разработке и внедрению мероприятий по ее сдерживанию на глобальном и региональном уровнях.

¹ Глобальная стратегия ВОЗ по сдерживанию устойчивости к антимикробным средствам. Всемирная организация здравоохранения. Женева, 2001.
URL: <http://whqlibdoc.who.int/hq/2001/WHO> (дата обращения: 20.10.2014).

Во многих странах для систематического сбора и анализа данных, количественной оценки распространенности АБР и ее динамики внедрены «интерактивные» системы мониторинга АБР. Широко применяются географические информационные системы (ГИС), которые позволяют анализировать большой набор данных со сложной структурой, делать быстрые интерактивные запросы о свойствах объектов. Благодаря возможности комбинировать пространственные и эпидемиологические данные ГИС способны визуализировать обработанную информацию в виде карт, картодиаграмм, трехмерных и анимированных изображений в понятной и удобной для пользователя форме [2]. Карты пользуются большим спросом в качестве средств визуализации информации, а создание онлайн-версий ГИС, размещаемых в интернете, делает их доступными широкому кругу пользователей. Так, возможность интерактивного анализа и/или представления данных мониторинга АБР ряда инфекций заложена в специализированных программах EARS-Net², CDDEP ResistanceMap³, SGSS⁴, NNIS system, ATLAS⁵, SMART⁶, WHONET⁷. В России разработан интернет-ресурс AMRmap⁸ по мониторингу АБР клини-

² ECDC. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net).

URL: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial-resistance-and-consumption/antimicrobial_resistance/EARS-Net/Pages/EARS-Net.aspx (дата обращения: 11.07.2016).

³ CDDEP. ResistanceMap. Antibiotic Resistance.

URL: <https://resistancemap.cddep.org/AntibioticResistance.php> (дата обращения: 12.12.2015).

⁴ Public Health England. Second Generation Surveillance System (SGSS).

URL: <https://sgss.phe.org.uk/Security/Register> (дата обращения: 09.12.2016).

⁵ Pfizer. ATLAS: Antimicrobial Testing Leadership and Surveillance.

URL: <https://atlas-surveillance.com> (дата обращения: 01.05.2017).

⁶ MSD. SMART: Study For Monitoring Antimicrobial Resistance Trends.

URL: <http://www.globalSMARTsite.com> (дата обращения: 11.07.2016).

⁷ CDC. Antibiotic Resistance Patient Safety Atlas – Data on Antibiotic-Resistant Healthcare-Associated Infections.

URL: <http://gis.cdc.gov/grasp/PSA/MapView.html> (дата обращения: 09.12.2016).

⁸ Онлайн-платформа анализа данных резистентности к антимикробным препаратам в России.

URL: <http://map.antibiotic.ru>

чески значимых микроорганизмов, содержащий набор инструментов для визуализации данных о чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам и распространенности основных генетических детерминант АБР [3].

Использование информационных технологий в мониторинге холеры позволило создать базы данных (БД):

- «Справочник-кадастр» выделения вибрионов на территории бывшего СССР (1970–1988 гг.);
- БД ГИС «Распространение холерных вибрионов в объектах окружающей среды на территории Российской Федерации в 2005–2008 годах»;
- БД «Холера Эль Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в СНГ»;
- «Штаммы *Vibrio cholerae*»;
- «Распространение холерных вибрионов в объектах окружающей среды на территории Российской Федерации в 1989–2014 гг.»;
- «Холерные вибрионы не O1/не O139 серогрупп, циркулирующие в Ростовской области»;
- «Холера Штаммы VNTR»;
- БД ГИС «Холера 1989–2014» и др. [4–12].

На основе разработанных БД и ГИС по проблеме «Холера» ведется ежегодная оценка эпидемиологической обстановки по холере на глобальном и территориальном уровнях, осуществляется анализ фено- и генотипических свойств холерных вибрионов в аспекте многолетних данных об их циркуляции в водных объектах окружающей среды на территории России [13–15]. Наличие онлайн-версий данных ГИС и интегрированность в геоинформационный портал Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора делает их доступными широкому кругу пользователей.

Сообщения о циркуляции устойчивых к антимикробным препаратам штаммов *Vibrio cholerae* в различных странах, завоз холеры с выделением возбудителей от больных и из объектов окружающей среды на территории России [16, 17] свидетельствуют о необходимости проведения мониторинга антимикробной резистентности в рамках эпидемиологического надзора за холерой с целью получения информации о распространении, характере и динамике АБР в конкретный период времени на данной территории, что необходимо для разработки и внедрения более эффективных подходов к лечению, сдерживанию появления и распространения антимикробной резистентности на локальном, региональном, национальном и международном уровнях. Однако до настоящего времени в Интернете в формате пространственной визуализации не были представлены данные по устойчивости/чувствительности к антибактериальным препара-

там штаммов холерных вибрионов, выделенных на территории России.

Цель работы — разработка интегрированной онлайн пополняемой и обновляемой ГИС для систематизации и анализа сведений об АБР *V. cholerae* El Tor.

Материал и методы

Работа проводилась на 285 штаммах *V. cholerae* O1 El Tor, выделенных на территории России в 2005–2016 гг.:

1) от людей (8 штаммов *V. cholerae* O1 El Tor ctxA⁺tcpA⁺, выделенных в 2006 г. в Мурманской области, в 2010, 2012, 2014 гг. в Москве);

2) из объектов окружающей среды:

- 251 штамм *V. cholerae* O1 El Tor ctxA⁻tcpA⁻, выделенный в Алтайском, Приморском, Забайкальском, Ставропольском, Краснодарском краях, Иркутской, Кемеровской, Хабаровской, Тюменской, Ростовской, Воронежской областях, Республиках Калмыкия и Крым;

- 24 штамма *V. cholerae* O1 El Tor ctxA⁻tcpA⁺, выделенных в Ростовской области, Республике Калмыкия, Алтайском крае, Хабаровском крае;

- 2 штамма ctxA⁺tcpA⁺, выделенных в 2011, 2014 гг. в Ростовской области, которые хранились в Музее живых культур Ростовского-на-Дону противочумного института.

Чувствительность/устойчивость штаммов к 22 антибактериальным препаратам определяли методом серийных разведений в плотной питательной среде в соответствии с МУК 4.2.2495-09⁹. Контролем служили антибиотикочувствительные штаммы *V. cholerae* O1 El Tor P-5879 (ctxA⁺tcpA⁺, выделен от больного в Ростовской области в 1972 г.) и *V. cholerae* non O1/non O139 P-9741 (KM162) (ctxA⁻tcpA⁻, выделен из воды в Ростовской области в 1979 г.).

В работе использованы антибактериальные препараты: тетрациклин, доксициклин, левомицетин, рифампицин, гентамицин, канамицин, амикацин, стрептомицин, ампициллин, цефтриаксон, цефотаксим, полимиксин, ципрофлоксацин, пefлоксацин, офлоксацин, норфлоксацин, левофлоксацин, ломефлоксацин, моксифлоксацин, фуразолидон, триметоприм/сульфаметоксазол — отечественного производства (ПАО «Биохимик», ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», ООО «Барнаулский завод медицинских препаратов», ОАО «Фармстандарт Томск химфарм», АО «Фармсинтез», ЗАО «Фармацевтическое предприятие «Оболенское», ОАО «Синтез», ООО «Озон»); налидик-

⁹ Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллез, сап, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам 4.2.2495-09. — Москва, 2009. 59 с.

совая кислота (невиграмон, «Sanofi Aventis», Венгрия).

Разработку интернет-версии ГИС проводили с использованием языков программирования HTML, JavaScript и PHP. В качестве ядра служила свободно распространяемая библиотека Leaflet, написанная на языке JavaScript. Для визуализации данных применяли карты, полученные от корпорации «Ростелеком» (Россия) и сообщества OpenStreetMap.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы Microsoft Office Excel. Статистическую значимость различий доли резистентных штаммов оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента при уровне значимости $\alpha < 0,05$.

Результаты

Определены чувствительность/устойчивость к антибактериальным препаратам штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, выделенных на территории России в 2005–2016 гг., наличие культур с различным спектром устойчивости: к левомицетину (минимальная подавляющая концентрация (МПК) = 16 мг/л), стрептомицину (МПК = 128 мг/л), гентамицину (МПК = 8 мг/л), ампициллину (МПК = 128 мг/л), цефтриаксону (МПК = 4 мг/л), рифампицину (МПК = 32 мг/л), триметоприму/сульфаметоксазолу (МПК = 64/320 мг/л), фуразолидону (МПК = 16–64 мг/л), налидиксовой кислоте (МПК = 128 мг/л) и с повышенными значениями МПК ципрофлоксацина (МПК = 0,01 мг/л).

Сведения об антибиотикочувствительности штаммов *V. cholerae* были внесены в электронные таблицы, которые послужили основой для создания авторской пополняемой базы данных ГИС «Антибиотикорезистентность холерных вибрионов Эль Тор, выделенных на территории Российской Федерации» [18], интегрированной в геоинформационный портал Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора¹⁰.

Информация, представленная в ГИС, включает: род и вид микроорганизма (*V. cholerae* O1 El Tor), наличие либо отсутствие генов *ctx* и *tcp*, год выделения, источник выделения, наименование территории, на которой были изолированы культуры, номера штаммов, присвоенные в Музее живых культур Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, чувствительность либо устойчивость к антибактериальным препаратам.

Главная страница ГИС представляет собой интерактивную карту с обозначенными на ней местами выделения штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, которые включают Алтайский, Приморский, Забайкальский, Ставропольский, Хабаровский, Краснодарский края, Иркутскую, Кемеровскую,

Свердловскую, Челябинскую, Тюменскую, Ростовскую, Рязанскую, Воронежскую, Астраханскую области, г. Москву, Республики Татарстан, Калмыкия и Крым. Несколько штаммов, сгруппированных вместе, отображаются кружком, при этом в центре указывается, сколько именно штаммов входит в эту группу. Отдельные штаммы обозначены звездочками. Имеется возможность получения информации (номер штамма, дата, место и источник выделения, генотип) о каждом из штаммов в отдельном диалоговом окне. Рассматривая характеристики штаммов более детально, можно определить число штаммов, изолированных от людей и из водных объектов, а также наличие или отсутствие в них генов *ctx* и *tcp*.

Работа с ГИС позволяет выбирать для отображения в необходимом масштабе «административные границы регионов Российской Федерации» либо «Ростовскую область».

ГИС содержит параметры для поиска штаммов, которые включают год выделения (либо несколько лет), название антибактериальных препаратов, резистентность к которым интересует пользователя. После указания необходимых параметров на экране появляются штаммы *V. cholerae* O1 El Tor, резистентные к данному антибактериальному препарату, выделенные в определенный период времени. Так, анализ АБР штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, выделенных на территории РФ в 2005–2016 гг., показал отсутствие холерных вибрионов, устойчивых к тетрациклину и доксициклину. Большинство штаммов характеризовалось устойчивостью к триметоприму/сульфаметоксазолу и фуразолидону. Указанными свойствами обладают штаммы, выделенные в Краснодарском и Ставропольском краях, в Республиках Крым и Калмыкия.

Работая с ГИС, можно анализировать АБР в динамике по годам либо в конкретные временные промежутки. Детальный анализ годовой динамики АБР культур, выделенных в 2012–2016 гг., показал, что на фоне постоянного выделения штаммов, устойчивых к фуразолидону (100%) и триметоприму/сульфаметоксазолу (35–93,7%), в указанный период наблюдалась вариабельность резистентности к другим антибактериальным препаратам. Штаммы, устойчивые к налидиксовой кислоте, не выделялись в 2012 г., а в 2015 г. наблюдалось наибольшее их число (68%). К стрептомицину устойчивость колебалась на уровне 6,2–28,6%. Количество холерных вибрионов, устойчивых к ампициллину, в 2012 г. составило 50% с уменьшением в последующие годы до 3,6–35%. Штаммы, резистентные к цефтриаксону, составляли 3,6 и 15% в 2015–2016 гг. В предыдущие годы (2012–2014 гг.) такие штаммы отсутствовали.

Сравнение данных по АБР холерных вибрионов Эль Тор, изолированных в 2005–2012 и 2012–

¹⁰ URL: http://gis.antiplague.ru/s_vibrio_antibiotic.php

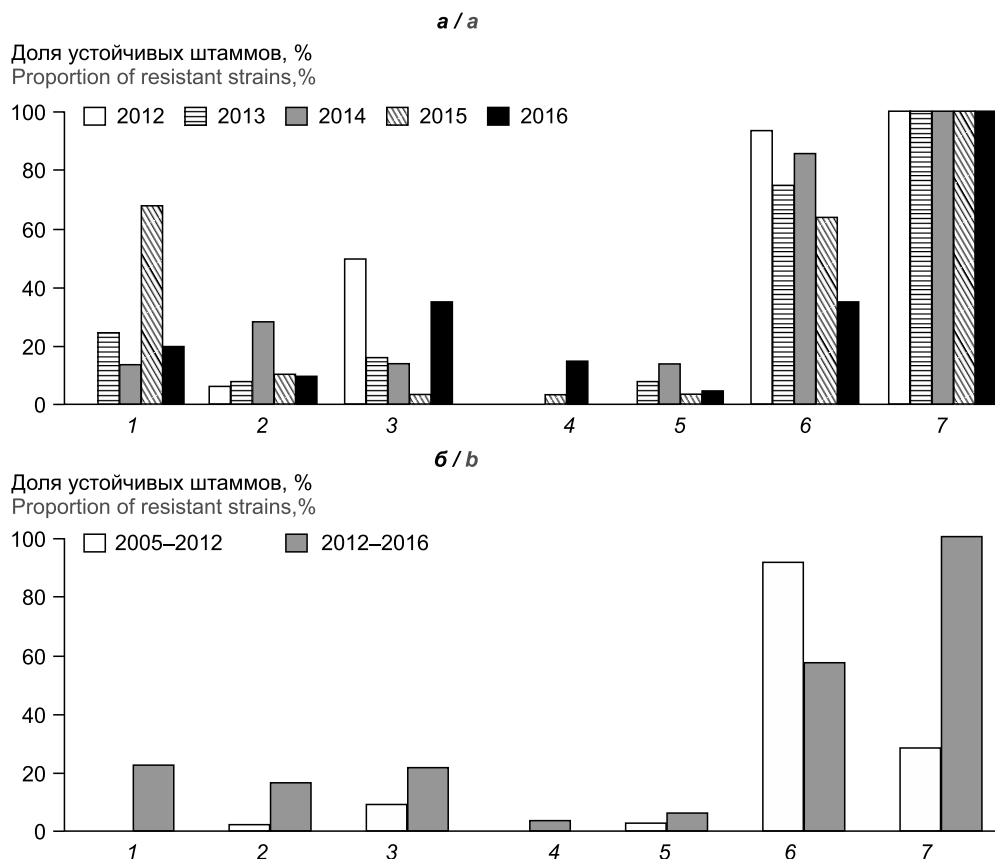


Рис. 1. Сравнительная характеристика АБР штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, выделенных в 2012–2016 гг. (а), в периоды 2005–2012 гг. и 2012–2016 гг. (б).

1 — налидиксовая кислота; 2 — стрептомицин; 3 — ампициллин; 4 — цефтриаксон; 5 — рифампицин; 6 — триметоприм/сульфаметоксазол; 7 — фуразолидон.

Fig. 1. Comparative characteristics of antibiotic resistance (%) of *V. cholerae* O1 El Tor strains isolated in 2012–2016 (a), in the periods 2005–2012 and 2012–2016 (b).

1 — nalidixic acid; 2 — streptomycin; 3 — ampicillin; 4 — ceftriaxone; 5 — rifampicin; 6 — trimethoprim/sulfamethoxazole; 7 — furazolidone.

2016 гг., показало увеличение в 2012–2016 гг. числа штаммов, устойчивых к стрептомицину (с 2,1 до 16%), ампициллину (с 8,5 до 21,7%), рифампицину (с 2,1 до 6,3%), фуразолидону (с 27,7 до 100%), появление в 2012–2016 гг. культур, резистентных к налидиксовой кислоте (22%) и цефтриаксону (4%). Устойчивость к триметоприму/сульфаметоксазолу в 2012–2016 гг. понизилась до 58% против 91,5% в 2005–2009 гг. (рис. 1).

При анализе АБР штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, выделенных в 2005–2016 гг. на территории различных субъектов РФ, было установлено, что в Ставропольском крае выделенные штаммы в 33,3% случаев были устойчивы к фуразолидону и в 100% — к триметоприму/сульфаметоксазолу. Культуры из Приморского края в 7% случаев оказались резистентны к ампициллину, стрептомицину, рифампицину; в 43% — к фуразолидону, в 100% — к триметоприму/сульфаметоксазолу. У изолятов из Иркутской области и Калмыкии устойчивость к ампициллину составила 8,3–11%, а к фуразолидону и триметоприму/сульфаметоксазолу — 11–89% (рис. 2).

Заключение

Разработанная ГИС предназначена для сбора и анализа информации об АБР *V. cholerae* с целью оптимизации мониторинговых исследований. Она позволяет наглядно проследить пространственную и временную динамику АБР штаммов на всех административных территориях страны, учитывая время, объект выделения, территорию, а также устойчивость к тому или иному антибактериальному препарату; определять сходства и различия штаммов по заданным параметрам.

Информация, представленная в ГИС, может быть полезна при прогнозировании эффективности этиотропной терапии, а также в эпиднадзоре за холерой в России. Кроме того, имеется возможность ее пополнения за счет включения новых охарактеризованных штаммов *V. cholerae*. Создание и развитие подобных специализированных интернет-ресурсов открывает новые возможности для организации комплексного оперативного мониторинга состояния АБР различных возбудителей на территории Российской Федерации.

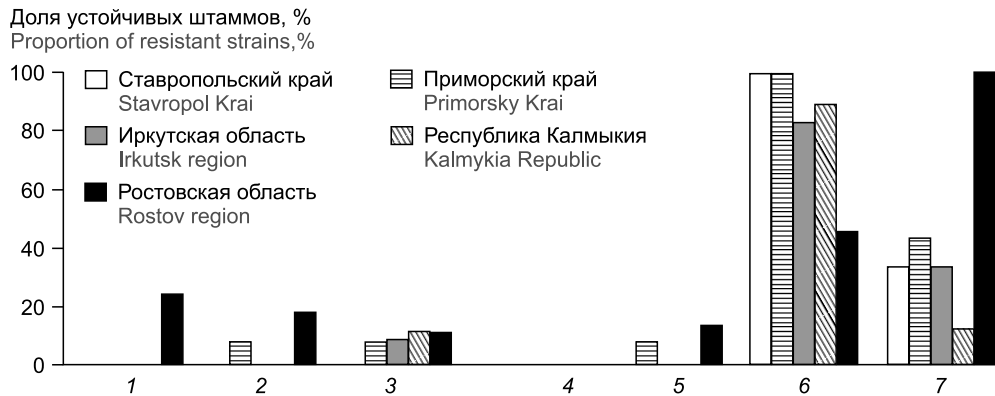


Рис. 2. АБР штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, выделенных в различных регионах Российской Федерации (%).

1 — налидиксовая кислота; 2 — стрептомицин; 3 — ампициллин; 4 — цефтриаксон;
5 — рифампицин; 6 — триметоприм/сульфаметоксазол; 7 — фуразолидон.

Fig. 2. Antibiotic resistant strains of *V. cholerae* O1 El Tor isolated in various regions of the Russian Federation.

1 — nalidixic acid; 2 — streptomycin; 3 — ampicillin; 4 — ceftriaxone; 5 — rifampicin; 6 — trimethoprim/sulfamethoxazole; 7 — furazolidone.

ЛИТЕРАТУРА

- Кулмагамбетов И.Р., Сарсенбаева С.С., Нурманбетова Ф.Н. Эффективность программ борьбы с антибиотикорезистентностью. *Фундаментальные исследования*. 2014; 10(9): 1742-7.
- Кадочников А.А. Организация и визуализация данных наблюдений с помощью картографических веб-сервисов. В кн.: *Устойчивое развитие территорий: картографо-геоинформационное обеспечение. Материалы Международной конференции*. Белгород: КОНСТАНТА; 2014: 188-96.
- Кузьменков А.Ю., Трушин И.В., Авраменко А.А., Эйдельштейн М.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С. AMRmap: Интернет-платформа мониторинга антибиотикорезистентности. *Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия*. 2017; 19(2): 84-90.
- Архангельская И.В., Водопьянов А.С., Непомнящая Н.Б., Монахова Е.В., Кругликов В.Д., Зубкова Д.А. и др. Холерные вибрионы не O1/не O139 серогрупп, циркулирующие в Ростовской области. Патент РФ № 2015620331; 2015.
- Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Мишанькин Б.Н., Олейников И.П. ГИС «Холера-интернет» – использование современных интернет-технологий в эпидемиологической практике. *Здоровье населения и среда обитания*. 2016; (12): 36-9.
- Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Сучков И.Ю., Мишанькин Б.Н. Холера. Штаммы VNTR. Свидетельство об официальной регистрации базы данных № 2007620389; 2007.
- Голубев Б.П., Кругликов В.Д., Кудрякова Т.А., Часовских С.В., Монахова Е.В. Распространение холерных вибрионов в объектах окружающей среды на территории Российской Федерации в 2005–2008 годах. Свидетельство о государственной регистрации баз данных № 2010620040; 2010.
- Ежова М.И., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Монахова Е.В., Непомнящая Н.Б., Шалу О.А. и др. Штаммы *Vibrio cholerae*. Свидетельство о государственной регистрации баз данных № 2012620979; 2012.
- Зубкова Д.И., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Непомнящая Н.Б., Шестиалтынова И.С., Архангельская И.В. и др. Геоинформационная система. Холера 1989–2014. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2014621055; 2014.
- Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Титова С.В., Архангельская И.В., Непомнящая Н.Б. и др. ГИС: возможности анализа данных фено- и генотипирования холерных вибрионов O1 серогруппы Эль Тор, изолированных из водных объектов окружающей среды на территории Российской Федерации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2016; 93(6): 19-25.
- Мединский Г.М., Наркевич М.И., Ломов Ю.М., Пинигин А.Ф., Голубев Б.П., Алексеев В.В. и др. *Справочник-кадастр распространения вибрионов Эль-Тор в поверхностных водоемах и сточных водах на территории СССР во время 7-й пандемии холеры*. Ростов-на-Дону; 1991.
- Москвитина Э.А., Анисимова Г.Б., Беспалов И.А. Холера Эль Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в СНГ. Свидетельство о государственной регистрации баз данных № 2003620048; 2003.
- Кругликов В.Д., Левченко Д.А., Архангельская И.В., Титова С.В., Монахова Е.В., Водопьянов А.С. и др. Геоинформационные технологии как инструмент информационного анализа в рамках обеспечения мониторинга инфекционных заболеваний, в том числе особо опасных инфекций, на территории России. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова*. 2017; 13(3): 71-7.
- Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Архангельская И.В., Ежова М.И. Анализ динамики выделения штаммов холерных вибрионов из объектов окружающей среды на территории Российской Федерации с 1989 по 2016 гг. с помощью авторской ГИС. *Вестник Пермского университета. Серия: Биология*. 2017; (1): 112-7.
- Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Архангельская И.В., Ежова М.И., Москвитина Э.А., Титова С.В. Анализ результатов мониторинга холерных вибрионов в объектах окружающей среды на административных территориях России с помощью ГИС «Холера 1989–2014». *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; (4): 99-102. DOI: <http://doi.org/10.21055/0370-1069-2017-4-99-102>
- Селянская Н.А., Тришина А.В., Веркина Л.М., Архангельская И.В., Кругликов В.Д., Железняк Н.Г. и др. Чувствительность к антибактериальным препаратам штаммов холерных вибрионов Эль Тор, выделенных из объектов окружающей среды в России в 2005–2012 гг. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2014; 91(5): 82-6.
- Титова С.В., Кругликов В.Д., Ежова М.И., Водопьянов А.С., Архангельская И.В., Водопьянов С.О. и др. Анализ динамики выделения и биологических свойств штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, изолированных из водных объектов на территории Ростовской области в 2003–2014 гг. *Здоровье населения и среда обитания*. 2015; (2): 39-41.
- Селянская Н.А., Водопьянов А.С., Егизарян Л.А., Веркина Л.М. Геоинформационная система. Антибиотикорези-

стенность холерных вибрионов Эль Тор, выделенных на территории Российской Федерации (2005–2016 гг.). Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2017621246; 2017.

REFERENCES

1. Kulmagambetov I.R., Sarsenbaeva S.S., Nurmanbetova F.N. Efficiency of the programs for combating antibiotics resistance. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2014; 10(9): 1742-7. (in Russian)
2. Kadochnikov A.A. Organization and visualization to observational data using web mapping services. In: *Sustainable Development of Territories: Cartographic and Geoinformational Support. Materials of the International Conference [Ustoychivoe razvitiye territoriy: kartografo-geoinformatsionnoe obespechenie. Materialy Mezhdunarodnoy konferentsii]*. Belgorod: KONSTANTA; 2014: 188-96. (in Russian)
3. Kuz'menkov A.Yu., Trushin I.V., Avramenko A.A., Eydel'shteyn M.V., Dekhnich A.V., Kozlov R.S. AMRmap: an online platform for monitoring antibiotic resistance. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antibakterial'naya khimioterapiya*. 2017; 19(2): 84-90. (in Russian)
4. Arkhangel'skaya I.V., Vodop'yanov A.S., Nepomnyashchaya N.B., Monakhova E.V., Kruglikov V.D., Zubkova D.A., et al. Vibrio cholerae nonO1/nonO139 serogroups circulating in the Rostov region. Patent RF № 2015620331; 2015. (in Russian)
5. Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Mishan'kin B.N., Oleynikov I.P. GIS "Cholerainternet" – the use of modern internet technologies in epidemiological practice. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2016; (12): 36-9. (in Russian)
6. Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Suchkov I.Yu., Mishan'kin B.N. Cholera. VNTR strains. Certificate of official registration of the database № 2007620389; 2007. (in Russian)
7. Golubev B.P., Kruglikov V.D., Kudryakova T.A., Chasovskikh S.V., Monakhova E.V. Distribution of cholera vibrios in environmental objects in the Russian Federation in 2005–2008. Certificate of state registration of database № 2010620040; 2010. (in Russian)
8. Ezhova M.I., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Monakhova E.V., Nepomnyashchaya N.B., Shalu O.A., et al. Vibrio cholerae strains. Certificate of state registration of database № 2012620979; 2012. (in Russian)
9. Zubkova D.I., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Nepomnyashchaya N.B., Shestialynova I.S., Arkhangel'skaya I.V., et al. Geoinformation system. Cholera 1989–2014. Certificate of state registration of the database № 2014621055; 2014. (in Russian)
10. Levchenko D.A., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Titova S.V., Arkhangel'skaya I.V., Nepomnyashchaya N.B., et al. GIS: capabilities of data analysis of pheno- and genotyping of El Tor O1 serogroup cholera vibrios isolated from aquatic objects of the environment in Russia Federation. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2016; 93(6): 19-25. (in Russian)
11. Medinskiy G.M., Narkevich M.I., Lomov Yu.M., Pinigin A.F., Golubev B.P., Alekseenko V.V., et al. *Cadastre Directory of the Propagation of El Tor Vibrios in Surface Water Bodies and Wastewater in the USSR During the 7th Cholera Pandemic [Spravochnik-kadastr rasprostraneniya vibriov El'-Tor v poverkhnostnykh vodoemakh i stochnykh vodakh na territorii SSSR vo vremya 7-y pandemii kholery]*. Rostov-na-Donu; 1991. (in Russian)
12. Moskvitina E.A., Anisimova G.B., Bespalov I.A. Cholera El Tor. Epidemiological analysis of the incidence in the CIS. Certificate of state registration of database № 2003620048; 2003. (in Russian)
13. Kruglikov V.D., Levchenko D.A., Arkhangel'skaya I.V., Titova S.V., Monakhova E.V., Vodop'yanov A.S., et al. Geo-information technologies as a tool for information analysis in the framework of the monitoring of infectious diseases, including especially dangerous infections in Russia. *Vestnik biotekhnologii i fiziko-khimicheskoy biologii im. Yu.A. Ovchinnikova*. 2017; 13(3): 71-7. (in Russian)
14. Levchenko D.A., Kruglikov V.D., Arkhangel'skaya I.V., Ezhova M.I. Analysis of the dynamics of Vibrio cholerae strains isolation from environmental objects on the territory of the Russian Federation from 1989 to 2016 using the author's GIS. *Vestnik Permskogo universiteta. Seriya: Biologiya*. 2017; (1): 112-7. (in Russian)
15. Levchenko D.A., Kruglikov V.D., Arkhangel'skaya I.V., Ezhova M.I., Moskvitina E.A., Titova S.V. Analysis of the results of cholera vibrios monitoring in environmental objects in the administrative territories of the Russian Federation using GIS «Cholera 1989-2014». *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2017; (4): 99-102. DOI: <http://doi.org/10.21055/0370-1069-2017-4-99-102> (in Russian)
16. Selyanskaya N.A., Trishina A.V., Verkina L.M., Arkhangel'skaya I.V., Kruglikov V.D., Zheleznyak N.G., et al. Sensitivity to antibacterial preparations of Vibrio cholerae El Tor strains isolated from the environmental objects in Russia in 2005–2012. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2014; 91(5): 82-6. (in Russian)
17. Titova S.V., Kruglikov V.D., Ezhova M.I., Vodop'yanov A.S., Arkhangel'skaya I.V., Vodop'yanov S.O., et al. Analysis of isolation dynamics and biological properties of V.cholerae O1 El Tor strains from water objects on the territory of Rostov region in 2003–2014. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2015; (2): 39-41. (in Russian)
18. Selyanskaya N.A., Vodop'yanov A.S., Egiazyryan L.A., Verkina L.M. Geoinformation system. Antibiotic resistance of El Tor cholera vibrios isolated on the territory of the Russian Federation (2005–2016). Certificate of state registration of the database № 2017621246; 2017. (in Russian)

Информация об авторах:

Селянская Надежда Александровна — к.м.н., с.н.с. лаборатории экспериментально-биологических моделей ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0008-4705>. E-mail: ppdn@inbox.ru

Березняк Елена Александровна — к.б.н., с.н.с. лаборатории биологической безопасности и лечения особо опасных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9416-2291>. E-mail: labbiobez@mail.ru

Тришина Алена Викторовна — к.б.н., в.н.с. лаборатории биологической безопасности и лечения особо опасных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-002-8249-6577>. E-mail: labbiobez@mail.ru

Симонова Ирина Рафиковна — н.с. лаборатории биологической безопасности и лечения особо опасных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8261-2294>. E-mail: labbiobez@mail.ru

Егиазарян Лиана Альбертовна — м.н.с. лаборатории биологической безопасности и лечения особо опасных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6350-065X>. E-mail: labbiobez@mail.ru

Водопьянов Алексей Сергеевич — к.м.н., с.н.с. группы вирусологии ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>. E-mail: alexvod@gmail.com

Участие авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Information about the authors:

Nadezhda A. Selyanskaya — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Laboratory of experimental biological models, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 344002, Rostov-on-Don, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0008-4705>. E-mail: ppdn@inbox.ru

Elena A. Bereznyak — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory for biological safety and treatment of particularly hazardous infections, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 344002, Rostov-on-Don, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9416-2291>. E-mail: labbiobez@mail.ru

Alyona V. Trishina — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory for biological safety and treatment of particularly hazardous infections, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 344002, Rostov-on-Don, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8249-6577>. E-mail: labbiobez@mail.ru

Irina R. Simonova — researcher, Laboratory for biological safety and treatment of particularly hazardous infections, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 344002, Rostov-on-Don, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8261-2294>. E-mail: labbiobez@mail.ru

Liana A. Egiazaryan — junior researcher, Laboratory for biological safety and treatment of particularly hazardous infections, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 344002, Rostov-on-Don, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6350-065X>. E-mail: labbiobez@mail.ru

Alexey S. Vodopyanov — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Virology group, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 344002, Rostov-on-Don, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>. E-mail: alexvod@gmail.com

Contribution: the authors contributed equally to this article.

О результатах мониторинговых исследований балластных вод и данных идентификации штаммов вибрионов, выделенных в ходе исследований судов в российских морских портах в 2018 году

Водяницкая С.Ю.[✉], Сергиенко О.В., Иванова Н.Г., Балахнова В.В.,
Архангельская И.В., Ренгач М.В., Непомнящая Н.Б., Воловикова С.В.

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия

Актуальность. В сентябре 2017 г. вступила в силу Международная конвенция о контроле судовых балластных вод и осадков и управлении ими (2004 г.), одной из участниц которой полноправно является Российская Федерация.

Цель работы — осветить результаты внедрения положений Конвенции в России в части отбора и анализа проб балластных вод на соответствие международному стандарту.

Материал и методы. Источниками данных служили сведения специалистов санитарно-карантинных отделов портов России о заходах судов заграничного плавания, а также результаты мониторинговых исследований балластных вод в морских портах некоторых субъектов Российской Федерации. В работе применены аналитический, бактериологический, молекулярно-биологический методы.

Результаты. Впервые на территории двух субъектов Российской Федерации (Ленинградской и Калининградской областей) в 2018 г. проведены исследования балластных вод, в Ростовской области исследования продолжаются с 2010 г. Проведенные лабораторные исследования балласта судов показали, что содержание *E. coli*, *Enterococcus spp.* находится в пределах нормы, *V. cholerae* O1 и O139 в балласте отсутствовали. Из 21 пробы, исследованной специалистами лабораторий Ростовской области, в 12 пробах балластной воды находились *V. cholerae* non-O1/non-O139, балласт был взят на судах, прибывших из Румынии и Турции.

Заключение. Проведенные молекулярно-генетические исследования не исключают вероятность заносов холерных вибрионов, в том числе с судовым балластом, что требует разработки управленческих решений по обеспечению биологической безопасности морских перевозок и снижению заболеваемости острыми кишечными инфекциями жителей приморских городов.

Ключевые слова: Конвенция; балластные воды; холерные вибрионы; судозаходы; Российская Федерация.

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

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

Для цитирования: Водяницкая С.Ю., Сергиенко О.В., Иванова Н.Г., Балахнова В.В., Архангельская И.В., Ренгач М.В., Непомнящая Н.Б., Воловикова С.В. О результатах мониторинговых исследований балластных вод и данных идентификации штаммов вибрионов, выделенных в ходе исследований судов в российских морских портах в 2018 году. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2020; 97(1): 55-61.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-55-61>

Поступила 05.09.2019
Принята в печать 18.12.2019

About the Results of Monitoring Researches of Ballast Waters and Data of Identification of the Vibrio Strains Selected During the Ships Researches in Russian Seaports in 2018

Svetlana Yu. Vodyanitskaya[✉], Olesya V. Sergienko, Natalya G. Ivanova, Veronica V. Balachnova,
Irina V. Arkhangelskaya, Marina V. Rengach, Natalya B. Nepomnyashchaya, Sofya V. Volovikova

Rostov-on-Don Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don 344002, Russia

Relevance. In September, 2017 the International Convention on Control of Ships' Ballast Waters and sediments, in which the Russian Federation takes part, came into effect.

Aim of article is to cover the results of implementation of the Convention in Russia, regarding selection and analysis of ballast waters tests for compliance with the international standard.

Material and methods. The materials for work were data on ship arrivals at the international seaports of the Russian Federation, provided by sanitary and quarantine departments of the Russian ports, and monitoring researches of ballast waters in seaports of some regions of the Russian Federation. Analytical, bacteriological, molecular methods were applied.

Results. The studies of ballast waters in the Leningrad and Kaliningrad regions have been conducted for the first time in 2018, and in the Rostov region the study lasts since 2010. The laboratory researches of ships' ballast showed that *E. coli*, *Enterococcus spp.* were in norm, *V. cholerae* O1 and O139 in ballast were absent. 12 of 21 ballast water tests investigated by specialists of the Rostov region laboratories contained *V. cholerae* non-O1/non-O139, ballast was taken on the ships which arrived from Romania and Turkey.

Conclusion. The results of the molecular and genetic researches suggest that there is a probability of *V. cholerae* introduction brought with ship ballast. Management decisions are demanded to ensure biological safety of shipping and to decrease intestinal infections incidence in residents of the seaside cities.

Keywords: Convention; ballast waters; *V. cholerae*; arrival of ships; Russian Federation.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

For citation: Vodyanitskaya S.Yu., Sergienko O.V., Ivanova N.G., Balachnova V.V., Arkhangelskaya I.V., Rengach M.V., Nepomnyashchaya N.B., Volovikova S.V. About the Results of Monitoring Researches of Ballast Waters and Data of Identification of the Vibrios Strains Selected During the Ships Researches in Russian Seaports in 2018. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* = *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, Russian journal*. 2020; 97(1): 55–61. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-55-61>

Received 5 September 2019

Accepted 18 December 2019

Актуальность

В сентябре 2017 г. в Российской Федерации вступила в силу Международная конвенция о контроле судовых балластных вод и осадков и управлении ими от 2004 г. (далее — Конвенция). На сегодняшний день Конвенцию ратифицировало 81 государство с общей долей мирового тоннажа 80,76%, которые уже предъявляют требования к судам, заходящим в их порты, для предотвращения переноса опасных морских организмов и патогенов.

О значимости балластных вод (БВ) в интродукции возбудителя холеры на свободные территории и целесообразности их исследования на наличие *V. cholerae* свидетельствует выделение *V. cholerae* O1 в 1991, 1992 гг. из проб, отобранных в трюмах судов, пришвартованных в портах Мексиканского залива в США [1]. В порту Кайо Аркас (Мексика) выявлена контаминация проб балласта судов не только холерными вибрионами, но и ассоциированными с болезнями кораллов *Serratia marcescens* и *Sphingomonas spp.* [2]. На территории Южной Америки, в том числе Бразилии, токсигенные холерные вибрионы изолированы в балластных водах судов и в местах их стоянки [3]. При микробиологическом исследовании балластных танков, проведенном F.C. Dobbs и соавт., установлено содержание в отобранных пробах *V. cholerae* O1 и O139, в геноме которых присутствует ген одного из основных факторов патогенности — токсин корегулируемых пилей адгезии [4].

В Российской Федерации в настоящее время действующим нормативным документом является «Руководство по применению требований Международной конвенции о контроле судовых балластных вод и осадков и управлении ими 2004 года», разработанное Российским морским регистром судоходства 20.03.2017 г., НД № 2-030101-030¹.

Для реализации положений Конвенции в российских портах должен быть организован отбор и анализ проб БВ, которые будут проводиться по решению портовых властей, без вынужденной задержки судов (ст. 9 Конвенции). В портах и на

терминалах, где производятся очистка или ремонт балластных танков, будут предоставляться достаточные сооружения приема судовых балластных осадков (ст. 5 Конвенции). Суда должны выполнять требования Конвенции в части правил замены БВ, а после 2016 г. сбрасываемые БВ должны отвечать установленному стандарту качества (правило В-3 Конвенции), в который включены следующие индикаторные микробы, сброс которых не должен превышать установленных концентраций: токсигенный вибрион холеры (O1 и O139) с менее чем 1 колониеобразующей единицей (КОЕ) на 100 мл или менее 1 КОЕ на 1 г (сырого веса) образцов зоопланктона; кишечная палочка — менее 250 КОЕ на 100 мл, кишечные энтерококки — менее 100 КОЕ на 100 мл.

Для проверки балласта на соответствие данному стандарту необходимо проводить его отбор и исследование. На судах отбор проб БВ может проводиться следующими способами: отбор проб через специальные люки (лазы) или лючки балластных емкостей, отбор проб через смотровые крышки балластных емкостей, отбор проб через замерные отверстия балластных цистерн или воздушные трубы, отбор проб при сбрасывании БВ [5, 6]. Решение об использовании какого-либо способа отбора проб воды принимается в присутствии члена экипажа, ответственного за контроль БВ на судне, который указывает специалисту Роспотребнадзора место отбора в зависимости от конкретных условий и конструктивных особенностей судна.

Для выполнения правила В-3 Конвенции в 2018 г. проводились исследования балласта, взятого с судов, заходивших в порты трех субъектов Российской Федерации. Результаты этих исследований представлены в данной статье.

Цель работы — анализ результатов мониторинговых исследований БВ и данных идентификации штаммов вибрионов, выделенных в ходе исследований судов в российских морских портах в 2018 г., для последующего принятия управленческих решений по обеспечению биологической безопасности морских перевозок и снижению заболе-

¹ URL: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293746/4293746524.pdf>

ваемости острыми кишечными инфекциями (ОКИ) жителей приморских городов.

Материал и методы

Материалами для работы служили отчетные данные санитарно-карантинных пунктов управлений Роспотребнадзора по Ленинградской, Калининградской, Астраханской, Архангельской, Мурманской областям, Республике Дагестан, Приморскому краю.

С целью выявления заходов судов в эндемичные по холере страны и подсчета возможного объема балласта, ввозимого и сбрасываемого в порты Российской Федерации, проводили анализ судозаходов для установления риска заноса холерных вибрионов в акватории российских морских международных портов (ММП) по следующим показателям: общее число судозаходов за 2015–2017 гг., принадлежность судна к стране, порты захода судов, водоизмещение судна и др.

Материалами для бактериологического исследования на соответствие международному стандарту БВ (*E. coli*, *Enterococcus spp.*, *V. cholerae* O1 и O139) служили 68 проб БВ 31 судна, прибывшего из 14 стран различных регионов: Южной Америки (Уругвай), Европы (Великобритания, Германия, Греция, Италия, Латвия, Нидерланды, Польша, Румыния, Финляндия, Франция, Швеция, Эстония), Юго-Западной Азии (Турция). «Пилотными» территориями, имеющими ММП для внедрения положений Конвенции, служили Калининградская, Ленинградская и Ростовская области. Исследования выполняли специалисты аккредитованных испытательных лабораторных центров указанных «пилотных» территорий: в Ленинградской области (46 проб), Ростовской области (21 проба), Калининградской области (1 проба) в соответствии с нормативными документами, регламентирующими объем и методы лабораторных исследований и их оценку на наличие *V. cholerae* O1 и O139 [7], *E. coli*, *Enterococcus spp.* [8].

Выделенные специалистами испытательных лабораторных центров «пилотных» территорий штаммы *V. cholerae* non-O1/non-O139 ($n = 12$) изучали в лаборатории микробиологии холеры Ростовского-на-Дону противочумного института бактериологическим, серологическим и молекулярно-генетическим методами.

Результаты

При анализе судозаходов в порты Ленинградской, Калининградской, Астраханской, Архангельской, Мурманской областей, Республики Дагестан, Приморского края установлено, что число заходящих иностранных судов преобладает над числом российских судов в 3 раза. Среди стран, с которыми осуществляются международные сообщения, выявлены «порты-доноры» холерных вибрионов,

где в последнее время регистрировалась холера (Индия, Малайзия, Вьетнам). Суда водоизмещением до 10 тыс. т и 10–30 тыс. т заходят во все порты России. Суда водоизмещением свыше 30 тыс. т заходят только в порты Ленинградской области и Приморского края, грузооборот также высок именно в этих портах (практически в 10 раз выше, чем в других портах), что представляет определенные риски заноса и распространения возбудителей инфекций, передаваемых водным путем, в том числе холеры. Таким образом, «портами-реципиентами» в России являются порты Ленинградской области и Приморского края, но учитывая температурный фактор, влияющий на выживание холерных вибрионов, риск распространения холеры выше в южных и восточных регионах страны.

«Пилотными» территориями России, имеющими ММП для внедрения положений Конвенции, были выбраны Калининградская, Ленинградская и Ростовская области. Исследования в Приморском крае были проведены позже, в 2019 г.

Проведенные лабораторные исследования балласта судов, прибывших в ММП РФ, дали следующие результаты: пробы, исследованные специалистами лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ленинградской области» показали, что *E. coli*, *Enterococcus spp.* находятся в пределах нормы, *V. cholerae* O1 и O139 в балласте отсутствовали. В пробах, исследованных специалистами лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Калининградской области», *E. coli*, *Enterococcus spp.* находились в пределах нормы, *V. cholerae* O1 и O139 не обнаружены. Из 21 пробы, исследованной специалистами лабораторий Ростовской области, в 12 пробах БВ находились *V. cholerae* non-O1/non-O139, балласт был взят на судах, прибывших из Румынии и Турции (Карасу), *E. coli* и *Enterococcus spp.* находились в пределах нормы.

В лаборатории микробиологии холеры Ростовского-на-Дону противочумного института изучены биологические свойства 12 штаммов *V. cholerae* non-O1/non-O139. Установлено, что все культуры *V. cholerae* non-O1/non-O139 были типичны по культурально-морфологическим и биохимическим свойствам, обладали оксидазной активностью, ферментировали глюкозу в среде Хью-Лейфсона в аэробных и анаэробных условиях с образованием кислоты без газа, сахарозу, маннозу, маннит и не расщепляли арабинозу, инозит, декарбоксилировали лизин и орнитин, но не обладали дигидролазой аргинина, образовывали индол, не продуцировали сероводород. Все штаммы обладали гемолитической активностью и не содержали генов основных факторов патогенности (*ctxA* и *tcpA*)

В результате серологического типирования у 10 штаммов *V. cholerae* non-O1/non-O139 (83,3%) установлена принадлежность к 10 серогруппам, среди ко-

торых преобладали O13 (6 штаммов), O76, O2, O16, O60 (по 1 штамму) (табл. 1). Представители O2, O16 и O76 серогрупп ранее были изолированы из проб воды водоемов Ростовской области, вибрионы O13 и O60 серогрупп встречаются на данной территории впервые. Следует отметить, что из водяного балласта судов, прибывших в порты Ростовской области, выделяются нетоксигенные штаммы *V. cholerae* non-O1/non-O139, различные по серологическим свойствам, что соответствует данным о циркуляции в водных объектах окружающей среды большого числа клонов холерных вибрионов различных серогрупп. Циркуляция представителей большого количества сменяющих друг друга серогрупп объясняется межпопуляционными взаимодействиями в рамках вида *V. cholerae* и изменчивостью в процессе длительной персистенции в объектах окружающей среды. Появление штаммов других серогрупп на определенной территории не исключает вероятность новых заносов холерных вибрионов, в том числе с судовым балластом. Это требует разработки управленческих решений по обеспечению биологической безопасности морских перевозок и снижению заболеваемости ОКИ жителей приморских городов.

На следующем этапе было проведено генотипирование выделенных штаммов по 15 генам фак-

торов патогенности/персистенции. Полученные данные приведены в табл. 2.

Нетоксигенные штаммы *V. cholerae* non-O1/non-O139, выделенные из судовых БВ, различались по наличию/отсутствию 2–6 генов. У них не выявлены гены VPI-I; третьей транспортной системы T3SS (*vcsN2*, *vspD*). Остальные гены были представлены в различных сочетаниях, у одного штамма выявлен ген структурной единицы маннозочувствительных пилей адгезии *mshA*. Обнаружение достаточно редко встречаемого в геноме холерных вибрионов гена термостабильного токсина *stn* у одного штамма может свидетельствовать о возможности его заносного происхождения. С одной стороны, полученные данные о генетической гетерогенности холерных вибрионов non-O1/non-O139 серогрупп соответствуют данным как зарубежных, так и отечественных исследователей [9–12]. С другой стороны, наличие большого количества штаммов с разным генотипом свидетельствует о поддержании в целом в водной популяции определенного набора генов факторов патогенности/персистенции. Результаты генотипирования не коррелировали с серогрупповой принадлежностью, штаммы одной серогруппы различались по генотипу. Несмотря на то что водные штаммы содержали минимальный

Таблица 1. Результаты серотипирования штаммов *V. cholerae* non-O1/non-O139, выделенных из судового балласта

Table 1. Serotyping results of *V. cholerae* non-O1/non-O139 strains isolated from ship's ballast

№ No.	Название судна, объект Ship, object	Дата выделения Data	№ штамма Strain number	Серогруппа Serogroup
1	Теплоход «Маэстро Ниязи», балластный танк № 1 Motor ship «Maestro Niyazi», ballast tank No. 1	27.07.2018	77	O13
2	Теплоход «Маэстро Ниязи», балластный танк № 2 Motor ship «Maestro Niyazi», ballast tank No. 2	27.07.2018	78	O76
3	Теплоход «Генерал Асланов», балластный танк № 1 Motor ship «General Aslanov», ballast tank No. 1	02.08.2018	85	O13
4	Теплоход «Генерал Асланов», балластный танк № 2 Motor ship «General Aslanov», ballast tank No. 2	02.08.2018	86	O13
5	Теплоход «Карелис-52», балластный танк № 1 Motor ship «Karelis-52», ballast tank No. 1	02.08.2018	87	O2
6	Теплоход «Карелис-52», балластный танк № 2 Motor ship «Karelis-52», ballast tank No. 2	02.08.2018	88	O13
7	Теплоход «Русич-10», балластный танк № 1 Motor ship «Rusich-10», ballast tank No. 1	09.08.2018	95	O13
8	Теплоход «Русич-10», балластный танк № 2 Motor ship «Rusich-10», ballast tank No. 2	09.08.2018	96	O13
9	Теплоход «Капитан Иван Викулов», балластный танк № 1 Motor ship «Captain Ivan Vikulov», ballast tank No. 1	16.08.2018	103	O16
10	Теплоход «Капитан Иван Викулов», балластный танк № 5 Motor ship «Captain Ivan Vikulov», ballast tank No. 5	16.08.2018	104	O60
11	Теплоход «Сормовский 119», балластный танк № 4 Motor ship «Sormovsky 119», ballast tank No. 4	06.09.2018	127	Не типировался Not typed
12	Теплоход «Сормовский 119», балластный танк № 7 Motor ship «Sormovsky 119», ballast tank No. 7	06.09.2018	128	Не типировался Not typed

Таблица 2. Результаты генотипирования нетоксигенных штаммов *V. cholerae* non-O1/non-O139, выделенных из судового балласта

Table 2. Genotyping results of non-toxicogenic *V. cholerae* non-O1/non-O139 strains isolated from marine ballast

№ No.	Кластер Cluster	<i>rstA</i>	<i>tcpA/eit</i>	<i>int</i>	<i>nanH</i>	<i>vce</i>	<i>rtxC</i>	<i>acd-rtxA</i>	<i>acd-vgrG1</i>	<i>pbd-vgrG3</i>	<i>vskK</i>	<i>vcsN2</i>	<i>vspD</i>	<i>mshA</i>	<i>stn/sto</i>	<i>chxA</i>
1	77	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
2	78	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
3	85	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
4	86	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
5	87	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
6	95	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
7	88	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
8	96	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
9	103	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+
10	104	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
11	128	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
12	127	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-

набор генов факторов патогенности/персистенции, проявление патогенных свойств может быть реализовано за счет наличия протеаз (НА/Р, коллагеназы) или цитотонического фактора Cef, гены которых присутствовали у всех изученных штаммов.

Заключение

Таким образом, впервые на территории двух субъектов Российской Федерации (Ленинградской и Калининградской области) проведены исследования БВ, в Ростовской области исследования продолжаются с 2010 г. Проведенные лабораторные исследования БВ судов показали, что *E. coli*, *Enterococcus spp.* находятся в пределах нормы, *V. cholerae* O1 и O139 в БВ отсутствовали.

Из 21 пробы, исследованной специалистами лабораторий Ростовской области, в 12 пробах БВ находились *V. cholerae* non-O1/non-O139, балласт был взят на судах, прибывших из Румынии и Турции. Результаты микробиологических исследований судовых БВ показали, что холерные вибрионы могут иметь заносную природу, а балластные танки являются искусственным резервуаром патогенных для человека вибрионов, способствующих их распространению из «региона-донора» в «регион-реципиент», что свидетельствует в пользу появления нового объекта при осуществлении эпидемиологического надзора в Российской Федерации — судовых БВ — и требует разработки профилактических

(противоэпидемических) мероприятий, направленных на разрыв эффективной передачи патогенного агента водным путем в случае обнаружения *V. cholerae* O1 и O139, в том числе способов деконтаминации судового балласта.

Современные молекулярно-биологические методы могут применяться для сертификации качества БВ без задержки судна в порту, что предписано положениями Конвенции, и рассматриваться в качестве инструмента доказательной эпидемиологии в установлении источников происхождения и подтверждении факта трансграничного заноса на территорию Российской Федерации патогенных для человека вибрионов в отличие от штаммов вибрионов, выделенных в акваториях российских портов.

Благодарности

Авторы выражают глубокую благодарность и признательность администрации и специалистам управлений Роспотребнадзора по Ростовской области (Ковалеву Е.В., Ляху О.В.), Ленинградской области (Историк О.А., Черному М.А., Палилову М.Б.), Калининградской области (Бабуре Е.А., Григорян Т.Ю.), Астраханской области (Носковой Л.Н., Соколовой А.Н.), Республике Дагестан (Омариевой Э.Я., Омарову А.Ш., Ахмадулинову Ш.Г.), Приморскому краю (Детковской Т.Н., Селезневу В.А.), Архангельской области (Бузинову Р.В.), Мурман-

ской области (Лукичевой Л.А.); специалистам ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ленинградской области» Роспотребнадзора (Мосевич О.С.), ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области в г. Таганроге» Роспотребнадзора (Дерябкиной Л.А.), администрации и научным сотрудникам ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (Балахонову С.В., Мироновой Л.В., Хунхеевой Ж.Ю.), специалистам ФКУЗ «Северо-Кавказская противочумная станция» Роспотребнадзора (Кирееву Ю.Г., Баташеву В.В.).

ЛИТЕРАТУРА

1. McCarthy S.A., Khambaty F.M. International dissemination of epidemic *Vibrio cholerae* by cargo ship ballast and other nonpotable waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 1994; 60(7): 2597-601.
2. Aguirre-Macedo M.L., Vidal-Martinez V.M., Herrera-Silveira J.A., Valdés-Lozano D.S., Herrera-Rodríguez M., Olvera-Novoa M.A. Ballast water as a vector of coral pathogens in the Gulf of Mexico: the case of the Cayo Arcas coral reef. *Mar. Pollut. Bull.* 2008; 56(9): 1570-7.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.05.022>
3. Rivera I.N., Souza K.M., Souza C.P., Lopes R.M. Free-living and plankton-associated vibrios: assessment in ballast water, harbor areas, and coastal ecosystems in Brazil. *Front. Microbiol.* 2013; 3: 443.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00443>
4. Dobbs F.C., Goodrich A.L., Thomson F.K., Hynes W. Pandemic serotypes of *Vibrio cholerae* isolated from ships' ballast tanks and coastal waters: assessment of antibiotic resistance and virulence genes (tcpA and ctxA). *Microb. Ecol.* 2013; 65(4): 969-74.
DOI: <http://doi.org/10.1007/s00248-013-0182-7>
5. Водяницкая С.Ю., Лях О.В. Разработка способов отбора балластной воды на судах смешанного «река-море» плавания для исследования на холеру. *Здоровье населения и среда обитания.* 2014; (1): 37-40.
6. Палилов М.Б., Лях О.В., Водяницкая С.Ю., Баташев В.В., Черный М.А., Решетников В.И. О новых способах отбора проб балластной воды на судах. В кн.: *Холера и патогенные для человека вибрионы: Сборник статей проблемной комиссии (48.04) Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации.* Выпуск № 31. Саратов: Амирит; 2018: 43-5.
7. МУК 4.2.2218-07. Лабораторная диагностика холеры: Методические указания. М.; 2007.
8. МУК 4.2.2959-11. Методы санитарно-микробиологического и санитарно-паразитологического анализа прибрежных вод морей в местах водопользования населения: Методические указания. М.; 2011.
9. Hasan N.A., Ceccarelli D., Grim C.J., Taviani E., Choi J., Sadique A., et al. Distribution of virulence genes in clinical and environmental *Vibrio cholerae* strains in Bangladesh. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013; 79(18): 5782-5.
DOI: <http://doi.org/10.1128/AEM.01113-13>
10. Octavia S., Salim A., Kurniawan J., Lam C., Leung Q., Ahsan S., et al. Population Structure and evolution of non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* by multilocus sequence typing. *PLoS One.* 2013; 8(6): e65342.
DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0065342>
11. Theophilo G.N., Rodrigues D.P., Leal N.C., Hofer E. Distribution of virulence markers in clinical and environmental *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 strains isolated in Brazil from 1991 to 2000. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 2006; 48(2): 65-70.
DOI: <http://doi.org/10.1590/s0036-46652006000200002>
12. Архангельская И.В., Непомнящая Н.Б., Монахова Е.В., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Круликов В.Д. Генетическая неоднородность популяции *Vibrio cholerae* non-O1/ non-O139, выделенных в Ростовской области. *Здоровье населения и среда обитания.* 2015; (3): 25-7.

REFERENCES

1. McCarthy S.A., Khambaty F.M. International dissemination of epidemic *Vibrio cholerae* by cargo ship ballast and other nonpotable waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 1994; 60(7): 2597-601.
2. Aguirre-Macedo M.L., Vidal-Martinez V.M., Herrera-Silveira J.A., Valdés-Lozano D.S., Herrera-Rodríguez M., Olvera-Novoa M.A. Ballast water as a vector of coral pathogens in the Gulf of Mexico: the case of the Cayo Arcas coral reef. *Mar. Pollut. Bull.* 2008; 56(9): 1570-7.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.05.022>
3. Rivera I.N., Souza K.M., Souza C.P., Lopes R.M. Free-living and plankton-associated vibrios: assessment in ballast water, harbor areas, and coastal ecosystems in Brazil. *Front. Microbiol.* 2013; 3: 443. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00443>
4. Dobbs F.C., Goodrich A.L., Thomson F.K., Hynes W. Pandemic serotypes of *Vibrio cholerae* isolated from ships' ballast tanks and coastal waters: assessment of antibiotic resistance and virulence genes (tcpA and ctxA). *Microb. Ecol.* 2013; 65(4): 969-74.
DOI: <http://doi.org/10.1007/s00248-013-0182-7>
5. Vodyanitskaya S.Yu., Lyakh O.V. Developing methods of ballast water sampling from the tanks of "river-sea" type vessels aimed at the vibrio cholerae analysis. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya.* 2014; (1): 37-40. (in Russian)
6. Palilov M.B., Lyakh O.V., Vodyanitskaya S.Yu., Batashev V.V., Chernyy M.A., Reshetnikov V.I. On new methods for sampling ballast water on ships. In: *Cholera and Vibrio Pathogens for Humans: Collection of Articles by the Problem Commission (48.04) of the Coordinating Scientific Council for the Sanitary and Epidemiological Protection of the Russian Federation. Issue № 31 [Kholera i patogennyye dlya cheloveka vibriony: Sbornik statey problemnoy komissii (48.04) Koordinatsionnogo nauchnogo soveta po sanitarno-epidemiologicheskoy okhrane territorii Rossiyskoy Federatsii. Vypusk № 31].* Saratov: Amirit; 2018: 43-5. (in Russian)
7. MUK 4.2.2218-07. Laboratory diagnosis of cholera: Guidelines. Moscow; 2007. (in Russian)
8. MUK 4.2.2959-11. Methods of sanitary-microbiological and sanitary-parasitological analysis of coastal waters of the seas in places of water use of the population: Methodical instructions. Moscow; 2011. (in Russian)
9. Hasan N.A., Ceccarelli D., Grim C.J., Taviani E., Choi J., Sadique A., et al. Distribution of virulence genes in clinical and environmental *Vibrio cholerae* strains in Bangladesh. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013; 79(18): 5782-5.
DOI: <http://doi.org/10.1128/AEM.01113-13>
10. Octavia S., Salim A., Kurniawan J., Lam C., Leung Q., Ahsan S., et al. Population Structure and evolution of non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* by multilocus sequence typing. *PLoS One.* 2013; 8(6): e65342.
DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0065342>
11. Theophilo G.N., Rodrigues D.P., Leal N.C., Hofer E. Distribution of virulence markers in clinical and environmental *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 strains isolated in Brazil from 1991

to 2000. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 2006; 48(2): 65-70.
DOI: <http://doi.org/10.1590/s0036-46652006000200002>
12. Arkhangel'skaya I.V., Nepomnyashchaya N.B., Monakhova E.V., Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Kruglikov V.D.

Genetic diversity of the population of *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 circulating in Rostov region. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2015; (3): 25-7. (in Russian)

Информация об авторах:

Водяницкая Светлана Юрьевна[✉] — к.м.н., зав. лабораторией санитарной охраны территории ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2175-4261>. E-mail: s_vodyanitskaya@mail.ru

Сергиенко Олеся Викторовна — м.н.с. лаборатории санитарной охраны территории ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3883-4652>. E-mail: olieshkievich1988@mail.ru

Иванова Наталья Георгиевна — н.с. лаборатории санитарной охраны территории «ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5172-3055>. E-mail: natalya.ivanova.49@inbox.ru

Балахнова Вероника Викторовна — к.м.н., с.н.с. отдела профессиональной переподготовки и повышения квалификации ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора», 344002, Ростов-на-Дону, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8832-7419>. E-mail: balachnovavv@gmail.ru

Архангельская Ирина Викторовна — н.с. лаборатории микробиологии холеры ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2947-4491>. E-mail: irina070769@mail.ru

Ренгач Марина Викторовна — м.н.с. лаборатории микробиологии холеры ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4676-0377>. E-mail: mary.rengatch@yandex.ru

Непомнящая Наталья Борисовна — н.с. лаборатории микробиологии холеры ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0868-6791>. E-mail: nepomnyshaya_nb@antiplague.ru

Воловикова Софья Владимировна — м.н.с. лаборатории санитарной охраны территории ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3064-8177>. E-mail: sofya.korotkova@gmail.com

Участие авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Information about the authors:

Svetlana Yu. Vodyanitskaya[✉] — Cand. Sci. (Med.), Head, Laboratory of sanitary protection of the territory, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 344002, Rostov-on-Don, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2175-4261>. E-mail: s_vodyanitskaya@mail.ru

Olesya V. Sergienko — junior researcher, Laboratory of sanitary protection of the territory, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 344002, Rostov-on-Don, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3883-4652>. E-mail: olieshkievich1988@mail.ru

Natalya G. Ivanova — researcher, Laboratory of sanitary protection of the territory, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 344002, Rostov-on-Don, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5172-3055>. E-mail: natalya.ivanova.49@inbox.ru

Veronika V. Balachnova — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Rostov-on-Don Antiplague Institute, Department of professional development, 344002, Rostov-on-Don, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8832-7419>. E-mail: rostovpchs@mail.ru

Irina V. Arkhangel'skaya — researcher, laboratory of microbiology of cholera, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 344002, Rostov-on-Don, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2947-4491>. E-mail: irina070769@mail.ru

Marina V. Rengach — junior researcher, laboratory of microbiology of cholera, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 344002, Rostov-on-Don, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4676-0377>. E-mail: mary.rengatch@yandex.ru

Natalia B. Nepomnyashchaya — researcher, laboratory of microbiology of cholera, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 344002, Rostov-on-Don, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0868-6791>. E-mail: nepomnyshaya_nb@antiplague.ru

Sofya V. Volovikova — junior researcher, Laboratory of sanitary protection of the territory, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 344002, Rostov-on-Don, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3064-8177>. E-mail: sofya.korotkova@gmail.com

Contribution: the authors contributed equally to this article.

ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Гетероморфизм клеточной персистенции возбудителей сапронозов в различных условиях среды обитания

Сомова Л.М.[✉], Андрюков Б.Г., Ляпун И.Н.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 690087, Владивосток, Россия

В работе обсуждаются вопросы морфофункциональной изменчивости возбудителей сапронозов в стрессовых условиях среды обитания. В текущем столетии сапронозные инфекции привлекают все большее внимание. При неблагоприятных условиях обитания их возбудители используют стратегию формирования покоящихся (устойчивых) состояний: жизнеспособных, но некультивируемых клеточных форм и персистентных бактерий, которые характеризуются сниженным метаболизмом, изменением морфологии и физиологии микроорганизмов, прекращением их репликации. С образованием устойчивых форм бактерий связывается возможность выживания возбудителей сапронозов в межэпидемический период, формирование их антибиотикорезистентности, что играет важную роль в хронизации инфекций. В литературе широко обсуждаются механизмы и условия формирования устойчивых состояний патогенных бактерий, их патогенетическое значение в инфекционной патологии, тогда как ультраструктурная организация и морфологическая вариабельность устойчивых клеточных форм, а также их дифференциация, обуславливающая гетерогенность популяции возбудителей, до настоящего времени освещены недостаточно. На основании анализа современных данных, а также имеющегося собственного опыта авторы оценивают морфофункциональные изменения устойчивых клеточных форм у бактерий и их значение в адаптационных стратегиях возбудителей сапронозов.

Ключевые слова: сапронозы; морфология; ультраструктура и адаптивные изменения возбудителей; жизнеспособные, но некультивируемые (VBNC) формы бактерий; клетки-персистеры.

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

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

Для цитирования: Сомова Л.М., Андрюков Б.Г., Ляпун И.Н. Гетероморфизм клеточной персистенции возбудителей сапронозов в различных условиях среды обитания. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2020; 97(1): 62–71.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-62-71>

Поступила 09.04.2019

Принята в печать 18.12.2019

Heteromorphism of Persistence of Sapronosis Causative Agents in Cells in Various Environmental Conditions

Larisa M. Somova[✉], Boris G. Andryukov, Irina N. Lyapun

Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok 690087, Russia

The paper discusses the issues of morphofunctional variability of sapronoses pathogens in stressful environment. In the current century, sapronoses infections attract increasing attention. Under unfavorable environmental conditions the pathogens use the strategy for the formation of resting (stable) states, that is: viable but non-culturable cell formes and persistent bacteria, which are characterized by reduced metabolism and changes in the morphology and physiology of the microorganisms, termination of replication. Possibility of sapronoses pathogens survival in interepidemic period and antibiotic resistance formation, which play an important role in chronic infections, are associated with the formation of persistent forms of bacteria. The literature extensively discusses mechanisms and conditions of the pathogenic bacteria stable states formation and their pathogenetic contribution to infectious pathology, whereas ultrastructural organization and morphological variability of persistent cell forms, as well as their differentiation, causing the pathogens population heterogeneity, is still insufficiently illuminated.

Based on the analysis of current data and their own experience, the authors evaluate the morphological and functional changes of bacteria stable cellular forms and their role in sapronoses pathogens adaptation strategies.

Keywords: sapronoses; morphology; ultrastructure and adaptive changes of pathogens; viable but non-culturable cells; persister-cells.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

For citation: Somova L.M., Andryukov B.G., Lyapun I.N. Heteromorphism of Persistence of Sapronosis Causative Agents in Cells in Various Environmental Conditions. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, Russian journal.* 2020; 97(1): 62–71. (In Russ.).
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-62-71>

Received 9 April 2019
Accepted 18 December 2019

Введение

К концу XX в. накопились новые сведения об адаптационных механизмах возбудителей инфекционных заболеваний и стратегиях их существования в неблагоприятных условиях среды обитания. В значительной степени это относится к возбудителям сапронозов, способным обитать как в организме человека и теплокровных животных, так и в объектах окружающей среды.

В соответствии с парадигмой межэпидемического существования возбудителей сапронозных инфекций выделяют две фазы их существования: сапрофитическую и паразитическую [1–4]. Несмотря на длительный период изучения этой группы бактерий, появляется все больше сведений об их разнообразных адаптационных стратегиях, лежащих в основе экологической пластичности данных микроорганизмов.

В конце XX в. были охарактеризованы устойчивые («спящие») клеточные формы у неспорообразующих возбудителей сапронозов, обитающих в почвах и водоемах, жизнеспособные, но некультивируемые клетки (от англ. «viable but non-culturable», VBNC), а также бактериальные клетки-персистеры (от англ. «persister» — устойчивый) в организме теплокровных животных и людей [5–9].

Специфическая особенность устойчивых клеточных форм бактерий заключается в их низкой метаболической и репликативной активности, что затрудняет их обнаружение традиционными микробиологическими методами [10–13]. Эти формы имеют большое значение в реализации биологических свойств многочисленной и разнообразной группы возбудителей сапронозов: экологической пластичности, многообразия форм устойчивости к внешним стрессорам, формировании резистентности к антибиотикам и другим антибактериальным средствам [1, 13–15].

В последние годы всплеск научного интереса к устойчивым формам возбудителей инфекций связан с возрастающим медико-эпидемиологическим значением феномена устойчивых клеточных форм и морфологической близостью с уже изученным и хорошо охарактеризованным феноменом — L-трансформацией бактерий [16, 17].

Кроме того, развитие методов молекулярно-клеточной биологии и недавнее открытие генетических модулей токсин-антитоксиновых систем (toxin-antitoxin systems, TAS) раскрыли единый механизм регуляции образования устойчивых клеточных форм бактерий [18–20]. Это послужило

основанием для разработки принципиально новых технологий исследования механизмов сохранения патогенного потенциала устойчивых клеточных форм возбудителей природно-очаговых сапронозов в межэпидемические периоды [15, 21–23].

Пограничное положение этой своеобразной и обширной группы бактерий, способных как к паразитическому, так и к сапрофитическому существованию, обусловило недостаточную изученность путей и способов резервации возбудителей, а также дальнейшее изучение морфологических признаков устойчивых клеточных форм, обуславливающих гетерогенность популяций [2, 24–26]. Возможно, раскрытие специфических морфофункциональных признаков устойчивых форм бактерий станет недостающим звеном в изучении общих стратегий выживания возбудителей природно-очаговых сапронозов как в организме человека и животных, так и во внешней среде.

Цель настоящего сообщения — провести анализ имеющихся данных и новых сведений о морфофункциональных изменениях устойчивых клеточных форм у бактерий и их значении в адаптационных стратегиях возбудителей сапронозов.

Ультроструктурная организация бактерий

Не вызывает сомнения, что ультроструктурная организация патогенов характеризует физиологическое состояние бактериальных клеток в разных условиях обитания. Длительное время представления о морфологии бактерий базировались на данных, полученных при их культивировании в термостате при температуре 37°C [27, 28], что характеризовало состояние возбудителей лишь в теплокровном организме человека или животного. Проведенное нами изучение ультроструктуры возбудителей сапрозоонозов (*Yersinia pseudotuberculosis*, *Listeria monocytogenes*) в различных трофических и температурных условиях культивирования [28] позволило идентифицировать их морфофункциональное состояние не только в паразитическую фазу существования, но и в сапрофитическую фазу — при обитании в окружающей среде. Морфологические изменения бактерий оценивали при их периодическом культивировании и при длительном обитании в почве. Срок наблюдения составил 2 года для почвенных и 40 сут для периодических культур бактерий.

Как известно, периодическая культура микроорганизмов фактически является моделью, приближенной к природным условиям, т.к. в любой ее фазе бактерии находятся в состоянии перестройки свое-

го метаболизма в соответствии с меняющимися параметрами среды обитания [1, 29]. В наших экспериментах [28] при периодическом культивировании бактерий использованы среда, богатая питательными веществами (питательный бульон на основе гидролизата минтая, рН 7,2–7,3), и среда, лимитированная по основным биоэлементам питания (0,1 М фосфатно-солевой буфер, ФСБ), при трех температурных режимах: 6–8°C, 18–20°C и 37°C, т.е. были созданы условия, приближенные к теплокровному организму или к окружающей среде.

Для изучения влияния абиотических факторов при обитании бактерий в почве были использованы почвенный резервуар, находившийся на открытом воздухе при естественных погодных условиях (весна-осень) (заражающая доза составила 10⁶ КОЕ/г почвы), и проточные почвенные колонки, заполненные почвогрунтом, в которых выдерживали инокулированные бактерии (заражающая доза 10⁹ микробных клеток/мл) при постоянной температуре 6–8°C или 18–20°C. Для выделения бактерий из почвенных образцов применяли дифференциально-диагностические среды.

Исследования в модельных микроэкосистемах (периодические и почвенные культуры *Yersinia pseudotuberculosis* и *Listeria monocytogenes*) позволили получить представление об адаптивной изменчивости популяций возбудителей сапрозоонозов в свойственных для них изменяющихся условиях обитания [16, 28]. Как в условиях паразитической фазы существования (периодическое культивирование), так и в условиях сапрофитической фазы (почвенные культуры) установлены сходные морфологические изменения адаптивного характера: образование цитоплазматических выростов (простеков), накопление запасных веществ, повышение извилистости и изменение толщины клеточной стенки, изменение рибосомальной насыщенности цитоплазмы и состояния нуклеоида, связанного с конформационным изменением бактериальной ДНК. Все эти изменения направлены на сохранение популяций возбудителей сапрозоонозов в различных условиях обитания.

Важным этапом развития эколого-эпидемиологического направления в микробиологии стали исследования, касающиеся изучения бактериальных популяций в стрессовых условиях окружающей среды, при которых бактерии способны переходить в состояние покоя с резким снижением их метаболической активности и временной потерей способности к размножению [1, 30–32]. Установлено, что бактерии имеют оригинальные способы выжить во время стресса [33–35], например вызванного неизбежным истощением питательных веществ, а также воздействием антибиотиков. Описаны два разных фенотипа: клетки входят в ненаследуемое, обратимое, неактивное состояние — VBNC-клетки и пер-

систирующие клетки [7, 14, 15, 36]. Персистирующие клетки (клетки-персистеры) были обнаружены еще в 1942 г. G.L. Hobby и соавт. [37], установившими, что 1% клеток в популяции *Staphylococcus aureus* не убивались высокими дозами пенициллина и характеризовались метаболическим и репликативным покоем.

Спустя 40 лет VBNC-клетки впервые были описаны у *Escherichia coli* и *Vibrio cholerae*. Они появляются после длительного периода (2 нед) в микрокосмах соленой воды, но не культивируются на селективных и общепринятых средах, на которых они обычно способны к росту. Однако несколько стимулов, таких как питательные вещества и температурные сдвиги, приводят к рекультивированию VBNC-форм [8, 13, 38, 39].

У двух покоящихся состояний бактерий выявлено много общего. Как клетки-персистеры, так и VBNC-формы связаны с хроническими инфекциями, оба состояния бактерий присутствуют в биопленках [15, 40–42], а также формируются в условиях более чем одного вида стресса — например, окислительного или кислотного [15, 43]. Генетическая основа для обоих типов клеток недостаточно хорошо охарактеризована. Описывается роль токсин-антитоксиновых систем (TAS) в индукции VBNC-состояния [7, 18–20]. Сообщается, что эти системы, которые классически участвуют в формировании клеточной оболочки, также индуцируют образование клеток-персистеров во время инкубации в человеческой сыворотке [7, 15, 44], что имеет клиническое значение [45].

Наиболее важную роль в формировании персистирующих клеток играют гуанозинтетрафосфат (ppGpp) [39] и сигма-фактор стационарной фазы RpoS [9]. RpoS [8, 43], транскрипционный регулятор OxyR, который контролирует гены, связанные с окислительным стрессом [15], и TAS [7, 18–20] ассоциированы с VBNC-клетками. Следовательно, было высказано предположение, что эти два состояния выживания бактерий могут быть частью «континуума покоя» [7, 15, 20].

Ключевая особенность, которая отличает клетки-персистеры от VBNC-форм, заключается в том, что последние нельзя реанимировать (рекультивировать) при нормальных условиях, тогда как персистеры могут быть легко преобразованы в вегетативное состояние, чувствительное к антибиотикам или другим стрессам [12]. VBNC-формы и клетки-персистеры обладают многими сходными чертами и могут сосуществовать [20, 32, 38], однако сравнений этих двух этапов покоящихся клеток по физиологии и морфологии не проводилось.

Итак, в настоящее время доказано, что бактерии имеют два устойчивых фенотипа: VBNC и состояние персистенции. Обе покоящиеся формы возникают без мутации и связаны с хронически-

ми инфекциями, однако субпопуляция клеток-персистеров способна к быстрой рекультивации при наступлении благоприятных условий роста, тогда как VBNC-клетки могут находиться в этой форме годами. VBNC-формы присутствовали в экспериментальных образцах при изоляции персистеров, что еще раз подтверждает факт, что эти клеточные формы сосуществуют, индуцируются теми же условиями и регулируются TAS [12].

В недавнем исследовании [14] была прослежена взаимосвязь этих двух стресс-индуцированных фенотипов бактерий с помощью трансмиссионной электронной микроскопии и флуоресцентной микроскопии с исследованием морфологии клеток и количественным определением реанимированных (оживших) клеток. Авторами установлено, что жизнеспособная доля VBNC-клеток, образующихся в результате истощения питательных веществ, представлена персистирующими клетками, на основании сравнения их толерантности к антибиотикам, скорости реанимации, морфологии и метаболической активности. Остальная часть клеточной фракции VBNC оказалась нежизнеспособной. Авторы сделали вывод, что фенотип покоящейся клетки, известный как VBNC, является тем же самым, известным как персистентные клетки.

Как уже указывалось, состояние устойчивости у энтеропатогенных бактерий выражается во временной потере репликативной и метаболической активности микроорганизмов [12, 14, 15, 20]. Феномен существования покоящихся состояний бактериальных клеток имеет большое значение в хронизации инфекционного процесса у людей и животных, поскольку установлено, что устойчивые формы способны реанимироваться *in vivo* и восстанавливать свою вирулентность [13, 31, 36].

В России интенсивные исследования некультивируемых форм возбудителей сапронозов проводились в НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН в 1980–1990-х гг. Было обнаружено присутствие VBNC-форм *Yersinia pseudotuberculosis* и *Listeria monocytogenes* у экспериментальных животных и в почвенных популяциях бактерий [1–3, 26] и сделан вывод о значении этих форм для резервации и адаптации возбудителей к неблагоприятным условиям среды.

Бактерии постоянно сталкиваются с проблемами потенциально опасной экологической неопределенности. Чтобы избежать такой нестабильности существования, многие микроорганизмы поддерживают субпопуляции с возможностью перехода во временное состояние покоя, в течение которого клетки проявляют снижение темпов роста и метаболической активности [33]. Когда среда становится благоприятной, покоящиеся клетки могут реанимироваться и впоследствии восстанавливать рост [7, 21, 15]. Эволюционная роль поддержания такой

гетерогенности популяции бактерий обусловлена тем, что возникновение клеток разных фенотипов увеличивает вероятность выживания патогенов в нестабильной среде [33].

Важно отметить, что состояние покоя, которое позволяет бактериям противостоять экологическому стрессу, также может сделать их толерантными к антибиотикам [44, 23, 36], что подчеркивает клиническую значимость этого физиологического состояния. Обнаружено, что по меньшей мере 85 видов бактерий попадают в VBNC-состояние [15]. Это состояние альтернативно упоминалось другими авторами как условно жизнеспособные экологические клетки (CVEC) [9], активные, но некультивируемые клетки (ABNC) [22] и спящие клетки [45]. Оказалось, что эти клетки являются жизнеспособными вследствие их интактной клеточной мембраны, низкоуровневой метаболической активности и продолжения экспрессии генов [31, 36]. VBNC-состояние считается эффективной стратегией выживания для бактерий, т.к. позволяет клеткам выдерживать неблагоприятные условия окружающей среды и реанимировать репликативную форму при улучшении условий окружающей среды.

Таким образом, бактериальные клетки, находящиеся в состоянии VBNC, по-видимому, оказываются такими же, как и персистентные клетки, по устойчивости к антибиотикам, морфологии, скорости реанимации и метаболической активности. К настоящему времени сделано предположение [14], что термины «VBNC» и «персистеры» описывают один и тот же фенотип для покоящихся (спящих) клеток и что термин «VBNC-клетки» следует заменить на «персистентные клетки», поскольку VBNC-клетки не представляют собой отдельный фенотип.

Обращает на себя внимание, что большинство исследований по данной проблеме посвящено изучению вопросов детекции некультивируемых форм и индукции VBNC-состояния возбудителей бактериальных инфекций, тогда как ультраструктурная организация и морфологическая вариабельность VBNC- и персистентных клеток до сих пор освещены недостаточно.

Принимая во внимание сообщения зарубежных ученых в 2000-х гг. о феномене VBNC-состояния потенциально патогенных бактерий, нами были проанализированы результаты собственных, ранее проведенных исследований ультраструктуры возбудителей сапрозоонозов в разных экологических условиях [28]. Наше внимание было обращено на морфологию *Yersinia pseudotuberculosis* при длительном обитании в почве и при периодическом культивировании в стационарную фазу/фазу отмирания, когда бактерии могут переходить в некультивируемое состояние.

При периодическом культивировании численность бактериальной популяции и период наступления

пления фазы отмирания зависели от трофических и температурных факторов. При росте на питательном бульоне наибольшая численность популяции в стационарной фазе наблюдалась при культивировании в режиме 18–20°C (до 9,0 lg КОЕ/0,1 мл), фаза отмирания бактерий начиналась через 3 сут культивирования с уменьшением численности бактерий к концу срока наблюдения (40 сут). При температуре культивирования 18–20°C на бедной среде (ФСБ) через 10 сут максимальная численность бактерий достигла 6,0 lg КОЕ/0,1 мл и началась фаза отмирания с падением численности бактерий до 1,5 lg КОЕ/0,1 мл к 40-м суткам наблюдения. При температуре 37°C численность бактерий снижалась до нулевого уровня при культивировании в питательном бульоне к 15-м суткам, а в ФСБ — к 5-м суткам наблюдения. Поскольку *Yersinia pseudotuberculosis* обладают психрофильными свойствами, температура культивирования 6–8°C была для них наиболее благоприятной. При ней активное размножение бактерий (экспоненциальная фаза) продолжалось до 5 сут при росте в питательном бульоне и до 10 сут — в ФСБ. В обеих средах в течение всего срока наблюдения (40 сут) фаза отмирания бактерий не наступила [28].

С учетом динамики размножения *Yersinia pseudotuberculosis* в разных условиях питания было обращено внимание на наличие признаков некультивируемых форм бактерий, выращенных при температуре 37°C и 18–20°C, в фазе отмирания периодической культуры. К 10-м суткам культивирования выявлялись бактерии на разных стадиях лизиса, однако при этом обращала на себя внимание сохраняемая клеточная стенка у так называемых лизированных бактерий. В культуре, выросшей при 18–20°C,

на 40-е сутки наблюдения еще обнаруживались бактериальные клетки, сохранившие основные ультраструктуры. Нуклеоид в таких бактериях зачастую имел вид грубых фибрилл и конгломератов. При росте в питательном бульоне и в бедной питательной среде (ФСБ) при 18–20°C в стационарной фазе/фазе отмирания периодическая культура состояла в основном из деградированных форм бактерий. Наблюдался клеточный гетероморфизм с наличием клеток с частичным лизисом и темными участками цитозоля и полностью лизированных клеток с пустой областью в цитозоле (рис. 1, 2). В то же время имелись сохранившиеся бактериальные клетки с электронно-плотными фибриллами хроматина в зоне нуклеоида. В последних нередко отмечались изменения сферопластного типа.

Таким образом, при периодическом культивировании *Yersinia pseudotuberculosis* в фазе отмирания в бактериальной популяции определялись клетки, имевшие сходство с некультивируемыми формами, аналогично описанным J.S. Kim и соавт. (2017) [14]. Пустой цитозоль в части клеток расценивается как признак их гибели [14, 30], поэтому можно считать, что популяция *Yersinia pseudotuberculosis* в фазе отмирания содержит VBNC-клетки, часть из которых нежизнеспособные.

Изучение морфофункционального состояния возбудителя *Yersinia pseudotuberculosis* при обитании в почве при разных температурах проведено в долгосрочных экспериментах на модельных микросистемах — почвенном резервуаре и проточных почвенных колонках [28]. Исследование культур *Yersinia pseudotuberculosis*, выделенных из почвы на разных сроках наблюдения, показало, что

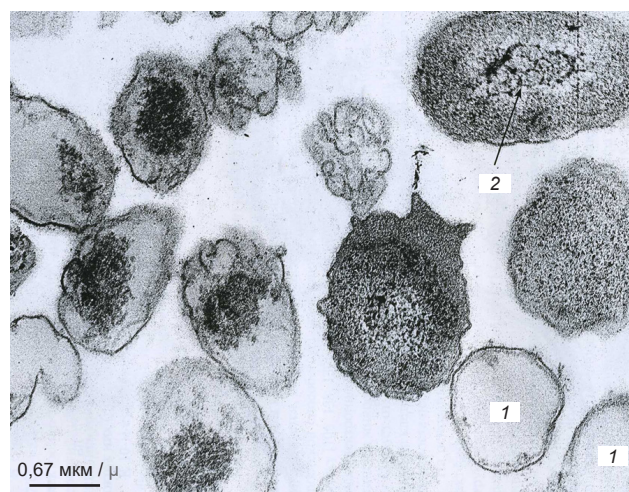


Рис. 1. *Yersinia pseudotuberculosis*, периодическая культура в питательном бульоне при температуре 18–20°C, 40 сут, стационарная фаза — фаза отмирания. Трансмиссионная электронная микроскопия (фото Л.М. Сомовой).

1 — лизированная бактерия; 2 — фибриллы хроматина в области нуклеоида.

Fig. 1. *Yersinia pseudotuberculosis*, a periodic culture in nutrient broth at a temperature of 18–20°C, 40 days, the stationary phase — the die-phase. Transmission electron microscopy (photo by L.M. Somova).

1 — lysed bacteria; 2 — chromatin fibrils in the nucleoid zone.

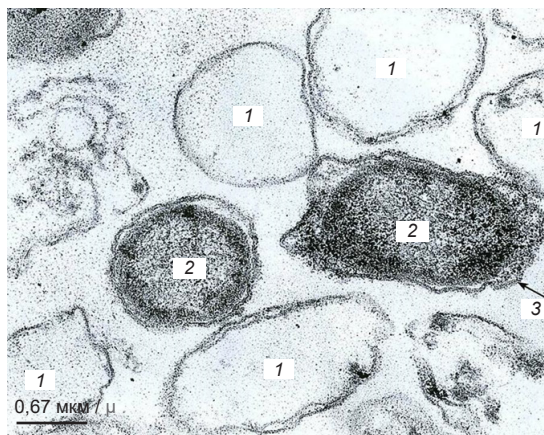


Рис. 2. *Yersinia pseudotuberculosis*, периодическая культура в ФСБ при температуре 18–20°C, 15 сут, стационарная фаза — фаза отмирания. Трансмиссионная электронная микроскопия (фото Л.М. Сомовой).

1 — лизированная бактерия с пустым цитозолем; 2 — бактерии с плотным цитозолем и отслоением клеточной стенки; 3 — клеточная стенка.

Fig. 2. *Yersinia pseudotuberculosis*, a periodic culture in phosphate-buffered saline at a temperature of 18–20°C, 15 days, the stationary phase — die-phase. Transmission electron microscopy (photo by L.M. Somova).

1 — lysed bacteria with empty cytosol; 2 — bacteria with dense cytosol; 3 — cell wall.

начиная с 7-го месяца обитания в почве (сентябрь) в популяции микроба стали проявляться признаки S↔R-диссоциации. В период наблюдения (9 мес) размеры бактериальных клеток, по сравнению с контролем, варьировали.

Через 3 мес почвенная популяция *Yersinia pseudotuberculosis* состояла в основном из бактерий овоидной формы, однако изредка наблюдались единичные гигантские клетки, делящиеся на несколько неравномерных сегментов. В бактериальных клетках выявлялась разреженная зона нуклеоида. Часть подобных бактерий находилась в состоянии бинарного деления. На внешней мембране клеточной стенки сохранялся мелкогранулярный зернистый компонент.

Бактериальные клетки 7-месячной почвенной культуры отличались значительным гетероморфизмом. Обращало на себя внимание большое количество деформированных бактерий, однако они, как правило, не имели изменений по сферопластному типу, сохраняя основные ультраструктуры. У подобных клеток отмечалось истончение клеточной стенки, в части из них нуклеоид не выявлялся. Поверхность бактериальных клеток часто имела фестончатый вид за счет образования простеков, увеличивающих поверхность клеточной стенки и, соответственно, потребление питательных веществ. Обращало на себя внимание появление фибриллярных электронно-плотных структур хроматина, имеющих форму завитка и расположенных параллельно друг другу. У части бактериальных клеток имелось до 2–3 таких образований, отражающих конформационные изменения ДНК [14, 27, 28]. Подобные зоны конденсации хроматина обнаруживались и у делящихся бактерий в области формиро-

вания поперечной перетяжки. Наблюдался также гетероморфизм клеток по рибосомальной насыщенности цитозоля, что указывало на различия метаболической активности в клетках бактериальной популяции. Рибосомы и полирибосомы практически не выявлялись, в большей или меньшей степени клетка была заполнена конгломератами рибонуклеопротеида [28].

В препаратах 9-месячной почвенной культуры *Yersinia pseudotuberculosis* бактериальные клетки имели значительное разрежение и дефекты зоны нуклеоида. Наблюдалась колонизация клеток посредством межклеточного аморфного матрикса, плотно связывающего их друг с другом. Между частью бактерий просматривались межклеточные мостики. Бактерии-ревертанты данной культуры по размерам и ультраструктуре были сходны с бактериями одномесячной почвенной культуры, но в области нуклеоида у них сохранялись грубые фибриллы хроматина.

Таким образом, при обитании в условиях почвенного резервуара, подвергавшегося влиянию погодных условий, у бактерий *Yersinia pseudotuberculosis* происходили изменения морфофункционального состояния. По всей видимости, эти изменения носили адаптивный характер и свидетельствовали о высокой способности возбудителя псевдотуберкулеза к приспособлению к неблагоприятным условиям окружающей среды.

В наших экспериментах общей особенностью для штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* являлось независимое от температуры нарастание количества бактерий, обладающих утолщенной клеточной стенкой, с увеличением срока наблюдения. Толщина клеточной стенки у двух исследованных штаммов бактерий увеличилась в среднем до 830

Å по сравнению с контролем (75 Å). К 2 годам наблюдения этот признак был характерен для всех бактерий изученных почвенных вариантов *Yersinia pseudotuberculosis*. Бактерии культуры *Yersinia pseudotuberculosis* (штамм Н-2781), находившейся в почвенных колонках в течение 3 мес при температуре 6–8°C, были представлены в основном округлыми (кокковидными) и, в меньшем количестве, овоидными формами. На всех сроках наблюдения для бактерий «холодовых» культур было характерно наличие грубых фибрилл и конгломератов хроматина. Как отмечено выше, конденсация хроматина в бактериальной клетке свидетельствует о том, что ДНК находится в составе нуклеопротеида и наилучшим образом защищена от внешних воздействий [1, 2]. Поэтому можно предполагать, что электронно-плотные структуры нуклеопротеидов являются морфологическим признаком возбудителей сапронозов в сапрофитической фазе существования.

На основании вышесказанного можно заключить, что при обитании в почвенных экосистемах открытого типа у исследуемых бактерий происходят ультраструктурные изменения (образование капсулы и микрокапсулы, общего покрова, слизи, межклеточных контактов, простеков, запасных веществ, повышение извилистости и изменение толщины клеточной стенки, изменение размеров клеток, рибосомальной насыщенности цитоплазмы и состояния ДНК), способствующие выживанию бактериальных клеток в условиях постоянного воздействия биотических и абиотических факторов окружающей среды. Подобные изменения характерны для R- и переходных форм бактерий [11, 14, 20, 26, 28].

Таким образом, можно предполагать, что появление комплекса изменений в ультраструктуре бактерий *Yersinia pseudotuberculosis* следует рассматривать как естественную адаптивную реакцию на меняющиеся условия обитания в соответствующей экологической нише. Появление у исследуемых бактерий периодических и почвенных культур сходных изменений ультраструктур, выполняющих одну и ту же функцию, указывает на универсальность механизмов адаптации.

В плане понимания механизмов обезвреживания микроорганизмов при развитии антиинфекционной резистентности организма животных и человека следует акцентировать внимание на L-трансформации бактерий как одном из важных факторов, создающих возможность персистенции возбудителей и рецидивирования инфекционных болезней [1, 2, 16, 17]. В этих исследованиях L-трансформация бактерий была охарактеризована как закономерная своеобразная форма адаптации их к изменившимся условиям среды обитания. На данный момент не определена однозначность этого феномена и других проявлений гетероморфизма бактерий. Известно, что L-трансформация свойственна многим бакте-

риям и *in vivo* может происходить под влиянием различных эндогенных факторов, в первую очередь лизоцима, лизосомальных ферментов и аминокислот. Повреждающее действие на бактерии оказывают энзимы фагоцитов, влияющие на фосфолипиды и пептидогликаны бактериальных стенок [17].

У животных, зараженных вирулентным штаммом *Yersinia pseudotuberculosis*, на 7–14-е сутки инфекции в органах, наряду с типичными и деструктивно измененными бактериальными клетками, обнаружены формы протопластного и сфероластного типов [16] с наличием миелиноподобных структур вокруг бактерий, подобно таковым в культуре клеток, зараженных *Yersinia pseudotuberculosis* [27]. Образование таких структур связывают чаще всего с перекисным окислением липидов клеточных мембран, происходящим под воздействием различных повреждающих факторов. Подобные изменения ультраструктуры *Yersinia pseudotuberculosis* отмечены также при взаимодействии их с инфузориями [26], при этом высказано предположение о том, что окруженные миелиноподобными мембранами бактерии могут достаточно длительно сохранять жизнеспособность. По нашему мнению, формирование миелиноподобных структур характеризует картину незавершенного фагоцитоза, свойственного для возбудителя псевдотуберкулеза и некоторых других инфекций, вызываемых факультативными внутриклеточными бактериями, что также согласуется с данными В.И. Пушкаревой с соавт. (1990) [26] в отношении бактерий рода *Yersinia*. Возможно, что выявленные в экспериментальных исследованиях ультраструктурные изменения *Yersinia pseudotuberculosis* находятся в тесной связи с изменением вирулентности бактерий в процессе инфекции.

Дальнейшие исследования морфофункциональной изменчивости патогенных бактерий помогут приблизиться к решению са크раментального вопроса Г.П. Сомова: где, как и когда происходит восстановление вирулентности возбудителей сапрозоонозов во внешней среде, инициирующее возникновение эпидемического (эпизоотического) и инфекционного процессов [4]?

Раскрытие новых механизмов индукции некультивируемого состояния у возбудителей сапронозов в паразитической и сапрофитической фазах их существования, а также выявление ранее неизвестных условий реверсии некультивируемых форм в вегетативные формы, детерминирующие развитие инфекционного процесса, имеет фундаментальное и прикладное значение. Углубленное исследование проявлений гетероморфизма бактерий в стрессовых условиях должно быть направлено на усовершенствование методов детекции некультивируемых форм возбудителей сапронозов в биоматериале от человека и животных с целью диагностики хронически рецидивирующих и персистентных инфекций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бухарин О.В., Гинцбург А.П., Романова Ю.М., Эль-Регистан Т.И. *Механизмы выживания бактерий*. М.: Медицина; 2005.
2. Прозоровский С.В., ред. *Эпидемиологические аспекты экологии бактерий*. М.: Фармаус-Принт; 1998.
3. Литвин В.Ю., Сомов Г.П., Пушкарева В.И. Сапронозы как природно-очаговые болезни. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2010; (1): 10-6.
4. Сомов Г.П. Современное представление о сапронозах (основные итоги изучения проблемы). *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2001; (2): 67-70.
5. Бухарин О.В. Инфекционная симбиология. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2015; 92(4): 4-9.
6. Сомов Г.П., Бузолева Л.С. *Адаптация патогенных бактерий к абиотическим факторам окружающей среды*. Владивосток; 2004.
7. Ayrapetyan M., Williams T.C., Oliver J.D. Interspecific quorum sensing mediates the resuscitation of viable but non-culturable vibrios. *Appl. Environ. Microbiol.* 2014; 80(8): 2478-83. DOI: <http://doi.org/10.1128/AEM.00080-14>
8. Boaretti M., Lleo M.M., Bonato B., Signoretto C., Canepari P. Involvement of rpoS in the survival of *Escherichia coli* in the viable but non-culturable state. *Environ. Microbiol.* 2003; 5(10): 986-96. DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2003.00497.x>
9. Hong S.H., Wang X.X., O'Connor H.F., Benedik M.J., Wood T.K. Bacterial persistence increases as environmental fitness decreases. *Microb. Biotechnol.* 2012; 5(4): 509-22. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2011.00327.x>
10. Бузолева Л.С. *Адаптация патогенных бактерий к абиотическим факторам окружающей среды*: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Владивосток; 2001.
11. Милько Е.С., Егоров Н.С. *Гетерогенность популяции бактерий и процесс диссоциации*. М.: МГУ; 1991.
12. Ayrapetyan M., Williams T.C., Baxter R., Oliver J.D. Viable but non-culturable and persister cells coexist stochastically and are induced by human serum. *Infect. Immun.* 2015; 83(11): 4194-203. DOI: <http://doi.org/10.1128/IAI.00404-15>
13. Baffone W., Citterio B., Vittoria E., Casaroli A., Campana R., Falzano L., et al. Retention of virulence in viable but non-culturable halophilic *Vibrio* spp. *Int. J. Food Microbiol.* 2003; 89(1): 31-9. DOI: [http://doi.org/10.1016/s0168-1605\(03\)00102-8](http://doi.org/10.1016/s0168-1605(03)00102-8)
14. Kim J.S., Chowdhury N., Wood T.K. Viable but non-culturable and persistence describe the same bacterial stress state. *Environ. Microbiol.* 2018; 20(6): 2038-48. DOI: <http://doi.org/10.1111/1462-2920.14075>
15. Li L., Mendis N., Trigui H., Oliver J.D., Faucher S.P. The importance of the viable but nonculturable state in human bacterial pathogens. *Front. Microbiol.* 2014; 5: 258. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00258>
16. Исачкова Л.М., Жаворонков А.А., Шубин Ф.Н. L-трансформация иерсиний при экспериментальном псевдотуберкулезе. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1993; 70(1): 11-5.
17. Joseleau-Petit D., Liébart J.C., Ayala J.A., D'Ari R. Unstable *Escherichia coli* L-Forms revisited: growth requires peptidoglycan synthesis. *J. Bacteriol.* 2007; 189(18): 6512-20. DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.00273-07>
18. Hayes F. Toxins-antitoxins: Plasmid maintenance, programmed cell death, and cell cycle arrest. *Science*. 2003; 301(5639): 1496-9. DOI: <http://doi.org/10.1126/science.1088157>
19. Page R., Peti W. Toxin-antitoxin systems in bacterial growth arrest and persistence. *Nat. Chem. Biol.* 2016; 12(4): 208-14. DOI: <http://doi.org/10.1038/nchembio.2044>
20. Wood T.K. Combatting bacterial persister cells. *Biotechnol. Bioeng.* 2016; 113(3): 476-83. DOI: <http://doi.org/10.1002/bit.25721>
21. Ayrapetyan M., Williams T.C., Oliver J.D. Bridging the gap between viable but non-culturable and antibiotic persistent bacteria. *Trends Microbiol.* 2015; 23(1): 7-13. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.tim.2014.09.004>
22. Nelson E.J., Chowdhury A., Flynn J., Schild S., Bourassa L., Shao Y., et al. Transmission of *Vibrio cholerae* is antagonized by lytic phage and entry into the aquatic environment. *PLoS Pathog.* 2008; 4(10): e1000187. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000187>
23. Nowakowska J., Oliver J.D. Resistance to environmental stresses by *Vibrio vulnificus* in the viable but nonculturable state. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2013; 84(1): 213-22. DOI: <http://doi.org/10.1111/1574-6941.12052>
24. Белов А.Б., Куликалова Е.С. Сапронозы: экология возбудителей, эпидемиология и систематика. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016; 15(1): 5-16.
25. Брусина Е.Б. Эпидемиология инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, вызванных возбудителями группы сапронозов. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2015, 14(2): 50-6.
26. Пушкарева В.И., Литвин В.Ю., Константинова Н.Д. Анализ механизмов взаимодействия иерсиний с инфузориями *Tetrahymena rugiformis* на клеточном и субклеточном уровнях. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1990; 67(1): 3-8.
27. Кириллова Ф.М., Тимченко Н.Ф. Электронно-микроскопическое изучение взаимодействия *Yersinia pseudotuberculosis* с макрофагами и клетками HeLa. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1984; 61(7): 95-7.
28. Сомова Л.М., Бузолева Л.С., Плехова Н.Г. *Ультраструктура патогенных бактерий в разных экологических условиях*. Владивосток: Медицина ДВ; 2009.
29. Белов А.Б., Кузин А.А. Сапронозные инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи: проблемные вопросы теории эпидемиологии. *Пермский медицинский журнал*. 2017; 34(4): 94-102.
30. Amara A.A., Salem-Bekhit M.M., Alanazi F.K. Sponge-like: a new protocol for preparing bacterial ghosts. *ScientificWorld Journal*. 2013; 2013: 545741. DOI: <http://doi.org/10.1155/2013/545741>
31. Oliver J.D. The viable but nonculturable state in bacteria. *J. Microbiol.* 2005; 43(Special): 93-100.
32. Orman M.A., Brynildsen M.P. Establishment of a method to rapidly assay bacterial persister metabolism. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013; 57(9): 4398-409. DOI: <http://doi.org/10.1128/AAC.00372-13>
33. Lennon J.T., Jones S.E. Microbial seed banks: the ecological and evolutionary implications of dormancy. *Nat. Rev. Microbiol.* 2011; 9(2): 119-30. DOI: <http://doi.org/10.1038/nrmicro2504>
34. Requena J.M. *Stress Response in Microbiology*. Norfolk, UK: Caister Academic Press; 2012.
35. Storz G., Hengge R, eds. *Bacterial Stress Responses*. Washington: American Society for Microbiology Press; 2010.
36. Oliver J.D. Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 2010; 34(4): 415-25. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00200.x>
37. Hobby G.L., Meyer K., Chaffee E. Observations on the mechanism of action of penicillin. *Proc. Soc. Exp. Biol. NY.* 1942; 50(2): 281-5. DOI: <http://doi.org/10.3181/00379727-50-13773>
38. Gonçalves F.D., de Carvalho C.C. Phenotypic Modifications in *Staphylococcus aureus* Cells Exposed to High Concentrations

- of Vancomycin and Teicoplanin. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 13.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00013>
39. Korch S.B., Henderson T.A., Hill T.M. Characterization of the hipA7 allele of *Escherichia coli* and evidence that high persistence is governed by (p)ppGpp synthesis. *Mol. Microbiol.* 2003; 50(4): 1199-213.
DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03779.x>
40. Mulcahy L.R., Burns J.L., Lory S., Lewis K. Emergence of *Pseudomonas aeruginosa* strains producing high levels of persister cells in patients with cystic fibrosis. *J. Bacteriol.* 2010; 192(23): 6191-9.
DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.01651-09>
41. Rivers B., Steck T.R. Viable but non-culturable uropathogenic bacteria are present in the mouse urinary tract following urinary tract infection and antibiotic therapy. *Urol. Res.* 2001; 29(1): 60-6.
DOI: <http://doi.org/10.1007/s002400000151>
42. Epstein S.S., ed. *Uncultivated Microorganisms*. Berlin: Springer-Verlag; 2009.
43. Kusumoto A., Asakura H., Kawamoto K. General stress sigma factor RpoS influences time required to enter the viable but non-culturable state in *Salmonella enterica*. *Microbiol. Immunol.* 2012; 56(4): 228-37.
DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2012.00428.x>
44. Helaine S., Kugelberg E. Bacterial persisters: formation, eradication, and experimental systems. *Trends Microbiol.* 2014; 22(7): 417-24.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.tim.2014.03.008>
45. Potgieter M., Bester J., Kell D.B., Pretorius E. The dormant blood microbiome in chronic, inflammatory diseases. *FEMS Microbiol. Rev.* 2015; 39(4): 567-91.
DOI: <http://doi.org/10.1093/femsre/fuv013>
11. Mil'ko E.S., Egorov N.S. *The Heterogeneity of the Bacterial Population and the Process of Dissociation [Geterogenost' populyatsii bakteriy i protsess dissotsiatsii]*. Moscow: MGU; 1991. (in Russian)
12. Ayrapetyan M., Williams T.C., Baxter R., Oliver J.D. Viable but non-culturable and persister cells coexist stochastically and are induced by human serum. *Infect. Immun.* 2015; 83(11): 4194-203.
DOI: <http://doi.org/10.1128/IAI.00404-15>
13. Baffone W., Citterio B., Vittoria E., Casaroli A., Campana R., Falzano L., et al. Retention of virulence in viable but non-culturable halophilic *Vibrio* spp. *Int. J. Food Microbiol.* 2003; 89(1): 31-9.
DOI: [http://doi.org/10.1016/s0168-1605\(03\)00102-8](http://doi.org/10.1016/s0168-1605(03)00102-8)
14. Kim J.S., Chowdhury N., Wood T.K. Viable but non-culturable and persistence describe the same bacterial stress state. *Environ. Microbiol.* 2018; 20(6): 2038-48.
DOI: <http://doi.org/10.1111/1462-2920.14075>
15. Li L., Mendis N., Trigui H., Oliver J.D., Faucher S.P. The importance of the viable but nonculturable state in human bacterial pathogens. *Front. Microbiol.* 2014; 5: 258.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00258>
16. Isachkova L.M., Zhavoronkov A.A., Shubin F.N. L-transformation of *Yersinia* in experimental pseudotuberculosis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 1993; 70(1): 11-5. (in Russian)
17. Joseleau-Petit D., Liébart J.C., Ayala J.A., D'Ari R. Unstable *Escherichia coli* L-Forms revisited: growth requires peptidoglycan synthesis. *J. Bacteriol.* 2007; 189(18): 6512-20.
DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.00273-07>
18. Hayes F. Toxins-antitoxins: Plasmid maintenance, programmed cell death, and cell cycle arrest. *Science.* 2003; 301(5639): 1496-9.
DOI: <http://doi.org/10.1126/science.1088157>
19. Page R., Peti W. Toxin-antitoxin systems in bacterial growth arrest and persistence. *Nat. Chem. Biol.* 2016; 12(4): 208-14.
DOI: <http://doi.org/10.1038/nchembio.2044>
20. Wood T.K. Combatting bacterial persister cells. *Biotechnol. Bioeng.* 2016; 113(3): 476-83.
DOI: <http://doi.org/10.1002/bit.25721>
21. Ayrapetyan M., Williams T.C., Oliver J.D. Bridging the gap between viable but non-culturable and antibiotic persistent bacteria. *Trends Microbiol.* 2015; 23(1): 7-13.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.tim.2014.09.004>
22. Nelson E.J., Chowdhury A., Flynn J., Schild S., Bourassa L., Shao Y., et al. Transmission of *Vibrio cholerae* is antagonized by lytic phage and entry into the aquatic environment. *PLoS Pathog.* 2008; 4(10): e1000187.
DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000187>
23. Nowakowska J., Oliver J.D. Resistance to environmental stresses by *Vibrio vulnificus* in the viable but nonculturable state. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2013; 84(1): 213-22.
DOI: <http://doi.org/10.1111/1574-6941.12052>
24. Belov A.B., Kulikalova E.S. Saprosones: ecology of infection agents, epidemiology, terminology and classification. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika.* 2016; 15(1): 5-16. (in Russian)
25. Brusina E.B. Epidemiology of infections associated with the provision of medical care caused by pathogens of the saprosonis group. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika.* 2015, 14(2): 50-6. (in Russian)
26. Pushkareva V.I., Litvin V.Yu., Konstantinova N.D. Analysis of the mechanisms of interactions of *Yersinia* with *Tetrahymena pyriformis* ciliates at the cellular and subcellular levels. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 1990; 67(1): 3-8. (in Russian)
27. Kirillova F.M., Timchenko N.F. Electron microscopic study of the interaction of *Yersinia pseudotuberculosis* with macro-

REFERENCES

1. Bukharin O.V., Gintsburg A.P., Romanova Yu.M., El'-Registan T.I. *Bacterial Survival Mechanisms [Mekhanizmy vyzhivaniya bakteriy]*. Moscow: Meditsina; 2005. (in Russian)

2. Prozorovskiy S.V., ed. *Epidemiological Aspects of the Ecology of Bacteria [Epidemiologicheskie aspekty ekologii bakteriy]*. Moscow: Farmaus-Print; 1998. (in Russian)

3. Litvin V.Yu., Somov G.P., Pushkareva V.I. Saprosones as the natural focal diseases. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika.* 2010; (1): 10-6. (in Russian)

4. Somov G.P. The modern idea of saprosones (the main results of the study of the problem). *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal.* 2001; (2): 67-70. (in Russian)

5. Bukharin O.V. Infectious symbiology. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2015; 92(4): 4-9. (in Russian)

6. Somov G.P., Buzoleva L.S. *Adaptation of Pathogenic Bacteria to Abiotic Environmental Factors [Adaptatsiya patogennykh bakteriy k abioticheskim faktoram okruzhayushchey sredy]*. Vladivostok; 2004. (in Russian)

7. Ayrapetyan M., Williams T.C., Oliver J.D. Interspecific quorum sensing mediates the resuscitation of viable but non-culturable vibrios. *Appl. Environ. Microbiol.* 2014; 80(8): 2478-83.
DOI: <http://doi.org/10.1128/AEM.00080-14>

8. Boaretti M., Lleo M.M., Bonato B., Signoretto C., Canepari P. Involvement of rpoS in the survival of *Escherichia coli* in the viable but non-culturable state. *Environ. Microbiol.* 2003; 5(10): 986-96.
DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2003.00497.x>

9. Hong S.H., Wang X.X., O'Connor H.F., Benedik M.J., Wood T.K. Bacterial persistence increases as environmental fitness decreases. *Microb. Biotechnol.* 2012; 5(4): 509-22.
DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2011.00327.x>

10. Buzoleva L.S. *Adaptation of pathogenic bacteria to abiotic environmental factors*: Diss. Vladivostok; 2001. (in Russian)

- phages and HeLa cells. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 1984; 61(7): 95-7. (in Russian)
28. Somova L.M., Buzoleva L.S., Plekhova N.G. *Ultrastructure of Pathogenic Bacteria in Different Environmental Conditions [Ul'trastruktura patogennykh bakteriy v raznykh ekologicheskikh usloviyakh]*. Vladivostok: Meditsina DV; 2009. (in Russian)
 29. Belov A.B., Kuzin A.A. Health care-associated sapronous infections: problematic questions of epidemiological theory. *Permskiy meditsinskiy zhurnal*. 2017; 34(4): 94-102. (in Russian)
 30. Amara A.A., Salem-Bekhit M.M., Alanazi F.K. Sponge-like: a new protocol for preparing bacterial ghosts. *ScientificWorld-Journal*. 2013; 2013: 545741. DOI: <http://doi.org/10.1155/2013/545741>
 31. Oliver J.D. The viable but nonculturable state in bacteria. *J. Microbiol.* 2005; 43(Special): 93-100.
 32. Orman M.A., Brynildsen M.P. Establishment of a method to rapidly assay bacterial persister metabolism. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013; 57(9): 4398-409. DOI: <http://doi.org/10.1128/AAC.00372-13>
 33. Lennon J.T., Jones S.E. Microbial seed banks: the ecological and evolutionary implications of dormancy. *Nat. Rev. Microbiol.* 2011; 9(2): 119-30. DOI: <http://doi.org/10.1038/nrmicro2504>
 34. Requena J.M. *Stress Response in Microbiology*. Norfolk, UK: Caister Academic Press; 2012.
 35. Storz G., Hengge R, eds. *Bacterial Stress Responses*. Washington: American Society for Microbiology Press; 2010.
 36. Oliver J.D. Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 2010; 34(4): 415-25. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00200.x>
 37. Hobby G.L., Meyer K., Chaffee E. Observations on the mechanism of action of penicillin. *Proc. Soc. Exp. Biol. NY.* 1942; 50(2): 281-5. DOI: <http://doi.org/10.3181/00379727-50-13773>
 38. Gonçalves F.D., de Carvalho C.C. Phenotypic Modifications in Staphylococcus aureus Cells Exposed to High Concentrations of Vancomycin and Teicoplanin. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 13. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00013>
 39. Korch S.B., Henderson T.A., Hill T.M. Characterization of the hipA7 allele of *Escherichia coli* and evidence that high persistence is governed by (p)ppGpp synthesis. *Mol. Microbiol.* 2003; 50(4): 1199-213. DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03779.x>
 40. Mulcahy L.R., Burns J.L., Lory S., Lewis K. Emergence of *Pseudomonas aeruginosa* strains producing high levels of persister cells in patients with cystic fibrosis. *J. Bacteriol.* 2010; 192(23): 6191-9. DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.01651-09>
 41. Rivers B., Steck T.R. Viable but non-culturable uropathogenic bacteria are present in the mouse urinary tract following urinary tract infection and antibiotic therapy. *Urol. Res.* 2001; 29(1): 60-6. DOI: <http://doi.org/10.1007/s002400000151>
 42. Epstein S.S., ed. *Uncultivated Microorganisms*. Berlin: Springer-Verlag; 2009.
 43. Kusumoto A., Asakura H., Kawamoto K. General stress sigma factor RpoS influences time required to enter the viable but non-culturable state in *Salmonella enterica*. *Microbiol. Immunol.* 2012; 56(4): 228-37. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2012.00428.x>
 44. Helaine S., Kugelberg E. Bacterial persisters: formation, eradication, and experimental systems. *Trends Microbiol.* 2014; 22(7): 417-24. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.tim.2014.03.008>
 45. Potgieter M., Bester J., Kell D.B., Pretorius E. The dormant blood microbiome in chronic, inflammatory diseases. *FEMS Microbiol. Rev.* 2015; 39(4): 567-91. DOI: <http://doi.org/10.1093/femsre/fuv013>

Информация об авторах:

Сомова Лариса Михайловна — д.м.н., проф., г.н.с. лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» РАН, 690087, Владивосток, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2023-1503>. E-mail: l_somova@mail.ru

Андрюков Борис Георгиевич — д.м.н., в.н.с. лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» РАН, 690087, Владивосток, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4456-808X>. E-mail: andrukov_bg@mail.ru

Ляпун Ирина Николаевна — к.б.н., с.н.с. лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» РАН, 690087, Владивосток, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5290-3864>. E-mail: irina-lyapun@list.ru

Участие авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Information about the authors:

Larisa M. Somova — Doct. Sci. (Med.), principal researcher, Laboratory of molecular microbiology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, 690087, Vladivostok, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2023-1503>. E-mail: l_somova@mail.ru

Boris G. Andrukov — Doct. Sci. (Med.), leading researcher, Laboratory of molecular microbiology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, 690087, Vladivostok, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4456-808X>. E-mail: andrukov_bg@mail.ru

Irina N. Lyapun — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of molecular microbiology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, 690087, Vladivostok, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5290-3864>. E-mail: irina-lyapun@list.ru

Contribution: the authors contributed equally to this article.

Иммунологические и эпидемиологические аспекты иммуногенности капсульного полисахарида *Streptococcus pneumoniae* серотипа 3 в составе пневмококковых вакцин

Зайцев А.Е.¹, Курбатова Е.А.^{1✉}, Егорова Н.Б.¹, Сухова Е.В.², Нифантьев Н.Э.²

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия;

²ФГБУН «Институт органической химии имени Н.Д. Зелинского» РАН, 119991, Москва, Россия

Включение в национальные программы иммунизации многих стран мира пневмококковых вакцин привело к снижению уровня заболеваний, вызываемых вакцинными серотипами пневмококка, однако не оказало влияния на частоту распространения *Streptococcus pneumoniae* серотипа 3, входящего в их состав. Результаты испытаний по оценке эпидемиологической эффективности и иммуногенности капсульного полисахарида (КП) *S. pneumoniae* серотипа 3 в составе конъюгированных и полисахаридных пневмококковых вакцин противоречивы. В одних исследованиях показана эффективность вакцинации, другие исследования свидетельствуют о недостаточной иммуногенности и профилактической эффективности КП *S. pneumoniae* серотипа 3. Проведенный авторами анализ результатов клинических исследований показал, что профилактическая эффективность КП *S. pneumoniae* серотипа 3 зависит от типа вакцины, нозологической формы заболевания, возраста, схемы иммунизации. В соответствии с данными литературы наиболее информативным показателем протективной активности КП *S. pneumoniae* в составе пневмококковых вакцин, в том числе серотипа 3, является опсонофагоцитоз. Рассмотрены экспериментальные данные, обосновывающие низкую иммуногенность КП серотипа 3, предположительно связанную с необычным путем синтеза его КП. Для повышения иммуногенности КП *S. pneumoniae* серотипа 3 перспективным является использование синтетических олигосахаридов строго определенного химического строения, соответствующих протективным фрагментам КП серотипа 3 и конъюгированных с белком-носителем для индукции Т-зависимого иммунного ответа и иммунологической памяти.

Ключевые слова: *Streptococcus pneumoniae* серотипа 3; капсульный полисахарид пневмококка; конъюгированная пневмококковая вакцина; полисахаридная пневмококковая вакцина; эпидемиологическая эффективность пневмококковых вакцин; опсонофагоцитоз; поствакцинальные пневмококковые антитела.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 19-73-30017.

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

Для цитирования: Зайцев А.Е., Курбатова Е.А., Егорова Н.Б., Сухова Е.В., Нифантьев Н.Э. Иммунологические и эпидемиологические аспекты иммуногенности капсульного полисахарида *Streptococcus pneumoniae* серотипа 3 в составе пневмококковых вакцин. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(1): 72–82.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-72-82>

Поступила 22.10.2019

Принята в печать 18.12.2019

Immunological and Epidemiological Aspects of the Immunogenicity of *Streptococcus Pneumoniae* Serotype 3 Capsular Polysaccharide in Pneumococcal Vaccines

Anton E. Zaitsev¹, Ekaterina A. Kurbatova^{1✉}, Nadezhda B. Egorova¹, Elena V. Sukhova², Nikolay E. Nifantiev²

¹Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow 105064, Russia;

²N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, 119991, Moscow, Russia

The introduction of pneumococcal vaccines into national immunization programmes around the world has reduced the incidence of pneumococcal vaccine serotypes, but had no influence on the incidence of *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 included in their composition. The results of evaluation of epidemiological efficacy and immunogenicity of capsular polysaccharide of *S. pneumoniae* serotype 3 capsular polysaccharide (CP) in conjugated and polysaccharide pneumococcal vaccines are contradictory. Some studies have shown the effectiveness of vaccination, other studies indicate insufficient immunogenicity and prophylactic efficacy of *S. pneumoniae* serotype 3 CP. The authors' analysis of the results of clinical studies showed that the prophylactic efficacy of *S. pneumoniae* serotype 3 CP depends on the type of vaccine, nosological form of the disease, age, immunization schedule. According to the literature data, the most informative parameter of the protective activity of *S. pneumoniae* CP in pneumococcal vaccines, including serotype 3, is opsonophagocytosis. The experimental data of the low immunogenicity of serotype 3 CP, presumably associated with an unusual way of synthesis of its CP, are considered. To increase the immunogenicity of *S. pneumoniae* serotype 3 CP, the use of synthetic oligosaccharides of a strictly defined chemical structure corresponding to the protective fragments of serotype 3 CP and conjugated with a carrier protein for induction of T-dependent immune response and immunological memory is promising.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae* serotype 3; capsular pneumococcal polysaccharide; conjugated pneumococcal vaccine; polysaccharide pneumococcal vaccine; epidemiological efficacy of pneumococcal vaccines opsonophagocytosis; post-vaccination pneumococcal antibodies.

Acknowledgments. This work was supported by a grant from the Russian Science Foundation 19-73-30017.

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

For citation: Zaitsev A.E., Kurbatova E.A., Egorova N.B., Sukhova E.V., Nifantiev N.E. Immunological and Epidemiological Aspects of the Immunogenicity of *Streptococcus Pneumoniae* Serotype 3 Capsular Polysaccharide in Pneumococcal Vaccines. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, Russian journal*. 2020; 97(1): 72–82. (In Russ.).
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-72-82>

Received 22 October 2019

Accepted 18 December 2019

Грамположительные бактерии, относящиеся к виду *Streptococcus pneumoniae*, являются причиной тяжелых заболеваний, преимущественно бронхолегочной локализации, у детей и взрослых. Большая часть штаммов пневмококка окружена капсулой. На основе уникальной химической структуры капсульных полисахаридов (КП) *S. pneumoniae* проводят серотипирование штаммов пневмококка [1–3].

В настоящее время идентифицировано более 90 серотипов пневмококка, примерно 20 из которых являются клинически значимыми. Особого внимания с точки зрения микробиологических особенностей штаммов, распространенности, клинической картины заболеваний и вакцинопрофилактики заслуживает *S. pneumoniae* серотипа 3.

Серотип 3-ассоциированные заболевания

Заболевания, вызванные штаммами *S. pneumoniae* серотипа 3, ассоциированы с высоким риском летального исхода у детей и взрослых по сравнению с другими серотипами пневмококка [4–9], способны вызывать пневмонию с некрозом легочной ткани, эмпиему плевры [10, 11], а также заболевания внелегочной локализации: бактериемию, менингит, абсцесс мозга [2, 7, 12, 13].

Серотип 3 является одним из доминирующих серотипов пневмококка в разных странах мира. Есть основания полагать, что заболевания, вызванные этим серотипом, наиболее опасны для лиц пожилого возраста [14–17].

Высокая вирулентность штаммов серотипа 3 определяется особенностью строения капсулы. Полимерные цепи целлобиуроновой кислоты капсулы *S. pneumoniae* серотипа 3 ковалентно не связаны с клеточной стенкой, в отличие от других серотипов пневмококка (кроме серотипа 37) [18], и характеризуются тенденцией образовывать при росте на агаре мукоидные колонии [19, 20]. Мукоидные штаммы *S. pneumoniae* серотипа 3 вызывают тяжелые заболевания, характеризующиеся менее успешным и более длительным лечением по сравнению с немуккоидными серотипами и нередко заканчивающиеся летально [14, 21, 22].

S. pneumoniae серотипа 3, как и серотипы 6В, 19А, 19F и 23F, имеет хорошо развитую капсулу и относится к серотипам с низким инвазивным потенциалом, действуя как «оппортунистический» патоген, вызывающий заболевания, ассоциированные с высоким риском летального исхода, преимущественно у иммунокомпрометированных лиц. Серотипы со средним/высоким инвазивным потенциалом (1, 7F, 4, 9N, 9V и 14) и тонкой капсулой наиболее часто вызывают заболевания у здоровых лиц, действуя как первичные патогены [23, 24].

Следует отметить, что распространенность *S. pneumoniae* серотипа 3 в разных странах мира не уменьшается, несмотря на проведение вакцинации мультивалентными вакцинами, содержащими в своем составе КП этого серотипа пневмококка. При исследовании образцов биологического материала пациентов частота выделения серотипов 19F, 23F и 4 ежегодно снижалась, тогда как частота обнаружения серотипа 3 не изменялась с течением времени [15, 25–27], даже несмотря на проведение противопневмококковой вакцинации [28].

В различных регионах Российской Федерации у детей в возрасте до 5 лет среди колонизирующих штаммов пневмококка у носителей доминировали серотипы 3, 6, 9, 14, 19, 23, в меньшей степени 7 и 18; при остром среднем отите — серотипы 3, 4, 6, 9, 14, 19, 23; при внебольничной пневмонии — серотипы 1, 3, 4, 6, 7, 9, 14, 19, 23 [29]. Широкая распространенность серотипов 3, 6, 15 и 19 среди детей с пневмококковой инфекцией подтверждена и в других исследованиях [30]. В Москве среди штаммов 1980–1999 гг. преобладающими серотипами (в порядке уменьшения значимости) были 1, 3, 19F, 6А, 7F, 12F, 18С, 19А, а среди культур 2000–2012 гг. доминировали 3, 19F, 6В, 7F, 15А, 15В, 1, 4, 6А [31].

Клинические исследования

Проведение противопневмококковой вакцинации позволяет предотвратить инфицирование *S. pneumoniae* и уменьшить летальность от этих заболеваний. Успех вакцинопрофилактики пневмококковой инфекции во многом зависит от степени

соответствия серотипового состава вакцины спектру циркулирующих штаммов пневмококка. Несмотря на включение в программы иммунизации многих стран мира 13-валентной конъюгированной пневмококковой вакцины (ПКВ13), заболеваемость, вызываемая *S. pneumoniae* серотипа 3, существенно не уменьшилась, особенно среди взрослых, привитых против пневмококка.

Данные об иммуногенности КП *S. pneumoniae* серотипа 3 противоречивы: одни из них свидетельствуют о его эффективности, другие — о низкой иммуногенности. В контролируемом испытании при проведении иммунизации 249 детей в возрасте 6–54 мес ПКВ14 уровни сывороточных антител ко всем серотипам, входящим в состав вакцины, включая серотип 3, увеличивались во всех возрастных группах [32].

При проведении первой фазы клинических испытаний ПКВ20, содержащей добавочно 7 новых серотипов пневмококка (8, 10А, 11А, 12F, 15В, 22F и 33F) и предназначенной для расширения спектра действия уже существующих конъюгированных вакцин (7-, 10- и 13-валентных), оценивали ее эффективность и безопасность. В контролируемом рандомизированном «слепом» исследовании участвовали 66 здоровых взрослых добровольцев в возрасте 18–49 лет, не имеющих в анамнезе пневмококковой инфекции. Исследовали опсонофагоцитарную активность и концентрацию IgG-антител ко всем 20 КП, входящим в состав вакцины, через 28–35 сут после введения одной дозы вакцины. В контрольной группе испытуемым вводили комбинированную дифтерийно-столбнячную вакцину с бесклеточным коклюшным компонентом. Добровольцы хорошо переносили вакцинацию. Отмечено повышение опсонофагоцитарной активности и концентрации IgG-антител ко всем КП пневмококка, входящим в состав вакцины [33].

Приведены данные об эффективности ПКВ13 в отношении *S. pneumoniae* серотипа 3 у пациентов старше 65 лет с внебольничной пневмонией [34].

Показан клинический эффект действия ПКВ13 в предупреждении развития тяжелых инвазивных пневмококковых заболеваний, вызванных *S. pneumoniae* серотипа 3, у детей 0–8 лет в Италии. Серотипирование пневмококка проводили с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени. Серотип 3 выявлен у 60 (21%) из 284 детей с инвазивными пневмококковыми заболеваниями. После введения ПКВ13 общее число инвазивных заболеваний, вызванных серотипом 3, сократилось на 13% и на 92% уменьшилось число случаев сепсиса и менингита. Авторы полагают, что ПКВ13 оказывает выраженный эффект при профилактике серотип 3-ассоциированного менингита и сепсиса, тогда как в предупреждении развития пневмонии эффект менее значимый [35].

В настоящее время накопилось значительное количество данных, свидетельствующих о недостаточной иммуногенности КП *S. pneumoniae* серотипа 3 в составе пневмококковых вакцин, и дискуссии по этому вопросу продолжаются.

Проведено 3 масштабных клинических испытания ПКВ11 у детей с оценкой иммунологических показателей в разные сроки наблюдения. Вакцина содержит в своем составе КП *S. pneumoniae* серотипов 1, 3, 4, 5, 6В, 7F, 9V, 14, 18С, 19F и 23F, каждый из которых индивидуально конъюгирован с протеином D, выделенным из *Haemophilus influenzae*.

Первое рандомизированное «слепое» исследование проведено с 2000 по 2002 г. в Финляндии для оценки иммуногенности ПКВ11 у детей. Вакцину получали 154 ребенка по трем схемам: 1-я группа (основная) — привитые ПКВ11 в возрасте 2, 4, 6 мес при введении 4-й дозы (ревакцинация) в возрасте 12–15 мес (стандартная схема); 2-я группа (группа сравнения) — привитые ПКВ11 в возрасте 2, 4, 6 мес при проведении 4-й иммунизации 23-валентной полисахаридной (не конъюгированной) пневмококковой вакциной (ППВ23) в возрасте 12–15 мес; 3-я группа — привитые вакциной против гепатита В в возрасте 2, 4, 6 мес при проведении 4-й иммунизации ПКВ11 в возрасте 12–15 мес (контроль). Концентрацию сывороточных IgG-антител к вакцинным серотипам определяли с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) у детей в возрасте 2, 7 и 12–15 мес, а также после 4-й иммунизации конъюгированной или полисахаридной вакцинами.

После введения 3 доз ПКВ11 существенно повышалась концентрация IgG-антител к КП серотипов, входящих в состав вакцины (1,26–4,92 мкг/мл), которая зависела от серотипа пневмококка. У детей 2-й группы 4-я иммунизация ППВ23 индуцировала более высокий бустерный ответ, чем 4-я доза ПКВ11 в 1-й группе. А именно, концентрация IgG-антител после ревакцинации ПКВ11 составляла 1,60–9,63 мкг/мл, тогда как после бустерного введения ППВ23 — 4,24–40,54 мкг/мл, в зависимости от серотипа пневмококка. Концентрация антител после однократного введения 1-й дозы ПКВ11 детям в возрасте 12–15 мес в 3-й группе была ниже, чем после введения 4-й дозы вакцины детям 1-й группы. При оценке иммуногенности КП серотипа 3 у детей 1-й группы титр антител к КП всех серотипов пневмококка повышался, за исключением серотипа 3. После однократного введения ПКВ11 на 2-м году жизни детям, ранее не привитым против пневмококка (3-я группа), происходило образование антител к серотипу 3 в концентрации, превышающей таковую у детей 1-го года жизни, прошедших первичный курс вакцинации (3 дозы) ПКВ11. Это свидетельствует о том, что иммуногенность ПКВ11 у детей с возрастом повышалась, даже после однократной иммунизации. Через 15 дней после

бустерной иммунизации ППВ23 на 2-м году жизни у детей 2-й группы титр IgG-антител, индуцированных к КП серотипа 3, повышался наравне с другими серотипами пневмококка. Таким образом, иммунный ответ у детей на ревакцинацию неконъюгированным КП серотипа 3 после первичного курса вакцинации ПКВ11 (2-я группа) не был нарушен, в отличие от такового при ревакцинации ПКВ11 (1-я группа) [36].

Второе проспективное рандомизированное «двойное слепое» исследование проведено в Чехии и Словакии в 2000–2004 гг. Целью исследования явилась оценка эффективности ПКВ11 в профилактике острого среднего отита у детей [37]. В испытании участвовали 4968 детей, которые были разделены на две группы. Первая группа (основная) получала ПКВ11 по стандартной схеме — трехкратно в возрасте 3, 4, 5 мес (первичный курс вакцинации) и в 12–15 мес (ревакцинация); другая (группа контроля) — получала вакцину против гепатита А по той же схеме. Наблюдение за детьми проводили до конца 2-го года жизни ребенка. Серотипирование штаммов пневмококка, выделенных у детей с признаками острого среднего отита (изменения в барабанной перепонке/наличие экссудата или оба этих симптома), проводили методом ИФА. Эффект вакцинации оценивали по первому эпизоду заболевания и по всем эпизодам инфекции, зарегистрированным за весь период наблюдения за детьми. Через 2 нед после 3-й дозы пневмококковой вакцины до возраста ребенка 24–27 мес выявлено 333 клинических эпизода острого среднего отита в группе привитых детей ($n = 2455$) и 499 — в контрольной группе ($n = 2452$), что показало существенное снижение заболеваемости в группе детей, иммунизированных пневмококковой вакциной. Эффективность вакцинации в предупреждении первого эпизода острого среднего отита в группе привитых составила 52,6%; при учете всех эпизодов — 57,6%. Вакцинация способствовала снижению количества эпизодов инфекции, вызванной вакцинными штаммами, на 65,5%, но существенно не влияла на возникновение заболеваний, вызванных невакцинными серотипами пневмококка. Наибольшее количество эпизодов пневмококкового отита вызвали серотипы 3 (37 случаев), 6В (27 случаев), 14 (23 случая), 19F (67 случаев) и 23F (23 случая). В отношении всех серотипов, за исключением серотипа 3, установлен существенный защитный эффект вакцинации, который варьировал от минимального — серотип 19F (44,4%) — до максимального — серотип 14 (95,5%). Что касается серотипа 3, то общее количество эпизодов острого среднего отита в группе, получавшей пневмококковую вакцину, и в контрольной группе составило 20 и 17 соответственно; первый эпизод зарегистрирован в 19 и 17 случаях; первый эпизод до ревакцинации — в 6 и 8 случаях; первый эпизод после ревакцинации — в 13 и 9 случаях соответственно.

Эти данные демонстрируют недостаточную эффективность КП пневмококка серотипа 3 в составе ПКВ в предупреждении острого среднего отита у детей. Все выделенные штаммы серотипа 3, кроме одного, образовывали при росте на агаре мукоидные колонии. Образование антител, индуцированных к КП пневмококка, исследовали в ИФА после первичного курса вакцинации и после ревакцинации ПКВ. Самая высокая концентрация антител (3,78 г/мл) через 1 мес после проведения первичного курса вакцинации выявлена к серотипу 3, однако через 1 мес после ревакцинации наблюдали атипичную иммунологическую реакцию, проявляющуюся в том, что концентрация антител снижалась (2,84 г/мл), тогда как к другим серотипам пневмококка титр антител нарастал. Это согласуется с результатами исследования, проведенного в Финляндии [36]. Серотип 3 относился к числу серотипов с низкой опсонофагоцитарной активностью, которая, однако, повышалась в 1,8 раза после ревакцинации.

Третье открытое исследование проведено в Словакии в 2005 г. и явилось продолжением второго клинического исследования в тех же группах детей, что и в ранее представленной работе [37]. В этом испытании определяли эффективность вакцинации ПКВ11 в предупреждении острого среднего отита у детей в зависимости от концентрации IgG-антител (среднее геометрическое значение концентрации) и в реакции опсонофагоцитоза (среднее геометрическое значение разведения сыворотки). Первой группе детей (основная), прошедших первичный курс и ревакцинацию ПКВ11, в 3,5 года вводили ППВ23. Второй группе детей (контроль), иммунизированных и ревакцинированных вакциной против гепатита А, в том же возрасте также вводили ППВ23 [38]. Показано, что через 15 дней после иммунизации ППВ23 титр IgG-антител ко всем серотипам, входящим в состав ПКВ11, включая серотип 3, был выше, чем у детей в группе контроля и у детей, прошедших ранее как первичный курс вакцинации, так и ревакцинацию ПКВ11. Следует отметить, что после введения ППВ23 детям, прошедшим первичный курс вакцинации и ревакцинацию ПКВ11, концентрация антител к серотипу 3 была самой низкой (7,9 г/мл), тогда как для других серотипов 10–39 г/мл и выше, а у непривитых детей после введения ППВ23 концентрация антител к серотипу 3 была одной из самых высоких среди других серотипов (5 г/мл), для серотипов 1, 4, 7F и 19F (4,6–7,3 г/мл). Опсонизирующая активность антител после введения ППВ23 в отношении серотипа 3 была самой низкой во всех группах, прошедших курс вакцинации ПКВ11 (865 для серотипа 3 и 1890–36 063 для других серотипов), в контрольной группе она составила 518 для серотипа 3, 164 для серотипа 5 и 277 для серотипа 19F. У детей с острым средним отитом наблюдали тенденцию к более низкой concentra-

ции серотипспецифических антител и опсонофагоцитарной активности по сравнению со здоровыми детьми. Показано, что в предупреждении острого среднего отита ключевое значение имеют IgG-антитела с высокой опсонизирующей активностью, тогда как титр антител не является достаточно информативным показателем [39].

Обобщая результаты клинических испытаний у детей по оценке эффективности конъюгированной ПКВ11, содержащей в своем составе КП серотипа 3, следует отметить несколько важных положений. Во-первых, не выявлено защиты от острого среднего отита, вызванного пневмококком серотипа 3. Во-вторых, иммунологическая эффективность вакцинации ПКВ повышалась при проведении бустерной иммунизации полисахаридной вакциной. В-третьих, отмечено развитие атипичного иммунного ответа к КП серотипа 3 после ревакцинации ПКВ при сохранении нормального иммунного ответа на бустерное введение очищенного КП, входящего в состав ППВ23. В-четвертых, определение специфической опсонофагоцитарной активности является наиболее информативной оценкой протективных свойств пневмококковых вакцин.

Еще одно подтверждение недостаточной эффективности в индукции антител к КП серотипа 3 показано при проведении постмаркетингового испытания профилактической эффективности и иммуногенности вакцин ПКВ7 (не содержит КП серотипа 3) и ПКВ13 в Англии, Уэльсе и Северной Ирландии. Целью исследования явилось выявление защиты от серотипов пневмококка, КП которых входят в состав вакцин. Для оценки эффективности противопневмококковой вакцинации в отношении инвазивных пневмококковых заболеваний определяли концентрацию типоспецифических IgG-антител у детей после 2 примиряющих доз ПКВ7 ($n = 126$) и ПКВ13 ($n = 237$) и титр опсонизирующих антител к КП у детей. Показано, что защита от пневмококковой инфекции коррелировала с титром антител к КП. В этом исследовании также установлено, что КП серотипа 3 в составе ПКВ13 оказался недостаточно эффективным. В целом эффект вакцинации ПКВ13 в предупреждении инвазивных пневмококковых заболеваний после введения 2 доз вакцины до возраста ребенка 12 мес и 1 дозы после 12 мес жизни детей составил 75%, причем в 90% случаев для серотипов, входящих в состав ПКВ7, и в 73% — для 6 других серотипов, дополнительно включенных в состав ПКВ13. Защита была показана для 4 из этих 6 серотипов (эффективность вакцинации в отношении серотипа 3 была недостоверной, а случаи заболеваний, вызванных серотипом 5, не зарегистрированы в течение периода наблюдения за детьми) [40].

М. Shiramoto и соавт. показали, что иммуногенность вакцин ПКВ13 и ППВ23 у лиц пожилого

возраста, которую оценивали по титру антител и их опсонизирующей активности, была ниже для КП серотипа 3 по сравнению с другими серотипами пневмококка, причем при введении обеих исследованных вакцин [41].

При иммунизации ППВ не происходило повышения титра антител к КП *S. pneumoniae* серотипа 3 у лиц старше 65 лет и взрослых лиц молодого возраста, тогда как к другим исследованным серотипам (1, 5, 6В, 8 и 14) титр антител в обеих группах повышался [42].

На основании проведенных исследований можно сделать заключение, что иммуногенность КП различных серотипов пневмококка неодинакова. Вероятно, одной из причин доминирования серотипа 3 после внедрения в практику мультивалентных пневмококковых вакцин является низкая эффективность КП этого серотипа пневмококка [40].

Экспериментальные исследования

По мнению Е.Н. Choi и соавт., недостаточная эффективность КП серотипа 3 в составе пневмококковых вакцин может быть связана с необычным путем синтеза его КП [18]. В настоящее время установлен механизм синтеза КП для всех известных 94 серотипов пневмококка.

Существуют 2 пути синтеза КП: синтаза-зависимый и *wzu*-зависимый [44–46]. Главное различие между ними состоит в том, что при *wzu*-зависимом синтезе КП ковалентно связан с пептидогликаном клеточной стенки бактерий, тогда как при синтаза-зависимом пути он может отделяться от клеточной стенки. Для большинства серотипов *S. pneumoniae* синтез КП происходит по *wzu*-зависимому пути и только у двух серотипов (3 и 37) — по синтаза-зависимому пути [47, 48]. *S. pneumoniae* серотипа 37 крайне редко встречается у человека, поэтому изучить его эпидемиологическую эффективность в составе вакцин практически невозможно, тогда как серотип 3 является клинически значимым [49].

Показано, что КП *S. pneumoniae* серотипа 3 может быть связан с бактериальной стенкой и одновременно находится в растворенном состоянии в культуральной среде [44]. Авторы работы исследовали штаммы пневмококка, синтезирующие КП двумя различными путями: по синтаза-зависимому — штаммы *S. pneumoniae* серотипов 3 и 37, по *wzu*-зависимому — штаммы *S. pneumoniae* серотипов 1, 4, 6В и 14. После культивирования собирали супернатант, не содержащий бактериальных клеток, и осадок бактерий. Определяли концентрацию КП в супернатанте и в осадке клеток с помощью реакции ингибирования ИФА. В супернатанте среднее содержание КП на 10^7 КОЕ для *S. pneumoniae* серотипа 3 составило 60 мкг, для *S. pneumoniae* серотипа 37 — 130 мкг, что было существенно выше, чем для КП штаммов *S. pneumoniae* серотипов 1, 4, 6В

и 14 (0,4–10 мкг). Соотношение КП в супернатанте/осадке клеток было >1 для синтаза-зависимых серотипов и <1 для wzu-зависимых серотипов.

Для доказательства того, что при инфицировании *S. pneumoniae* серотипа 3 его КП присутствует в свободном состоянии в крови мышей, проводили заражение животных серотипами 3, 4 или 5 дозой 10^3 микробных клеток. Через 24 ч после заражения у всех мышей развивалась бактериемия, и число колониеобразующих единиц (КОЕ) составляло от 6×10^4 КОЕ/мл до $1,3 \times 10^8$ КОЕ/мл в зависимости от серотипа пневмококка. При этом для *S. pneumoniae* серотипа 3 количество КП на 10^7 КОЕ составило 31,2 мкг, что было значительно выше, чем для серотипов 4 и 5 (0,8 мкг). Для оценки влияния освобожденного КП *S. pneumoniae* серотипа 3 на антителозависимый киллинг бактериальных клеток пневмококка в реакции опсонофагоцитоза использовали супернатант культуры или мышиную сыворотку, полученную после заражения *S. pneumoniae* серотипа 3. Бактерицидная активность антител, индуцированных к КП серотипа 3, существенно снижалась в присутствии супернатанта культуры, причем с той же закономерностью, как и при прибавлении очищенного КП *S. pneumoniae* серотипа 3. В тесте пассивной защиты мышей показано, что для снижения степени защиты от заражения *S. pneumoniae* серотипа 3 требовалось 0,2 мкл сыворотки кролика, содержащей 0,03 мкг КП, тогда как для серотипа 4 — 25 мкл культурального супернатанта, содержащего 0,12 мкг КП серотипа 4, т.е. в 4 раза больше.

Принято считать, что для человека защитная минимальная концентрация антител к КП каждого серотипа *S. pneumoniae* составляет 0,35 мкг/мл, что коррелирует с защитой при иммунизации ПКВ. Для КП *S. pneumoniae* серотипа 3 защитная концентрация антител была наибольшей по сравнению с другими серотипами пневмококка, входящими в состав Превенара-13, и составляла 2,83 мкг/мл. Авторы делают заключение, что *S. pneumoniae* серотипа 3 при культивировании *in vitro* и при заражении мышей высвобождает наибольшее количество КП по сравнению с другими серотипами пневмококка, приводя к снижению антителозависимого киллинга бактерий и защиты от инфекции путем связывания свободных антител, индуцированных к КП этого серотипа пневмококка. Не исключено, что КП, с которым связались антитела, также может освободиться от бактерии в окружающую среду, снижая защитные свойства антител.

Следует учитывать, что бактериальный КП состоит из цепей разной длины, поэтому антитела, индуцированные к одному эпитопу, могут быть протективными, а к другому — нет. Низкая эффективность КП в ряде случаев может быть связана со смещением рамок считывания при экспрессии генов, ответственных за продукцию КП при культивировании штамма,

и, как следствие, будет получен менее иммуногенный препарат бактериального КП [47].

С помощью панели из трех моноклональных антител, полученных к КП серотипа 3, показано, что одно антитело обладало опсонизирующей активностью в присутствии комплемента, другое — в отсутствие комплемента, третье не обладало активностью ни в присутствии, ни в отсутствие комплемента. При летальном интраназальном заражении все антитела обладали защитной способностью, однако их действие было связано с взаимодействием с разными клеточными рецепторами [50].

В ранее проведенных нами исследованиях показано, что белоксодержащие препараты, полученные из двух разных штаммов *S. pneumoniae* серотипа 3, при использовании их в качестве твердофазных антигенов в ИФА характеризовались меньшей способностью выявлять перекрестно реагирующие IgG-антитела в гетерологичных антимикробных кроличьих сыворотках по сравнению с антигенами, полученными из штаммов серотипов 6А, 6В, 14, 19А, 19F, 23F [51]. Можно предположить, что недостаточно иммуногенными могут быть не только КП *S. pneumoniae* серотипа 3, но и белоксодержащие антигены этого серотипа пневмококка, что важно при разработке традиционных и рекомбинантных пневмококковых вакцин.

Вариабельность бактериального КП *S. pneumoniae* серотипа 3 может оказывать влияние на качество вакцинных препаратов. Для устранения этого недостатка перспективным является использование протективных синтетических олигосахаридов строго определенного химического строения, являющихся аналогами КП *S. pneumoniae* серотипа 3, конъюгированных с белком-носителем для индукции Т-зависимого иммунного ответа и иммунологической памяти [52–55]. Для конструирования мультивалентной пневмококковой вакцины можно использовать конъюгированные синтетические олигосахариды или их комбинацию с бактериальными КП [56].

ЛИТЕРАТУРА

1. Henrichsen J. Six newly recognized types of *Streptococcus pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33(10): 2759-62.
2. Lund E., Henrichsen J. Phenotypic characterization and serotypes identification of CSF isolates in acute bacterial meningitis. *Methods Microbiol.* 1978; (12): 241-62.
3. Calix J.J., Nahm M.H. A new pneumococcal serotype, 11E, has a variably inactivated *wcjE* gene. *J. Infect. Dis.* 2010; 202(1): 29-38.
DOI: <http://doi.org/10.1086/653123>
4. Weinberger D.M., Harboe Z.B., Sanders E.A., Ndiritu M., Klugman K.P., Ruckinger S., et al. Association of serotype with risk of death due to pneumococcal pneumonia: a meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 51(6): 692-9.
DOI: <http://doi.org/10.1086/655828>
5. Grabenstein J.D., Musey L.K. Differences in serious clinical outcomes of infection caused by specific pneumococcal serotypes among adults. *Vaccine.* 2014; 32(21): 2399-405.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.02.096>

6. Martens P., Worm S.W., Lundgren B., Konradsen H.B., Benfield T. Serotype-specific mortality from invasive Streptococcus pneumoniae disease revisited. *BMC Infect. Dis.* 2004; (4): 21. DOI: <http://doi.org/10.1186/1471-2334-4-21>
7. Gransden W.R., Eykyn S.J., Phillips I. Pneumococcal bacteraemia: 325 episodes diagnosed at St Thomas's Hospital. *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed)*. 1985; 290(6467): 505-8. DOI: <http://doi.org/10.1136/bmj.290.6467.505>
8. Harboe Z.B., Thomsen R.W., Riis A., Valentiner-Branth P., Christensen J.J., Lambertsen L., et al. Pneumococcal serotypes and mortality following invasive pneumococcal disease: a population-based cohort study. *PLoS Med.* 2009; 6(5): e1000081. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000081>
9. Inverarity D., Lamb K., Diggle M., Robertson C., Greenhalgh D., Mitchell T.J., et al. Death or survival from invasive pneumococcal disease in Scotland: associations with serogroups and multilocus sequence types. *J. Med. Microbiol.* 2011; 60(Pt. 6): 793-02. DOI: <http://doi.org/10.1099/jmm.0.028803-0>
10. Bender J.M., Ampofo K., Korgenski K., Daly J., Pavia A.T., Mason E.O., et al. Pneumococcal necrotizing pneumonia in Utah: does serotype matter? *Clin. Infect. Dis.* 2008; 46(9): 1346-52. DOI: <http://doi.org/10.1086/586747>
11. Byington C.L., Korgenski K., Daly J., Ampofo K., Pavia A., Mason E.O. Impact of the pneumococcal conjugate vaccine on pneumococcal parapneumonic empyema. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2006; 25(3): 250-4. DOI: <http://doi.org/10.1097/01.inf.0000202137.37642.ab>
12. Ostergaard C., Brandt C., Konradsen H.B., Samuelsson S. Differences in survival, brain damage, and cerebrospinal fluid cytokine kinetics due to meningitis caused by 3 different Streptococcus pneumoniae serotypes: evaluation in humans and in 2 experimental models. *J. Infect. Dis.* 2004; 190(7): 1212-20. DOI: <http://doi.org/10.1086/423852>
13. Colman G., Hallas G. Systemic disease caused by pneumococci. *J. Infect.* 198; 7(3): 248-55. DOI: [http://doi.org/10.1016/s0163-4453\(83\)97169-4](http://doi.org/10.1016/s0163-4453(83)97169-4)
14. Namkoong H., Ishii M., Funatsu Y., Kimizuka Y., Yagi K., Asami T., et al. Theory and strategy for pneumococcal vaccines in the elderly. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2016; 12(2): 336-43. DOI: <http://doi.org/10.1080/21645515.2015.1075678>
15. Morimoto K., Suzuki M., Ishifuji T., Yaegashi M., Asoh N., Hamashige N., et al. The burden and etiology of community-onset pneumonia in the aging Japanese population: a multicenter prospective study. *PLoS One.* 2015; 10(3): e0122247. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0122247>
16. Inostroza J., Vinet A.M., Retamal G., Lorca P., Ossa G., Facklam R.R., et al. Influence of patient age on Streptococcus pneumoniae serotypes causing invasive disease. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2001; 8(3): 556-9. DOI: <http://doi.org/10.1128/CDLI.8.3.556-559.2001>
17. Scott J.A., Hall A.J., Dagan R., Dixon J.M., Eykyn S.J., Fenoll A., et al. Serogroup-specific epidemiology of Streptococcus pneumoniae: associations with age, sex, and geography in 7,000 episodes of invasive disease. *Clin. Infect. Dis.* 1996; 22(6): 973-81. DOI: <http://doi.org/10.1093/clinids/22.6.973>
18. Choi E.H., Zhang F., Lu Y.J., Malley R. Capsular polysaccharide (CPS) release by serotype 3 pneumococcal strains reduces the protective effect of anti-type 3 CPS antibodies. *Clin. Vaccine. Immunol.* 2016; 23(2): 162-7. DOI: <http://doi.org/10.1128/CDLI.23.2.162-7.2015>
19. Hammerschmidt S., Wolff S., Hocke A., Rosseau S., Müller E., Rohde M. Illustration of pneumococcal polysaccharide capsule during adherence and invasion of epithelial cells. *Infect. Immun.* 2005; 73(8): 4653-67. DOI: <http://doi.org/10.1128/IAI.73.8.4653-4667.2005>
20. Morona J.K., Morona R., Paton J.C. Attachment of capsular polysaccharide to the cell wall of Streptococcus pneumoniae type 2 is required for invasive disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006; 103(22): 8505-10. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.0602148103>
21. Sugimoto N., Yamagishi Y., Hirai J., Sakanashi D., Suematsu H., Nishiyama N., et al. Invasive pneumococcal disease caused by mucoid serotype 3 Streptococcus pneumoniae: a case report and literature review. *BMC. Res. Notes.* 2017; 10(1): 21. DOI: <http://doi.org/10.1186/s13104-016-2353-3>
22. Kawasaki S., Aoki N. A case of severe community-acquired pneumonia caused by mucoid type Streptococcus pneumoniae. *Ann. Jpn Resp. Soc.* 2015; 4: 303-8.
23. Athlin S., Kaltoft M., Slotved H.C., Herrmann B., Holmberg H., Konradsen H.B., et al. Association between serotype-specific antibody response and serotype characteristics in patients with pneumococcal pneumonia, with special reference to degree of encapsulation and invasive potential. *Clin. Vaccine Immunol.* 2014; 21(11): 1541-9. DOI: <http://doi.org/10.1128/CDLI.21.11.1541-9.2013>
24. Littorin N., Uddén F., Ahl J., Resman F., Slotved H.C., Athlin S., et al. Serotypes with low invasive potential are associated with an impaired antibody response in invasive pneumococcal disease. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 2746. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02746>
25. Akata K., Chang B., Yatera K., Kawanami T., Yamasaki K., Naito K., et al. Distribution and annual changes in Streptococcus pneumoniae serotypes in adult Japanese patients with pneumonia. *J. Infect. Chemother.* 2015; 21(10): 723-8. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jiac.2015.07.002>
26. Chiba N. Current status of invasive pneumococcal diseases and the preventive pneumococcal vaccines in Japan. *Jpn J. Chemother.* 2011; 59: 561-72.
27. Lee S., Lee K., Kang Y., Bae S. Prevalence of serotype and multidrug-resistance of S. pneumoniae respiratory tract isolates in 265 adults and 36 children in Korea, 2002-2005. *Microb. Drug Resist.* 2010; 16(2): 135-42. DOI: <http://doi.org/10.1089/mdr.2009.0114>
28. España P.P., Uranga A., Ruiz L.A., Quintana J.M., Bilbao A., Aramburu A., et al. Evolution of serotypes in bacteremic pneumococcal adult pneumonia in the period 2001-2014, after introduction of the pneumococcal conjugate vaccine in Bizkaia (Spain). *Vaccine.* 2019; 37(29): 3840-8. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.05.052>
29. Козлов P.C., Чагарян A.H., Козлова Л.В., Муравьев A.A. Серологическая характеристика и чувствительность к антибиотикам пневмококков, выделенных у детей в возрасте до 5 лет в отдельных регионах Российской Федерации. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2011; 13(2): 177-87.
30. Таточенко В.К., Катасова Л.К., Уланова М.А., Батуро А.П., Федоров А.М., Падуков Л.Н. и др. Периодические и географические различия серотипового спектра пневмококков у детей с респираторными заболеваниями и здоровых носителей. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 1994; 71(3): 3-10.
31. Белошицкий Г.В., Королева И.С. Серотиповая характеристика штаммов *S. pneumoniae* в Москве. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2014; (1): 90-7.
32. Douglas R.M., Paton J.C., Duncan S.J., Hansman D.J. Antibody response to pneumococcal vaccination in children younger than five years of age. *J. Infect. Dis.* 1983; 148(1): 131-7. DOI: <http://doi.org/10.1093/infdis/148.1.131>
33. Thompson A., Lamberth E., Severs J., Scully I., Tarabar S., Ginis J., et al. Phase 1 trial of a 20-valent pneumococcal conjugate vaccine in healthy adults. *Vaccine.* 2019; 37(42): 6201-7. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.08.048>
34. Laughlin J.M., Jiang Q., Gessner B.D., Swerdlow D.L., Sings H.L., Isturiz R.E., et al. Pneumococcal conjugate vaccine against serotype 3 pneumococcal pneumonia in adults:

- A systematic review and pooled analysis. *Vaccine*. 2019; 37(43): 6310-6.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.08.059>
35. Lodi L., Ricci S., Nieddu F., Moriondo M., Lippi F., Canessa C., et al. Impact of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on severe invasive disease caused by serotype 3 *Streptococcus pneumoniae* in Italian children. *Vaccines (Basel)*. 2019; 7(4): E128.
DOI: <http://doi.org/10.3390/vaccines7040128>
 36. Nurkka A., Joensuu J., Henckaerts L., Peeters P., Poolman J., Kilpi T., et al. Immunogenicity and safety of the eleven valent pneumococcal polysaccharide-protein D conjugate vaccine in infants. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2004; 23(11): 1008-14.
DOI: <http://doi.org/10.1097/01.inf.0000143640.03214.18>
 37. Prymula R., Peeters P., Chrobok V., Kriz P., Novakova E., Kaliskova E., et al. Pneumococcal capsular polysaccharides conjugated to protein D provide protection against otitis media caused by both *Streptococcus pneumoniae* and non-typable *Haemophilus influenzae*: a randomized double-blind efficacy study. *Lancet*. 2006; 367(9512): 740-8.
DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68304-9](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68304-9)
 38. Schuerman L., Prymula R., Chrobok V., Dieussaert I., Poolman J. Kinetics of the immune response following pneumococcal PD conjugate vaccination. *Vaccine*. 2007; 25(11): 1953-61.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.12.007>
 39. Schuerman L., Prymula R., Henckaerts I. ELISA IgG concentrations and opsonophagocytic activity following pneumococcal protein D conjugate vaccination and relationship to efficacy against acute otitis media. *Vaccine*. 2006; 25(11): 1962-8.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.12.008>
 40. Andrews N.J., Waight P.A., Burbidge P., Pearce E., Roalfe L., Zancolli M., et al. Serotype-specific effectiveness and correlates of protection for the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine: a postlicensure indirect cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2014; 14(9): 839-46.
DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70822-9](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70822-9)
 41. Shiramoto M., Hanada R., Juergens C., Shoji Y., Yoshida M., Ballan B., et al. Immunogenicity and safety of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine compared to the 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in elderly Japanese adults. *Hum. Vaccin Immunother.* 2015; 11(9): 2198-206.
DOI: <http://doi.org/10.1080/21645515.2015.1030550>
 42. Simonsen V., Brandão A.P., Brandileone M.C., Yara T.I., Di Fabio J.L., Lopes M.H., et al. Immunogenicity of a 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in Brazilian elderly. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2005; 38(2): 251-60.
DOI: <http://doi.org/10.1590/s0100-879x2005000200014>
 43. Cartee R.T., Forsee W.T., Schutzbach J.S., Yother J. Mechanism of type 3 capsular polysaccharide synthesis in *Streptococcus pneumoniae*. *J. Biol. Chem.* 2000; 275(6): 3907-14.
DOI: <http://doi.org/10.1074/jbc.275.6.3907>
 44. Cartee R.T., Forsee W.T., Yother J. Initiation and synthesis of the *Streptococcus pneumoniae* type 3 capsule on a phosphatidylglycerol membrane anchor. *J. Bacteriol.* 2005; 187(13): 4470-9.
DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.187.13.4470-4479.2005>
 45. Guidolin A., Morona J.K., Morona R., Hansman D., Paton J.C. Nucleotide sequence analysis of genes essential for capsular polysaccharide biosynthesis in *Streptococcus pneumoniae* type 19F. *Infect. Immun.* 1994; 62(12): 5384-96.
 46. Kolkman M.A., Wakarchuk W., Nuijten P.J., van der Zeijst B.A. Capsular polysaccharide synthesis in streptococcus pneumoniae serotype 14: molecular analysis of the complete cps locus and identification of genes encoding glycosyltransferases required for the biosynthesis of the tetrasaccharide subunit. *Mol. Microbiol.* 1997; 26(1): 197-208.
DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1997.5791940.x>
 47. Dillard J.P., Vandersea M.W., Yother J. Characterization of the cassette containing genes for type 3 capsular polysaccharide biosynthesis in *Streptococcus pneumoniae*. *J. Exp. Med.* 1995; 181(3): 973-83.
DOI: <http://doi.org/10.1084/jem.181.3.973>
 48. Arrecubieta C., López R., García E. Type 3-specific synthase of *Streptococcus pneumoniae* (Cap3B) directs type 3 polysaccharide biosynthesis in *Escherichia coli* and in pneumococcal strains of different serotypes. *J. Exp. Med.* 1996; 184(2): 449-55.
DOI: <http://doi.org/10.1084/jem.184.2.449>
 49. Moore M.R., Link-Gelles R., Schaffner W., Lynfield R., Lexau C., Bennett N.M., et al. Effect of use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in children on invasive pneumococcal disease in children and adults in the USA: analysis of multisite, population-based surveillance. *Lancet Infect. Dis.* 2015; 15(3): 301-9.
DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)71081-3](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)71081-3)
 50. Tian H., Weber S., Thorkildson P., Kozel T.R., Pirofski L.A. Efficacy of opsonic and nonopsonic serotype 3 pneumococcal capsular polysaccharide-specific monoclonal antibodies against intranasal challenge with *Streptococcus pneumoniae* in mice. *Infect. Immun.* 2009; 77(4): 1502-13.
DOI: <http://doi.org/10.1128/IAI.01075-08>
 51. Курбатова Е.А., Воробьев Д.С., Егорова Н.Б., Батуро А.П., Романенко Э.Е., Маркова М.Е. и др. Штаммовые различия внутривидовой иммуногенной активности антигенных компонентов *Streptococcus pneumoniae*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2013; (5): 60-9.
 52. Генинг М.Л., Курбатова Е.А., Цветков Ю.Е., Нифантьев Н.Э. Разработка подходов к созданию углеводной конъюгированной вакцины третьего поколения против *Streptococcus pneumoniae*: поиск оптимальных олигосахаридных лигандов. *Успехи химии*. 2015; 84(11): 1100-13.
DOI: <http://doi.org/10.1070/RCR4574>
 53. Akhmatova N.K., Kurbatova E.A., Akhmatov E.A., Egorova N.B., Logunov D.Y., Gening M.L., et al. The effect of a BSA conjugate of a synthetic hexasaccharide related to the fragment of capsular polysaccharide of *Streptococcus pneumoniae* type 14 on the activation of innate and adaptive immune responses. *Front. Immunol.* 2016; (7): 248.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00248>
 54. Kurbatova E.A., Akhmatova N.K., Akhmatova E.A., Egorova N.B., Yastrebova N.E., Sukhova E.V., et al. Neoglycoconjugate of tetrasaccharide representing one repeating unit of the *Streptococcus pneumoniae* type 14 capsular polysaccharide induces the production of opsonizing IgG1 antibodies and possesses the highest protective activity as compared to hexa- and octasaccharide conjugates. *Front. Immunol.* 2017; (8): 1-13.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00659>
 55. Parameswarappa S.G., Reppe K., Geissner A., Měnová P., Govindan S., Calow A., et al. A Semi-synthetic Oligosaccharide Conjugate Vaccine Candidate Confers Protection against *Streptococcus pneumoniae* Serotype 3 Infection. *Cell. Chem. Biol.* 2016; 23(11): 1407-16.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.chembiol.2016.09.016>
 56. Kaplonek P., Khan N., Reppe K., Schumann B., Emmadi M., Lisboa M.P., et al. Improving vaccines against *Streptococcus pneumoniae* using synthetic glycans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018; 115(52): 13353-8.
DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.1811862115>

REFERENCES

1. Henrichsen J. Six newly recognized types of *Streptococcus pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33(10): 2759-62.
2. Lund E., Henrichsen J. Phenotypic characterization and serotypes identification of CSF isolates in acute bacterial meningitis. *Methods Microbiol.* 1978; (12): 241-62.
3. Calix J.J., Nahm M.H. A new pneumococcal serotype, 11E, has a variably inactivated wjE gene. *J. Infect. Dis.* 2010; 202(1): 29-38.
DOI: <http://doi.org/10.1086/653123>

4. Weinberger D.M., Harboe Z.B., Sanders E.A., Ndiritu M., Klugman K.P., Ruckinger S., et al. Association of serotype with risk of death due to pneumococcal pneumonia: a meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 51(6): 692-9.
DOI: <http://doi.org/10.1086/655828>
5. Grabenstein J.D., Musey L.K. Differences in serious clinical outcomes of infection caused by specific pneumococcal serotypes among adults. *Vaccine.* 2014; 32(21): 2399-405.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.02.096>
6. Martens P., Worm S.W., Lundgren B., Konradsen H.B., Benfield T. Serotype-specific mortality from invasive *Streptococcus pneumoniae* disease revisited. *BMC Infect. Dis.* 2004; (4): 21.
DOI: <http://doi.org/10.1186/1471-2334-4-21>
7. Gransden W.R., Eykyn S.J., Phillips I. Pneumococcal bacteraemia: 325 episodes diagnosed at St Thomas's Hospital. *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed).* 1985; 290(6467): 505-8.
DOI: <http://doi.org/10.1136/bmj.290.6467.505>
8. Harboe Z.B., Thomsen R.W., Riis A., Valentiner-Branth P., Christensen J.J., Lambertsen L., et al. Pneumococcal serotypes and mortality following invasive pneumococcal disease: a population-based cohort study. *PLoS Med.* 2009; 6(5): e1000081.
DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000081>
9. Inverarity D., Lamb K., Diggle M., Robertson C., Greenhalgh D., Mitchell T.J., et al. Death or survival from invasive pneumococcal disease in Scotland: associations with serogroups and multi-locus sequence types. *J. Med. Microbiol.* 2011; 60(Pt. 6): 793-02.
DOI: <http://doi.org/10.1099/jmm.0.028803-0>
10. Bender J.M., Ampofo K., Korgenski K., Daly J., Pavia A.T., Mason E.O., et al. Pneumococcal necrotizing pneumonia in Utah: does serotype matter? *Clin. Infect. Dis.* 2008; 46(9): 1346-52.
DOI: <http://doi.org/10.1086/586747>
11. Byington C.L., Korgenski K., Daly J., Ampofo K., Pavia A., Mason E.O. Impact of the pneumococcal conjugate vaccine on pneumococcal parapneumonic empyema. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2006; 25(3): 250-4.
DOI: <http://doi.org/10.1097/01.inf.0000202137.37642.ab>
12. Ostergaard C., Brandt C., Konradsen H.B., Samuelsson S. Differences in survival, brain damage, and cerebrospinal fluid cytokine kinetics due to meningitis caused by 3 different *Streptococcus pneumoniae* serotypes: evaluation in humans and in 2 experimental models. *J. Infect. Dis.* 2004; 190(7): 1212-20.
DOI: <http://doi.org/10.1086/423852>
13. Colman G., Hallas G. Systemic disease caused by pneumococci. *J. Infect.* 198; 7(3): 248-55.
DOI: [http://doi.org/10.1016/s0163-4453\(83\)97169-4](http://doi.org/10.1016/s0163-4453(83)97169-4)
14. Namkoong H., Ishii M., Funatsu Y., Kimizuka Y., Yagi K., Asami T., et al. Theory and strategy for pneumococcal vaccines in the elderly. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2016; 12(2): 336-43.
DOI: <http://doi.org/10.1080/21645515.2015.1075678>
15. Morimoto K., Suzuki M., Ishifuji T., Yaegashi M., Asoh N., Hamashige N., et al. The burden and etiology of community-onset pneumonia in the aging Japanese population: a multicenter prospective study. *PLoS One.* 2015; 10(3): e0122247.
DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0122247>
16. Inostroza J., Vinet A.M., Retamal G., Lorca P., Ossa G., Facklam R.R., et al. Influence of patient age on *Streptococcus pneumoniae* serotypes causing invasive disease. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2001; 8(3): 556-9.
DOI: <http://doi.org/10.1128/CDLI.8.3.556-559.2001>
17. Scott J.A., Hall A.J., Dagan R., Dixon J.M., Eykyn S.J., Fenoll A., et al. Serogroup-specific epidemiology of *Streptococcus pneumoniae*: associations with age, sex, and geography in 7,000 episodes of invasive disease. *Clin. Infect. Dis.* 1996; 22(6): 973-81.
DOI: <http://doi.org/10.1093/clinids/22.6.973>
18. Choi E.H., Zhang F., Lu Y.J., Malley R. Capsular polysaccharide (CPS) release by serotype 3 pneumococcal strains reduces the protective effect of anti-type 3 CPS antibodies. *Clin. Vaccine Immunol.* 2016; 23(2): 162-7.
DOI: <http://doi.org/10.1128/CDLI.00591-15>
19. Hammerschmidt S., Wolff S., Hocke A., Rosseau S., Müller E., Rohde M. Illustration of pneumococcal polysaccharide capsule during adherence and invasion of epithelial cells. *Infect. Immun.* 2005; 73(8): 4653-67.
DOI: <http://doi.org/10.1128/IAI.73.8.4653-4667.2005>
20. Morona J.K., Morona R., Paton J.C. Attachment of capsular polysaccharide to the cell wall of *Streptococcus pneumoniae* type 2 is required for invasive disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006; 103(22): 8505-10.
DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.0602148103>
21. Sugimoto N., Yamagishi Y., Hirai J., Sakanashi D., Suematsu H., Nishiyama N., et al. Invasive pneumococcal disease caused by mucoid serotype 3 *Streptococcus pneumoniae*: a case report and literature review. *BMC Res. Notes.* 2017; 10(1): 21.
DOI: <http://doi.org/10.1186/s13104-016-2353-3>
22. Kawasaki S., Aoki N. A case of severe community-acquired pneumonia caused by mucoid type *Streptococcus pneumoniae*. *Ann. Jpn Resp. Soc.* 2015; 4: 303-8.
23. Athlin S., Kalsoft M., Slotved H.C., Herrmann B., Holmberg H., Konradsen H.B., et al. Association between serotype-specific antibody response and serotype characteristics in patients with pneumococcal pneumonia, with special reference to degree of encapsulation and invasive potential. *Clin. Vaccine Immunol.* 2014; 21(11): 1541-9.
DOI: <http://doi.org/10.1128/CDLI.00259-14>
24. Littorin N., Uddén F., Ahl J., Resman F., Slotved H.C., Athlin S., et al. Serotypes with low invasive potential are associated with an impaired antibody response in invasive pneumococcal disease. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 2746.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02746>
25. Akata K., Chang B., Yatera K., Kawanami T., Yamasaki K., Naito K., et al. Distribution and annual changes in *Streptococcus pneumoniae* serotypes in adult Japanese patients with pneumonia. *J. Infect. Chemother.* 2015; 21(10): 723-8.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jiac.2015.07.002>
26. Chiba N. Current status of invasive pneumococcal diseases and the preventive pneumococcal vaccines in Japan. *Jpn J. Chemother.* 2011; 59: 561-72.
27. Lee S., Lee K., Kang Y., Bae S. Prevalence of serotype and multidrug-resistance of *S. pneumoniae* respiratory tract isolates in 265 adults and 36 children in Korea, 2002-2005. *Microb. Drug Resist.* 2010; 16(2): 135-42.
DOI: <http://doi.org/10.1089/mdr.2009.0114>
28. España P.P., Uranga A., Ruiz L.A., Quintana J.M., Bilbao A., Aramburu A., et al. Evolution of serotypes in bacteremic pneumococcal adult pneumonia in the period 2001-2014, after introduction of the pneumococcal conjugate vaccine in Bizkaia (Spain). *Vaccine.* 2019; 37(29): 3840-8.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.05.052>
29. Kozlov R.S., Chagaryan A.N., Kozlova L.V., Murav'ev A.A. Serological characteristics and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* isolated from children 0-5 years of age in different regions of Russia. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2011; 13(2): 177-87. (in Russian)
30. Tatochenko V.K., Katosova L.K., Ulanova M.A., Baturo A.P., Fedorov A.M., Padyukov L.N., et al. Serotyping of *Streptococcus pneumoniae* strains, isolated from children in Ural Region with the use of multiplex PCR. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 1994; 71(3): 3-10. (in Russian)
31. Beloshitskiy G.V., Koroleva I.S. Serotype characteristic of *S. pneumoniae* in Moscow. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika.* 2014; (1): 90-7. (in Russian)
32. Douglas R.M., Paton J.C., Duncan S.J., Hansman D.J. Antibody response to pneumococcal vaccination in children younger than five years of age. *J. Infect. Dis.* 1983; 148(1): 131-7.
DOI: <http://doi.org/10.1093/infdis/148.1.131>
33. Thompson A., Lamberth E., Severs J., Scully I., Tarabar S., Ginnis J., et al. Phase 1 trial of a 20-valent pneumococcal conjugate

- vaccine in healthy adults. *Vaccine*. 2019; 37(42): 6201-7.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.08.048>
34. Laughlin J.M., Jiang Q., Gessner B.D., Swerdlow D.L., Sings H.L., Isturiz R.E., et al. Pneumococcal conjugate vaccine against serotype 3 pneumococcal pneumonia in adults: A systematic review and pooled analysis. *Vaccine*. 2019; 37(43): 6310-6.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.08.059>
35. Lodi L., Ricci S., Nieddu F., Moriondo M., Lippi F., Canessa C., et al. Impact of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on severe invasive disease caused by serotype 3 *Streptococcus pneumoniae* in Italian children. *Vaccines (Basel)*. 2019; 7(4): E128.
DOI: <http://doi.org/10.3390/vaccines7040128>
36. Nurkka A., Joensuu J., Henckaerts I., Peeters P., Poolman J., Kilpi T., et al. Immunogenicity and safety of the eleven valent pneumococcal polysaccharide-protein D conjugate vaccine in infants. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2004; 23(11): 1008-14.
DOI: <http://doi.org/10.1097/01.inf.0000143640.03214.18>
37. Prymula R., Peeters P., Chrobok V., Kriz P., Novakova E., Kaliskova E., et al. Pneumococcal capsular polysaccharides conjugated to protein D provide protection against otitis media caused by both *Streptococcus pneumoniae* and non-typable *Haemophilus influenzae*: a randomized double-blind efficacy study. *Lancet*. 2006; 367(9512): 740-8.
DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68304-9](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68304-9)
38. Schuerman L., Prymula R., Chrobok V., Dieussaert I., Poolman J. Kinetics of the immune response following pneumococcal PD conjugate vaccination. *Vaccine*. 2007; 25(11): 1953-61.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.12.007>
39. Schuerman L., Prymula R., Henckaerts I. ELISA IgG concentrations and opsonophagocytic activity following pneumococcal protein D conjugate vaccination and relationship to efficacy against acute otitis media. *Vaccine*. 2006; 25(11): 1962-8.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.12.008>
40. Andrews N.J., Waight P.A., Burbidge P., Pearce E., Roalfe L., Zancolli M., et al. Serotype-specific effectiveness and correlates of protection for the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine: a postlicensure indirect cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2014; 14(9): 839-46.
DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70822-9](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70822-9)
41. Shiramoto M., Hanada R., Juergens C., Shoji Y., Yoshida M., Ballan B., et al. Immunogenicity and safety of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine compared to the 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in elderly Japanese adults. *Hum. Vaccin Immunother.* 2015; 11(9): 2198-206.
DOI: <http://doi.org/10.1080/21645515.2015.1030550>
42. Simonsen V., Brandão A.P., Brandileone M.C., Yara T.I., Di Fabio J.L., Lopes M.H., et al. Immunogenicity of a 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in Brazilian elderly. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2005; 38(2): 251-60.
DOI: <http://doi.org/10.1590/s0100-879x2005000200014>
43. Cartee R.T., Forsee W.T., Schutzbach J.S., Yother J. Mechanism of type 3 capsular polysaccharide synthesis in *Streptococcus pneumoniae*. *J. Biol. Chem.* 2000; 275(6): 3907-14.
DOI: <http://doi.org/10.1074/jbc.275.6.3907>
44. Cartee R.T., Forsee W.T., Yother J. Initiation and synthesis of the *Streptococcus pneumoniae* type 3 capsule on a phosphatidylglycerol membrane anchor. *J. Bacteriol.* 2005; 187(13): 4470-9.
DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.187.13.4470-4479.2005>
45. Guidolin A., Morona J.K., Morona R., Hansman D., Paton J.C. Nucleotide sequence analysis of genes essential for capsular polysaccharide biosynthesis in *Streptococcus pneumoniae* type 19F. *Infect. Immun.* 1994; 62(12): 5384-96.
46. Kolkman M.A., Wakarchuk W., Nuijten P.J., van der Zeijst B.A. Capsular polysaccharide synthesis in *Streptococcus pneumoniae* serotype 14: molecular analysis of the complete cps locus and identification of genes encoding glycosyltransferases required for the biosynthesis of the tetrasaccharide subunit. *Mol. Microbiol.* 1997; 26(1): 197-208.
DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1997.5791940.x>
47. Dillard J.P., Vandersea M.W., Yother J. Characterization of the cassette containing genes for type 3 capsular polysaccharide biosynthesis in *Streptococcus pneumoniae*. *J. Exp. Med.* 1995; 181(3): 973-83.
DOI: <http://doi.org/10.1084/jem.181.3.973>
48. Arrecubieta C., López R., García E. Type 3-specific synthase of *Streptococcus pneumoniae* (Cap3B) directs type 3 polysaccharide biosynthesis in *Escherichia coli* and in pneumococcal strains of different serotypes. *J. Exp. Med.* 1996; 184(2): 449-55.
DOI: <http://doi.org/10.1084/jem.184.2.449>
49. Moore M.R., Link-Gelles R., Schaffner W., Lynfield R., Lexau C., Bennett N.M., et al. Effect of use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in children on invasive pneumococcal disease in children and adults in the USA: analysis of multisite, population-based surveillance. *Lancet Infect. Dis.* 2015; 15(3): 301-9.
DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)71081-3](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)71081-3)
50. Tian H., Weber S., Thorkildson P., Kozel T.R., Pirofski L.A. Efficacy of opsonic and nonopsonic serotype 3 pneumococcal capsular polysaccharide-specific monoclonal antibodies against intranasal challenge with *Streptococcus pneumoniae* in mice. *Infect. Immun.* 2009; 77(4): 1502-13.
DOI: <http://doi.org/10.1128/IAI.01075-08>
51. Kurbatova E.A., Vorob'ev D.S., Egorova N.B., Baturo A.P., Romanenko E.E., Markova M.E., et al. Strain differences of intra-species immunogenic activity of *Streptococcus pneumoniae* antigen components. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2013; (5): 60-9. (in Russian)
52. Gening M.L., Kurbatova E.A., Tsvetkov Yu.E., Nifantiev N.E. Development of approaches to a conjugated carbohydrate vaccine of the third generation against *Streptococcus pneumoniae*: the search for optimal oligosaccharide ligands. *Uspekhi khimii*. 2015; 84(11): 1100-13.
DOI: <http://doi.org/10.1070/RCLR4574> (in Russian)
53. Akhmatova N.K., Kurbatova E.A., Akhmatov E.A., Egorova N.B., Logunov D.Y., Gening M.L., et al. The effect of a BSA conjugate of a synthetic hexasaccharide related to the fragment of capsular polysaccharide of *Streptococcus pneumoniae* type 14 on the activation of innate and adaptive immune responses. *Front. Immunol.* 2016; (7): 248.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00248>
54. Kurbatova E.A., Akhmatova N.K., Akhmatova E.A., Egorova N.B., Yastrebova N.E., Sukhova E.V., et al. Neoglycoconjugate of tetrasaccharide representing one repeating unit of the *Streptococcus pneumoniae* type 14 capsular polysaccharide induces the production of opsonizing IgG1 antibodies and possesses the highest protective activity as compared to hexa- and octasaccharide conjugates. *Front. Immunol.* 2017; (8): 1-13.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00659>
55. Parameswarappa S.G., Reppe K., Geissner A., Měnová P., Govindan S., Calow A., et al. A Semi-synthetic Oligosaccharide Conjugate Vaccine Candidate Confers Protection against *Streptococcus pneumoniae* Serotype 3 Infection. *Cell. Chem. Biol.* 2016; 23(11): 1407-16.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.chembiol.2016.09.016>
56. Kaplonek P., Khan N., Reppe K., Schumann B., Emmadi M., Lisboa M.P., et al. Improving vaccines against *Streptococcus pneumoniae* using synthetic glycans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2018; 115(52): 13353-8.
DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.1811862115>

Информация об авторах:

Зайцев Антон Евгеньевич — м.н.с., ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8434-231X>. E-mail: anton.zajtseff2015@yandex.ru

Курбатова Екатерина Алексеевна — д.м.н., проф., зав. лабораторией терапевтических вакцин Отдела иммунологии ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0282-4471>. E-mail: kurbatova6162@yandex.ru

Егорова Надежда Борисовна — д.м.н., проф., в.н.с. лаборатории терапевтических вакцин Отдела иммунологии ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4474-7531>. E-mail: vmegorova@mail.ru

Сухова Елена Викторовна — к.х.н., с.н.с., ФГБУН «Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского», 119991, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7589-3876>. E-mail: glycoperl@yandex.ru

Нифантьев Николай Эдуардович — д.х.н., проф., член-корр. РАН, зав. лабораторией химии гликоконъюгатов ФГБУН «Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского», 119991, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0727-4050>. E-mail: nen@ioc.ac.ru

Участие авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Information about the authors:

Anton E. Zaitsev — junior researcher, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8434-231X>. E-mail: anton.zajtseff2015@yandex.ru

Ekaterina A. Kurbatova — Doct. Sci. (Med.), Prof., Head, Laboratory of therapeutic vaccines, Department of immunology, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0282-4471>. E-mail: kurbatova6162@yandex.ru

Nadezhda B. Egorova — Doct. Sci. (Med.), Prof., leading researcher, Laboratory of therapeutic vaccines, Department of immunology, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4474-7531>. E-mail: vmegorova@mail.ru

Elena V. Sukhova — senior researcher, N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, 119991, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7589-3876>. E-mail: glycoperl@yandex.ru

Nikolay E. Nifantiev — Doct. Sci. (Chem.), Prof., Corr. Member of the Russian Academy of Sciences, Head, Glycoconjugate chemistry laboratory, N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, 119991, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0727-4050>. E-mail: nen@ioc.ac.ru

Contribution: the authors contributed equally to this article.

Современные представления о механизмах взаимодействия биопленки и факторов клеточного иммунитета

Шлепотина Н.М.[✉], Пешикова М.В., Колесников О.Л., Шишкова Ю.С.

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, 454092, Челябинск, Россия

Особенности клеточного иммунного ответа при наличии микробной биопленки достаточно хорошо описаны в литературе. Благодаря многочисленным исследованиям удалось установить ряд закономерностей: зрелые биопленки лучше защищены от иммунных факторов, эффективность противобиопленочных стратегий зависит от видовой принадлежности микроорганизмов, образующих биопленку, и, соответственно, от состава биополимерного матрикса. Так, *Pseudomonas aeruginosa* может вырабатывать рhamnолипиды, а также образовывать альгинат, что оказывает значительное негативное воздействие на функции иммунокомпетентных клеток. Многие из защитных реакций, выработанных иммунной системой и закрепившихся эволюционно, бактерии биопленок стали способны обращать в свою пользу, применяя их для роста и развития микробного консорциума.

Ключевые слова: биопленка; биополимерный матрикс; *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa*; клеточный иммунитет.

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

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

Для цитирования: Шлепотина Н.М., Пешикова М.В., Колесников О.Л., Шишкова Ю.С. Современные представления о механизмах взаимодействия биопленки и факторов клеточного иммунитета (обзор). *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(1): 83–90.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-83-90>

Поступила 07.05.2019
Принята в печать 18.12.2019

Modern Conceptions about the Mechanisms of Interaction Between Biofilm and Cellular Immunity Factors

Nina M. Shlepotina[✉], Margarita V. Peshikova, Oleg L. Kolesnikov, Yuliya S. Shishkova

South Ural State Medical University, 454092, Chelyabinsk, Russia

Features of the cellular immune response in the presence of a microbial biofilm are well described in the literature. Based on numerous studies, it became possible to establish a number of patterns: mature biofilms are better protected from immune factors, the effectiveness of antibiofilm strategies depends on species of the microorganisms, forming the biofilm, and, accordingly, on the composition of the biopolymer matrix. For example, rhamnolipids and alginate of *Pseudomonas aeruginosa* exert a significant negative effect on the function of immunocompetent cells. The bacteria of biofilms became able to turn to their advantage many of the protective reactions developed by the immune system and fixed evolutionarily, applying them for the growth and development of the microbial consortium.

Keywords: biofilm; biopolymer matrix; *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa*; cellular immunity.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

For citation: Shlepotina N.M., Peshikova M.V., Kolesnikov O.L., Shishkova Yu.S. Modern Conceptions about the Mechanisms of Interaction Between Biofilm and Cellular Immunity Factors (Review). *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* = *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, Russian journal*. 2020; 97(1): 83–90. (In Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-83-90>

Received 7 May 2019
Accepted 18 December 2019

Около 80% инфекций человека протекают с образованием особых сообществ микроорганизмов, заключенных в биополимерный матрикс синтезированных ими веществ [1, 2]. Внеклеточный матрикс служит прямым препятствием для действия иммунокомпетентных клеток и антибактериальных веществ [3, 4]. Способность противостоять иммун-

ной атаке связана с наличием так называемых генов стрессового ответа, которые экспрессируются у бактерий в неблагоприятных условиях, — например, некоторых σ -факторов [5, 6]. Известно, что наличие катетеров, имплантов, стоматологических ортопедических конструкций и других объектов с искусственной поверхностью служит дополнительным

потенцирующим фактором для биопленкообразования, поскольку такие поверхности труднодоступны для иммунных клеток и часто подвергаются бактериальной колонизации микроорганизмами с повышенной способностью к формированию микробных консорциумов [7, 8]. Биопленки и иммунная система всегда существовали в условиях тесного взаимодействия, что позволило макроорганизму выработать ряд стратегий, среди которых особую роль играют механизмы клеточного иммунитета. Клиницистам и микробиологам важно знать, что характер взаимодействия бактериальных биопленок и иммунной системы человека зависит от видов микроорганизмов, населяющих биопленку, и, соответственно, от состава полимерного матрикса — это имеет принципиальное значение, поскольку для разных групп нозологий определены наиболее специфичные возбудители [4, 9, 10].

Нейтрофилы

Нейтрофилы способны продуцировать биоцидные радикалы, антимикробные энзимы и пептиды, формировать нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ) и участвовать в регуляции формирования микробиоценоза слизистых оболочек [11–13]. Стафилококковые биопленки взаимодействуют с нейтрофилами. Зрелые биопленки более резистентны к действию нейтрофилов, что, например, показано в исследованиях F. Günther и соавт. на культуре *Staphylococcus aureus* [4, 14]. Интенсивное накопление нейтрофилов в области биопленки выявлено при биопсии хронических ран [16]. В борьбе с биопленками нейтрофилы применяют ряд механизмов помимо фагоцитоза. Так, в процессе нейтрофилзависимой деструкции биопленки зарегистрировано образование наноразмерных липидных структур, по морфологии подобных везикулам, которые оказывали повреждающее действие на биопленки *Staphylococcus epidermidis*, но не на биопленки *Staphylococcus aureus* [12]. Антибиопленочное действие везикул может рассматриваться с учетом наличия в них активных ферментов (эластазы, миелопероксидазы, протеиназы 3) [12, 16, 17].

Роль НВЛ в антибиопленочном иммунитете еще предстоит выявить. Этим структурам, состоящим из ДНК, гистонов и антимикробных белков, в настоящее время придается большое значение при изучении врожденного иммунитета. Показано, что бактерии, связываясь с внеклеточной ДНК, становятся более чувствительными к воздействию нейтрофильной эластазы, катепсина В [13, 18]. Однако ДНКаза, которая участвует в деградации матрикса биопленки, может разрушать и сети нейтрофильной ДНК [18, 19]. Ряд зарубежных исследований последних лет показал низкую эффективность НВЛ в работах с биопленками метициллин-резистентно-

го *Staphylococcus aureus* (MRSA) [20], *Haemophilus influenzae* [21], *Candida albicans* [22]. В частности, в исследовании с MRSA показано усиление образования НВЛ за счет комбинированной активности лейкоцидина Пантона–Валентайна и γ -гемолизина АВ с последующей неэффективностью клиренса биопленки [20]. При изучении *Candida albicans* исследователи обнаружили снижение образования НВЛ в работе как с лабораторным штаммом SC5314, так и с клиническими изолятами [22]. После опсонизации нормальной сывороткой человека нейтрофилы фагоцитируют биопленку *Staphylococcus aureus*, высвобождая эластазу и лактоферрин [12, 23]. Биопленки *Staphylococcus epidermidis* оказались менее чувствительны к атаке нейтрофилами, чем *Staphylococcus aureus* [24, 25].

В ситуации с биопленками, сформированными *Pseudomonas aeruginosa*, нейтрофилы выполняют свою функцию с весьма умеренным успехом [4, 26]. При этом продукция биоцидных форм кислорода может уменьшаться до 25% по сравнению с планктонными бактериями [27]. Кроме того, влияние кислородных радикалов способно оказывать даже потенцирующее действие на формирование биопленок *Pseudomonas aeruginosa*, вызывая мутации в гене *MucA* с последующим включением альгинатного оперона и усиленным синтезом альгината [4, 28]. С другой стороны, сам альгинат защищает биопленку *Pseudomonas aeruginosa* от действия свободных радикалов, связывая их [5, 29]. Стоит отметить, что мукоидные штаммы *Pseudomonas aeruginosa*, экспрессирующие *alg* гены (*A3540–PA3551*), выявляются в основном в легких у пациентов с муковисцидозом [5, 30].

В опытах на биопленках эталонного штамма *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 было показано, что субингибиторные концентрации перекиси водорода и концентрации, слабо подавляющие рост бактерий, могут усиливать образование биопленок. При внесении в систему плазмид рМЕ6863, содержащих гетерологичный ген N-ацил-гомосеринлактоназы (*aiiA*), наблюдалась блокировка стимуляции формирования биопленок, т.к. N-ацил-гомосеринлактоны являются важнейшими низкомолекулярными сигнальными молекулами Quorum Sensing (QS). Это указывает на зависимость чувствительности биопленок к действию активных форм кислорода от QS-регуляции. При блокировании QS мутациями в генах QS-систем резистентность биопленок к перекиси водорода снижается [31]. Биопленочные бактерии *Pseudomonas aeruginosa* способны использовать дериваты погибших нейтрофилов, F-актин и ДНК для укрепления матрикса и дальнейшего построения биопленки [4, 32]. Так, в исследовании T.S. Walker и соавт. присутствие нейтрофилов усиливало начальное развитие биопленки *Pseudomonas aeruginosa* в течение 72 ч за счет образования по-

лимеров, состоящих из актина и ДНК [32]. Кроме того, было выявлено, что образование биопленок *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 ингибировалось в присутствии ДНКазы I как в лунках иммунологического планшета, так и в системах с током жидкости при внесении бульона с ДНКазой I [5]. При этом незрелые биопленки *Pseudomonas aeruginosa* быстрее подвергались деградации ДНКазой, чем зрелые. Это объясняется тем, что структуру зрелой биопленки стабилизирует не ДНК, а другие соединения, например полисахариды [5, 33].

Установлено, что такие продукты деградации, как лактоферрин и катионный антимикробный пептид LL-37, способны ингибировать образование биопленок *Pseudomonas aeruginosa in vitro*. Лактоферрин связывает железо, необходимое для роста биопленки, а LL-37 препятствует адгезии бактерий, в то время как оба вещества способствуют повышению подвижности бактериальных клеток [4, 26, 34, 35]. При этом снижение синтеза лактоферрина предположительно может вызывать предрасположенность к образованию биопленок [25, 36]. Однако бактерии способны оказывать противодействие лактоферрину и LL-37 за счет секреции протеаз — это оказалось справедливым для *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis* и *Streptococcus pyogenes* [37]. Катепсин В, высвобождение которого может быть вызвано действием эластазы, также вызывает деградацию лактоферрина [25, 38, 39].

Макрофаги

Взаимодействие с биопленкой способно вызывать нарушение функции и гибель клеток макрофагов, что может быть связано с наличием анаэробных областей в структуре биопленки, колебаний pH, а также с воздействием бактериальных токсинов. Все это может препятствовать фагоцитозу биопленочных структур *in vivo* [26, 40]. При взаимодействии с биопленкой *Staphylococcus aureus* наблюдается снижение активности индуцируемой NO-синтазы, сопровождающееся устойчивой экспрессией аргиназы-1 в макрофагах на границе стафилококковой биопленки с окружающими тканями. Вследствие реализации этих механизмов снижается эффективность макрофагального ответа, а аргиназа-1 переключает путь метаболизма L-аргина на образование коллагена. При инкубации макрофагов с *Staphylococcus aureus* на начальных этапах биопленкообразования иммунные клетки имеют типичный вид, а при взаимодействии со зрелыми биопленками в них происходят дистрофические изменения [41, 42]. В ряде исследований был отмечен переход макрофагов к фенотипу M2 (иммуномодуляторный и тканевой ремоделирующий тип), обладающему противовоспалительной и фиброгенной активностью, при контакте с биопленкой *Staphylococcus*

aureus [40, 41]. Макрофаги оказались способны поглощать материал механически поврежденной биопленки, что указывает на важность сохранности организации ультраструктуры биопленки в защите от фагоцитоза [26, 41].

Говоря о противоречиях в отношении эффективности клеточного иммунного ответа против биопленок, можно привести пример исследования К. Daw и соавт., проведенного *in vitro* с участием планктонных бактерий и биопленок *Enterococcus faecalis*, макрофагов RAW264.7 и дендритных клеток JAWS II [43]. В результате было установлено, что макрофаги и дендритные клетки фагоцитируют биопленочные бактериальные клетки наравне с планктонными или лучше [43]. Сложность исследования показателей фагоцитоза в отношении биопленок заключается в том, что процесс дисперсии является одним из этапов существования биопленки, и в случае поглощения фагоцитами этих отделившихся бактерий исследователи не смогут дифференцировать такую бактерию от sessильной, поскольку на сегодняшний день отсутствуют соответствующие технологии [41].

В целом, снижение показателей эффективности клеточного иммунного ответа при наличии биопленок исследователи объясняют наличием особых соединений в составе матрикса, обладающих антифагоцитарным влиянием: полисахаридный межклеточный адгезин в составе биопленок *Staphylococcus epidermidis* способен ингибировать фагоцитарную активность нейтрофилов и снижать чувствительность стафилококков к антимикробным пептидам; альгинат биопленок *Pseudomonas aeruginosa* угнетает интерферон- γ -зависимый макрофагальный киллинг и блокирует направленность хемотаксиса нейтрофилов, препятствуя их проникновению в глубокие слои биопленки [4, 44, 45].

Бактерицидная активность полиморфноядерных лейкоцитов (ПЯЛ) может быть заблокирована рамнолипидами — особыми гликолипидами, которые продуцируются *Pseudomonas aeruginosa*, проявляют детергентные свойства и относятся к детерминантам их вирулентности [26, 46, 47]. Рамнолипиды показали активность как *in vitro*, так и *in vivo*, вызывая лизис ПЯЛ, увеличивая воспаление в очаге инфекции и способствуя дальнейшей хемотаксисом [26, 46]. При отсутствии рамнолипидов наблюдалось усиление клиренса биопленок *Pseudomonas aeruginosa* при помощи ПЯЛ [26, 46, 48]. Синтез рамнолипидов происходит под контролем QS [49]. Предполагают, что их выработка осуществляется в ответ на «распознавание» ПЯЛ. Возможно, эта регуляция реализуется за счет ответа на цитокины, выделяемые ПЯЛ [25, 49, 50]. Важность роли внеклеточного матрикса подтверждается тем, что неспособность фагоцитов устранить биопленочные патогены нивелируется после механической дис-

персии бактерий в отдельные клетки *Pseudomonas aeruginosa* [26, 46, 51].

Безусловно, нейтрофилы и макрофаги секретируют активные формы кислорода и протеазы, которые призваны способствовать эрадикации патогенов из раны [5]. Но при чрезмерном привлечении к локусу воспаления, задержке ПЯЛ и неэффективности иммунного ответа наблюдается усиление повреждения тканей, окружающих биопленку, вследствие местного повышения концентрации биологически активных веществ, что имеет место, например, при хроническом раневом процессе [52, 53]. Подобная ситуация может играть позитивную роль для самой биопленки, поскольку ее элиминация не всегда происходит успешно, а вызванное ее присутствием накопление экссудата может использоваться sessильными бактериями для питания и развития консорциума [54].

Таким образом, к настоящему времени накоплен достаточно весомый объем информации о многогранных взаимоотношениях биопленки и механизмов клеточного иммунитета. Клеточный иммунный ответ, направленный против sessильных бактерий, имеет свои особенности и во многом зависит от вида микроорганизмов, зрелости биопленки и состава биополимерного матрикса. Нейтрофилы и макрофаги с переменным успехом способны подвергать киллингу бактерии биопленок. Тем не менее до сих пор остаются открытыми вопросы регуляции механизмов клеточного иммунитета против биопленочных патогенов, а существование некоторых противоречивых данных в результатах исследования клеточного звена иммунного ответа с участием биопленок подразумевает необходимость дальнейшего изучения данной проблемы.

ЛИТЕРАТУРА

- Nusbaum A.G., Kirsner R.S., Charles C.A. Biofilms in dermatology. *Skin Therapy Lett.* 2012; 17(7): 1-5.
- Wolcott R., Dowd S. The role of biofilms: are we hitting the right target? *Plast. Reconstr. Surg.* 2011; 127(Suppl. 1): 28S-35S. DOI: <http://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3181fca244>
- Маянский А.Н., Чеботарь И.В., Лазарева А.В., Маянский Н.А. Пневмококковые биопленки. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2015; 33(3): 16-22.
- Чеботарь И.В. Механизмы антибиопленочного иммунитета. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2012; 67(12): 22-9.
- Окулич В.К., Плотников Ф.В., Кабанова А.А. Роль микробных биопленок в патогенезе инфекционных процессов на современном этапе. *Имунопатология, аллергология, инфектология.* 2012; (4): 70-82.
- Whiteley M., Banger M.G., Bumgarner R.E., Parsek M.R., Teitzel G.M., Lory S., et al. Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Nature.* 2001; 413(6858): 860-4. DOI: <http://doi.org/10.1038/35101627>
- Мележик И.А., Яворская Н.В., Шепелевич В.В., Козей В.Н. Роль биопленок *Pseudomonas aeruginosa* в развитии эндогенных инфекций. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН.* 2013; (3): 1-28.
- Шишкова Ю.С., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Липская А.Д. Функциональный статус нейтрофилов при взаимодействии с микроорганизмами с разной степенью биопленкообразования, выделенными из ротовой полости лиц, использующих съемные стоматологические ортопедические конструкции. *Российский иммунологический журнал.* 2016; 10(3): 370-2.
- Шлепотина Н.М., Колесников О.Л., Плоткин Л.Л. Микробный пейзаж у пациентов с гнойно-некротическими формами синдрома диабетической стопы. *Российский иммунологический журнал.* 2015; 9(2-1): 710-2.
- Пешикова М.В., Долгушин И.И., Русанова Н.Н. Etiology and structure of infectious complications of cytostatic therapy in children with acute lymphoblastic leukemia and non-B-cell non-Hodgkin lymphomas. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2002; (1): 70-1.
- Долгушин И.И., Андреева Ю.С., Мезенцева Е.А., Савочкина А.Ю., Плеханова Е.В., Свиридов М.А. и др. Нейтрофилы регулируют формирование микробиоценоза слизистых оболочек. *Медицинская иммунология.* 2006; 8(2-3): 135-6.
- Чеботарь И.В., Кончакова Е.Д., Бугрова М.Л. Везикулярные структуры в системе «нейтрофил-биопленка *Staphylococcus aureus*». *Иммунология.* 2013; 34(1): 35-9.
- Brinkmann V., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: is immunity the second function of chromatin? *J. Cell. Biol.* 2012; 198(5): 773-83. DOI: <http://doi.org/10.1083/jcb.201203170>
- Günther F., Wabnitz G.H., Stroth P., Prior B., Obst U., Samstag Y., et al. Host defence against *Staphylococcus aureus* biofilms infection: phagocytosis of biofilms by polymorphonuclear neutrophils (PMN). *Mol. Immunol.* 2009; 46(8-9): 1805-13. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.molimm.2009.01.020>
- Bjarnsholt T., Kirketerp-Møller K., Jensen P.O., Madsen K.G., Phipps R., Krogfelt K., et al. Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis. *Wound Repair. Regen.* 2008; 16(1): 2-10. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2007.00283.x>
- Gasser O., Hess C., Miot S., Deon C., Sanchez J.C., Schifferli J.A. Characterization and properties of ectosomes released by human polymorphonuclear neutrophils. *Exp. Cell Res.* 2003; 285(2): 243-57. DOI: [http://doi.org/10.1016/s0014-4827\(03\)00055-7](http://doi.org/10.1016/s0014-4827(03)00055-7)
- Hess C., Sadallah S., Hefti A., Landmann R., Schifferli J.A. Ectosomes released by human neutrophils are specialized functional units. *J. Immunol.* 1999; 163(8): 4564-73.
- Dapunt U., Hänsch G.M., Arciola C.R. Innate immune response in implant-associated infections: neutrophils against biofilms. *Materials (Basel).* 2016; 9(5): E387. DOI: <http://doi.org/10.3390/ma9050387>
- Berends E.T., Horswill A.R., Haste N.M., Monestier M., Nizet V., von Köckritz-Blickwede M. Nuclease expression by *Staphylococcus aureus* facilitates escape from neutrophil extracellular traps. *J. Innate Immun.* 2010; 2(6): 576-86. DOI: <http://doi.org/10.1159/000319909>
- Bhattacharya M., Berends E.T.M., Chan R., Schwab E., Roy S., Sen C.K., et al. *Staphylococcus aureus* biofilms release leukocidins to elicit extracellular trap formation and evade neutrophil-mediated killing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018; 115(28): 7416-21. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.1721949115>
- Hong W., Juneau R.A., Pang B., Swords W.E. Survival of bacterial biofilms within neutrophil extracellular traps promotes nontypeable *Haemophilus influenzae* persistence in the chinchilla model for otitis media. *J. Innate Immun.* 2009; 1(3): 215-24. DOI: <http://doi.org/10.1159/000205937>
- Kernien J.F., Johnson C.J., Nett J.E. Conserved inhibition of neutrophil extracellular trap release by clinical *Candida albicans* biofilms. *J. Fungi (Basel).* 2017; 3(3): 49. DOI: <http://doi.org/10.3390/jof3030049>

23. Meyle E., Stroh P., Gunther F., Hoppy-Tichy T., Wagner C., Hänschet G.M. Destruction of bacterial biofilms by polymorphonuclear neutrophils: relative contribution of phagocytosis, DNA release, and degranulation. *Int. J. Artif. Organs*. 2010; 33(9): 608-20.
DOI: <http://doi.org/10.1177/039139881003300906>
24. Guenther F., Stroh P., Wagner C., Obst U., Hänsch G.M. Phagocytosis of staphylococci biofilms by polymorphonuclear neutrophils: *S. aureus* and *S. epidermidis* differ with regard to their susceptibility towards the host defense. *Int. J. Artif. Organs*. 2009; 32(9): 565-73.
DOI: <http://doi.org/10.1177/039139880903200905>
25. Hänsch G.M. Host defence against bacterial biofilms: «Mission impossible»? *ISRN Immunol*. 2012; 2012: 853123.
DOI: <http://doi.org/10.5402/2012/853123>
26. Roilides E., Simitsopoulou M., Katragkou A., Walsh T.J. How biofilms evade host defenses. *Microbiol. Spectr*. 2015; 3(3): 1-10.
DOI: <http://doi.org/10.1128/microbiolspec.MB-0012-2014>
27. Jensen E.T., Kharazmi A., Lam K., Costerton J.W., Høiby N. Human polymorphonuclear leukocyte response to *Pseudomonas aeruginosa* grown in biofilms. *Infect. Immun*. 1990; 58(7): 2383-5.
28. Mathee K., Ciofu O., Sternberg C., Lindum P.W., Campbell J.I.A., Jensen P., et al. Mucoid conversion of *Pseudomonas aeruginosa* by hydrogen peroxide: a mechanism for virulence activation in the cystic fibrosis lung. *Microbiology*. 1999; 145(Pt. 6): 1349-57.
DOI: <http://doi.org/10.1099/13500872-145-6-1349>
29. Wozniak D.J., Wyckoff T.J., Starkey M., Keyser R., Azadi P., O'Toole G.A., et al. Alginate is not a significant component of the extracellular polysaccharide matrix of PA14 and PAO1 *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003; 100(13): 7907-12.
DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.1231792100>
30. Tormo M.A., Martí M., Valle J., Manna A.C., Cheung A.L., Lasa I., et al. SarA is an essential positive regulator of *Staphylococcus epidermidis* biofilm development. *J. Bacteriol*. 2005; 187(7): 2348-56.
DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.187.7.2348-2356.2005>
31. Плюта В.А., Андреев Ю.В., Кузнецов А.Е., Хмель И.А. Образование биопленок *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 в присутствии перекиси водорода; влияние гена *aiiA*. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2013; (4): 10-4.
32. Walker T.S., Tomlin K.L., Worthen G.S., Poch K.R., Lieber J.G., Saavedra M.T., et al. Enhanced *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development mediated by human neutrophils. *Infect. Immun*. 2005; 73(6): 3693-701.
DOI: <http://doi.org/10.1128/IAI.73.6.3693-3701.2005>
33. Matsukawa M., Greenberg E.P. Putative exopolysaccharide synthesis genes influence *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *J. Bacteriol*. 2004; 186(14): 4449-56.
DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.186.14.4449-4456.2004>
34. Overhage J., Campisano A., Bains M., Torfs E.C., Rehm B.H., Hancock R.E. Human host defense peptide LL-37 prevents bacterial biofilm formation. *Infect. Immun*. 2008; 76(9): 4176-82.
DOI: <http://doi.org/10.1128/IAI.00318-08>
35. Singh P.K., Parsek M.R., Greenberg E.P., Welsh M.J. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. *Nature*. 2002; 417(6888): 552-5.
DOI: <http://doi.org/10.1038/417552a>
36. Psaltis A.J., Wormald P.J., Ha K.R., Tan L.W. Reduced levels of lactoferrin in biofilm-associated chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope*. 2008; 118(5): 895-901.
DOI: <http://doi.org/10.1097/MLG.0b013e31816381d4>
37. Schmidtchen A., Frick I.M., Andersson E., Tapper H., Björck L. Proteinases of common pathogenic bacteria degrade and inactivate the antibacterial peptide LL-37. *Mol. Microbiol*. 2002; 46(1): 157-68.
DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.03146.x>
38. Geraghty P., Rogan M.P., Greene C.M., Boxio R.M., Poiriert T., O'Mahony M., et al. Neutrophil elastase up-regulates cathepsin B and matrix metalloprotease-2 expression. *J. Immunol*. 2007; 178(9): 5871-8.
DOI: <http://doi.org/10.4049/jimmunol.178.9.5871>
39. Rogan M.P., Taggart C.C., Greene C.M., Murphy P.G., O'Neill S.J., McElvaney N.G. Loss of microbial activity and increased formation of biofilm due to decreased lactoferrin activity in patients with cystic fibrosis. *J. Infect. Dis*. 2004; 190(7): 1245-53.
DOI: <http://doi.org/10.1086/423821>
40. Hanke M.L., Kielian T. Deciphering mechanisms of staphylococcal biofilm evasion of host immunity. *Front. Cell. Infect. Microbiol*. 2012; 2: 62.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00062>
41. Thurlow L.R., Hanke M.L., Fritz T., Angle A., Aldrich A., Williams S.H., et al. *Staphylococcus aureus* biofilms prevent macrophage phagocytosis and attenuate inflammation in vivo. *J. Immunol*. 2011; 186(11): 6585-96.
DOI: <http://doi.org/10.4049/jimmunol.1002794>
42. Монастырская Е.А., Лямина С.В., Малышев И.Ю. М1 и М2 фенотипы активированных макрофагов и их роль в иммунном ответе и патологии. *Патогенез*. 2008; 6(4): 31-9.
43. Daw K., Baghdayan A.S., Awasthi S., Shankar N. Biofilm and planktonic *Enterococcus faecalis* elicit different responses from host phagocytes in vitro. *FEMS Immunol. Med. Microbiol*. 2012; 65(2): 270-82.
DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2012.00944.x>
44. Fredheim E.G., Granlso H.N., Flaegtad T., Figenschau Y., Rohde H., Sadovskaya I., et al. *Staphylococcus epidermidis* polysaccharide intercellular adhesin activates complement. *FEMS Immunol. Med. Microbiol*. 2011; 63(2): 269-80.
DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2011.00854.x>
45. Leid J.G., Willson C.J., Shirliff M., Hassett D.J., Parsek M.R., Jeffers A.K. The exopolysaccharide alginate protects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria from IFN-gamma-mediated macrophage killing. *J. Immunol*. 2006; 175(11): 7512-8.
DOI: <http://doi.org/10.4049/jimmunol.175.11.7512>
46. Alhede M., Bjarnsholt T., Givskov M., Alhede M. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: mechanisms of immune evasion. *Adv. Appl. Microbiol*. 2014; 86: 1-40.
DOI: <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-800262-9.00001-9>
47. Jensen P.O., Bjarnsholt T., Phipps R., Rasmussen T.B., Calum H., Christoffersen L., et al. Rapid necrotic killing of polymorphonuclear leukocytes is caused by quorum-sensing-controlled production of rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*. 2007; 153(Pt. 5): 1329-38.
DOI: <http://doi.org/10.1099/mic.0.2006/003863-0>
48. Van Gennip M., Christensen L.D., Alhede M., Phipps R., Jensen P.O., Christophersen L., et al. Inactivation of the *rhIA* gene in *Pseudomonas aeruginosa* prevents rhamnolipid production, disabling the protection against polymorphonuclear leukocytes. *APMIS*. 2009; 117(7): 537-46.
DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2009.02466.x>
49. Alhede M., Bjarnsholt T., Jensen P.O., Phipps R.K., Moser C., Christophersen L., et al. *Pseudomonas aeruginosa* recognizes and responds aggressively to the presence of polymorphonuclear leukocytes. *Microbiology*. 2009; 155(Pt. 11): 3500-8.
DOI: <http://doi.org/10.1099/mic.0.031443-0>
50. Meduri G.U., Kanangat S., Stefan J., Tolley E., Schaberg D. Cytokines IL-1 β , IL-6, and TNF- α enhance in vitro growth of bacteria. *Am. J. Resp. Crit. Care Med*. 1999; 160(3): 961-7.
DOI: <http://doi.org/10.1164/ajrccm.160.3.9807080>
51. Jensen E.T., Kharazmi A., Hoiby N., Costerton J.W. Some bacterial parameters influencing the neutrophil oxidative burst response to *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *APMIS*. 1992; 100(8): 727-33.
52. Ярец Ю.И. Хроническая раневая инфекция: современные представления и диагностические подходы. *Здравоохранение (Минск)*. 2016; (7): 39-50.

53. Mengi S., Vohra P., Sawhney N., Singh V.A. Biofilms: a diagnostic challenge in persistent infections. *Int. J. Res. Med. Health Sci.* 2013; 2(3): 1-9.
54. Афиногенова А.Г., Даровская Е.Н. Микробные биопленки ран: состояние вопроса. *Травматология и ортопедия России.* 2011; 17(3): 119-25.

REFERENCES

1. Nusbaum A.G., Kirsner R.S., Charles C.A. Biofilms in dermatology. *Skin Therapy Lett.* 2012; 17(7): 1-5.
2. Wolcott R., Dowd S. The role of biofilms: are we hitting the right target? *Plast. Reconstr. Surg.* 2011; 127(Suppl. 1): 28S-35S. DOI: <http://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3181fca244>
3. Mayanskiy A.N., Chebotar' I.V., Lazareva A.V., Mayanskiy N.A. Biofilm formation by *Streptococcus pneumoniae*. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya.* 2015; 33(3): 16-22. (in Russian)
4. Chebotar' I.V. Mechanisms of antibiofilm immunity. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk.* 2012; 67(12): 22-9. (in Russian)
5. Okulich V.K., Plotnikov F.V., Kabanova A.A. Biofilm's role in the pathogenesis of infectious process at the present stage. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya.* 2012; (4): 70-82. (in Russian)
6. Whiteley M., Banger M.G., Bumgarner R.E., Parsek M.R., Teitzel G.M., Lory S., et al. Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Nature.* 2001; 413(6858): 860-4. DOI: <http://doi.org/10.1038/35101627>
7. Melezhih I.A., Yavorskaya N.V., Shepelevich V.V., Kokozey V.N. The role of biofilm in *Pseudomonas aeruginosa* endogenous infections. *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN.* 2013; (3): 1-28. (in Russian)
8. Shishkova Yu.S., Dolgushin I.I., Kolesnikov O.L., Lipskaya A.D. The functional status of neutrophils during interaction with microorganisms with varying degrees of bioincubation. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal.* 2016; 10(3): 370-2. (in Russian)
9. Shlepotina N.M., Kolesnikov O.L., Plotkin L.L. Microbial landscape in patients with purulent-necrotic forms of diabetic foot syndrome: analysis of cases during the period from 2012 to 2014. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal.* 2015; 9(2-1): 710-2. (in Russian)
10. Peshikova M.V., Dolgushin I.I., Rusanova N.N. Etiology and structure of infectious complications of cytostatic therapy in children with acute lymphoblastic leukemia and non-B-cell non-Hodgkin lymphomas. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2002; (1): 70-1.
11. Dolgushin I.I., Andreeva Yu.S., Mezentseva E.A., Savochkina A.Yu., Plekhanova E.V., Sviridov M.A., et al. Neutrophils regulate the formation of microbiocenosis of the mucous membranes. *Meditsinskaya immunologiya.* 2006; 8(2-3): 135-6. (in Russian)
12. Chebotar' I.V., Konchakova E.D., Bugrova M.L. Vesicular structure in the system of «neutrophil – biofilm *Staphylococcus aureus*». *Immunologiya.* 2013; 34(1): 35-9. (in Russian)
13. Brinkmann V., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: is immunity the second function of chromatin? *J. Cell. Biol.* 2012; 198(5): 773-83. DOI: <http://doi.org/10.1083/jcb.201203170>
14. Günther F., Wabnitz G.H., Stroth P., Prior B., Obst U., Samstag Y., et al. Host defence against *Staphylococcus aureus* biofilms infection: phagocytosis of biofilms by polymorphonuclear neutrophils (PMN). *Mol. Immunol.* 2009; 46(8-9): 1805-13. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.molimm.2009.01.020>
15. Bjarnsholt T., Kirketerp-Møller K., Jensen P.O., Madsen K.G., Phipps R., Krogfelt K., et al. Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis. *Wound Repair. Regen.* 2008; 16(1): 2-10. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2007.00283.x>
16. Gasser O., Hess C., Miot S., Deon C., Sanchez J.C., Schifferli J.A. Characterization and properties of ectosomes released by human polymorphonuclear neutrophils. *Exp. Cell Res.* 2003; 285(2): 243-57. DOI: [http://doi.org/10.1016/s0014-4827\(03\)00055-7](http://doi.org/10.1016/s0014-4827(03)00055-7)
17. Hess C., Sadallah S., Hefti A., Landmann R., Schifferli J.A. Ectosomes released by human neutrophils are specialized functional units. *J. Immunol.* 1999; 163(8): 4564-73.
18. Dapunt U., Hänsch G.M., Arciola C.R. Innate immune response in implant-associated infections: neutrophils against biofilms. *Materials (Basel).* 2016; 9(5): E387. DOI: <http://doi.org/10.3390/ma9050387>
19. Berends E.T., Horswill A.R., Haste N.M., Monestier M., Nizet V., von Köckritz-Blickwede M. Nuclease expression by *Staphylococcus aureus* facilitates escape from neutrophil extracellular traps. *J. Innate Immun.* 2010; 2(6): 576-86. DOI: <http://doi.org/10.1159/000319909>
20. Bhattacharya M., Berends E.T.M., Chan R., Schwab E., Roy S., Sen C.K., et al. *Staphylococcus aureus* biofilms release leukocidins to elicit extracellular trap formation and evade neutrophil-mediated killing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018; 115(28): 7416-21. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.1721949115>
21. Hong W., Juneau R.A., Pang B., Swords W.E. Survival of bacterial biofilms within neutrophil extracellular traps promotes nontypeable *Haemophilus influenzae* persistence in the chinchilla model for otitis media. *J. Innate Immun.* 2009; 1(3): 215-24. DOI: <http://doi.org/10.1159/000205937>
22. Kernien J.F., Johnson C.J., Nett J.E. Conserved inhibition of neutrophil extracellular trap release by clinical *Candida albicans* biofilms. *J. Fungi (Basel).* 2017; 3(3): 49. DOI: <http://doi.org/10.3390/jof3030049>
23. Meyle E., Stroth P., Gunther F., Hoppy-Tichy T., Wagner C., Hänschet G.M. Destruction of bacterial biofilms by polymorphonuclear neutrophils: relative contribution of phagocytosis, DNA release, and degranulation. *Int. J. Artif. Organs.* 2010; 33(9): 608-20. DOI: <http://doi.org/10.1177/039139881003300906>
24. Guenther F., Stroth P., Wagner C., Obst U., Hänsch G.M. Phagocytosis of staphylococci biofilms by polymorphonuclear neutrophils: *S. aureus* and *S. epidermidis* differ with regard to their susceptibility towards the host defense. *Int. J. Artif. Organs.* 2009; 32(9): 565-73. DOI: <http://doi.org/10.1177/039139880903200905>
25. Hänsch G.M. Host defence against bacterial biofilms: «Mission impossible»? *ISRN Immunol.* 2012; 2012: 853123. DOI: <http://doi.org/10.5402/2012/853123>
26. Roilides E., Simitsopoulou M., Katragkou A., Walsh T.J. How biofilms evade host defenses. *Microbiol. Spectr.* 2015; 3(3): 1-10. DOI: <http://doi.org/10.1128/microbiolspec.MB-0012-2014>
27. Jensen E.T., Kharazmi A., Lam K., Costerton J.W., Høiby N. Human polymorphonuclear leukocyte response to *Pseudomonas aeruginosa* grown in biofilms. *Infect. Immun.* 1990; 58(7): 2383-5. DOI: <http://doi.org/10.1099/13500872-145-6-1349>
28. Mathee K., Ciofu O., Sternberg C., Lindum P.W., Campbell J.I.A., Jensen P., et al. Mucoid conversion of *Pseudomonas aeruginosa* by hydrogen peroxide: a mechanism for virulence activation in the cystic fibrosis lung. *Microbiology.* 1999; 145(Pt. 6): 1349-57. DOI: <http://doi.org/10.1099/13500872-145-6-1349>
29. Wozniak D.J., Wyckoff T.J., Starkey M., Keyser R., Azadi P., O'Toole G.A., et al. Alginate is not a significant component of the extracellular polysaccharide matrix of PA14 and PAO1 *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003; 100(13): 7907-12. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.1231792100>

30. Tormo M.A., Martí M., Valle J., Manna A.C., Cheung A.L., Lasa I., et al. SarA is an essential positive regulator of Staphylococcus epidermidis biofilm development. *J. Bacteriol.* 2005; 187(7): 2348-56.
DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.187.7.2348-2356.2005>
31. Plyuta V.A., Andreenko Yu.V., Kuznetsov A.E., Khmel' I.A. Formation of Pseudomonas aeruginosa PAO1 biofilms in the presence of hydrogen peroxide. The effect of the aiiA gene. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya.* 2013; (4): 10-4. (in Russian)
32. Walker T.S., Tomlin K.L., Worthen G.S., Poch K.R., Lieber J.G., Saavedra M.T., et al. Enhanced Pseudomonas aeruginosa biofilm development mediated by human neutrophils. *Infect. Immun.* 2005; 73(6): 3693-701.
DOI: <http://doi.org/10.1128/IAI.73.6.3693-3701.2005>
33. Matsukawa M., Greenberg E.P. Putative exopolysaccharide synthesis genes influence Pseudomonas aeruginosa biofilm development. *J. Bacteriol.* 2004; 186(14): 4449-56.
DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.186.14.4449-4456.2004>
34. Overhage J., Campisano A., Bains M., Torfs E.C., Rehm B.H., Hancock R.E. Human host defense peptide LL-37 prevents bacterial biofilm formation. *Infect. Immun.* 2008; 76(9): 4176-82.
DOI: <http://doi.org/10.1128/IAI.00318-08>
35. Singh P.K., Parsek M.R., Greenberg E.P., Welsh M.J. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. *Nature.* 2002; 417(6888): 552-5.
DOI: <http://doi.org/10.1038/417552a>
36. Psaltis A.J., Wormald P.J., Ha K.R., Tan L.W. Reduced levels of lactoferrin in biofilm-associated chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope.* 2008; 118(5): 895-901.
DOI: <http://doi.org/10.1097/MLG.0b013e31816381d4>
37. Schmidtchen A., Frick I.M., Andersson E., Tapper H., Björck L. Proteinases of common pathogenic bacteria degrade and inactivate the antibacterial peptide LL-37. *Mol. Microbiol.* 2002; 46(1): 157-68.
DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.03146.x>
38. Geraghty P., Rogan M.P., Greene C.M., Boxio R.M., Poiriert T., O'Mahony M., et al. Neutrophil elastase up-regulates cathepsin B and matrix metalloproteinase-2 expression. *J. Immunol.* 2007; 178(9): 5871-8.
DOI: <http://doi.org/10.4049/jimmunol.178.9.5871>
39. Rogan M.P., Taggart C.C., Greene C.M., Murphy P.G., O'Neill S.J., McElvaney N.G. Loss of microbial activity and increased formation of biofilm due to decreased lactoferrin activity in patients with cystic fibrosis. *J. Infect. Dis.* 2004; 190(7): 1245-53.
DOI: <http://doi.org/10.1086/423821>
40. Hanke M.L., Kielian T. Deciphering mechanisms of staphylococcal biofilm evasion of host immunity. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2012; 2: 62.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00062>
41. Thurlow L.R., Hanke M.L., Fritz T., Angle A., Aldrich A., Williams S.H., et al. Staphylococcus aureus biofilms prevent macrophage phagocytosis and attenuate inflammation in vivo. *J. Immunol.* 2011; 186(11): 6585-96.
DOI: <http://doi.org/10.4049/jimmunol.1002794>
42. Monastyrskaya E.A., Lyamina S.V., Malyshev I.Yu. M1 and M2 phenotypes of activated macrophages and their role in immune response and pathology. *Patogenez.* 2008; 6(4): 31-9. (in Russian)
43. Daw K., Baghdayan A.S., Awasthi S., Shankar N. Biofilm and planktonic Enterococcus faecalis elicit different responses from host phagocytes in vitro. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2012; 65(2): 270-82.
DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2012.00944.x>
44. Fredheim E.G., Granlso H.N., Flaegtad T., Figenschau Y., Rohde H., Sadovskaya I., et al. Staphylococcus epidermidis polysaccharide intercellular adhesion activates complement. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2011; 63(2): 269-80.
DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2011.00854.x>
45. Leid J.G., Willson C.J., Shirtliff M., Hassett D.J., Parsek M.R., Jeffers A.K. The exopolysaccharide alginate protects Pseudomonas aeruginosa biofilm bacteria from IFN-gamma-mediated macrophage killing. *J. Immunol.* 2006; 175(11): 7512-8.
DOI: <http://doi.org/10.4049/jimmunol.175.11.7512>
46. Alhede M., Bjarnsholt T., Givskov M., Alhede M. Pseudomonas aeruginosa biofilms: mechanisms of immune evasion. *Adv. Appl. Microbiol.* 2014; 86: 1-40.
DOI: <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-800262-9.00001-9>
47. Jensen P.O., Bjarnsholt T., Phipps R., Rasmussen T.B., Calum H., Christoffersen L., et al. Rapid necrotic killing of polymorphonuclear leukocytes is caused by quorum-sensing-controlled production of rhamnolipid by Pseudomonas aeruginosa. *Microbiology.* 2007; 153(Pt. 5): 1329-38.
DOI: <http://doi.org/10.1099/mic.0.2006/003863-0>
48. Van Gennip M., Christensen L.D., Alhede M., Phipps R., Jensen P.O., Christophersen L., et al. Inactivation of the rhlA gene in Pseudomonas aeruginosa prevents rhamnolipid production, disabling the protection against polymorphonuclear leukocytes. *APMIS.* 2009; 117(7): 537-46.
DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2009.02466.x>
49. Alhede M., Bjarnsholt T., Jensen P.O., Phipps R.K., Moser C., Christophersen L., et al. Pseudomonas aeruginosa recognizes and responds aggressively to the presence of polymorphonuclear leukocytes. *Microbiology.* 2009; 155(Pt. 11): 3500-8.
DOI: <http://doi.org/10.1099/mic.0.031443-0>
50. Meduri G.U., Kanangat S., Stefan J., Tolley E., Schaberg D. Cytokines IL-1 β , IL-6, and TNF- α enhance in vitro growth of bacteria. *Am. J. Resp. Crit. Care Med.* 1999; 160(3): 961-7.
DOI: <http://doi.org/10.1164/ajrccm.160.3.9807080>
51. Jensen E.T., Kharazmi A., Hoiby N., Costerton J.W. Some bacterial parameters influencing the neutrophil oxidative burst response to Pseudomonas aeruginosa biofilms. *APMIS.* 1992; 100(8): 727-33.
52. Yarets Yu.I. Infection process in chronic wound: review of current concepts and diagnostic approaches. *Zdravookhranenie (Minsk).* 2016; (7): 39-50. (in Russian)
53. Mengi S., Vohra P., Sawhney N., Singh V.A. Biofilms: a diagnostic challenge in persistent infections. *Int. J. Res. Med. Health Sci.* 2013; 2(3): 1-9.
54. Afinogenova A.G., Darovskaya E.N. Microbial biofilms of wounds: status of the issue. *Travmatologiya i ortopediya Rossii.* 2011; 17(3): 119-25. (in Russian)

Информация об авторах:

Шлепотина Нина Михайловна[✉] — преподаватель кафедры биологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», 454092, Челябинск, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1297-9992>. E-mail: grant0408@yandex.ru

Пешикова Маргарита Валентиновна — к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», 454092, Челябинск, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2113-5495>. E-mail: grant0408@yandex.ru

Колесников Олег Леонидович — д.м.н., проф., зав. кафедрой биологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», 454092, Челябинск, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6187-8544>. E-mail: grant0408@yandex.ru

Шишкова Юлия Сергеевна — д.м.н., доцент, проф. кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», 454092, Челябинск, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0675-9531>. E-mail: grant0408@yandex.ru

Участие авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Information about the authors:

Nina M. Shlepotina[✉] — lecturer, Department of biology, South Ural State Medical University, 454092, Chelyabinsk, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1297-9992>. E-mail: grant0408@yandex.ru

Margarita V. Peshikova — Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Department of microbiology, virology, immunology and clinical laboratory diagnostics, South Ural State Medical University, 454092, Chelyabinsk, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2113-5495>. E-mail: grant0408@yandex.ru

Oleg L. Kolesnikov — Doct. Sci. (Med.), Prof., Head, Department of biology, South Ural State Medical University, 454092, Chelyabinsk, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6187-8544>. E-mail: grant0408@yandex.ru

Yuliya S. Shishkova — Doct. Sci. (Med.), Prof., Department of microbiology, virology, immunology and clinical laboratory diagnostics, South Ural State Medical University, 454092, Chelyabinsk, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0675-9531>. E-mail: grant0408@yandex.ru

Contribution: the authors contributed equally to this article.

ИСТОРИЯ НАУКИ

© БЕЛОВ А.Б., ПАНИН А.Л., 2020

Теория сапронозных инфекций: история развития и пути совершенствования в системе медико-биологических наук

Белов А.Б.^{1✉}, Панин А.Л.^{2,3}

¹ФГБВОУ «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Минобороны РФ, 194044, Санкт-Петербург, Россия;

²ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Роспотребнадзора, 197101, Санкт-Петербург, Россия;

³«Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства» — филиал ФГБНУ Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» РАН, 198421, Ломоносов, Россия

В обзоре анализируется история изучения болезней людей, вызываемых факультативными паразитами человека, животных и растений, в 1958 г. отнесенных микробиологом В.И. Терских к третьему классу инфекций — сапронозам. Этот термин и концепция экологии сапронозных возбудителей являются приоритетом российской медицины и были признаны мировой наукой. Эксперты Всемирной организации здравоохранения в 1969 г. приняли термин «сапронозные инфекции» как собирательное название упомянутых болезней. За прошедшее время в мировой и отечественной науке накопились факты и обобщения, позволяющие провести ревизию первоначальной концепции сапронозных инфекций биоты — от различных прокариот, растений и беспозвоночных до теплокровных животных и человека. Для решения дискуссионных вопросов теории сапронозов, эпидемиологической терминологии и систематики инфекционной патологии необходима интеграция знаний и комплексное участие специалистов медико-биологических наук в изучении этой проблемы. Результаты данного сотрудничества позволят уточнить и сформировать единую теоретическую концепцию популяционной патологии биоты на базе экологического подхода и общебиологических закономерностей существования жизни на планете.

Ключевые слова: обзор; сапронозы; история изучения; экология возбудителей; цианобактерии и их маты; протисты; симбиоз; проблемы и пути интеграции эпидемиологии.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-04-01649 «Эколого-ценотическая и молекулярно-генетическая характеристика микробных сообществ на ключевых участках полярных ландшафтов Арктики и Антарктики».

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

Для цитирования: Белов А.Б., Панин А.Л. Теория сапронозных инфекций: история развития и пути совершенствования в системе медико-биологических наук. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2020; 97(1): 91-101.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-91-101>

Поступила 20.06.2019
Принята в печать 18.12.2019

Theory of Sapronous Infections: the History of Development and Ways of Improvement in the System of Medical and Biological Sciences

Aleksandr B. Belov^{1✉}, Aleksandr L. Panin^{2,3}

¹Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg 194044, Russia;

²Pasteur Saint-Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg 197101, Russia;

³All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science — Branch of the All-Russian Research and Technological Poultry Institute, Lomonosov 198421, Russia

The article represents the history of studies of human diseases caused by facultative parasites of humans, animals and plants, attributed by microbiologist V.I. Terskykh in 1958 to the third class of infections named sapronoses. The concept of sapronous pathogens ecology is one of priorities of Russian medicine. Since that time, facts and generalizations have been accumulated in the world and national science, allowing to revise the initial concept of sapronous infections of biota — from prokaryotes, plants and invertebrates to warm-blooded animals and humans. To decide the controversial issues of the sapronoses theory, epidemiological terminology and systematics of infectious pathology, it is necessary to integrate the knowledge and systemic participation of specialists in medicine and biology in studying this problem. The results of this cooperation will make it possible to clarify and form a unified theoretical concept of the population pathology of the biota based on the ecological approach and general biological regularities of life existence in the world.

Keywords: overview; sapronoses; history of study; ecology of pathogens; cyanobacteria and their mats; protists; symbiosis; problems and ways of integrating epidemiology.

Acknowledgments. This work was partially supported by the Russian Foundation for Basic Research grant No. 16-04-01649 «Ecological-cenotic and molecular genetic characteristics of microbial communities of key areas of the polar landscapes Arctic and Antarctic».

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

For citation: Belov A.B., Panin A.L. Theory of Sapronous Infections: the History of Development and Ways of Improvement in the System of Medical and Biological Sciences. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, Russian journal.* 2020; 97(1): 91-101. (In Russ.).
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-91-101>

Received 20 June 2019
Accepted 18 December 2019

Обзор посвящен 60-летию опубликования в «Журнале микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии» первого научно обоснованного труда по сапронозам микробиолога Василия Ильича Терских, что было ответственным поступком редакции журнала. В.И. Терских впервые выделил самостоятельную группу нозологий, объединенных в третий класс инфекций — «сапронозы», из совокупности инфекционных болезней человека [1]. Данную работу необходимо рассматривать как открытие в медицине и безусловный приоритет отечественной науки. Вместе с тем современники встретили его новаторский труд неодобрительно — доминировала точка зрения М. Петтенкофера, К. Сталлибрасса и Л.В. Громашевского о том, что все инфекционные болезни вызываются облигатными паразитами человека (антропонозы) и теплокровных животных (зоонозы медицинского значения). Они не учитывали мир беспозвоночных и растений, ассоциируя их в лучшем случае с факторами передачи возбудителей. Внешняя среда, окружающая человека, трактовалась как совокупность абиотических субстратов и объектов, где временно обитают возбудители инфекционных болезней, попавшие в нее из теплокровных организмов (больных и носителей возбудителей) на относительно короткое время. Некоторая устойчивость во внешней среде дает им шанс для заражения восприимчивых людей и животных с продолжением эпидемического или эпизоотического процесса и существования возбудителя как биологического вида. В противном случае они обречены на гибель от воздействия вредных факторов среды и поглощения хищниками в качестве пищи. Внешняя среда тогда считалась «кладбищем» патогенных бактерий — облигатных паразитов. Сапрофиты в качестве возбудителей болезней человека не рассматривались или считались условно-патогенными, малозначимыми в патологии людей и животных.

Медико-биологические науки при изучении инфекционной патологии базируются на знаниях о закономерностях существования разных форм жизни, их взаимодействия в изменчивых природных и социальных условиях. Экологический подход является основой методологии эпидемиологической

диагностики в профилактической медицине. Современная эпидемиология инфекционных болезней стоит в первом ряду экологических медицинских наук вместе с микробиологией, паразитологией и взаимодействующими с ней смежными дисциплинами биологического профиля. Ее предметная область охватывает изучение эпидемических проявлений популяционной патологии населения, вызываемой возбудителями инфекций антропонозного, зоонозного и сапронозного генеза. Познавать причины, условия и механизмы формирования заболеваемости людей зоонозами и сапронозами, возбудители которых сохраняются во внечеловеческих резервуарах, без взаимодействия эпидемиологов и микробиологов со специалистами смежных биологических дисциплин становится непродуктивно. Поэтому объединение знаний и усилий этих специалистов по решению научно-практических вопросов, представляющих взаимный интерес для медиков и биологов, является необходимостью, диктуемой потребностью науки в интеграции на стыках дисциплин [2–6].

Используя результаты многолетнего изучения теоретических аспектов проблемы и личного опыта исследований в рамках заявленной тематики, мы предлагаем свое видение реформирования традиционных представлений о сапронозах. Это необходимо для обоснования путей сближения медико-биологических дисциплин по одному из важнейших многопрофильных направлений науки на основе общих закономерностей существования живого мира. Очередной этап интеграции знаний, наступивший после длительного периода дифференциации в медицинских и биологических дисциплинах, должен дать положительные результаты для сохранения здоровья человека, фауны и флоры, улучшения экологической обстановки.

Интерес к сапронозам у специалистов по болезням людей, которые вызываются возбудителями, общими для человека, теплокровных животных и растений, возрастает год от года. Значительный массив информации об экологии этиологических агентов этих инфекций, их биотических резервуарах, закономерностях циркуляции в природных,

антропоургических очагах и в урбанистических условиях подлежит переосмыслению. Процесс накопления знаний, полученных с применением рутинных методов XX в., не сопровождался анализом результатов с участием специалистов биологического профиля. Выводы, сделанные первооткрывателями «новой» для медицины проблемы, не подвергались ревизии, не корректировалось магистральное направление дальнейших исследований в области проблематики сапронозных инфекций. До сих пор окончательно не сформирована единая и общепризнанная теория сапронозов. Более того, накопились очевидные противоречия по вопросам, касающимся фундаментальных положений эпидемиологии, паразитологии, биологии, особенно на стыках этих дисциплин [3, 7]. Очевидно, что перед эпидемиологией стоит много нерешенных задач, перечень которых только увеличивается [8].

В результате исследований, проведенных в последние годы отдельными многопрофильными научными группами с использованием методов молекулярной биологии, установлены более сложные закономерности, нежели считалось раньше, взаимодействия возбудителей сапронозов с представителями низшей биоты. Общеизвестна заселенность водоемов и почв различной микробиотой (наряду с позвоночными животными и растениями), значительная часть которой представлена бактериями, грибами и их потенциальными хозяевами-симбионтами (в первую очередь — фагоцитирующими простейшими). Преувеличение значения перманентно контаминированной бактериями внешней среды как самостоятельного «абиотического» резервуара возбудителей, в том числе сапронозных инфекций, не способствует расшифровке всех механизмов сохранения в природе потенциально патогенных для биоты паразитов. Более целесообразно изучение резервуарной роли симбиозов и биоценозов, в которых и формируются патогенные свойства потенциальных возбудителей инфекций той или иной биоты, включая человека. Кроме того, серьезные расхождения традиционных подходов к сапронозам с классическими постулатами, разработанными на моделях антропонозов и зоонозов, противоречат биологическим представлениям о существовании симбиотических систем и биоценозов. Эти несоответствия мешают упорядочиванию терминологии, классификаций болезней и их возбудителей применительно к задачам врачей-инфектологов: эпидемиологов, микробиологов, паразитологов, инфекционистов. Судя по сообщениям, подобные сложности испытывают ветеринары и фитопатологи [5, 9–11]. Отсутствие взаимопонимания затрудняет образовательную и научную деятельность, сказывается и на практической работе упомянутых специалистов. Назрела необходимость вносить коррективы в микробиологические методы отбора проб, обнаруже-

ния и изучения возбудителей сапронозных инфекций в их ассоциациях с помощью амплификации и полного секвенирования. Вместо поиска отдельных возбудителей появляется возможность открывать в пробе весь многовидовой спектр генетического материала (метагеном) с последующей его идентификацией по видам, субтипам и генетическим линиям [8].

Чтобы убедиться в необходимости ревизии вклада медико-биологических дисциплин в изучение проблемы сапронозов, проанализируем исторический путь становления в синтетической инфектологии нового раздела под условным названием «Сапронозные инфекции и экология их возбудителей». Многие ученые видели накапливающиеся в ходе наблюдений и исследований микробиологов, паразитологов и эпидемиологов противоречия с господствующими взглядами. Они пытались объяснить причины периодического исчезновения из поля зрения возбудителей некоторых болезней человека и животных (например, чумы) с появлением их вновь. Например, Н.Ф. Гамалея в 1905 г. имел мнение о сапрофитизме холерного вибриона на основании факта его перезимовки в придонных отложениях водоемов Сибири [10, 12]. Однако из-за применения в первой половине XX в. рутинных технологий этиологической диагностики, доминирующего антропоцентризма в инфектологии, дистанцирования от новых биологических наук эти суждения носили гипотетический характер.

Концепция В.И. Терских, доказавшая возможность сапрофитизма патогенных для человека и животных бактерий как способа их выживания в абиотической окружающей среде (т.е. вне организмов теплокровных), базировалась на 30-летнем личном опыте изучения природных очагов лептоспироза, спорных данных ряда современников о возбудителях ботулизма и многих микозов. Впервые такое предположение сделано В.И. Терских в 1928 г. [13]. В итоге автор пришел к выводу, что субстраты внешней среды (почва, вода и рукотворные объекты) могут считаться таким же резервуаром, как теплокровные организмы, при антропонозных и зоонозных инфекциях.

Пионерская идея В.И. Терских до 1970-х гг. подвергалась критике со стороны Л.В. Громашевского и И.И. Елкина (он возглавлял московскую школу эпидемиологов и был главным редактором «Журнала микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии» с 1955 по 1982 г.). Это было связано не только с неприятием новых идей авторитетными учеными, но и с влиянием в стране идеологии антропоцентризма в ущерб экологическому подходу. Несмотря на негативное отношение к выводам В.И. Терских, опровергнуть их никто не смог. Однако в учебной литературе длительное время отсутствовало упоминание о сапронозах. Многие из них трактовались как зоонозы или даже антропонозы

(холера). Только в 1978 г. К.Н. Токаревич признал научно-практическое значение данной концепции. Затем В.Д. Тимаков высказался еще более определенно: «Патогенность является более широким понятием, чем паразитизм, а группа патогенных микробов — более обширна, чем группа микробов-паразитов...» (цит. по [13]). Он имел в виду тех бактерий, которых В.И. Терских считал свободно живущими сапрофитами, независимыми от человека и теплокровных животных, способными размножаться и существовать во внешней среде. Однако тогда еще не оценили значение резервуарной роли «биотической среды» — низших организмов (беспозвоночных, растений, цианобактерий) — и считали, что эти формы жизни (в том числе протисты) не имеют большого отношения к эпидемиологии человека.

Приоритет В.И. Терских все же был признан мировой наукой. В 1969 г. эксперты Всемирной организации здравоохранения приняли термин «сапронозные инфекции» как собирательное название упомянутых болезней, а позже появился термин для соответствующих возбудителей — «сапрозоонозы» [14]. В своем учебнике В.Д. Беляков (1976) одним из первых дал общую характеристику и примеры этих инфекций, описав явление факультативного паразитизма бактерий у людей и животных. Затем В.М. Беклемишев, В.М. Жданов, Л.П. Зуева, Р.Х. Яфаев и др. внесли соответствующие разделы о сапронозах в учебную литературу.

Следующая генерация последователей и учеников В.И. Терских продолжила изучение сапронозных возбудителей лептоспироза, сибирской язвы, псевдотуберкулеза, кишечного иерсиниоза, легионеллеза, листериоза и микозов. Следует отметить школу эпидемиологов и микробиологов Дальнего Востока во главе с Георгием Павловичем Сомовым — главным эпидемиологом Тихоокеанского флота, впоследствии директором НИИЭМ СО РАМН. В 1970–1990-е гг. его ученики (Н.Н. Беседнова, Г.Д. Серов, А.М. Королук, В.Г. Кузнецов, Н.Ф. Тимченко, Ф.Н. Шубин и др.) внесли большой вклад в изучение дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки. Ее этиологическую расшифровку опытом самозаражения клиническим изолятом доказал В.А. Знаменский, показав, что дальневосточную скарлатиноподобную лихорадку вызывает давно известный возбудитель псевдотуберкулеза.

Г.П. Сомов по праву считается одним из основоположников экологической эпидемиологии и микробиологии, обосновавшим исходную парадигму сапронозов. Он подтвердил возможность и закономерность размножения факультативных паразитов во внешней среде и ее объектах, первым выявил молекулярно-биологические и биохимические механизмы их высокой устойчивости и пластичности, разработал вместе с учениками теорию психрофильности бактерий [11, 15]. Г.П. Сомов возглавил

список из 11 лауреатов Государственной премии за 1989 г. по псевдотуберкулезу, работавших и продолжающих научную деятельность по этой тематике.

Основной упор в исследованиях делался на сапрофитный образ жизни факультативных паразитов и резервуарную роль абиотических компонентов среды в их существовании. Поэтому резервуаром и источником сапронозных инфекций для людей и животных предлагалось считать окружающую человека среду, в том числе абиотические объекты. В то же время отмечалась полигостальность сапронозов — наличие широкого круга хозяев — и не отрицалась возможность формирования факторов патогенности бактерий в ходе биоценологических связей с представителями почвенной, пресноводной и морской биоты. Допускалась резервуарная роль теплокровных как источников инфекций при отдельных сапрозоонозных болезнях, но больше склонялись к тому, что эти животные являются биологическим тупиком для возбудителя. Есть основание полагать, что противоречивость классификации сапронозных болезней человека связана с преувеличением значения среды как резервуара и источника их возбудителей. Такой вывод можно сделать из предложения Г.П. Сомова включить в понятие «резервуар возбудителей сапронозов» (кроме субстратов и объектов окружающей среды) растения и животных, которые взаимодействуют с бактериями [15]. Он также предлагал резервуарную функцию среды разделять на биотическую и абиотическую составляющую, хотя это спорное суждение. Школа Г.П. Сомова досконально изучила регулирующее влияние условий внешней среды (роль психрофильности на примере иерсиний), ее субстратов на способность выживать в ней бактерий, существующих в сапрофитической (внемакроорганизменной) фазе [11, 15].

Следующим этапом становления взглядов инфектологов стали исследования, завершившиеся публикацией сборника научных трудов НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи [13]. В них сделана первая попытка обобщения фактического материала по экологии существования возбудителей сапронозов и эпидемическим проявлениям данной патологии. Отметим основные идеи, дискутировавшиеся в сборнике: сформулированы представления о механизмах выживания сапронозных бактерий (иерсиний, легионелл, лептоспир, листерий, микромицетов, возбудителей сибирской язвы, чумы и холеры) и их размножения в сапрофитической фазе существования. Подчеркнута регулирующая роль состава почв, факторов и условий среды (психро- и термофильность). Освещено участие в этих процессах почвенных и водных биоценозов (В.Ю. Литвин, С.В. Прозоровский, В.И. Гершун, И.С. Тартаковский и др.). Обсуждалась идея одновременного существования в среде двух частей популяции сапронозных бактерий — некультиви-

руемых (резервирующихся в среде) сапрофитных и культивируемых патогенных бактерий в макроорганизмах (А.И. Дятлов, С.В. Зайцев, Ю.Г. Чернуха и др.). Среди ряда ученых превалировало мнение о ведущей роли внешней (по отношению к человеку) среды в резервации сапронозных бактерий и примате сапрофитизма как формы их выживания (Г.П. Сомов, Ю.И. Соркин, А.С. Марамович и др.). Другие исследователи, не отрицая регулирующего значения внешних условий в существовании факультативных паразитов, ставили вопрос о необходимости изучать в упомянутых процессах роль низших организмов (например, фагоцитирующих простейших). Они составляют симбиозы и биоценозы с бактериями, что было показано в исследованиях на натуральных и экспериментальных моделях легионеллеза, чумы, листериоза, псевдотуберкулеза, микозов, внутрибольничного псевдомоноза (В.Д. Беляков, Л.А. Ряпис, Г.П. Сомов, В.Ю. Литвин, В.И. Гершун, А.И. Дятлов и др.). Упомянулось участие в симбиозах с бактериями растений, беспозвоночных, фито- и зоопланктона, микроводорослей. Это указывало на их значение в патологии человека, вызываемой бактериями, циркулирующими в популяциях низших организмов. Предполагалось их участие в поддержании на видовом уровне существования сапронозных бактерий как составная часть трофических связей. Эта идея принадлежала В.Д. Белякову, который с позиции теории саморегуляции паразитарных систем четко разграничивал функции причинных факторов и условий в процессах популяционной патологии. Он указывал на общебиологические закономерности и значение симбиотических и биоценологических отношений с участием бактерий, их хозяев, типов питания тех и других в формировании паразитарных систем [16]. Таким образом, впервые было намечено направление дальнейших исследований по установлению биологических причинных факторов проявлений сапронозов, в том числе в лечебных учреждениях, где могут циркулировать факультативные паразиты человека и животных [8, 17, 18]. Результаты этого этапа работы нашли отражение в монографии Г.П. Сомова и В.Ю. Литвина (1988) — первой попытке научного обобщения разрозненных фактических материалов, гипотез и идей, касающихся экологии возбудителей сапронозов. В ней привлечено внимание к проблеме, представлены теоретические, частные и прикладные аспекты на примере ряда инфекций и микозов, намечены пути дальнейших исследований [15]. Вслед за этой публикацией вышла в свет монография В.Д. Белякова и др. (1990). В ней на модели псевдомоноза как «внутрибольничного» сапроноза обобщались упомянутые вопросы и суждения [17].

Итак, понимая сложность стоявших задач на фоне несовершенства традиционных средств и методов исследований, отрыва медицинской ми-

кробиологии от общей микробиологии, паразитологии и иных биологических наук, отметим нерешенные проблемы рассмотренного исторического этапа изучения сапронозов:

- при преувеличении роли внешней («абиотической») среды как резервуара и источника сапронозных бактерий недостаточно изучалось возможное участие низшей биоты — микроводорослей, цианобактерий и их матов, растений и беспозвоночных (протистов) — в качестве таких же хозяев возбудителей, какими являются макроорганизмы при антропонозах и зоонозах. Это оказалось пробелом, поскольку авторы отмечали только способность сапронозных бактерий участвовать в симбиотических и биоценологических отношениях с представителями низших видов биоты. В действительности ими не изучалась патология этих организмов и ее связи с болезнями теплокровных на популяционном уровне;
- несовершенство классификации инфекционных болезней и их возбудителей применительно к сапронозам, недостаточная корректность эпидемиологической и биологической терминологии с использованием философских категорий в определениях.

Следующий период развития прогрессирующего учения о сапронозах (конец XX — начало XXI в.) характеризовался попыткой увязать экологию возбудителей с проявлениями популяционных процессов патологии различных организмов, включая низшие. Очевидно, что появилось понимание необходимости подключения к изучению данной проблемы специалистов биологического профиля. Однако оставались противоречия в сущности применяемых к сапронозам терминов, категорий, законов, классификаций инфекций и их возбудителей, трактовок исследователей-микробиологов. Это касалось философских и логических принципов формулировок, расхождений с общепризнанными биолого-экологическими закономерностями и понятиями популяционных процессов в биоценозах, что ярко проявилось на фоне накопления противоречивых сведений. Они не вписывались в прокрустово ложе прежних воззрений и классификаций сапронозных инфекций [4, 19–21].

Причины наметившегося кризиса в формирующейся теории сапронозов заключались в узости антропоцентристского подхода. Он себя уже не оправдывал применительно к медицинским аспектам некоторых зоонозов и известных к тому времени сапронозов и не давал ответов на многие вопросы, от решения которых зависела эффективность диагностических и профилактических мероприятий. Возникла потребность в интеграции медико-биологических дисциплин для решения проблемных вопросов ревизии теоретической концепции сапро-

нозов и зоонозов на новом уровне развития науки. Со времени приоритетных исследований и теоретических взглядов В.И. Терских на сапронозы концепция только уточнялась, и все в одном направлении: упор на резервуарную роль внешней («абиотической») среды в сохранении и циркуляции возбудителей сапронозов. Это уже ничего нового для практики не давало: любая внешняя среда (почва, вода, объекты и даже воздух) всегда контаминирована различными микроорганизмами, в первую очередь сапронозными бактериями и грибами, а также их хозяевами (часто микроскопических размеров). Однако выделять их нелегко, особенно патогенные бактерии. В то же время в почве и воде обитают беспозвоночные, растения и прокариотические микроводоросли; следовательно, среда не может быть абиотической. Их роль не была до конца ясна, но некоторые сведения давали основание считать именно эту биоту основным резервуаром и источником возбудителей сапронозных инфекций в природе. Следовательно, нужно более глубоко изучать симбиотические и биоценотические отношения сапронозных бактерий с этими низшими организмами, их резервуарную и накопительную роль, чтобы понять причины и условия формирования эпидемических (для людей), эпизоотических (для животных) и эпифитотических (для растений и прокариотических водорослей) клонов факультативных условно-патогенных паразитов. Поэтому нужна интеграция в медико-биологических науках.

Итак, благодаря ученым-первопроходцам, изучавшим проблемные вопросы теории сапронозов, экологический подход в эпидемиологии применительно к сапронозам и зоонозам начал вытеснять антропоцентризм эоцентризмом с утверждением интегративных процессов в фундаментальной науке. По этому пути пошли ученые НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи. Они сосредоточились на уточнении молекулярно-генетических и популяционно-экологических механизмов существования патогенных бактерий в почвенных и водных биоценозах; их связи с эпидемическими и эпизоотическими (эпифитотическими) проявлениями этих инфекций. Проводили экспериментальные и натурные наблюдения за взаимодействием бактериальных популяций с микро- и мезофауной и растениями, выживанием в окружающей среде вегетативных и покоящихся форм бактерий.

Результаты данной работы представлены в монографии В.Ю. Литвина и др. (1998), содержащей обобщения и пути изучения этой многопрофильной проблемы [4]. В ней рассмотрены актуальные вопросы с позиций не только микробиологов от медицины и биологии, но и эпидемиологов, у которых возникли суждения, требующие согласования. Упомянутая монография, как и ряд последующих публикаций, стала значительным шагом в направлении ревизии склады-

вающейся с середины XX в. концепции сапронозов, ориентированной на примат сапрофитизма бактерий и роли внешней среды как резервуара и источника возбудителей этих инфекций. Ведь авторы представили фактический материал, подтверждающий, что низшие организмы выполняют резервуарную роль как для собственных облигатно-патогенных паразитов, так и для условно-патогенных бактерий, относящихся к факультативным паразитам растений и цианопрокариот, животных (в том числе беспозвоночных) и человека. При таком подходе запутанность эпидемиологической терминологии и непоследовательность классификаций применительно к сапронозам становится еще более очевидной, а ревизия теоретических воззрений относительно сапронозов — просто неизбежной [7, 19–22].

С началом XXI в. к изучению проблемы сапронозов активно подключились биологи, паразитологи, генетики и микологи. Начались комплексные исследования циркуляции возбудителей не только во внешней среде и у теплокровных, но и в популяциях растений, «цианопрокариотических водорослей» и беспозвоночных животных [6, 23–27]. Были уточнены молекулярно-генетические механизмы выживания бактерий, формирования ими патогенных признаков и некультивируемых форм, обозначены проблемные вопросы терминологии и систематики сапронозов, затронувшие основу классификаций всех инфекций и их возбудителей [21, 22, 28–30]. В клинической медицине получили распространение эпидемиологические и новые микробиологические методы изучения гнойно-септических, острых кишечных, генерализованных инфекций, а также инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в том числе сапронозной этиологии [8, 18, 30–32]. На обсуждение стали выносить нетрадиционные трактовки положений теории и фактов из практики, касающихся паразитизма и патогенности возбудителей, представлений о паразитарных системах, природной, антропоургической и техногенной очаговости болезней с участием сапронозных инфекций, закономерностей формирования их эпидемических проявлений [33–38]. С экологических позиций рассматривалось содержание категорий, законов общей эпидемиологии и классификаций болезней и их возбудителей [7, 19, 21, 22]. За последние 20 лет после выхода упомянутого фундаментального труда накопился обширный материал для анализа, оценки и решения очередной стратегической задачи — по какому пути разрешать проблему сапронозов. Еще отчетливее стала необходимость интеграции специалистов в научно-исследовательской и практической работе по этой сложной междисциплинарной тематике [7, 21, 39, 40].

В настоящее время такие работы в составе группы медиков и биологов из пяти учреждений Санкт-Петербурга проводятся в полярных зонах

планеты, особенно в Антарктиде. Так, в пробах водных и напочвенных цианобактериальных матов (ЦБМ) выявлены бактерии 28 видов из 20 родов и 9 семейств. Большинство (43%) полученных штаммов были представлены семейством *Enterobacteriaceae*, значительная доля (18%) относится к *Pseudomonadaceae*. Представляет интерес выделение *Shigella dysenteriae* и 5 видов рода *Serratia*. Микологические исследования свидетельствуют о значительном разнообразии микромицетов в пробах ЦБМ (39 видов). Доминируют по числу видов 2 рода: *Penicillium* (8 видов) и *Aspergillus* (6 видов). Показано, что в симбиозе ЦБМ создаются условия сохранения и размножения (резервации) условно-патогенных и патогенных микроорганизмов [25]. В результате полярных исследований получен патент на изобретение «Способ оценки антропогенного и орнитогенного загрязнения окружающей среды Антарктиды по состоянию цианобактериальных матов (варианты)». В нем предлагается использовать комплексный способ оценки санитарного состояния по составу микробиоты, физико-химическим показателям, наличию тяжелых металлов и нефтепродуктов. Бактериологические показатели определяются в виде количественной оценки содержания в матах энтеробактерий, псевдомонад, других нитрифицирующих и термофильных микроорганизмов, клостридий, микромицетов [26].

Важность симбиотических отношений микробов показана в материалах «Журнала микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии», № 4 за 2018 г. В нем представлены доклады 9-й Инфектологической совместной конференции Института клеточного и внутриклеточного симбиоза с НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи. В разделе «Медико-биологические аспекты природных симбионтов» 4 из 8 сообщений посвящены цианобактериям и роли протистов в персистенции патогенных и условно-патогенных бактерий [12, 41–43]. Ученые МГУ им. М.В. Ломоносова отнесли антропогенное увеличение концентрации биогенных элементов, повторяющееся из года в год в водоемах умеренной зоны, к первой группе основных экологических факторов, обуславливающих эффективный рост популяций цианобактерий, вызывающих «цветение» воды, в планктонном сообществе [41]. К таким же выводам мы пришли по результатам работ с цианобактериями и ЦБМ в 56-й сезон Российской антарктической экспедиции в 2009–2010 гг. [25, 26].

В данном номере журнала обращено внимание на научно-практическое значение изучения токсинопродуцирующих цианобактерий. Из озер на территориях полярных поселений осуществляется водопотребление, протисты выводят из строя фильтры для воды. В полярных озерах цианобактерии формируют большое количество ЦБМ. Глобальное

потепление климата, в особенности проявляющееся в полярных зонах, будет способствовать более продолжительному и токсичному «цветению» воды в период планктонной стадии развития космополитных и эндемических видов цианобактерий. Они включают и теплолюбивые виды, ранее массово не развивавшиеся в исследуемых регионах. Увеличение или уменьшение количества термофильных видов цианобактерий является объективным биологическим индикатором изменения климата. Таким образом, необходимо совершенствовать подходы к определению качества воды по микробному составу различных биотипов с целью разработки алгоритмов оценки рисков здоровью человека из-за патогенов в воде, по рациональному обслуживанию водозаборной техники [12, 34, 43].

Итак, критический анализ истории развития теоретических воззрений по данной тематике показывает, что для фундамента обновленной теории сапронозов должны быть учтены следующие выводы, отвечающие интересам всех направлений медико-биологических наук:

- симбиотические отношения в природе являются основой жизни и закономерностей патологии биоты. Инфекционный процесс — следствие симбиотических отношений макро- и микроорганизмов, приводящих к патогенному паразитизму на организменном, популяционном и видовом уровнях;
- причиной функционирования симбиотических систем является взаимодействие их сочленов в целях выживания как биологических видов. Условиями-регуляторами выступают абиотические природные и социальные факторы среды обитания симбионтов, в том числе представители фагоцитирующей биоты, не относящиеся к этиологическим агентам;
- существование биологического многообразия в живой природе базируется на гетерогенности и закономерной динамике симбиотических отношений и типов питания;
- типы питания бактерий — внеорганизменные (автотрофизм, сапрофитизм и др.) и организменные с участием хозяев (комменсализм, паразитизм, включая патогенный) — чередуются и переходят из одних состояний в другие в зависимости от динамики условий существования симбиотических систем и ресурса питания симбионтов;
- стратегия микроорганизмов-симбионтов заключается в потребности размножения в хозяине с формированием паразитических и патогенных свойств, инициирующей популяционную патологию биоты, выход бактерий в среду и смену симбиотических отношений хозяев, циркуляцию в биотических резервуарах и выживание вне резервуара;

- резервуарами факультативных паразитов биоты является не абиотическая среда, а популяции эукариотических макро- и микроорганизмов;
- потенциальные паразиты и их хозяева в ходе эволюции биоты приспособились использовать динамику и комбинации природных и социальных условий для регуляции взаимодействия симбионтов. Она осуществляется через закономерное изменение сопряженных гено- и фенотипических признаков симбионтов, механизмов и путей передачи в биотических резервуарах и типов питания, что обеспечивает размножение потенциальных возбудителей и выживание при неблагоприятных условиях.

Завершая обзор состояния изучения актуальных вопросов сапронозных инфекций, отметим, что многолетнее наблюдение за публикациями и анализ литературы, а также наш опыт эпидемиологической и микробиологической (в том числе научно-исследовательской) работы по данной тематике позволяют сформулировать собственное отношение к упомянутой задаче. Мы считаем, что при совместном комплексном изучении специалистами медико-биологических наук поднятых здесь вопросов, получении убедительных доказательств ведущей резервуарной роли низших организмов в существовании факультативных паразитов человека, животных, растений (прокариот) в перспективе удастся создать основу для согласованной работы по совершенствованию общей классификации возбудителей патологии биоты. Окончательно определившись с соотношением причинных факторов и условий симбиотических связей сапронозных бактерий и микромицетов с основными резервуарами (хозяевами и источниками) этих инфекций, можно будет приступить к уточнению классификаций популяционной патологии, а также общей и частной терминологии применительно к специальностям, предметом изучения которых являются смежные вопросы теоретической проблемы сапронозов. Некоторые наработки уже имеются и будут служить отправной точкой будущей комплексной темы научно-исследовательской работы [5, 10, 15, 20, 21, 45].

В этой связи внимание привлекает термин «фитонозы», используемый ветеринарами и биологами для обозначения болезней представителей флоры. Они вызываются фитопатогенами, среди которых множество бактерий и микромицетов, в том числе являющихся общими возбудителями инфекций растений (водорослей), животных (включая беспозвоночных) и человека. Применительно к человеку и теплокровным животным возбудители фитонозов трактуются в основном как факультативные паразиты с условной патогенностью для соответствующих популяций (видов). Относительно же низших

организмов их считают комменсалами, паразитами (патогенными или непатогенными), сапрофитами, автотрофами и даже хемолитотрофами в зависимости от преобладающих типов питания в конкретной обстановке наблюдений. Среди них есть и облигатные, и факультативные паразиты протистов, но все они — симбионты на разных этапах существования в биотических резервуарах с чередующимися типами питания из-за динамики условий. Находясь во внешней среде, они частично выживают, переходя на внеорганизменные типы питания при внешней регуляции абиотическими факторами и «пытаясь» включиться в симбиотические отношения при благоприятных условиях.

Поскольку предлагаемый нами путь совершенствования теоретических воззрений на эти инфекции выходит за рамки медицины и продолжителен по времени, то сегодня речь идет лишь о попытке обосновать единые закономерности общей симбиологии и инфектологии биотических организмов. В случае одобрения нашего предложения предстоит длительная совместная творческая работа специалистов медико-биологических наук. В любом случае термин «сапронозы» («сапрозоонозы») останется как собирательная категория, характеризующая факультативных паразитов с особой зависимостью от окружающей среды, что отличает их от облигатных паразитов. Мы рассчитываем на интерес медико-биологического научного и образовательного сообщества к рассматриваемой тематике и будем продолжать поиск вариантов продвижения по пути решения поставленных задач.

ЛИТЕРАТУРА

1. Терских В.И. Сапронозы (о болезнях людей и животных, вызываемых микробами, способными размножаться вне организма во внешней среде, являющейся для них местом обитания). *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1958; 35(8): 118-22.
2. Андрюков Б.Г., Сомова Л.М., Тимченко Н.Ф. Эволюция понятия сапронозы и трансформация экологической концепции паразитизма в инфектологии. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2017; 94(5): 119-26. DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-5-119-126>
3. Белов А.Б. Решенные и проблемные теоретические вопросы эпидемиологической науки. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2014; (2): 7-15.
4. Прозоровский С.В., ред. *Эпидемиологические аспекты экологии бактерий*. М.: Фармаус-Принт; 1998.
5. Макаров В.В. Сапронозы, факторные и оппортунистические инфекции (к истории этиологических воззрений в отечественной эпидемиологии и эпизоотологии). *Ветеринарная патология*. 2004; (1): 7-17.
6. Martinelli Filho J.E., Lopes R.M., Rivera I.N.G., Colwell R.R. *Vibrio cholerae* O1 detection in estuarine and coastal zooplankton. *J. Plankton Res.* 2011; 33(1): 51-62. DOI: <http://doi.org/10.1093/plankt/fbq093>
7. Белов А.Б. Проблемные вопросы общей теории сапронозов и возможные пути их решения (взгляд эпидемиолога). *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2017; 2(4): 34-44.

8. Брико Н.И. Теоретические обобщения в современной отечественной эпидемиологии. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2018; (3): 4-10. DOI: <http://doi.org/10.18565/epidem.2018.3.4-10>
9. Персиянова Е.В. *Характеристика взаимоотношений Yersinia pseudotuberculosis с растительными клетками*: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Владивосток; 2008.
10. Пушкарева В.И., Литвин В.Ю., Ермолаева С.А. Растения как резервуар и источник возбудителей пищевых инфекций. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2012; (2): 10-20.
11. Сомов Г.П. Современные представления о сапронозах и сапрозоонозах. *Ветеринарная патология*. 2004; (3): 31-5.
12. Селиванова Е.А., Хлопко Ю.А., Гоголева Н.Е., Плотников А.О. Детекция потенциально патогенных бактерий в солоноватых реках Приэльтонья методом высокопроизводительного секвенирования. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2018; 95(4): 87-95. DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-87-95>
13. Литвин В.Ю., ред. *Экология возбудителей сапронозов: Сборник научных трудов*. М.; 1988.
14. Бактериальные и вирусные зоонозы: доклад Комитета экспертов ВОЗ при участии ФАО. Женева: ВОЗ; 1985.
15. Сомов Г.П., Литвин В.Ю. *Сапрофитизм и паразитизм патогенных бактерий: экологические аспекты*. Новосибирск: Наука; 1988.
16. Беляков В.Д., Голубев Д.Б., Каминский Г.Д., Тец В.В. *Саморегуляция паразитарных систем*. Ленинград: Медицина; 1987.
17. Беляков В.Д., Ряпис Л.А., Илюхин В.И. *Псевдомонады и псевдомонозы*. М.: Медицина; 1990.
18. Зуева Л.П., Асланов Б.И., Гончаров А.Е., Любимова А.В. *Эпидемиология и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи*. СПб.: Фолиант; 2017.
19. Белов А.Б., Куликалова Е.С. Сапронозы: экология возбудителей, эпидемиология и систематика. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016; 15(1): 5-16.
20. Бухарин О.В. Инфекционная симбиология. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2015; 92(4): 4-9.
21. Ряпис Л.А. Совершенствование классификаций заболеваний человека биологической природы. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2012; 89(2): 87-93.
22. Ряпис Л.А. Сапронозы: классификация и номенклатура. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2006; (3): 8-11.
23. Беленева И.А., Масленникова Э.Ф. Распространение бактерий рода *Acinetobacter* в гидробионтах залива Петра Великого, Японское море. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2004; 81(3): 88-90.
24. Куликалова Е.С., Урбанович Л.Я., Марков Е.Ю., Вишняков В.С., Миронова Л.В., Балахонов С.В. и др. Связь холерного вибриона с водными организмами и ее значение в эпидемиологии холеры. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2014; (4): 19-25.
25. Панин А.Л., Богумильчик Е.А., Шаров А.Н., Власов Д.Ю., Зеленская М.С., Толстикова А.В. и др. Цианобактериальные маты как объекты мониторинга антарктических экосистем. *Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3. Биология*. 2013; (2): 3-11.
26. Панин А.Л., Власов Д.Ю., Краева Л.А., Ценева Г.Я., Абакумов Е.В., Болахан В.Н. Способ оценки антропогенного и орнитогенного загрязнения окружающей среды Антарктиды по состоянию цианобактериальных матов (варианты). Патент РФ № 2546287; 2013.
27. Greub G., Raoult D. Microorganisms resistant to free-living amoebae. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004; 17(2): 413-33. DOI: <http://doi.org/10.1128/cmr.17.2.413-433.2004>
28. Илюхин В.И., Сенина Т.В. Мелиоидоз: итоги столетнего изучения, современные проблемы и зримые перспективы. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2012; (5): 41-6.
29. Blokesch M. Chitin colonization, chitin degradation and chitin-induced natural competence of *Vibrio cholerae* are subject to catabolite repression. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012; 14(8): 1898-912. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02689.x>
30. Брусина Е.Б. Эпидемиология инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, вызванных возбудителями группы сапронозов. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2015; 14(2): 50-6.
31. Тартаковский И.С., Груздева О.А., Галстян Г.М., Карпова Т.И. *Профилактика, диагностика и лечение легионеллеза*. М.: Студия МДВ; 2013.
32. Frost L.S., Leplae R., Summers A.O., Toussaint A. Mobile genetic elements: the agents of open source evolution. *Nat. Rev. Microbiol.* 2005; 3(9): 722-32. DOI: <http://doi.org/10.1038/nrmicro1235>
33. Литвин В.Ю., Сомов Г.П., Пушкарева В.И. Сапронозы как природно-очаговые инфекции. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2010; (1): 10-6.
34. Панин А.Л., Сбойчаков В.Б., Белов А.Б., Краева Л.А., Власов Д.Ю., Гончаров А.Е. Природно-техногенная очаговость инфекционных болезней на территории антарктических поселений. *Успехи современной биологии*. 2016; 136(1): 53-67.
35. Сбойчаков В.Б., Панин А.Л., Белов А.Б. Природно-очаговые инфекции шестого континента: ретроспективный взгляд в будущее. *Национальные приоритеты России*. 2014; (3): 86-9.
36. Barbosa A., Schneider E.C., Dewar M. Портал окружающей среды Антарктики. Заболевания антарктических диких животных. Available at: <https://environments.aq/information-summaries-ru-ru/antarctic-wildlife-diseases-ru-ru>
37. Bonnedahl J., Broman T., Waldenström J., Palmgren H., Niskanen T., Olsen B. In search of human associated bacterial pathogens in Antarctic wildlife: report from six penguin colonies regularly visited by tourists. *Ambio*. 2005; 34(6): 430-2.
38. Brandt M.T., Amundson R. Leaf age as a risk factor in contamination of lettuce with *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2008; 74(8): 2298-306. DOI: <http://doi.org/10.1128/AEM.02459-07>
39. Дятлов И.А. К вопросу о сапронозах, психрофильности и патогенах. *Бактериология*. 2017; 2(2): 5-6.
40. Маринин Л.И., Дятлов И.А., Шишкова Н.А., Герасимов В.Н. *Сибирязвенные скотомогильники: проблемы и решения*. М.: Династия; 2017.
41. Капков В.И., Васильева С.Г., Лобакова Е.С. Сукцессии цианобактерий в водоемах бореальной зоны. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2018; 95(4): 100-7. DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-100-107>
42. Немцова Н.В., Гоголева О.А., Игнатенко М.Е. Биомедицинский потенциал альго-бактериальных биоценозов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2018; 94(4): 82-7. DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-82-87>
43. Яценко-Степанова Т.Н., Игнатенко М.Е. Потенциально опасные Суанобактерия лечебных грязей. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2018; 94(4): 95-100. DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-95-100>
44. Hubálek Z., Rudolf I. Types of human disease by source of the infectious agent. In: Hubálek Z., Rudolf I. *Microbial Zoonoses and Sapronoses*. Dordrecht: Springer; 2011. DOI: http://doi.org/10.1007/978-90-481-9657-9_2
45. Белов А.Б., Панин А.Л. Актуальные теоретические вопросы эколого-эпидемиологической концепции сапронозов и

возможные пути их решения. *Успехи современной биологии*. 2018; 138(4): 352-72.
DOI: <http://doi.org/10.7868/S0042132418040038>

REFERENCES

1. Terskikh V.I. Saprinoses (about diseases of people and animals caused by microbes that can multiply outside the body in the external environment, which is their habitat). *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 1958; 35(8): 118-22. (in Russian)
2. Andryukov B.G., Somova L.M., Timchenko N.F. Evolution of the saponosis notion and transformation of the environmental concept of parasitism in infectology. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2017; 94(5): 119-26. DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-5-119-126> (in Russian)
3. Belov A.B. Solved Problems and Theoretical Issues of Epidemiological Science. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika*. 2014; (2): 7-15. (in Russian)
4. Prozorovskiy S.V., ed. *Epidemiological Aspects of the Ecology of Bacteria [Epidemiologicheskie aspekty ekologii bakteriy]*. Moscow: Farmaus-Print; 1998. (in Russian)
5. Makarov V.V. Saprinoses, factor and opportunistic infections (to the history of etiological views in domestic epidemiology and epizootology). *Veterinarnaya patologiya*. 2004; (1): 7-17. (in Russian)
6. Martinelli Filho J.E., Lopes R.M., Rivera I.N.G., Colwell R.R. Vibrio cholerae O1 detection in estuarine and coastal zooplankton. *J. Plankton Res.* 2011; 33(1): 51-62. DOI: <http://doi.org/10.1093/plankt/fbq093>
7. Belov A.B. Controversial issues of saprinoses and possible solutions. *Fundamental'naya i klinicheskaya meditsina*. 2017; 2(4): 34-44. (in Russian)
8. Briko N.I. Theoretical generalizations in modern Russian epidemiology. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni. Aktual'nye voprosy*. 2018; (3): 4-10. DOI: <http://doi.org/10.18565/epidem.2018.3.4-10> (in Russian)
9. Persiyanova E.V. *Characterization of the relationship of Yersinia pseudotuberculosis with plant cells*: Diss. Vladivostok; 2008. (in Russian)
10. Pushkareva V.I., Litvin V.Yu., Ermolaeva S.A. Plants as Reservoir and Source of Foodborne Infections. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika*. 2012; (2): 10-20. (in Russian)
11. Somov G.P. Modern ideas about saprinoses and saprozooses. *Veterinarnaya patologiya*. 2004; (3): 31-5. (in Russian)
12. Selivanova E.A., Khlopko Yu.A., Gogoleva N.E., Plotnikov A.O. Detection of potentially pathogenic bacteria in the brackish rivers flowing into the Elton lake by high-throughput sequencing. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2018; 95(4): 87-95. DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-87-95> (in Russian)
13. Litvin V.Yu., ed. *Ecology of Causative Agents of Saprinoses: Collection of Scientific Papers [Ekologiya vzbuditeley saponozov: Sbornik nauchnykh trudov]*. Moscow; 1988. (in Russian)
14. Bacterial and viral zoonoses: report of WHO experts with FAO participation. Geneva: WHO; 1985. (in Russian)
15. Somov G.P., Litvin V.Yu. *Saprophytism and Parasitism of Pathogenic Bacteria: Ecological Aspects [Saprofitizm i parazitizm patogennykh bakteriy: ekologicheskie aspekty]*. Novosibirsk: Nauka; 1988. (in Russian)
16. Belyakov V.D., Golubev D.B., Kaminskiy G.D., Tets V.V. *Self-Regulation of Parasitic Systems [Samoregulyatsiya parazitarnykh sistem]*. Leningrad: Meditsina; 1987. (in Russian)
17. Belyakov V.D., Ryapis L.A., Ilyukhin V.I. *Pseudomonads and Pseudomonoses [Pseudomonady i psevdomonozy]*. Moscow: Meditsina; 1990. (in Russian)
18. Zueva L.P., Aslanov B.I., Goncharov A.E., Lyubimova A.V. *Epidemiology and Prevention of Infections Associated with the Provision of Medical Care [Epidemiologiya i profilaktika infektsiy, svyazannykh s okazaniem meditsinskoy pomoshchi]*. St. Petersburg: Foliant; 2017. (in Russian)
19. Belov A.B., Kulikalova E.S. Saprinoses: Ecology of Infection Agents, Epidemiology, Terminology and Classification. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika*. 2016; 15(1): 5-16. (in Russian)
20. Bukharin O.V. Infectious symbiology. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2015; 92(4): 4-9. (in Russian)
21. Ryapis L.A. Improving the classifications of human diseases of a biological nature. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2012; 89(2): 87-93. (in Russian)
22. Ryapis L.A. Saprinoses: classification and nomenclature. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2006; (3): 8-11. (in Russian)
23. Beleneva I.A., Maslennikova E.F. Spread of Acinetobacter bacteria in the aquatic organisms of Peter the Great Bay, Sea of Japan. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2004; 81(3): 88-90. (in Russian)
24. Kulikalova E.S., Urbanovich L.Ya., Markov E.Yu., Vishnyakov V.S., Mironova L.V., Balakhonov S.V., et al. Relationship of Vibrio cholerae with water organisms and its significance in cholera epidemiology. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika*. 2014; (4): 19-25. (in Russian)
25. Panin A.L., Bogumil'chik E.A., Sharov A.N., Vlasov D.Yu., Zelenskaya M.S., Tolstikov A.V., et al. Cyanobacterial mats as objects of Antarctic ecosystem monitoring. *Vestnik Sankt-Petersburgskogo universiteta. Seriya 3. Biologiya*. 2013; (2): 3-11. (in Russian)
26. Panin A.L., Vlasov D.Yu., Kraeva L.A., Tseneva G.Ya., Abakumov E.V., Bolekhan V.N. A method for assessing anthropogenic and ornithogenic environmental pollution of Antarctica by the state of cyanobacterial mats (options). Patent RF № 2546287; 2013. (in Russian)
27. Greub G., Raoult D. Microorganisms resistant to free-living amoebae. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004; 17(2): 413-33. DOI: <http://doi.org/10.1128/cmr.17.2.413-433.2004>
28. Ilyukhin V.I., Senina T.V. Melioidosis: results of centenary study, modern problems and nearest perspectives. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2012; (5): 41-6. (in Russian)
29. Blokesch M. Chitin colonization, chitin degradation and chitin-induced natural competence of Vibrio cholerae are subject to catabolite repression. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012; 14(8): 1898-912. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02689.x>
30. Brusina E.B. Epidemiology of healthcare-associated infections, caused by saprinoses group pathogens. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika*. 2015; 14(2): 50-6. (in Russian)
31. Tartakovskiy I.S., Gruzdeva O.A., Galstyan G.M., Karpova T.I. *Prevention, Diagnosis and Treatment of Legionellosis [Profilaktika, diagnostika i lechenie legionelleza]*. Moscow: Studiya MDV; 2013. (in Russian)
32. Frost L.S., Leplae R., Summers A.O., Toussaint A. Mobile genetic elements: the agents of open source evolution. *Nat. Rev. Microbiol.* 2005; 3(9): 722-32. DOI: <http://doi.org/10.1038/nrmicro1235>
33. Litvin V.Yu., Somov G.P., Pushkareva V.I. Saprinoses as the Natural Focal Diseases. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika*. 2010; (1): 10-6. (in Russian)
34. Panin A.L., Sboychakov V.B., Belov A.B., Kraeva L.A., Vlasov D.Yu., Goncharov A.E. Natural and technogenic focality of infectious diseases in the territory of antarctic settlements. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2016; 136(1): 53-67. (in Russian)
35. Sboychakov V.B., Panin A.L., Belov A.B. Natural focal diseases of the sixth continent: a retrospective look into the future. *Natsional'nye priority Rossii*. 2014; (3): 86-9. (in Russian)

36. Barbosa A., Schneider E.C., Dewar M. Antarctic Environments Portal. Antarctic Wildlife Diseases. Available at: <https://environments.aq/information-summaries/antarctic-wildlife-diseases>
37. Bonnedahl J., Broman T., Waldenström J., Palmgren H., Niskanen T., Olsen B. In search of human associated bacterial pathogens in Antarctic wildlife: report from six penguin colonies regularly visited by tourists. *Ambio*. 2005; 34(6): 430-2.
38. Brandt M.T., Amundson R. Leaf age as a risk factor in contamination of lettuce with *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2008; 74(8): 2298-306. DOI: <http://doi.org/10.1128/AEM.02459-07>
39. Dyatlov I.A. To the question of sapronoses, psychrophilicity and pathogens. *Bakteriologiya*. 2017; 2(2): 5-6. (in Russian)
40. Marinin L.I., Dyatlov I.A., Shishkova N.A., Gerasimov V.N. *Siberian Ulcer Cattle Cemeteries: Problems and Solutions [Sibireyazvennyye skotomogil'niki: problemy i resheniya]*. Moscow: Dinastiya; 2017. (in Russian)
41. Kapkov V.I., Vasil'eva S.G., Lobakova E.S. Succession of cyanobacteria in boreal waters. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2018; 95(4): 100-7. DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-100-107> (in Russian)
42. Nemtsova N.V., Gogoleva O.A., Ignatenko M.E. Biomedical potential of algo-bacterial symbioses. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2018; 94(4): 82-7. DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-82-87> (in Russian)
43. Yatsenko-Stepanova T.N., Ignatenko M.E. Potentially dangerous cyanobacteria of therapeutic mud. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2018; 94(4): 95-100. DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-95-100> (in Russian)
44. Hubálek Z., Rudolf I. Types of human disease by source of the infectious agent. In: Hubálek Z., Rudolf I. *Microbial Zoonoses and Sapronoses*. Dordrecht: Springer; 2011. DOI: http://doi.org/10.1007/978-90-481-9657-9_2
45. Belov A.B., Panin A.L. Current theoretical issues of the ecological and epidemiological concept of sapronoses and possible ways of their decision. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2018; 138(4): 352-72. DOI: <http://doi.org/10.7868/S0042132418040038> (in Russian)

Информация об авторах:

Белов Александр Борисович[✉] — к.м.н., доцент кафедры общей и военной эпидемиологии ФГБВОУ «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны РФ, 194044, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7064-9193>. E-mail: alp.1952@mail.ru

Панин Александр Леонидович — н.с. лаборатории медицинской бактериологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, 197101, Санкт-Петербург, Россия; с.н.с. отдела научно-технической информации «Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института птицеводства» — филиала ФГБНУ Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» РАН, 198421, Ломоносов, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6411-0274>. E-mail: alp.1952@mail.ru

Участие авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Information about the authors:

Aleksandr B. Belov[✉] — Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Department of general and military epidemiology, Kirov Military Medical Academy, 194044, St. Petersburg, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7064-9193>. E-mail: alp.1952@mail.ru

Aleksandr L. Panin — researcher, Laboratory of medical bacteriology, Pasteur Saint-Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 197101, St. Petersburg, Russia; senior researcher, Department of scientific and technical information, All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science — Branch of the All-Russian Research and Technological Poultry Institute, 198421, Lomonosov, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6411-0274>. E-mail: alp.1952@mail.ru

Contribution: the authors contributed equally to this article.

ХРОНИКА

РЕЗОЛЮЦИЯ

Конгресса с международным участием

«Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2019)» (Москва, 28–29 ноября 2019 г.)

В соответствии с Планом основных организационных мероприятий Роспотребнадзора на 2019 г. в Москве 28–29 ноября 2019 г. состоялся Конгресс с международным участием «Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2019)».

В работе Конгресса приняли участие 1557 человек из 73 регионов Российской Федерации и стран ближнего и дальнего зарубежья, в том числе специалисты Роспотребнадзора, Минздрава России, Минобороны России и других ведомств, медицинских организаций (эпидемиологи, микробиологи, клинические фармакологи, дезинфектологи, хирурги, реаниматологи, педиатры, медицинские сестры и др.), сотрудники научно-исследовательских институтов различных ведомств, студенты и преподаватели высших учебных заведений, члены профессиональных научных сообществ: Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (ВНПОЭМП), Национального научного общества инфекционистов (ННОИ), Федерации лабораторной медицины (ФЛМ), Национальной организации дезинфекционистов (НОД), а также представители более 30 отечественных и зарубежных компаний (производители дезинфицирующих средств, медицинских изделий и оборудования). В Конгрессе приняли участие 13 ученых, занимающих лидирующие позиции по проблеме профилактики ИСМП в мировой науке, из 4 стран европейского региона, а также Японии, Ближнего Востока и Африки.

Конгресс был открыт заместителем руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека В.Ю. Смоленским. Концептуальный доклад о современных эпидемиологических рисках и мерах реагирования на национальном и международном уровнях представлен начальником Управления эпидемиологического надзора Роспотребнадзора Е.Б. Ежловой. Большой научный и практический интерес вызвали представленные в ходе пленарного заседания доклады известных отечественных ученых: академиков РАН В.Г. Акимкина, Н.И. Брико, И.А. Дятлова, В.В. Покровского, профессора Н.В. Шестопалова, а также ведущих зарубежных

исследователей: профессоров О. Ассадиана (Австрия), А. Крамера (Германия).

Ключевыми темами Конгресса стали проблема обеспечения эпидемиологической безопасности лечебно-диагностического процесса для пациентов и медицинского персонала как основа системы профилактики ИСМП и важнейший показатель качества оказания медицинской помощи, а также мультидисциплинарный подход к реализации принципов профилактики ИСМП, вопросы лабораторной диагностики и резистентности возбудителей ИСМП к антимикробным препаратам.

В 22 секционных заседаниях заслушаны 142 доклада.

Большой интерес участников вызвали доклады о ходе выполнения программы пилотного проекта по обеспечению эпидемиологической безопасности медицинской помощи, организованно Роспотребнадзором во исполнение поручения Правительства Российской Федерации. В проекте участвуют 12 медицинских организаций в 6 субъектах Российской Федерации; координацию работы осуществляет референс-центр по профилактике ИСМП на базе ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора.

Активный отклик у участников и гостей Конгресса нашли вопросы государственного санитарно-эпидемиологического надзора за ИСМП в различных по профилю отделениях медицинских организаций, доклады по использованию риск-ориентированного подхода в системе эпидемиологического надзора за ИСМП, внедрению методов молекулярной эпидемиологии при изучении условно-патогенных микроорганизмов, а также проблемы глобальной угрозы распространения антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов.

В программе Конгресса треть докладов были посвящены проблеме безопасности больничной среды, вопросам неспецифической профилактики ИСМП и современным направлениям дезинфектологической практики. Из тематики, которая ранее не обсуждалась, следует назвать вопросы гигиены лечебных учреждений, а также методические подходы к анализу вспышек и групповых заболеваний вирусной этиологии (кори, ветряной оспы, рота-,

норо-, энтеровирусных инфекций и др.) в медицинских организациях.

Ряд докладов были посвящены вопросам дифференциальной диагностики внутриутробных и внутрибольничных инфекций новорожденных и критерияльной оценке риска диагностических ошибок.

Участники Конгресса проявили глубокий интерес к различным направлениям профилактики ИСМП, развернули активную дискуссию по рассматриваемым научным и практическим вопросам.

В завершение работы Конгресса проведен круглый стол профессиональных научных сообществ: Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (ВНПОЭМП), Национального научного общества инфекционистов (ННОИ), Федерации лабораторной медицины (ФЛМ) — и заседание проблемной комиссии ученого совета Роспотребнадзора по профилактике ИСМП.

Участники Конгресса решили:

Считать приоритетной задачей реализацию Пилотного проекта «Совершенствование мер борьбы и профилактики ИСМП», активизацию усилий органов исполнительной власти в сфере охраны здоровья населения на местах и администрации медицинских организаций по достижению целевых показателей проекта.

Признать необходимость актуализации отечественной системы эпидемиологического надзора за ИСМП, включая использование риск-ориентированных технологий, в условиях модернизации системы здравоохранения страны.

Считать недостаточной работу специалистов органов исполнительной власти субъектов Российской Федерации в сфере охраны здоровья населения и территориальных органов Роспотребнадзора по организации межведомственного взаимодействия в целях реализации ключевых направлений эпидемиологического надзора и профилактики ИСМП.

Признать необходимость актуализации Национальной концепции профилактики ИСМП на основе современных научных знаний, совершенствования и гармонизации с международными тре-

бованиями нормативно-правового и методического обеспечения системы эпидемиологического надзора за ИСМП.

Наращивать усилия по обеспечению проведения микробиологических исследований в целях диагностики и профилактики ИСМП, ведению микробиологического мониторинга в каждой медицинской организации. Активнее внедрять в практику методы молекулярно-биологических исследований в процессе эпидемиологической диагностики случаев ИСМП и расследовании групповой и вспышечной заболеваемости.

Признать необходимым расширение научных исследований в области профилактики ИСМП, изучения устойчивости микроорганизмов-возбудителей ИСМП к применяемым антибиотикам и дезинфицирующим средствам, разработку на основе полученных данных новых альтернативных технологий и эффективных практических мер.

Отметить ведущую роль неспецифической профилактики ИСМП в ряду мер, направленных на предупреждение данной группы инфекций. Продолжать совершенствование и внедрение в практику медицинских организаций современных эффективных, безопасных, в том числе биологических, методов и технологий дезинфекции и стерилизации.

Отметить важность образовательной деятельности в области эпидемиологии и профилактики ИСМП, предупреждения формирования и распространения устойчивости микроорганизмов к противомикробным препаратам для всех категорий медицинских работников; продолжить практику проведения интерактивных семинаров.

Считать необходимым повышение уровня подготовки медицинских работников по вопросам вакцинопрофилактики, обеспечение должного уровня охвата всех категорий персонала медицинских организаций профилактической иммунизацией в рамках Национального календаря профилактических прививок и календаря прививок по эпидемическим показателям.

Отметить необходимость повышения роли общественных медицинских организаций в работе по профилактике ИСМП, расширения и активизации международного сотрудничества.

*Директор ФБУН ЦНИИ эпидемиологии
Роспотребнадзора,
доктор мед. наук, профессор,
академик РАН В.Г. Акимкин*